

BIBLIOTEKA CZASOPISMA
KOSMOS
KRAJOWA 2. PODWAŁA

POLSKIE TOWARZYSTWO PRZYRODNIKÓW im. KOPERNIKA

ROK XIII

Seria A BIOLOGIA

ZESZYT 2 (67)

K O S M O S

DWUMIESIĘCZNIK



WARSZAWA 1964

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

KOMITET REDAKCYJNY

Tadeusz Gorczyński, Kazimierz Petruszewicz, Zdzisław Raabe

Redaktor: *Włodzimierz Michajłow*

Sekretarz: *Zbigniew Pomianowski*

Adres redakcji: Warszawa, Pałac Kultury i Nauki (tel. 2001, wewn. 2074)

Państwowe Wydawnictwo Naukowe — Warszawa, Miodowa 10.

Nakład 1142 + 138 egz. Ark. wyd. 8,0, ark. druk. 5,75 + 0,125

Papier ilustr. druk. sat. kl. V, 70 g.

Oddano do skład. 31.I.64. Podpisano do druku w kwietniu 1964 r.

Druk ukończono w kwietniu 1964 r.

Zam. 67/64

Z-25

Cena zł 15.—

Warszawska Drukarnia Naukowa — Warszawa, Sniadeckich 8

WYBRANE ZAGADNIENIA ELEKTROFIZJOLOGII RUCHU I WCHŁANIANIA U PIERWOTNIAKÓW

WŁASNOŚCI ELEKTRYCZNE KOMÓRKI PIERWOTNIACZEJ

OPÓR BŁONY I POTENCJAŁ WEWNĄTRZKOMÓRKOWY

Mniej więcej od lat trzydziestych bieżącego stulecia zaczęto poznawać własności elektryczne komórek pierwotniaczych. Najwcześniej zbadano przewodnictwo elektryczne samej cytoplazmy cytolizowanych osobników (*Paramecium caudatum* — Gelfan, 1927), dużo później zaś przewodnictwo wykazywane wówczas, gdy jedna elektroda tkwi wewnątrz komórki, a druga w środowisku — czyli opór elektryczny błony. U pierwotniaków, podobnie jak u innych komórek, odczyt mierzonego oporu maleje wraz ze wzrostem częstotliwości prądu, można więc wyodrębnić opór omowy błony i jej pojemność albo podawać łącznie opór stwierdzony przy stosowaniu prądów niskiej częstotliwości jako impedancję. Wspomniane parametry elektryczne błony zostały określone przez Naitoh (1958) u *Opalina*.

Tak zwane potencjały membranowe lub wewnątrzkomórkowe komórek pierwotniaczych były badane przy użyciu szklanych mikroelektrod wypełnionych chlorkiem potasu lub amonu u *Amoeba proteus* (Telkes, 1931; Buchthal i Péterfi, 1937; Umrath, 1956); *Pelomyxa carolinensis* (Riddle, 1962), *Opalina* sp. (Kinosita, 1954; Naitoh, 1958; Koštojanci Kokina, 1958; Ueda, 1961a), *Noctiluca scintillans* (Hisada, 1957) i *P. caudatum* (Kamada, 1934; Yamaguchi, 1960). Potencjały spoczynkowe komórek pierwotniaczych są w przybliżeniu tego samego rzędu wielkości i w podobny sposób uzależnione od jonowego składu środowiska, jak potencjały spoczynkowe różnych komórek tkankowych.

Skoki potencjału obserwowano przede wszystkim w związku z powstawaniem rewersji ruchu rzęskowego u *Opalina* (Ueda, 1961a) i u *Paramecium* (Yamaguchi, 1960), jako wahania potencjału towarzyszące poszczególnym skurczom wodniczek tętniących (Koštojanci Kokina, 1958), a także w trakcie luminescencji *Noctiluca* (Hisada, 1957).

Protozoologowie zainteresowani tą problematyką widzą trudności w przyjęciu klasycznej teorii potencjału membranowego, według której wynikałby on głównie z różnicy stężeń potasu wewnątrz i na zewnątrz komórki. U pierwotniaków nie ma ściśle takiej zależności między logarytmem ilorazu obu stężeń potasu a potencjałem (Yamaguchi, 1960; Ueda, 1961a), jaka wynikałaby z teorii i z równania Nernsta, ujawnia

się natomiast przemożny wpływ na potencjał i na opór błony jonów wapniowych (Ueda, 1961a i 1961b). Wcześniejsze badania nad wpływem Ca na pobudliwość doprowadziły badaczy japońskich do wniosku, że u pierwotniaków istnieją dwie niezależne komponenty potencjału wewnątrzkomórkowego: potasowa i wapniowa (Kinoshita, 1954); ostatnio nawet pojawił się pogląd (Jahn, 1962), że potencjał i pobudliwość komórki pierwotniaczej zależą wyłącznie od ilości wapnia związanego w błonie, a jony potasu i wszelkie inne czynniki wywołujące pobudzenie mogą działać tylko w drodze wypierania wapnia.

Wydaje się, że efekty wapnia na potencjały membranowe i na pobudliwość u pierwotniaków można wyjaśniać bez odrzucenia klasycznej teorii potasowej, o ile — za przykładem szkoły Strauba (np. Gárdos, 1960) — uznamy wapń za czynnik jakichś wędrówek potasu w błonie. Zagadnienie to będzie poruszone w dalszej części artykułu.

POTENCJAŁ ELEKTROKINETYCZNY POWIERZCHNI *PARAMECIUM*

Poza wspomnianymi poprzednio, istnieją inne cechy elektryczne komórki pierwotniaczej, które dotychczas zupełnie nie były badane. Chodzi tu o potencjał powierzchniowy ξ , zwany też potencjałem elektrokinetycznym.

Badania potencjału powierzchniowego pierwotniaków były dotychczas niemożliwe, ponieważ metody elektrokinetyczne polegają na obliczeniu ładunku powierzchni danego ciała na podstawie szybkości względnej, z jaką ciało to, pod wpływem prądu elektrycznego, porusza się w stosunku do otaczającej je cieczy. Przeszkodą jest więc własny ruch pierwotniaka; występująca zwykle w polu elektrycznym galwanotaksja uniemożliwia pomiar szybkości elektroforetycznej. Przed paru laty opracowano (Grębecki i Kuźnicki, 1961) metodę odrzysiania *Paramecium* wodzianem chloralu. Unieruchomione w ten sposób orzęski żyją, a po przeniesieniu do zwykłego środowiska powoli regenerują urzęsienie; w tej fazie nadają się one w pełni do pomiarów elektroforetycznych.

Badania potencjału elektrokinetycznego powierzchni *P. caudatum* (Grębecki, 1962a) przeprowadzono za pomocą trzech metod. Pierwsza polegała na wykorzystaniu opracowanej poprzednio (Grębecki, 1961a) techniki fotograficznej rejestracji mikroprądów cieczy wokół pierwotniaka. Stwierdzono w ten sposób, że odrzęsiony pantofelek omywany jest w polu elektrycznym prądem wody skierowanym ku katodzie. Druga metoda pokazała, że pierwotniak swobodnie opadający w kiuwecie o elektrodach wmontowanych poziomo odchyła się od pionu w kierunku anody. Obie metody wskazały więc na istnienie ujemnego potencjału powierzchniowego u *P. caudatum*.

Trzecia metoda pozwoliła na pomiar potencjału ξ . Tym razem pole elektryczne zostało skierowane pionowo, a zatem pantofelki swobodnie opadające były przyspieszane, gdy katoda znajdowała się w górze kiuwety, zwalniane — gdy umieszczono ją od dołu. Przyspieszenie i zwolnienie daje się zmierzyć w dużej grupie osobników dzięki zastosowaniu fotograficznej rejestracji dróg opadających pierwotniaków. Uzyskuje się więc wartość szybkości elektroforetycznej potrzebną do wyliczenia potencjału powierzchniowego. Stwierdzono w ten sposób znaczny potencjał ujemny powierzchni *Paramecium*, zawarty w granicach od sześćdzie-

sięciu paru do stu paru miliwoltów. Uzyskane przy zastosowaniu tej metody dane wydają się stosunkowo wysokie w porównaniu z wartościami podawanymi w piśmiennictwie dla różnych komórek tkankowych, zwłaszcza dla erytrocytów. Wielkościami natomiast podobnego rzędu wyrażają się potencjały elektrokinetyczne różnych komórek jajowych u bezkręgowców.

Na podstawie mikroskopowych obserwacji najpospolitszej orientacji swobodnie opadającego odrzęsionego pierwotniaka w stosunku do elektrod uzyskano też pewne dane dotyczące gradientu potencjału ξ na powierzchni. Wydaje się, że potencjał powierzchniowy maleje ku tyłowi ciała.

Wreszcie, dokonywano elektroforezy odizolowanych rzęsek; nie mierzono ich potencjału powierzchniowego; stwierdzono jedynie jego obecność i znak również ujemny.

Wszystkie opisane tu obserwacje i pomiary były wykonane na pierwotniakach umieszczonych w buforze fosforanowo-cytrynianowym o pH 7,00 (Dryl, 1959b).

PUNKT IZOELEKTRYCZNY POWIERZCHNI *PARAMECIUM*

O powierzchniowym potencjale elektrokinetycznym pierwotniaka decyduje prawdopodobnie stopień dysocjacji grup aminowych i karboksylowych białek w błonie komórkowej. Powierzchnię komórki można więc przyrównać do gigantycznego polijonu amfoterycznego.

Kolejnym etapem badań (Grębecki, 1963a) było więc wykorzystanie zastosowanych metod dla określenia tej krytycznej wartości pH, która wyraża ogólny, sumaryczny punkt izoelektryczny powierzchni badanego pierwotniaka.

W celu znalezienia punktu izoelektrycznego powierzchni komórkowej *P. caudatum* posłużono się techniką pomiaru opisaną powyżej, lecz środowisko stanowiły różne układy buforów fosforanowo-cytrynianowych opracowanych przez Dryla (1961a). W buforach tych pierwotniaki mogą żyć normalnie nawet przez kilka tygodni.

W rezultacie eksperymentów otrzymano wykres, na którym jedna krzywa wyraża pomiary ruchliwości elektroforetycznej uzyskane przy pomocy przyspieszenia opadających pantofelków, druga zaś dotyczy pantofelków elektroforetycznie zwalnianych. Obie krzywe osiągają wartości zerowe prawie dokładnie w tym samym punkcie, w bezpośrednim sąsiedztwie pH 5,25. Tu więc właśnie leży punkt izoelektryczny powierzchni *P. caudatum*. Pozostaje on jeszcze w zakresie pH nieszkodliwego, choć blisko kwaśnej granicy toksyczności, która według wcześniejszych danych (Grębecki i Kuźnicki, 1956) wynosi 4,62 do 4,68.

BIOLOGICZNE KONSEKWENCJE WŁASNOŚCI ELEKTROKINETYCZNYCH POWIERZCHNI *PARAMECIUM*

Przedmiotem dalszych badań były niektóre biologiczne konsekwencje potencjału elektrokinetycznego i punktu izoelektrycznego powierzchni *Paramecium*. Można się ich spodziewać w zakresie zjawisk przepuszczalności i wchłaniania oraz w sferze reakcji ruchowych. Po pierwsze, ła-

dunek koloidów powierzchniowych decyduje o stopniu ich hydratacji i o ich zdolnościach adsorpcyjnych, czyli może wpływać na wchłanianie. Wiele reakcji ruchowych albo zależy od samego składu jonowego środowiska (chemotaksja itp.), albo od wędrówki jonów pod wpływem przyłożonej różnicy potencjałów (galwanotaksja), co ostatecznie sprowadza się więc do stosunków jonowych, do wędrówki i działania cząstek naładowanych elektrycznie.

PINOCYTOZA BARWNIKÓW

Do badań elektrofizjologicznych mechanizmów wchłaniania jonów dobrze nadaje się zjawisko akumulacji w wodniczkach pokarmowych *Paramecium* barwników rozpuszczonych w środowisku. Zjawisko to w latach dwudziestych wykryli, niezależnie od siebie, Dembowski (1922) i Strelnikow (1929) stwierdzając szacunkowo, że stężenie barwnika w wodniczce może kilkadziesiąt tysięcy razy przewyższyć stężenie w środowisku. Obserwacjom tym później przeczył Chejfec (1937). Przed kilku laty (Grębecki i Kuźnicki, 1956) opracowano metodę ilościową badania tego zjawiska mierząc kolorymetrycznie stratę substancji w środowisku. Okazało się, że akumulacja barwników w wodniczkach jest faktem, a stopień zagęszczenia dochodzi do kilku tysięcy razy. Współcześnie opisał to samo zjawisko Seaman (1961) u *Tetrahymena pyriformis*, niestety nie znając dość już długiej historii tego zagadnienia.

Najprostszym wyjaśnieniem mechanizmu akumulacji barwnika w wodniczce pierwotniaka byłby jakiś rodzaj „filtracji”. Taki też jest punkt widzenia Seamana. Jednak, jak wskazują wyliczenia (Grębecki i Kuźnicki, 1956 oraz Grębecki, 1963b), wymiana wodna nie tłumaczy sprawy, bo pierwotniak nie jest w stanie przepompować takiej ilości wody, jaka odpowiadałaby ilości pochłoniętego w tym czasie barwnika. Już pierwsze dane ilościowe (Grębecki i Kuźnicki, 1956) wskazały na elektrofizjologiczny mechanizm akumulacji barwnika w wodniczce. Otóż, zagęszczane mogą być tylko te barwniki, które są barwnymi kationami, zjawisko nie dotyczy zaś barwnych anionów. Dotyczy więc ono tych jonów, które mogą być silnie adsorbowane przez powierzchnię noszącą ujemny potencjał elektrokinetyczny.

W późniejszych badaniach (Grębecki, 1963b) zebrano dalsze dane wyjaśniające mechanizm zagęszczania barwników w wodniczkach. Okazało się, że stopień zagęszczenia barwnika w wodniczce, przy pH obojętnym, pozostaje w ścisłym związku z jego potencjałem normalnym. Jest to zależność dająca się wyrazić w postaci regularnej krzywej. Po drugie, wchłanianie barwnika kationowego rośnie wraz z potencjałem powierzchniowym w kierunku alkalicznym i wraz z nim maleje przy pH bardziej kwaśnym. Zależność tę udaje się stwierdzić, nawet jeśli wyeliminować wpływ pH na sam potencjał normalny barwnika. Co najważniejsze, badane zjawisko raptownie zanika w strefie punktu izoelektrycznego *Paramecium*, a więc przy maksymalnym ograniczeniu elektroadsorpcji. Wydaje się więc, że zagęszczanie barwników w wodniczkach pokarmowych oparte jest na ich elektroadsorpcji przez struktury powierzchniowe dna cytostomu.

W związku z tym wysunięto (Grębecki, 1963b) daleko idące analogie pomiędzy prawidłowościami badanego zjawiska, a prawidłowościami

pinocytozy. Pinocytoza może być stymulowana wyłącznie przez substancje czynne elektrycznie (Mast i Doyle, 1935; Holter i Marshall, 1954), a jej intensywność zależy tylko od kationu (Chapman-Andresen, 1958); w ostatnich interpretacjach zjawiska pinocytozy u ameb dominują mechanizmy elektroadsorpcyjne (Schumaker, 1958; Brandt i Pappas, 1960). Także przeprowadzona powyżej krytyka stanowiska Seamana (1961) może być poparta stwierdzeniem Chapman-Andresen i Holtera (1955), że ilość wody pobranej w trakcie pinocytozy jest zupełnie nieporównywalna z ilością wchłoniętej substancji, w związku z czym Holter (1959) uważa pinocytozę raczej za proces pobierania rozpuszczonej substancji, niż pobierania roztworu.

Z jednej strony potwierdza to przedstawioną tu interpretację badań nad *Paramecium*, a z drugiej — pozwala po prostu zdefiniować zjawisko akumulacji barwników w wodniczках tego pierwotniaka jako przypadek pinocytozy. Cechy procesu mieszczą się w definicji pinocytozy Lewisa (1931), a badania dna cytostomu *P. aurelia* w mikroskopie elektronowym (Jurand, 1961) potwierdzają taki wniosek. Można by więc powiedzieć, że ewolucyjnie postępujące różnicowanie własności powierzchni komórki pierwotniaczey doprowadziło do skoncentrowania zdolności do pinocytozy tylko w jej jednym rejonie — w strefie dna cytostomu.

W dalszych badaniach (Grębecki, 1962b) potwierdzono pogląd, że mechanizm akumulacji barwników polega na ich elektroadsorpcji przez ścianki cytostomu, stosując w tym celu barwniki fluorescencyjne. Ze szczególną łatwością można obserwować i fotografować silne świecenie dna cytostomu *P. caudatum* uzyskane przyżyciowo w słabym roztworze fluoresceiny. Świecenie to nie daje się łatwo wyeliminować przez płukanie pierwotniaka buforami kwaśnymi, ale bufony alkaliczne prowadzą szybko do jego zaniku. Samo zjawisko, być może, mogłoby stanowić metodę przyżyciowego uwidocznienia wnętrza cytostomu, tym bardziej, że nie jest ono specyficzne wyłącznie dla *P. caudatum*.

PRAWIDŁOWOŚCI TOKSYCZNEGO DZIAŁANIA SOLI

Można spodziewać się, że podobne reguły, jak w przypadku pinocytozy wchłaniania barwników, z analogicznych przyczyn mogą ujawnić się także w postaci prawidłowości toksycznego działania jonów na *Paramecium*. Istotnie, już kilka lat temu stwierdzono, że o toksyczności związku typu soli z reguły decyduje toksyczność kationu, a anion pełni najwyżej słabą rolę modyfikującą (Grębecki i Kuźnicki, 1956). Tak na przykład rozrzut granicy toksyczności (LD_{50} na 24 godz.) 20 zbadanych kationów stosowanych w połączeniu z anionem chlorowym wynosi od 50 mM aż do 0,0005 mM, podczas gdy działanie jonu sodowego może być modyfikowane przez 16 zbadanych anionów zaledwie w granicach od 60 mM do 5 mM. Ta sama prawidłowość powtarza się przy zastosowaniu soli kwasów organicznych oraz barwników. Ponownie więc stwierdza się silniejsze działanie tych jonów, które mogą być łatwiej adsorbowane przez ujemnie naładowane koloidy. Analogia z pinocytozą jest jeszcze dalej posunięta, bo także dotyczy własności elektrycznych

działającego jonu: również i toksyczności kationów zmieniają się dość regularnie — zależnie od wartości ich potencjałów normalnych¹.

Po oznaczeniu punktu izoelektrycznego powierzchni *Paramecium* powrócono do tej sprawy (Grębecki i Kuźnicki, 1963) poszukując zależności między toksycznością jonów nieorganicznych a pH środowiska. Okazało się, że — zgodnie z przewidywaniami — toksyczność kationu rośnie w kierunku alkalicznym, a w kierunku kwaśnym — w strefie punktu izoelektrycznego — maleje. Nie stwierdza się natomiast wpływu pH na działanie toksyczne anionu.

Zbieżność między wpływem pH na toksyczność a jego wpływem na potencjał elektrokinetyczny powierzchni komórkowej, można interpretować dwojako. Albo mechanizm zjawiska stanowią zmiany przepuszczalności jako takiej, albo zmiany własności adsorpcyjnych. Ta druga możliwość wydaje się bardziej prawdopodobna, okazało się bowiem, że pH nie gra roli tam, gdzie toksyczność może zależeć tylko od samej przepuszczalności, tzn. w przypadku nieelektrolitu działającego osmotycznie, np. glikozy.

Oczywiście, mechanizmy adsorpcyjne nie mogą wyłącznie same determinować toksyczności jonów, jednak adsorpcja jonu wydaje się podstawowym warunkiem, który musi być spełniony, aby ujawniły się jego efekty toksyczne dla *Paramecium*.

REAKCJE RUCHOWE

Zwróćmy z kolei uwagę na związki pomiędzy cechami elektrokinetycznymi powierzchni komórkowej *Paramecium* a reakcjami ruchowymi tego pierwotniaka. Najbardziej rzuca się w oczy wyjątkowa pozycja pH 5,25, które było określone jako punkt izoelektryczny (Grębecki, 1963a). Już przed trzydziestu laty właśnie w tym pH Dębowski (1929) znalazł optimum geotaksji. Wiąże się to najprawdopodobniej z maksymalną szybkością ruchu *Paramecium*. Istotnie, maksimum szybkości ruchu przy pH odpowiadającym punktowi izoelektrycznemu niedawno znalazł Dryl (1961a). Brutkowska (1963) podaje, że strefa punktu izoelektrycznego jest tą granicą, której przekroczenie w kierunku kwaśnym zaczyna powodować chwilową rewersję, czyli ruch tyłem przy odwrotnej pracy rzęsek. Taka chwilowa rewersja jest podstawą Jenningsowskiej „reakcji ucieczki”, czyli — podstawą chemotaksji. I istotnie, już kilka lat temu Dryl (1952 i 1959a), wyznaczając optimum chemotaktyczne, określił jego kwaśną granicę przy pH, które okazało się strefą punktu izoelektrycznego.

W dalszych badaniach (Grębecki, 1963a) starano się uchwycić również zależność między własnościami elektrokinetycznymi powierzchni komórkowej *Paramecium* a galwanotaksją, czyli regularnym ruchem pierwotniaków w polu prądu stałego w kierunku katody. Stwierdzono jednak tylko tyle, że punkt izoelektryczny jest tą barierą, poza którą galwanotaksja nie może już pokonać chemotaksji. Oznacza to, że *Paramecium*, zdążając do katody, swobodnie mija wszelkie gradienty pH, które zwykle działają chemotaktycznie, nie pokona zaś bariery pH 5,25 lub kwaśniejszego. Nie jest to oczywiście zmiana charakteru samej galwanotaksji, lecz przypadek galwanotaksji sprzężonej z chemotaksją.

¹ Wyniki świadczące o decydującej roli kationu były też uzyskiwane w przypadku chemotaksji (Kagan, 1939; Dryl, 1952) oraz immobilizującego działania soli (Puytorac, Andrivon i Serre, 1963).

W tym miejscu nasuwa się jednak problem bardziej ogólny: czy nie można mechanizmu samej galwanotaksji tłumaczyć potencjałem elektrokinetycznym powierzchni pierwotniaka, skoro w polu prądu stałego siły elektroforetyczne muszą działać na każdą naładowaną cząstkę.

Teorie takie istniały prawie od początków badań galwanotaksji. Na początku bieżącego stulecia zdarzały się poglądy, że cała galwanotaksja jest tylko elektroforezą komórek pierwotniaczych (Birukoff, 1906). Jest to pogląd prymitywny, dawno już zapomniany. Przeczy mu zresztą ujemny potencjał powierzchniowy komórki *Paramecium* (Grębecki, 1962a), bo elektroforeza byłaby skierowana do anody, a galwanotaksja jest katodowa. Nie znalazły też potwierdzenia dawne sugestie (Carl-gren, 1905) szukające związku pomiędzy galwanotaksją a elektroosmotycznym prądem ciekłych frakcji endoplazmy, choć sam prąd cytoplazmatyczny istotnie łatwo jest zauważyć wewnątrz pierwotniaka poddanego działaniu pola elektrycznego (Grębecki, 1962a).

Kilka lat temu powrócili do elektrokinetycznych teorii galwanotaksji Butzel, Brown i Martin (1960) sądząc, że orientacja *Paramecium* ku katodzie wynika z gradientu potencjału powierzchniowego wzdłuż osi ciała, a sam ruch polega już na aktywnej pracy rzęsek. Oddzielono więc jakby samą orientację — czyli zwrot ku katodzie — od ruchu postępowego uważając, że *Paramecium* orientuje się w polu podobnie jak dipol. Stwierdzono jednak (Grębecki, 1962a), że bierna orientacja pierwotniaka odrzęsionego jest właśnie odwrotna, a przy tym wymaga ona użycia prądów setki razy silniejszych niż wystarcza do wywołania galwanotaksji.

W następstwie tych trudności opracowano i ogłoszono drukiem (Grębecki, 1961b) bardziej złożoną elektrokinetyczną teorię galwanotaksji opartą na istnieniu potencjałów elektrokinetycznych samych rzęsek. Chodzi o to, że siły elektroforetyczne pola mogłyby powodować galwanotaksję tylko odpowiednio pomagając lub przeszkadzając w pracy różnych części urzęsienia.

Okazało się jednak później (Grębecki, 1963a), że kierunek galwanotaksji nie wykazuje oczekiwanego związku z wartością potencjału elektrokinetycznego, nie zmieniając się nawet w punkcie izoelektrycznym. Teoria ta — co ważniejsze — słabo radzi sobie z tym faktem, że zwrot pierwotniaka ku katodzie zachodzi przy odwróceniu pracy rzęsek skierowanych ku tej elektrodzie. Wcześniejsze teorie elektrokinetyczne rewersję katodową w ogóle ignorowały. A jednak ona jest kluczem do zrozumienia galwanotaksji. Najnowsze badania różnych autorów kazały całkiem porzucić teorie oparte na elektrokinetycznym potencjale powierzchniowym komórki, a wyjaśnienia szukać w zmianach potencjału membranowego, czyli w zjawiskach związanych z katodową depolaryzacją błony. Pewne pozory związku między potencjałem powierzchniowym ξ a zachowaniem się *Paramecium* pod wpływem prądu stałego widać jedynie w słabych polach (Grębecki, 1962a), co wymaga dalszych badań.

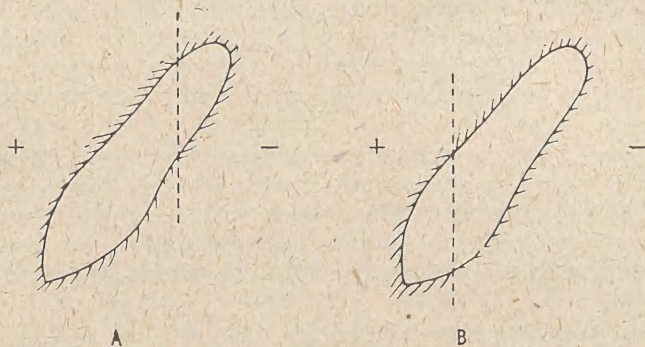
Ostateczny efekt rozważenia roli potencjałów elektrokinetycznych w biologii komórki pierwotniaczej wykazuje wiele podobieństwa do losów teorii sorpcyjnej Nasonova (1959) i Trošina (1956). Kurella (1960) słusznie pisze, że teoria ta, radząc sobie dość dobrze z problematyką przepuszczalności i wchłaniania, okazuje się jednak mniej sprawna od klasycznych teorii membranowych w rozwiązywaniu zagadnień fizjologii pobudzenia i towarzyszących mu zjawisk bioelektrycznych.

Podobnie, w badaniach reakcji ruchowych komórek pierwotniaczych trzeba zwrócić się przede wszystkim ku elektronicznym efektom jonów działających w środowisku po przyłożeniu pola elektrycznego lub nawet bez jego udziału².

BADANIA NAD POBUDLIWOŚCIĄ ELEKTROTONICZNĄ

ELEKTROTONICZNA TEORIA GALWANOTAKSJII

Zjawisko rewersji rzęsek od strony katody znane jest kilkadziesiąt lat (Ludloff, 1895), do niedawna jednak nie dawało się zinterpretować. Nosi ono nazwę efektu Ludloff'a, a jego postać przedstawia rys. 1. Pierwotniak skierowuje się więc ku katodzie, bo to wynika z rozkładu sił przy takiej właśnie postaci rewersji. Pole rzęsek odwróconych rozszerza się, im silniejszy jest prąd. Wobec tego, w miarę zwiększania intensywności bodźca, regularnie maleje szybkość ruchu ku katodzie, co było stwierdzone parokrotnie (Kamada, 1931; Viaud i Bonaventure, 1956; Grębecki, 1962a). Jednak do ostatnich czasów brakło odpo-



Rys. 1. Schemat tzw. efektu Ludloff'a. Przy dowolnym położeniu pantofelka skośnie w stosunku do elektrod, odwrócenie ruchu rzęsek zachodzi w okolicach ciała zwróconych w stronę katody. Pole rzęsek odwróconych jest stosunkowo niewielkie przy małej gęstości prądu (A), a rozszerza się w miarę wzrostu intensywności bodźca (B)

wiedzi na trzy zasadnicze pytania: 1) dlaczego w ogóle powstaje rewersja od strony katody; 2) dlaczego nie obejmuje ona wyłącznie całej powierzchni zwróconej ku tej elektrodzie, lecz jakby okala koniec pierwotniaka oraz 3) dlaczego pole rewersji rozszerza się zależnie od siły bodźca.

Ta luka teoretyczna sprawiła, że niektórzy autorzy, nawet nie będąc zwolennikami interpretacji elektrokinetycznych, kwestionowali jednak podstawową rolę rewersji katodowej w orientacji galwanotaktycznej (Alverdes, 1923; Koehler, 1926; Viaud i Bonaventure,

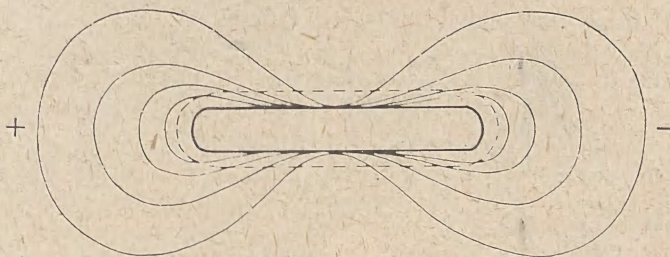
² Być może uda się w przyszłości znaleźć wspólny mianownik dla efektów elektrotonicznych i dla niewątpliwego wpływu elektrokinetycznych właściwości komórki na zmiany szybkości ruchu i na chemotaksję. Sprawa ta byłaby tym ciekawsza, lecz i tym trudniejsza zarazem, że stosunki między potencjałami membranowymi (wewnątrzkomórkowymi) a elektrokinetycznymi (powierzchniowymi) nie są do tej pory jasne w elektrofizjologii, ani nawet w elektrochemii.

1956). Od bardzo niedawna umiemy już jednak — przynajmniej w zarysie — odpowiedzieć na te pytania i to właśnie pozwala chyba ostatecznie zrezygnować z elektrokinetycznych teorii galwanotaksji.

Badacze japońscy wykazali ostatnio (Naitoh, 1959; Yamaguchi, 1960; Ueda, 1961a), że czynniki powodujące rewersję rzęskową zarazem powodują ostry spadek ujemnego potencjału membranowego często aż do przeładowania. Również „spontanycznym” rewersjom towarzyszą spadki potencjału (Kinosita, 1954). Rewersja jest więc związana z elektryczną depolaryzacją błony. Wiadomo zaś, że katoda depolaryzuje błonę komórkową pierwotniaka, podobnie jak błonę komórek nerwowych i włókien mięśniowych.

Szkola japońska wskazała zresztą już dawniej (Kinosita, 1936a, b, c, 1938 i 1939) na istniejące analogie między pobudliwością pierwotniaka i komórki nerwowej określając u *Paramecium* takie parametry reakcji, jak np. reobazę, chronaksję, czas względnej refrakcji, zdolność do sumacji bodźców itp.

Ostatnio na tej podstawie Jahn (1961) wypowiedział elektrotoniczną teorię galwanotaksji. Opiera się ona na analogii między działaniem pola elektrycznego na neuron a jego działaniem na pierwotniaka. Katodowa depolaryzacja błony i towarzysząca jej rewersja jest zatem po prostu katelektrotonusem; anodowa hyperpolaryzacja i związana z nią aktywacja normalnej pracy rzęsek — anelektrotonusem. Wszystkie parametry pobudzenia elektrotonicznego w komórce nerwowej i w komórce pierwotniacznej stają się w istocie w pełni porównywalne. Co najważniejsze, Jahn tłumaczy też przyczynę właśnie takiego ukształtowania się pola pobudzenia katelektrotonicznego, jakie reprezentuje sobą przedstawiony na rys. 1 efekt Ludloff'a. Komórka może być rozpatrywana jako tzw. przewodnik rdzeniowy, tzn. ciało o wysokim przewodnictwie (cytoplazma) otoczone izolatorem (błona) i tkwiące w ośrodku słabiej przewodzącym (środowisko). Rys. 2 pokazuje schemat Jahna. Gradient potencjału pola wokół takiego przewodnika nie jest rozłożony równomiernie, lecz jakby



Rys. 2. Schemat koncepcji przewodnika rdzeniowego według Jahna (1961). Pęki linii ciągłych symbolizują rozkład gradientu potencjału pola, linia przerywana — próg pobudzenia rzęsek

ugina się okalając jego końce. Ukształtowanie zaznaczonych przez Jahna linii ekwipotencjalnych odpowiada właśnie ukształtowaniu pola rewersji katodowej dla różnych gęstości działającego prądu.

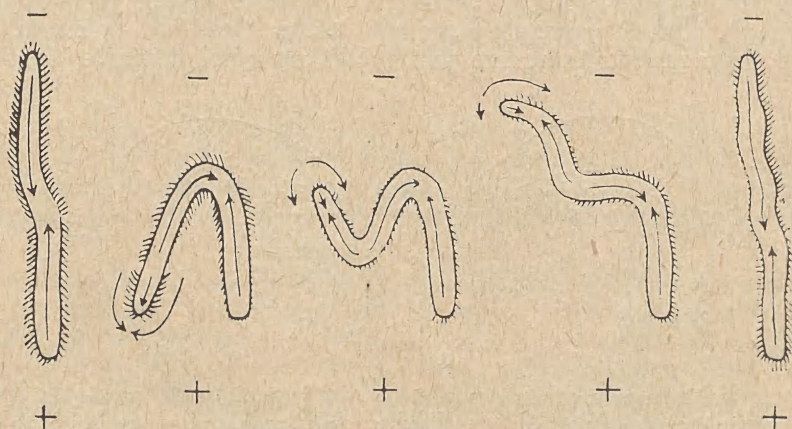
Niewątpliwie, obecnie teoria elektrotoniczna wydaje się koncepcją trafnie tłumaczącą mechanizm galwanotaksji. Nie oznacza to jednak, że sprawa jest zamknięta. Mamy tu do czynienia tylko jakby z pierwszym

szkicem, z ogólnym schematem, który jeszcze wymaga uzupełnień, rozbudowy i przystosowania go do bardzo różnych konkretnych sytuacji. To właśnie wydaje się najwłaściwszym programem badawczym w omawianym zagadnieniu. Dobrym sposobem osiągnięcia tego celu jest studiowanie wszelkich „anomalii galwanotaksji”, tzn. sytuacji, w których pierwotniak nie kieruje się wprost ku katodzie, jak tego wymaga teoria. Galwanotaksja odmiennego typu bywała opisywana u niektórych gatunków pierwotniaków jako reguła, a nawet u *Paramecium* można ją wywołać stosując różne czynniki chemiczne.

GALWANOTAKSJA POPRZECZNA I SKOŚNA

Już w końcu ubiegłego wieku stwierdzono (Verworn, 1896), że *Spirostomum ambiguum* nie płynie w polu prądu stałego ku katodzie, lecz często ustawia się poprzecznie do linii sił pola. Próbowano następnie interpretować to zjawisko jako przejaw przewagi rządek peristomalnych, które miałyby powodować to odchylenie (Wallengren, 1903). We własnych badaniach (Grębecki, 1963c) przekonano się jednak, że i u *Spirostomum* występuje typowy efekt Ludloffa i zwrot ku katodzie. Jednak znaczna długość i giętkość ciała tego pierwotniaka powodują, że tylko sam jego przedni odcinek zyskuje orientację katodową, a tylny — anodową. Reszta urzęsienia, nie poddana w słabym prądzie ani wpływom katelektrotonicznym, ani anelektrotonicznym, kontynuuje swą normalną pracę. *Spirostomum* nie płynie więc ku katodzie, lecz tylko wygina ku niej przód swego ciała.

Z kolei przy prądach silnych pobudzone może być już całe urzęsienie *Spirostomum*, tzn. dochodzi do spotkania rozszerzających się pól pobudzenia katodowego i anodowego. Ale nawet wówczas *Spirostomum* nie



Rys. 3. Zachowanie się *Spirostomum ambiguum* w polu elektrycznym przy znacznej gęstości prądu. Szczegółowe objaśnienie w tekście

zaczyna płynąć prosto do katody. Zamiast tego zaczyna wykonywać przedstawione na schemacie (rys. 3) ruchy falujące. Stanowi to zresztą najcharakterystyczniejszy sposób zachowania się tego pierwotniaka w polu elektrycznym. Jaki jest jego mechanizm?

Pobudzenie katodowe daje rewersję pracy rzęsek, a anodowe — jej aktywację. Dwie przeciwstawne tendencje załamują ciało pierwotniaka, nadając mu bardzo typową pozycję haczykowatą. Ale teraz przód ciała *Spirostomum* zostaje zwrócony ku anodzie, wobec czego zachodzi renormalizacja pracy rzęsek. Jej następstwem musi być nowy zwrot do katody i tak dalej, kilkakrotnie, póki wektory sił nie doprowadzą do wyprostowania się pierwotniaka, czyli do pozycji wyjściowej, w której cały cykl musi znów powtórzyć się od początku. Zachowanie się jest więc zupełnie inne niż u *Paramecium*, lecz również daje się ono w pełni wyjaśnić przy pomocy teorii elektrotonicznej, bo powodują je te same elektrofizjologiczne mechanizmy.

Warto wspomnieć, że fragmenty *Spirostomum*, tzn. krótkie poprzecznie odcięte części jego ciała, zachowują się normalnie jak *Paramecium*, tzn. płyną prosto do katody. Z kolei długi i giętki proboscis *Dileptus* unduluje w silnym prądzie w taki sam sposób, jak przednia część ciała *Spirostomum*.

Pozostaje jednak do wyjaśnienia zauważona przez Verworna (1896) pewna stabilność pozycji ściśle transversalnej. Sprawa staje się tym ciekawsza, że również u *Paramecium* udało się w pewnych warunkach stwierdzić (Grębecki, 1963d) obecność istotnej liczby osobników zachowujących orientację dokładnie poprzeczną w stosunku do linii sił pola prądu stałego.

Okazało się (Grębecki, dane nie publikowane), że zarówno u *Spirostomum*, jak i u *Paramecium* ustawienie transversalne zdarza się wyłącznie w stosunkowo słabych prądach i tylko u tych osobników, które już przed włączeniem obwodu były ustawione poprzecznie. Zatem przyczyną zjawiska byłby najslabszy efekt pola elektrycznego na pierwotniaka przy jego orientacji transversalnej. Z drugiej strony, Kinoshita (1936d) stwierdził obecność antero-posterialnego gradientu pobudliwości anelektrotonicznej i postero-anterialnego gradientu pobudliwości anelektrotonicznej, wobec czego efekt pola raczej powinien równomiernie słabnąć od pozycji homodromowej (przód ciała zwrócony ku katodzie) do antydromowej (przód ku anodzie).

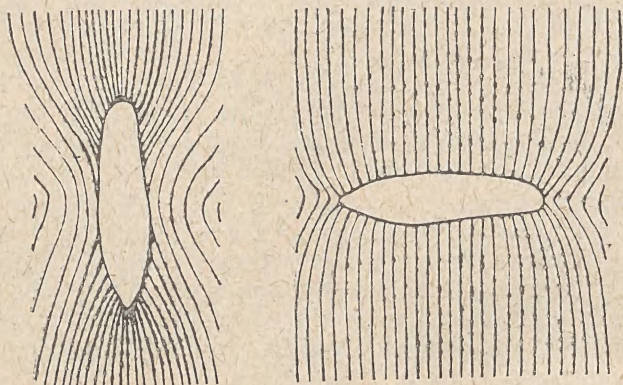
Jednak, nie przecząc wynikom Kinoshity najslabszy efekt prądu w pozycji transversalnej daje się wyjaśnić na podstawie teorii elektrotonicznej (Grębecki, interpretacja nie publikowana). Rys. 4 pokazuje układ linii sił pola elektrycznego wokół *Paramecium* ustawionego równolegle (po lewej) i poprzecznie (po prawej), zgodnie z koncepcją „przewodnika rdzeniowego”. Wynika stąd, że gęstość prądu faktycznie przechodzącego przez błonę komórkową jest przy równoległej pozycji pierwotniaka znacznie wyższa niż w środowisku, a różnica ta staje się mało istotna przy położeniu poprzecznym. Efekt ten winien być — zgodnie z rzeczywistością — jeszcze wyraźniejszy w przypadku długiego i walcowatego ciała *Spirostomum*.

Nie dysponujemy natomiast nadal jednoznaczną interpretacją zjawiska galwanotaksji skośnej wykrytej w naszym Zakładzie³ najpierw jako zjawisko spontaniczne (Grębecki, 1961b), potem jako indukowane jonami Ba^{2+} (Dryl, 1961b), a następnie pod wpływem K^{+} i innych

³ Jennings (1906) obserwował niekiedy skośną orientację *Paramecium* w stosunku do pola elektrycznego, ale ustawały się w ten sposób (i pozostawały nieruchome) osobniki osiadłe na dnie kiuwety, nie uzyskiwano zaś skośnego ruchu pierwotniaków płynących ku elektrodzie.

jonów wywołujących rewersję (Grębecki, 1963c i 1963d). Przy galwanotaksji skośnej wszystkie pantofelki płyną tyłem do anody lub przodem do katody zachowując określone kąty odchylenia od orientacji homodromowej; wielkość kąta jest charakterystyczna dla intensywności bodźca (Grębecki, 1963d).

Pierwsza próba wyjaśnienia galwanotaksji skośnej (Dryl, 1961b) interferencją pól magnetycznych, tworzących się wokół elektrod, została porzucona przez samego autora. Niezmiernie ważne informacje przynosi



Rys. 4. Układ linii sił pola wokół *Paramecium* ustawionego równolegle (po lewej) oraz poprzecznie (po prawej) w stosunku do nich. Schemat teoretyczny wynikający z koncepcji „przewodnika rdzeniowego”

zaś ostatnia praca Dryla (1963). Udowodniono w niej po pierwsze, że reakcja nie jest tylko z pozoru skośna, bo w samej pracy urzęsienia odpowiada jej skośny rozkład efektu Ludloff’a; po drugie, Dryl wykazuje, ponad wszelką wątpliwość, że wystąpienie galwanotaksji skośnej związane jest z sąsiedztwem szklanej płytki stanowiącej dno kiuwety. Bardziej dyskusyjne wydają się w tej pracy próby wyjaśnienia tego zjawiska wpływem pól magnetycznych, jakie miałyby powstawać między powierzchnią płytki a powierzchnią płynącego pierwotniaka. Jest przecież możliwe, że asymetria reakcji wiąże się tylko z asymetrią samego ruchu *Paramecium*, tzn. z lewostronną spiralizacją płynącego pierwotniaka.

Okazuje się wobec tego, że teoria elektrotoniczna, sformułowana dla normalnej galwanotaksji *Paramecium*, tłumaczy równie dobrze zachowanie się *Spirostomum* w polu elektrycznym, względną trwałość pozycji transwersalnej *Spirostomum* i *Paramecium* w prądach słabych, a być może również interpretacja galwanotaksji skośnej u *Paramecium* nie wymaga wprowadzania dodatkowych czynników.

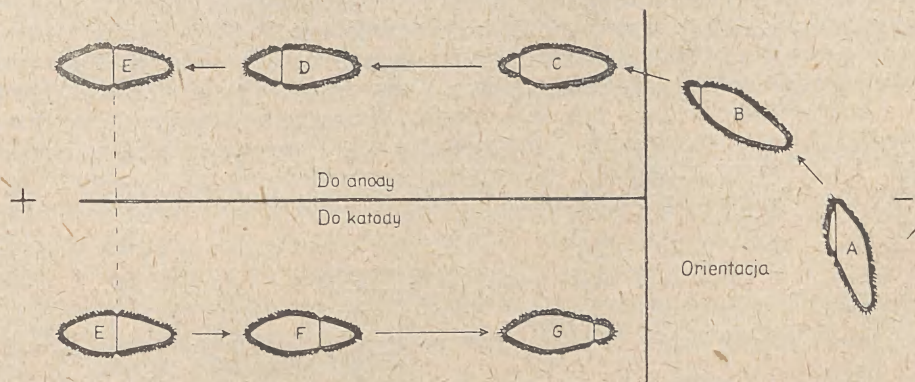
GALWANOTAKSJA W TRAKCIE REWERSJI RUCHU RZĘSEK

Wiadomo już dość dawno, że niektóre kationy wprowadzone w nadmiarze do środowiska powodują rewersję ruchu rzęsek i ruch *Paramecium* tyłem trwający czasem nawet kilka minut (Mast i Nadler, 1926; Oliphant, 1938 i 1942; Kamada, 1940). Najskuteczniejszy wydaje się potas. Z pozoru wydaje się, że skoro potas daje rewersję rzęskową, a galwanotaksja polega również na rewersji katelektrotonicznej, to oba czynniki zastosowane na raz mogą najwyżej wzmacniać się wzajemnie.

Eksperyment (Grębecki, 1962a) wykazał, że jest odwrotnie: odpowiednio silny prąd właśnie renormalizuje pracę rzęsek uprzednio odwróconych chemicznie, a wyłączenie obwodu w każdej chwili przywraca rewersję. W trakcie dalszych doświadczeń (Grębecki, 1963d) zbadano więc systematycznie zachowanie się pierwotniaków w polu elektrycznym w trakcie rewersji wywołanej potasem.

Galwanotaksja renormalizująca rewersję chemiczną jest wielofazowa. W słabym prądzie pierwotniaki płyną tyłem prosto do anody, w nieco silniejszym cofają się ku tej elektrodzie po liniach ukośnych. Następuje wreszcie faza równowagi, gdy część osobników cofa się skośnie do anody, a inne — po innym skosie — posuwają się już przodem ku katodzie. Oczywiście jest to swoisty efekt grupy, bo dla każdego konkretnego pierwotniaka moment zrównoważenia następuje przy ściśle określonym natężeniu pola elektrycznego. Następną fazą jest, z natury rzeczy, ruch wszystkich osobników skośnie przodem do katody, a wreszcie na koniec — w jeszcze silniejszych prądach — ruch prosto ku katodzie.

Interesujące wyniki przynosi analiza zmian szybkości ruchu *Paramecium* cofającego się ku anodzie oraz *Paramecium* posuwającego się ku katodzie w prądach renormalizujących pracę rzęsek. Okazało się, że w fazie cofania się ku anodzie, choć kierunek samego ruchu i kierunek



Rys. 5. Schemat tłumaczący zachowanie się w polu prądu stałego pierwotniaka, u którego uprzednio wywołano chemicznie odwrócenie ruchu rzęsek. Szczegóły w tekście

galwanotaksji są odwrotne niż zwykle, to jednak zmiany szybkości są identyczne, jak przy galwanotaksji normalnej: im silniejszy prąd, tym wolniej płynie pierwotniak.

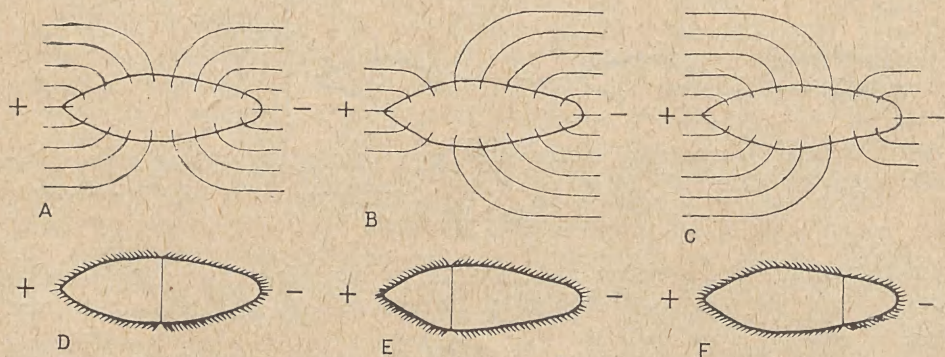
Wreszcie zwalnianie ruchu prowadzi do zatrzymania się w momencie zrównoważenia. Faza ruchu przodem do katody — odwrotnie — choć normalna z punktu widzenia kierunku, jest anormalna, jeśli chodzi o szybkość. W tym przypadku wzrost gęstości prądu powoduje właśnie przyspieszanie ruchu pierwotniaka.

Mikroskopowa obserwacja pracy rzęsek tłumaczy te zjawiska. Rys. 5 przedstawia schemat omawianej reakcji. Pantofelek przechodzący chemiczną rewersję ruchu rzęsek zwraca się tyłem ku anodzie dzięki renormalizującemu działaniu tej elektrody. Postać pola renormalizacji anodowej ściśle odpowiada efektowi Ludloff'a (rys. 5 A,B,C). Także i w tym przypadku strefa pobudzenia anelektrotonicznego rozszerza się przy in-

sygnalizacji bodźca, wobec czego ruch wsteczny ulega zwolnieniu, bo coraz więcej rzęsek zostaje zrenormalizowanych (rys. 5 C,D,E). Przychodzi równowaga (rys. 5 E). Wreszcie renormalizujący efekt anody przekracza połowę ciała i pierwotniak posuwa się przodem ku katodzie. Posuwa się ku niej coraz prędzej, jeżeli zwiększać gęstość prądu, bo pole pobudzenia anelektrotonicznego może jeszcze bardziej się rozszerzać (rys. 5 E, F, G).

A zatem wszystkie osobliwości galwanotaksji pantofelków, przechodzących chemiczną rewersję rzęsek, wynikają stąd, że reakcja ta zachodzi pod przemożnym wpływem efektów anelektrotonicznych, podczas gdy galwanotaksja normalna zachodzi przy przewadze efektów katelektrotonicznych. Wobec tego i ten przypadek zachowania się pierwotniaka w polu elektrycznym, choć nie jest rozpatrywany w oryginalnym schemacie teorii elektrotonicznej, daje się doskonale interpretować właśnie w jej kategoriach. Prowadzi to jednak do pewnego uzupełnienia teorii.

Otóż, teoria elektrotoniczna w wersji J a h n a (1961) nie zakłada zróżnicowania wrażliwości *Paramecium* na pobudzenie katelektrotoniczne i anelektrotoniczne. Przedstawia to rys. 6 A pokazujący hipotetyczny rozkład linii sił pola, jaki wynikałby ze schematu Jahna. W takim razie zawsze pole pobudzenia katodowego i pobudzenia anodowego powinny oba sięgać najwyżej do połowy ciała, jak to przedstawia rys. 6 D. W rzeczywistości już K a m a d a (1931) stwierdził, że przy normalnej galwanotaksji pole rewersyjne może przekraczać połowę ciała (rys. 6 E), a obecnie (Grębecki, 1963d) okazało się, że u pantofelków przechodzących rewersję chemiczną pole renormalizacyjne również sięga znacznie dalej do przodu (rys. 6 F). Takim sytuacjom powinny więc odpowiadać raczej układy linii sił pola elektrycznego naszkicowane na rys. 6 B i 6 C. Schematy te ozna-



Rys. 6. Wrażliwość katelektrotoniczna i anelektrotoniczna *Paramecium*: według niezmodyfikowanej teorii Jahna (A i D), rzeczywisty stan rzeczy u osobnika normalnego (B i E) oraz u osobnika przechodzącego chemiczną rewersję ruchu rzęsek (C i F)

czają zaś, że pantofelek normalny jest czulszy na katelektrotonus, a pierwotniak przechodzący rewersję wywołaną potasem — odwrotnie — staje się wrażliwszy na anelektrotonus.

W ten sposób staje się zrozumiałe dlaczego, pomimo jednoczesnego wpływu obu elektrod, ruch pierwotniaka w polu prądu stałego ulega zawsze zwolnieniu: ruch normalny jest hamowany przez przewagę rewer-

syjnie działającego efektu katodowego, a ruch wsteczny — przez przewagę renormalizującego efektu anodowego. Ten zasadniczy wniosek daje się też poprzeć najnowszymi wynikami szkoły japońskiej (Ueda, 1961b) dowodzącymi istnienia wyższego oporu błony komórkowej *Opalina* wobec prądów wchodzących do komórki, niż wobec wychodzących z niej.

ROLA POTASU I WAPNIA W POBUDLIWOŚCI ELEKTROTONICZNEJ

Od dość dawna znany jest antagonistyczny wpływ jonów K^+ i Ca^{2+} na reakcje ruchowe *Paramecium* i *Opalina*. Potasowa rewersja ruchu rzęskowego jest hamowana przez nadmiar jonów wapnia w środowisku (Kamada, 1940); wapń zewnętrzny hamuje podobnie rewersję katodową. Z drugiej strony wiadomo powszechnie, że dodanie potasu do środowiska znosi przyspieszenie ruchu powodowane przez jony wapnia; ponadto utrudnia to renormalizacyjny efekt anodowy (Grębecki, 1963d).

Biorąc ponadto pod uwagę, że zarówno potas zewnętrzny, jak efekt katodowy depolaryzują błonę komórki pierwotniaczey (Kamada, 1934; Kinoshita, 1954; Naitoh, 1958; Yamaguchi, 1960; Ueda, 1961a), natomiast zarówno jony wapnia, jak efekt anodowy działają hyperpolaryzująco (Yamaguchi, 1960; Ueda, 1961a), zaproponowano (Grębecki, 1963d) określenie działania K^+ jako katelektrotonusa chemicznego, a działanie Ca^{2+} jako anelektrotonusa chemicznego. Prawie w identyczny sposób analogizuje te same bodźce elektryczne i chemiczne Tobias (1960) dla komórki nerwowej⁴.

W tym świetle sprawą istotną wydaje się określenie charakteru stosunków między obu antagonistycznymi parami bodźców elektrycznych i chemicznych. Przede wszystkim zanalizowano (Grębecki, 1963d) zależność między stężeniem jonów potasu, wywołujących rewersję pracy rzęsek, a efektem renormalizującym anody. Zgodnie z założeniami zaproponowanej powyżej analogii efektów elektrotonicznych i chemicznych, oraz zgodnie z klasycznymi potasowymi teoriami biopotencjałów, zależność ta okazała się ściśle liniowa.

W celu zyskania metodycznych podstaw dalszych badań wydaje się pożądane ilościowe określenie antagonistycznych stosunków K^+ i Ca^{2+} . Podjęta w przeszłości próba sprecyzowania tej zależności (Kamada i Kinoshita, 1940) nie powiodła się. Ostatnio (Grębecki, w druku) udało się określić doświadczalnie matematyczny wyraz stanu zrównoważenia efektów potasu i wapnia⁵.

Pierwotniaki zachowują się jednakowo i jednakowa jest ich pobudliwość elektrotoniczna, niezależnie od bezwzględnych wartości stężeń, jeżeli:

$$\log [K^+] - 0,43 \log [Ca^{2+}] = \text{const.} \quad (1)$$

⁴ Fabre (1947) nazwał chemicznym katelektrotonusem odwapniające działanie cytrynianów na *P. caudatum*. Jak stwierdzono (Grębecki 1962a), odwapnienie środowiska i błony komórkowej znosi wszelką pobudliwość pierwotniaka na bodźce elektryczne i chemiczne, lepiej więc byłoby może mówić w tym przypadku o efekcie „atonicznym”.

⁵ Praca opublikowana: Grębecki A., Acta Protozool., 2, 1964, s. 69—79.

Współcześnie J a h n (1962) wykazuje teoretycznie, na podstawie danych Kamady i Kinosity (1940), że zrównoważenie potas/wapń powinno spełniać postulaty stosunku Donnana, tzn. powinno nastąpić jeżeli:

$$\frac{[K^+]}{\sqrt{[Ca^{2+}]}} = \text{const.} \quad (2)$$

czyli, jeżeli:

$$\log [K^+] - 0,5 \log [Ca^{2+}] = \text{const.} \quad (3)$$

Zgodność danych eksperymentalnych (1) założeniem J a h n a (3) jest więc tak uderzająca, że istotnie stosunek Donnana wydaje się najprawdłowszym teoretycznym przybliżeniem określającym rozpatrywaną zależność ⁶.

Przedstawione tu próby wykazania i ilościowego scharakteryzowania istniejących zbieżności i antagonizmów w działaniu efektu katodowego, anodowego, zewnętrznego potasu i wapnia w pełni zdają się potwierdzać przedstawione na wstępie koncepcje protozoologów o decydującej roli K^+ i Ca^{2+} w generacji spoczynkowych i czynnościowych potencjałów u pierwotniaków. Są to jednak dane wstępne, które mają stanowić jedynie metodyczne podstawy dalszych badań w tym kierunku.

PERSPEKTYWY

Dalsza weryfikacja i rozbudowa elektrotonicznej teorii pobudzenia u pierwotniaków powinna rozwijać się w kilku kierunkach:

1. Należy zastosować koncepcję podwyższonej pobudliwości katelektrotonicznej przy normalnym stanie pierwotniaka dla interpretacji zachowania się *Paramecium* w polu prądu zmiennego. Można się spodziewać, że u pantofelka normalnego rozwiną się dwa pola rewersji katodowej (bez efektów anelektrotonicznych), a u pantofelka przechodzącego rewersję potasową — dwa pola renormalizacji anodowej; wyjaśniałoby to dotychczasowe wyniki Statkewitscha (1904), Scheminzky i Scheminzky (1926) i Hausmann (1927).

Warto ponadto sprawdzić, czy pobudliwość elektrotoniczna rzęsek peristomalnych *Paramecium* nie jest niższa niż somatycznych, ponieważ tego rodzaju asymetria pobudzenia tłumaczyłaby zmiany charakteru spirali opisywanej przez *Paramecium* przy różnych gęstościach prądu stałego (obserwacje Statkewitscha, 1904 oraz Viaud i Bonaventure, 1956) ⁷.

2. Rzeczą konieczną wydaje się podjęcie próby zastosowania teorii elektrotonicznej w przypadku pierwotniaków zachowujących się w polu prądu stałego odmiennie, niż zwracające się ku katodzie *Paramecium* i *Spirostomum*. Przede wszystkim wymaga rewizji doświadczalnej galwanotaksja *Opalina*, która według Wallengrena (1902) ma być anodowa, co wydaje się szczególnie dziwne, skoro z badań Kinosity

⁶ Zbieżność obu stosunków okazuje się praktycznie zupełna, jeśli przyjąć za podstawę obliczenia, zamiast stężeń jonów, ich aktywności (Grębecki, 1964).

⁷ Istotnie w ostatnich miesiącach udało się wykazać asymetrię w pobudliwości urzęsienia *Paramecium* związaną z bocznym umieszczeniem otworu gębowego u tego pierwotniaka (Grębecki, w druku).

(1954) i jego następców wynika, że katelektrotonus u *Opalina* rozwija się podobnie, jak u *Paramecium*.

Niezmierzalnie interesująca byłaby próba zastosowania teorii elektrotonicznej do zachowania się ameb w polu elektrycznym, lecz aby ją podjąć należałoby najpierw wyrobić sobie eksperymentalnie własny pogląd na przydatność trzech konkurujących dziś teorii ruchu amebowego, tzn. koncepcji skurczu ektoplazmy (Goldacre, 1961), koncepcji skurczu endoplazmy (Allen, 1961) oraz hipotezy „shearing” (Jahn i Rinaldi, 1959 — w oparciu o teorię prądów cytoplazmatycznych Kamiya, 1959).

Analiza zachowania się ameb w polu elektrycznym mogłaby wiązać się w przyszłości z badaniami nad wpływem bodźców elektrotonicznych na działanie innych nierzęskowych struktur kurczliwych w komórkach pierwotniaczych (krążenie wodniczek pokarmowych i prądy cytoplazmatyczne, skurcze wodniczek tętniących⁸, skurcze mionemów *Spirostomum* lub np. *Vorticellidae*).

3. Najbliższym, i być może najważniejszym, zadaniem wydaje się zbadanie jonowego podłoża rozpatrywanych zjawisk. Przede wszystkim należałoby określić ilościowo zależność pobudliwości komórki pierwotniaczej od jonów potasowych i wapniowych. Być może pozwoli to wyjaśnić zarysowujący się paradoks, który polega na tym, że stopniowa redukcja ilości wapnia wymaga pobudliwości, lecz zupełne odwapnienie — odwrotnie — całkowicie ją znosi.

Analiza reakcji ruchowych i zmian pobudliwości w następstwie dekalcyfikacji i rekalkyfikacji dokonywanej zarówno poprzez środowisko, jak i drogą iniekcji, oraz zbadanie wpływu wapnia na ruchy jonów potasu na granicy komórki, prawdopodobnie mogą przyczynić się do wyjaśnienia zasadniczej kwestii, czy jony wapnia działają bezpośrednio na potencjały membranowe i na pobudliwość (Jahn, 1962), czy też — zgodnie z wypowiedzianym na wstępie przypuszczeniem — działają one pośrednio, regulując gospodarkę potasową.

W następstwie zarysowuje się możliwość interpretacji uzyskanej przez niektórych autorów (Bancroft, 1906; Kamada, 1928; Viaud i Bonaventure, 1956) galwanotaksji anodowej (antydomowej) *Paramecium*, która wydaje się swoistym efektem częściowego odwapnienia. Można mieć wreszcie nadzieję, że naszkicowany tu program badawczy pozwoli objąć elektrotoniczną teorią pobudzenia także zjawiska chemotaksji wywoływanej przez kationy.

Przedstawione tu badania i naszkicowane kierunki dalszych poszukiwań można uważać za studia nad zachowaniem się określonej grupy organizmów, albo też uznać je za przyczynek do fizjologii komórek pobudliwych. Jedno i drugie zdaje się na równi słuszne, skoro sam pierwotniak jest w tymże stopniu organizmem o określonym behaviorze, co i pojedynczą komórką pobudliwą. To właśnie wydaje się decydować o jego wielkiej przydatności jako obiektu badań. U tkankowca — od komórkowego podłoża pobudzenia do behavioru organizmu wiedzie droga długa i skomplikowana, u pierwotniaków — sposoby reagowania organizmu zdają się prawie wprost wynikać z samych cytofizjologicznych podstaw pobudliwości.

⁸ Zakończone ostatnio badania wskazały, że reakcja wodniczek tętniących na jony potasu i wapnia oraz na prąd katodowy i anodowy jest rzeczywiście porównywalna z reakcją układu rzęskowego (Czarska, w druku).

LITERATURA

- [1] Allen R., Exp. Cell. Res., suppl. 8, 1961, s. 17—31.
- [2] Alverdes F., Pflügers Archiv 198, 1923, s. 513—542.
- [3] Bancroft F. W., J. Physiol. 34, 1906, s. 444—463.
- [4] Birukoff B., Pflügers-Archiv 111, 1906, s. 95—143.
- [5] Brandt P., Pappas G., J. Biophys. Biochem. Cytol. 8, 1960, s. 675—687.
- [6] Brutkowska M., Acta Protozool. 1, 1963, s. 71—80.
- [7] Buchthal F., Péterfi T., Protoplasma 24, 1937, s. 473—483.
- [8] Butzel H., Brown J., Martin W., Physiol. Zool. 33, 1960, s. 39—41.
- [9] Carlgren O., Z. allg. Physiol. 5, 1905, s. 123—130.
- [10] Chapman-Andresen C., C. R. Trav. Lab. Carlsberg 31, 1958, s. 77—92.
- [11] Chapman-Andresen C., Holter H., Exp. Cell. Res., suppl. 3, 1955, s. 52—63.
- [12] Chejfec M., Acta Biol. Exp. 11, 1937, s. 128—149.
- [13] Dembowski J., Trav. Inst. Nencki 1, 1922, s. 1—16.
- [14] Dembowski J., Acta Biol. Exp. 3, 1929, s. 195—240.
- [15] Dryl S., Acta Biol. Exp. 16, 1952, s. 23—53.
- [16] Dryl S., Acta Biol. Exp. 19, 1959a, s. 83—93.
- [17] Dryl S., J. Protozool. 6 suppl., Abstr. 96, 1959b.
- [18] Dryl S., Bull. Acad. Pol. Sci., S. Sci. Biol. 9, 1961a, s. 71—74.
- [19] Dryl S., Proc. Ist. Internatl. Congr. Protozool., Praha 1961, s. 242—245.
- [20] Dryl S., Acta Protozool. 1, 1963, s. 193—199.
- [21] Fabre P., C. R. Soc. Biol. 141, 1947, s. 880—887.
- [22] Gárdos G., w: *Membrane transport and metabolism* (Proc. Symp. held in Prague, August 1960). Praha 1961.
- [23] Gelfan S., Univ. Calif. Publ. Zool. 29, 1927, s. 453—456.
- [24] Goldacre R., Exp. Cell. Res., suppl. 8, 1961, s. 1—16.
- [25] Grębecki A., Experientia 17, 1961a, s. 93—94.
- [26] Grębecki A., Proc. Ist. Internatl. Congr. Protozool., Praha 1961, s. 240—241.
- [27] Grębecki A., Bull. Biol. France Belgique 96, 1962a, s. 723—754.
- [28] Grębecki A., Bull. Acad. Pol. Sci., S. Sci. Biol. 11, 1962b, s. 483—485.
- [29] Grębecki A., Protoplasma 56, 1963a, s. 80—88.
- [30] Grębecki A., Protoplasma 56, 1963b, s. 89—98.
- [31] Grębecki A., Acta Protozool. 1, 1963c, s. 91—98.
- [32] Grębecki A., Acta Protozool. 1, 1963d, s. 99—112.
- [33] Grębecki A., Kuźnicki L., Acta Biol. Exp. 17, 1956, s. 71—107.
- [34] Grębecki A., Kuźnicki L., Bull. Acad. Pol. Sci., S. Sci. Biol. 9, 1961, s. 459—462.
- [35] Grębecki A., Kuźnicki L., Acta Protozool. 1, 1963, s. 157—164.
- [36] Hausmann G., Biol. Generalis 3, 1927, s. 463—474.
- [37] Hisada M., J. Cell. Comp. Physiol. 50, 1957, s. 57—71.
- [38] Holter H., Internatl. Rev. Cytol. 8, 1959, s. 481—504.
- [39] Holter H., Marshall J. M., C. R. Trav. Lab., Carlsberg 29, 1954, s. 7—37.
- [40] Jahn T. L., J. Protozool. 8, 1961, s. 369—380.
- [41] Jahn T. L., J. Cell. Comp. Physiol. 60, 1962, s. 217—228.
- [42] Jahn T. L., Rinaldi R. A., Biol. Bull. 117, 1959, s. 100—118.
- [43] Jennings H. S., New York 1906.
- [44] Jurand A., J. Protozool. 8, 1961, s. 125—130.
- [45] Kagan D., Trav. Soc. Sci., Wilno 13, 1939.
- [46] Kamada T., J. Fac. Sci. Imp. Univ., Tokyo 2, 1928, s. 20—40.
- [47] Kamada T., J. Fac. Sci. Imp. Univ., Tokyo 2, 1931, s. 229—307.

- [48] Kamada T., J. Exp. Biol. 11, 1934, s. 94—102.
- [49] Kamada T., Proc. Imp. Acad., Tokyo 16, 1940, s. 241—247.
- [50] Kamada T., Kinoshita H., Proc. Imp. Acad., Tokyo 16, 1940, s. 125—130.
- [51] Kamiya N., Protoplasmatologia 8, 1959, s. 1—199.
- [52] Kinoshita H., J. Fac. Sci. Imp. Univ., Tokyo 4, 1936a, s. 163—170.
- [53] Kinoshita H., J. Fac. Sci. Imp. Univ., Tokyo 4, 1936b, s. 171—184.
- [54] Kinoshita H., J. Fac. Sci. Imp. Univ., Tokyo 4, 1936c, s. 185—188.
- [55] Kinoshita H., J. Fac. Sci. Imp. Univ., Tokyo 4, 1936d, s. 189—194.
- [56] Kinoshita H., J. Cell. Comp. Physiol. 12, 1938, s. 103—117.
- [57] Kinoshita H., J. Cell. Comp. Physiol. 13, 1939, s. 253—261.
- [58] Kinoshita H., J. Fac. Sci. Univ., Tokyo 7, 1954, s. 1—14.
- [59] Koehler O., Handb. norm. path. Physiol., 1926, s. 1027—1049.
- [60] Koštojanc H. S., Kokina N. N., Biofizika 3, 1958, s. 422—425.
- [61] Kurella G. A., w: *Membrane transport and metabolism* (Proc. Symp. held in Prague, August 1960), Praha 1961.
- [62] Lewis W. H., Bull. Johns Hopkins Hosp. 49, 1931, s. 17—27.
- [63] Ludloff K., Pflügers Archiv 59, 1895, s. 525—554.
- [64] Mast S. O., Doyle W. L., Protoplasma 20, 1934, s. 555—560.
- [65] Mast S. O., Nadler J. E., J. Morphol. Physiol. 43, 1926, s. 105—117.
- [66] Naitoh Y., Annot. Zool. Japon 31, 1958, s. 59—73.
- [67] Naitoh Y., J. Fac. Sci. Univ., Tokyo 8, 1959, s. 357—369.
- [68] Nasonov D. N., Moskva—Leningrad 1959.
- [69] Okajima A., Japon. J. Zool. 11, 1953, s. 87—100.
- [70] Oliphant J. F., Physiol. Zool. 11, 1938, s. 19—30.
- [71] Oliphant J. F., Physiol. Zool. 15, 1942, s. 443—452.
- [72] Puytorac P., Andrivon C., Serre F., J. Protozool. 10, 1963, s. 10—19.
- [73] Riddle J., Exp. Cell. Res. 26, 1962, s. 158—167.
- [74] Scheminzky Ferd., Scheminzky Fried., Pflügers Archiv 213, 1926, s. 112—118.
- [75] Schumaker V. N., Exp. Cell. Res. 15, 1958, s. 314—331.
- [76] Seaman G., J. Protozool. 8, 1961, s. 204—212.
- [77] Statkewitsch P., Z. allg. Physiol. 4, 1904, s. 296—332.
- [78] Strelnikow D., C. R. Soc. Biol. 100, 1929, s. 1004.
- [79] Telkes M., Am. J. Physiol. 98, 1931, s. 475—483.
- [80] Tobias J. M., J. Gen. Physiol. 43, suppl., 1960, s. 57—71.
- [81] Trošin A. S., Moskva—Leningrad 1956.
- [82] Ueda K., Annot. Zool. Japon. 34, 1961a, s. 99—110.
- [83] Ueda K., Annot. Zool. Japon. 34, 1961b, s. 161—179.
- [84] Umrath K., Protoplasma 47, 1956, s. 347—358.
- [85] Verworn M., Arch. ges. Physiol. 62, 1896, s. 415—450.
- [86] Viaud G., Bonaventure N., Bull. Biol. France Belgique 90, 1956, s. 287—319.
- [87] Wallengren H., Z. allg. Physiol. 1, 1902, s. 341—384.
- [88] Wallengren H., Z. allg. Physiol. 4, 1903, s. 516—555.
- [89] Yamaguchi T., J. Fac. Sci. Univ., Tokyo 8, 1960, s. 573—591.

FIZJOLOGIA CHROMOSOMÓW W ŚWIETLE BADAŃ AUTORADIOGRAFICZNYCH

ZASADA AUTORADIOGRAFII

W ostatnich latach autoradiografia stała się powszechnie stosowaną metodą w badaniach cytologicznych. Zasada autoradiografii jest bardzo prosta: organizm, izolowany organ, komórkę, część komórki albo frakcję organoidów komórkowych inkubuje się z dodatkiem związku chemicznego zawierającego w swych cząsteczkach atomy radioaktywnego pierwiastka. Jeśli związek znakowany radioaktywnym pierwiastkiem zostanie wbudowany w struktury komórkowe, jego obecność może być tam wykryta po położeniu emulsji fotograficznej na mikroskopowych preparatach sporządzonych z badanego obiektu. Promienie wysłane przez radioaktywny pierwiastek rozkładają znajdujące się nad nim ziarna emulsji. Po wywołaniu i utrwaleniu czarne ziarna srebra wskazują lokalizację znakowanego związku w preparacie. Istnieje sporo stosunkowo prostych związków chemicznych (np. aminokwasy, nukleozydy, zasady purynowe), nazwanych prekursorami, które po podaniu żywemu systemowi, włączają się do określonych kategorii związków wielkocząstkowych (białka, kwasy nukleinowe) będących tworzywem elementów strukturalnych komórki. Zastąpienie w prekursorze jednego atomu węgla, fosforu lub siarki odpowiednim izotopem promieniotwórczym, umożliwia przesledzenie jego losów w organizmie. Wszędzie tam bowiem, gdzie wbudował się znakowany prekursor, wykrywa się promieniowanie.

Dokładność lokalizacji radioaktywnego związku (z β -rozpadem) zależy przede wszystkim od energii wysyłanych elektronów. Stosując ^3H -tritium (tryt), z którego cząstki rozchodzą się w wodzie na odległość 6μ , a w emulsji na odległość 2μ , przy czym około 90% z nich przebywa drogę krótszą niż 1μ , osiąga się aktualnie lokalizację znakowanej cząsteczki z dokładnością do około 1μ [22]. W autoradiografii z zastosowaniem mikroskopu elektronowego dokładność lokalizacji osiąga $0,2\mu$ [67]. Energia cząstek wysyłanych przez ^{14}C i ^{35}S jest większa, a w efekcie dokładność autoradiogramów gorsza. Najmniej dokładną lokalizację daje ^{32}P . Metoda autoradiografii pozwala na wykrywanie minimalnych ilości znakowanego ciała, można stwierdzić w komórce obecność kilkudziesięciu atomów ^{32}P albo $5,10^5$ ^{14}C [48], czy. $2,10^4$ ^3H . Jądro komórkowe ssaków zawiera ilości tymidyny rzędu $3,10^9$ cząsteczek [106], a u innych organizmów bywa jej znacznie więcej. Może być więc wykryte przyłączenie znakowanych cząsteczek do 10^{-4} lub nawet 10^{-5} części jądrowego DNA. Takie ilości wymykają się innym metodom cytochemicznym [62, 63, 106, 55] i in.

LOKALIZACJA I SPECYFICZNOŚĆ TYMIDYNY

Wyraz chromosom kojarzy się nam z widocznym w mitozie gęstym pałeczkowatym tworem ostro odcinającym się od protoplazmy. Tymczasem jest to tylko krótki okres w rozwoju chromosomu. W interkinizie następuje rozluźnienie struktury i nawiązanie ścisłego kontaktu z resztą karioplazmy. Wtedy też ujawnia się cała aktywność metaboliczna chromosomu. Kwas dezoksyrybonukleinowy DNA jest stałym składnikiem mitotycznych i interkinetycznych chromosomów (chromatyna) i poza nielicznymi wyjątkami nigdzie więcej na terenie komórki nie jest wykrywany. DNA jest w rezultacie dobrym wyznacznikiem chromatyny i zastosowanie jego specyficznego prekursora, znakowanej tymidyny, ułatwia śledzenie procesów odbywających się w chromosomach [22]. Tymidyna, zawierająca w cząsteczce ^{14}C lub ^3H , według powszechnego mniemania wbudowuje się tylko do DNA [23, 80, 100], a po wbudowaniu się nie jest metabolizowana, pozostając w cząsteczkach przez długi czas [14, 40]. Ilość włączonej tymidyny, oceniana ilością powstałych w emulsji ziaren srebra, pozwala sądzić o tempie syntezy DNA [102].

Wprowadzenie w doświadczeniu do komórki radioaktywnego ciała nie może pozostać bez wpływu na normalne procesy, których obserwację się podejmuje. Tymidyna- ^3H wywołuje zaburzenia w syntezie DNA [45]. Duże jej dawki obniżają aktywność mitotyczną oraz wywołują patologiczne zmiany w jądrze i w przebiegu mitozy [59]. Tymidyna, znakowana ^{14}C bądź ^3H , przy tej samej koncentracji i aktywności specyficznej, wywołuje mniej więcej taki sam procent aberacji chromosomowych. Nie wyjaśniona różnica działania zaznacza się przy zmianie pozycji ^{14}C w cząsteczce. Tymidyna znakowana w pozycji 2 pierścienia pirymidynowego powoduje dwukrotnie mniej zaburzeń niż tymidyna znakowana w grupie metylowej. Słabsze dawki radioaktywnej tymidyny nie odbijają się widocznie ani na częstotliwości, ani na prawidłowości figur mitotycznych i mogą być uchwycone autoradiograficznie, np.: dla korzeni cebuli optymalną jest tymidyna o specyficznej aktywności $45\mu\text{C}/\mu\text{M}$ w rozcieńczeniu $0,375\mu\text{C}/\text{ml}$ [54].

Niezależnie od tego jak radioaktywna tymidyna zmienia materiał badany, jest ona szczególnie niebezpieczna dla eksperymentatora. Jej działanie jest dużo groźniejsze niż wynikałoby z intensywności promieniowania. Nawet minimalne dawki po włączeniu się do dzielących się komórek, trafiają od razu do aparatu genetycznego. W rezultacie mogą ulec niebezpiecznej mutacji komórki dzielące się w ciele dorosłego organizmu, np. komórki szpiku lub komórki generatywne [60].

W zasadzie tymidyna wbudowuje się tylko do DNA zawartego w chromatynie oraz w autoreprodukujących się organoidach komórkowych o dużej autonomii genetycznej, takich jak ciała parabazalne *Trypanosoma* [95] lub chloroplasty [103]. Zresztą o występowaniu DNA w chloroplastach wielokrotnie publikowano sprzeczne dane, głównie wprowadzając negatywne. Ostatnio przy pomocy mikroskopu elektronowego znaleziono DNA w chloroplastach glonu *Chlamydomonas* [83]. Cytoplazma komórek nie zawiera DNA i znów z wyjątkiem cytoplazmy jaj wielu zwierząt, gdzie są duże ilości tego związku lub związków pokrewnych, wykrywanych metodami cytochemicznymi, chemicznymi i autoradiograficznymi [91].

Poza tym jednak opisywano fakt włączania się tymidyny do cyto-

plazmy innych typów komórek, w specjalnych warunkach. W kulturach tkanek pod działaniem kwaśnej dezoksyrybonukleazy [12] lub inhibitora preprofazowego [11] tymidyna włącza się do cytoplazmy. DNA wykrywalny nawet za pomocą reakcji cytochemicznych, pojawia się na mitochondriach. Tymidyna włącza się również do komórek ameby [74 i in.]. Cytoplazmatyczne włączanie się tymidyny może wynikać z uruchomienia zastępczych mechanizmów syntezy DNA w nienaturalnych warunkach. Bardzo długa lub krótka inkubacja też czasami doprowadza do pojawienia się cytoplazmatycznego znakowania [2, 32]. Krańcową tezę wypowiedział zespół angielskich badaczy [25 i in.]. Według nich dotychczasowa opinia o jądrowej lokalizacji jest błędna. W istocie, sądzą oni, synteza DNA jest procesem cytoplazmatycznym, a tylko na okres mitozy DNA przechodzi z cytoplazmy do jądra.

Chociaż nie należy całkowicie wykluczać możliwości działania cytoplazmatycznych mechanizmów syntezy DNA [78], istnieje kilka prawdopodobnych przyczyn powodujących cytoplazmatyczną lokalizację tymidyny: a) w środowisku komórkowym znajduje się nadmiar prekursora, który nie może być włączony do syntetyzującego się DNA, b) podejrzewa się, że tydymina znakowana tritium posiada atomy ^3H nie tylko w swej części pirymidynowej, ale i dezoksyrybozowej; przy inkubacji obie części mogą się rozdzielić i wtedy pojawia się niespecyficzne znakowanie cukrem — dezoksyrybozą, c) promieniowanie tritium z tymidyny może uradioaktywnić inne związki chemiczne w środowisku, d) istnieje możliwość [6] enzymatycznego przekształcania rybonukleozydów w odpowiednie dezoksyrybonukleozydy w komórce.

Wspomniano, że DNA jest stałym składnikiem chromatyny jąder komórkowych, ale czasami były obserwowane trudne do wyjaśnienia wyjątki; mianowicie u wielu gatunków jądra komórek jajowych nie zawierają DNA wykrywalnego cytochemicznie — metodą Feulgena. Negatywne wyniki tłumaczono rozcieńczeniem DNA w karioplazmie przekraczającym czułość reakcji, lub uznawano brak DNA za fakt udowodniony i wysnuwano daleko idące konsekwencje teoretyczne, podważające hipotezę o genetycznej roli tego związku. Tymczasem Feulgen — negatywne jądra komórek jajowych paproci *Pteridium aquilinum* przyłączają tymidynę do swego DNA i są oznakowane na autoradiogramach [4]. U pszenicy również analogiczne jądra komórek jajowych wykazują fluorescencję charakterystyczną dla zabarwionego fluorochromem DNA [24]. Włączanie tymidyny do makronukleus pierwotniaka *Euplotes* odbywa się właśnie w specjalnej Feulgen negatywnej strefie, w której syntetyzuje się DNA [79].

CZAS SYNTEZY DNA

Przy analizie chemicznej i cytochemicznej chromosomów wykrywa się w nich stale trzy zasadnicze składniki: białka histonowe, białka resztkowe i DNA; w mniejszych ilościach znajduje się RNA (kwas rybonukleinowy). Opisywano także występowanie innych związków, rola ich jest jednak zupełnie niejasna. Ośrodkiem zainteresowania skupiającym poważną ilość badań jest DNA. Nic w tym dziwnego, ponieważ DNA to jedyny związek chemiczny o znanej roli w przekazywaniu informacji

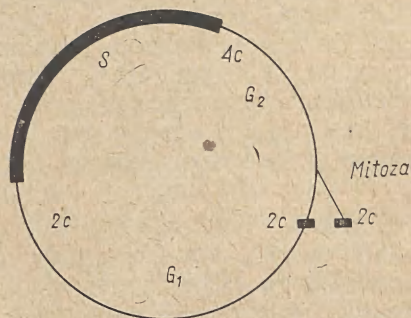
genetycznej [85]. Intensywnym badaniom sprzyja (i z nich wynika) opracowanie wygodnych i stosunkowo prostych metod wykrywania jakościowego i oznaczania ilościowego DNA w komórce.

Synteza DNA jest ograniczona do określonej fazy cyklu rozwojowego komórki i odbywa się tylko przed podwajaniem się chromosomów. Podczas jednego okresu syntezy wytwarza się nowa porcja DNA równa ilościowo i jakościowo (genetycznie) porcji już istniejącej — w rezultacie następuje podwojenie się cząsteczek związku. W jądrach, które ulegają poliploidyzacji, ilość DNA zwiększa się proporcjonalnie do ilości chromosomów.

Howard i Pelc [38] w 1951 r. inkubowali kiełkujący bób z fosforanem piętnowanym ^{32}P . W merystemach korzeni bobu interkineza trwa około 30 godz., przy tym w ośmiu środkowych godzinach odbywa się włączanie fosforu do DNA. Stwierdzono wtedy, że synteza DNA trwa stosunkowo krótko w porównaniu z całym czasem upływającym pomiędzy kolejnymi podziałami. Na tymże materiale potwierdzono to wkrótce metodą fotometryczną [17]. Wiele innych obiektów wykazuje podobną prawidłowość [15]. W epitelach różnych organów myszy synteza trwa około 7—8 godz., niezależnie od stopnia ploidalności jąder [44, 15]. Zbliżone rezultaty daje dokładniejsza metoda podwójnej autoradiografii z tymidyną- ^{14}C i tymidyną- ^3H [72]. Niekiedy okres syntezy się rozciąga, jak np. w komórkach nabłonkowych żaby, do 48 godz. [76]. Na ogół wydłużonym okresem charakteryzują się powoli dzielące się komórki. W szybko dzie-

Rys. 1

S — okres syntezy DNA, G_1 — interfaza od końca mitozy do S , G_2 — okres od końca S do profazy, $2c$ — dwie chromatydy w chromosomach, $4c$ — cztery chromatydy.



jących się synteza zajmuje całą, krótką interkinezę. Interkinezę różnicuje się na trzy części: G_1 - okres pomiędzy końcem mitozy a początkiem syntezy, S - okres syntezy i G_2 - okres od końca S do początku profazy (rys. 1).

Z różnorodnych badań wiadomo, że w interkinezie inne składniki chromosomu są również syntetyzowane. Synteza histonów przebiega prawdopodobnie równolegle do syntezy DNA. Białka niehistonowe (resztkowe) syntetyzują się przez całą interkinezę, bez wyraźnej korelacji z poprzednio wspomnianymi procesami. Intensywność syntezy RNA, natomiast, jest odwrotnie proporcjonalna do syntezy DNA.

REPLIKACJA DNA CHROMOSOMU

Podczas syntezy w przygotowującym się do podziału jądrze ilość DNA ulega podwojeniu z $2c$ (wartość w jądrze dipoidalnym) do $4c$, a następnie zostaje równo podzielona między oba potomne jądra. Jeżeli w środowisku znajduje się radioaktywny prekursor, np. tymidyna- ^3H , to zostają ozna-

kowane tylko te jądra, w których akurat w tym momencie odbywa się replikacja (synteza) DNA. W kilka godzin po ukończeniu syntezy w oznakowanym jądrze uwidaczniają się chromosomy, w nich będzie się mieścił cały materiał radioaktywny.

Aby prześledzić los nowo zsyntetyzowanego DNA, należy obserwować drugi i ewentualnie dalsze podziały po wbudowaniu się tymidyny-³H. Osiąga się to, gdy rośliny, lub kultury komórek zwierzęcych, po inkubacji z radioaktywnym prekursorem przenosi się do roztworu kolchicyny. W konsekwencji powstają poliploidalne komórki, w których po liczbie chromosomów określa się, ile podziałów odbyło się od końca inkubacji. Komórki z tetraploidalnymi metafazami przeszły dwa podziały, z oktoploidalnymi — trzy. W pierwszym podziale, po wbudowaniu się tymidyny, znakowane są wszystkie chromosomy. W drugim, ogromna większość płytek metafazowych ma oznakowaną jedynie połowę chromosomów. Jeśli siostrzane chromosomy, jak się to często zdarza, pozostają połączone, okazuje się, że tylko jeden z nich niesie znakowany DNA [98, 99]. Zreferowane badania, prowadzone przez Taylora w latach 1957—1959, były wielokrotnie krytykowane [np. 73, 75], ale ostatecznie potwierdzone, przy tym na kulturach leukocytów udało się aż w czterech kolejnych podziałach śledzić los znakowanych chromosomów [77]. Dalsza dyskusja, przynajmniej na razie, wygasa.

Z poglądem ograniczającym metabolizm DNA tylko do okresu replikacji przed mitozą nie zgadza się kilku autorów. W serii prac autoradiograficznych Pelc [66 i in.] znajduje jądra, które przyłączają prekursorzy bez zwiększenia zawartości DNA, czyli nie przechodzą z poziomu 2c na 4c. W tkankach zwierzęcych albo istnieje zgodność pomiędzy ilością przyłączonego prekursora a wskaźnikiem mitotycznym, albo często tej zgodności nie ma, a wtedy aktywność mitotyczna jest nieproporcjonalnie słaba w porównaniu z intensywnością znakowania. Na podstawie tej rozbieżności sugeruje się, że w jądrach odbywa się wymiana części lub nawet całego DNA.

W oocytach owada *Tipula* obok chromosomów są ciała zawierające nadliczbowy DNA, w ilości większej niż w samych chromosomach. Te Feulgen pozytywne ciała znikają w diplotenie, a ich materiał (metaboliczny DNA) jest prawdopodobnie wykorzystany do budowy chromatyny [51]. Reutilizacja zewnętrznego DNA może zachodzić w komórkach somatycznych [82], ale w pylnikach lilii DNA jąder *tapetum*, odżywiającego pyłek, nie wykorzystuje się w czasie rozwoju, chociaż jądra ulegają rozpadowi [96].

U roślin, podobnie jak u zwierząt, stwierdzono znakowanie się jąder komórkowych w strefie, gdzie nie ma podziałów, ani, jak przypuszczano, endomitoz [69]. Indywidualne pomiary oznakowanych jąder wykazały w nich zawartości DNA pośrednie pomiędzy 2c a 4c, czyli znakowanie się tymidyną było wynikiem replikacji DNA w endomitozie, a nie „metabolizmem” [104].

Jednak doniesienia o niestałości metabolicznej DNA pojawiają się dosyć uparczywie i trudno sądzić, jak chcą niektórzy [28], że są one wynikiem tylko błędów metodycznych. W erytrocytach kaczki metabolizm znakowanego ¹⁴C DNA jest wyraźny, chociaż słabszy niż znakowanej hemoglobiny [5]. Radioaktywna tymidyna włączona do wątroby i innych organów oraz komórek zwierzęcych, po kilku lub kilkudziesięciu dniach,

znika częściowo z DNA badanych jąder komórkowych, chociaż powinna tam pozostawać stale [18, 9, 29].

Według przedstawionego schematu replikacji, DNA chromosomu zsyntetyzowany przed mitozą stanowi nienaruszalną jednostkę, która zachowuje indywidualność poprzez kolejne podziały. Chromosom przed replikacją składa się z 2 pasm (jednostek). Każda z nich ulega podwojeniu, a przy podziale oba potomne chromosomy dostają jedno stare i jedno nowe pasmo — stąd wszystkie chromosomy są oznakowane w I podziale po wbudowaniu się radioaktywnego prekursora. Istnieje wyraźne podobieństwo pomiędzy mechanizmem replikacji DNA całego chromosomu a opracowanym przez Watsona i Cricka modelem semikonserwatywnej replikacji cząsteczki DNA. Trzeba tylko pamiętać, że replikująca się jednostka chromosomowa posiada średnicę rzędu mikrona, a molekuła milimikrona.

ZNAKOWANIE CHROMATYNY W INTERKINEZIE

Jądra interkinetyczne mogą syntetyzować DNA. Jeśli synteza odbyła się w środowisku z radioaktywnym prekursorem, to jądro staje się radioaktywne. Nad nim, w emulsji autoradiogramu, powstaje gęste skupienie czarnych ziaren. W przypadku, kiedy prekursor jest dostępny podczas części okresu syntezy, oznakowane będą tylko niektóre partie jądra. Strefa przyjąderkowa jest pierwszym miejscem znakującym się tymidyną w komórkach zwierzęcych, dopiero później znakowanie rozciąga się na resztę karioplazmy [57, 35, 32]. Podobną sytuację obserwowano w jądrach bielma grochu [86]. U bobu materiał radioaktywny ujawnia się początkowo w krótkich, a następnie coraz dłuższych odcinkach nici chromatynowych, upodabniając się żywo do autoradiogramu chromosomów mitotycznych (rys. 2b).

Chromatyna jąder składa się z eu- i heterochromatyny różniących się od siebie morfologicznie i fizjologicznie. Jedną z cech heterochromatyny jest opóźniona synteza DNA w porównaniu z euchromatyną. Zaobserwowano to w komórkach płciowych żyta, konika polnego i gruczołach przednych jedwabnika [50, 41]. Wymienione komórki posiadają wyraźne i duże formacje heterochromatynowe. Przynajmniej częściową asynchroniczność replikacji heterochromatyny zaobserwowano w zwierzęcych chromosomach płciowych [100, 58 i in.], ale u roślin *Fritillaria* i *Scilla* moment znakowania heterochromatyny zależy od jej pozycji w chromosomie [70]. *Fritillaria* ma ogromne segmenty heterochromatynowe przy kinetochorach i te znakują się po euchromatynie. Heterochromatyna u *Scilla* jest distalna (przy końcach ramion chromosomów) i znakuje się przed euchromatyną. Replikacja DNA w chromosomach interkinetycznych, wg tych badań, biegnie od końców ramion do kinetochoru.

Szczególne stosunki istnieją w makronukleusie pierwotniaka *Euplotes*. Makronukleus jest dużym, silnie wydłużonym ciałem o wymiarach $140 \times 7 \mu$. Z początkiem syntezy DNA na biegunach jądra pojawiają się pasma reorganizacji, wędrujące stopniowo do równika. Synteza odbywa się tylko w przesuwającym się pasmie [26, 79], gdzie zachodzą też zmiany morfologiczne. Ziarniste struktury z DNA ulegają rozproszeniu i na ich miejsce uwidaczniają się nici o średnicy $110 \text{ \AA}$, które w strefie przy-

łączenia tymidyny zamieniają się w masę cieńszych, słabo zaznaczających się fibryl [43, 19]. Obszar ten jest Feulgen — negatywny, podczas gdy jądro przed i za nim daje reakcję na DNA. W strefie syntezy DNA odbywa się również synteza białek unaoczniona dzięki włączeniu histydyny, natomiast RNA nie jest syntetyzowany ani nawet możliwy do wykrycia. Przed pasmem reorganizacji RNA zanika i pojawia się poza nim, gdy synteza DNA zostaje ukończona [79]. W makronukleus innych pierwotniaków nie znaleziono podobnych procesów [7, 34].

Dokładną analizę lokalizacji syntezy w jądrach interkinetycznych uzyskano przez zastosowanie do autoradiografii mikroskopu elektronowego [81, 36]. Należy wspomnieć, że metoda jest stosunkowo nowa i znajduje się jeszcze w fazie technicznego udoskonalania. W jądrach komórkowych regenerującej tkanki odnoży salamandry, DNP (dezoksyrybonukleoproteid) uformowany jest w kształcie sieci z połączonych nitek o średnicy 50—75Å. Zwartość sieci DNP nie jest jednolita. Części odpowiadające chromocentrom są zgęszczone, a pasma odpowiadające euchromatynie luźne, z pojedynczymi nićmi będącymi w ścisłym kontakcie z ziarnistym sokiem jądrowym. Prawdopodobnie analogiczne nici przenizują jąderko wątroby szczura. Mogą one syntetyzować DNA, ale nie są połączone z elementami strukturalnymi jąderka [1]. Autorzy przypuszczają, że DNP znajduje się w stanie retikularnego żelu. Synteza DNP odbywa się przede wszystkim w chromatinie rozproszonej, natomiast chromatyna zasocjowana w chromocentrach i chromosomach jest mało aktywna fizjologicznie. U zwierząt autorzy wyróżniają dwa krańcowe typy struktury jąder — duże pęcherzykowate z rozproszoną chromatyną, jak np. w rosnących nabłonkach w wielu typach tkanek embrionalnych i in.; prawie wszędzie syntetyzują się tam aktywnie kwasy nukleinowe i białka; na drugim krańcu są jądra o wyraźnej strukturalizowanej chromatynie, np. czerwone krwinki płazów, które mają minimalną zdolność do syntezy [36]. Zbyt szeroka generalizacja nie wydaje się słuszną, ponieważ chromosomy śliniankowe u *Drosophila* są zdolne do poważnej syntezy białek i RNA.

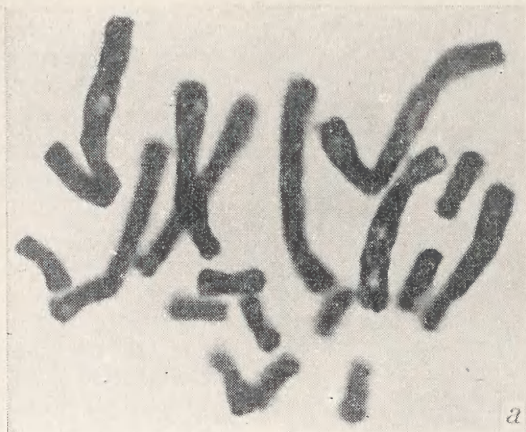
ASYNCHRONIA SYNTEZY DNA W CHROMOSOMIE

Synteza DNA nie odbywa się jednocześnie wzdłuż całego chromosomu, a czasem również niejednocześnie w różnych chromosomach zespołu. W rezultacie wyróżnia się asynchronię wewnątrzchromosomową i międzychromosomową.

Jak już wspomniano, udostępnienie komórce radioaktywnego prekursora przez czas krótszy od czasu trwania syntezy DNA umożliwi ozna-

Rys. 2 a, c — f Chromosomy *Haemaphysalis Katharinae*.

a — zespół chromosomów. b — Jądro komórki korzenia bobu z pasmami chromatyny częściowo oznakowanymi tymidyną-³H. c — Duże chromosomy oznakowane mniej więcej jednolicie, małe oznakowane mocniej przy kinetochorach. Prekursor (tymidyna-³H) był dostępny pod koniec S. d — 3 duże chromosomy oznakowane całkowicie, 10 małych słabo oznakowanych przy kinetochorach. e — Długie chromosomy ze słabym rozproszonym znakowaniem, jeden z nich ma dwie strefy silniej oznakowane. f — Na odpowiadających strefach 2 długich chromosomów silniejsze znakowanie. Kolejno na c—f prekursor włączał się przez coraz krótszy czas pod koniec syntezy DNA. (Rodkiewicz i Olszewska)



a



b



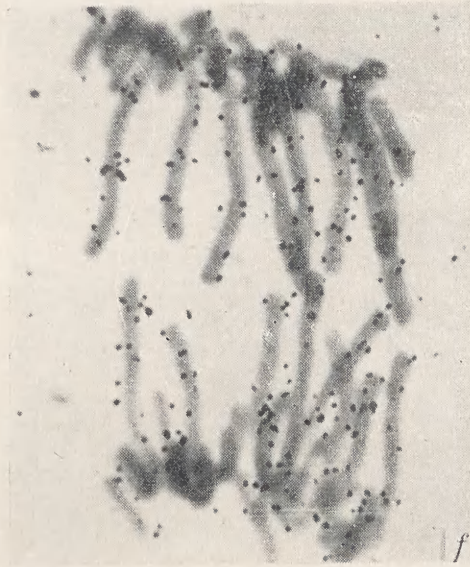
c



d



e



f

kowanie tylko części tego związku. W kilka godzin po inkubacji pojawiają się nie w pełni znakowane chromosomy mitotyczne. Znając długość okresów interkinezy S i G_2 , określa się, kiedy tymidyna została przyłączona do radioaktywnej strefy chromosomu. Na przykład u *Tradescantia paludosa* w cyklu rozwoju komórki merystematycznej korzenia S (synteza DNA) zajmuje 10,8 godz., a następnie po 2,7 godz. rozpoczyna się mitoza trwająca 2,5 godz. Wiadomo wtedy, że po 15 min. inkubacji z tymidyną- 3H i dalszych 3 godz. bez niej, w chromosomach znajduje się znakowany DNA, który się utworzył w końcowym okresie syntezy [101].

Jak się zdaje, nie ma ściśle jednakowego schematu replikacji chromosomowych jednostek DNA ani w zespolach, ani w pojedynczych chromosomach. Sprawę komplikuje występowanie niejednakowych harmonogramów syntezy, nawet w chromosomach jednego zespołu [30, 31]. W dwu z pięciu badanych pod tym względem chromosomów człowieka, synteza kończyła się przy kinetochorach, ale trzy inne zachowywały się odmiennie [56].

Bakteria *Escherichia coli* posiada bardzo prosto zbudowany chromosom, zawierający prawdopodobnie jedną makrocząsteczkę DNA w kształcie podwójnej spirali. Wyizolowane i rozwinięte pasmo DNA z chromosomu mierzy około 1000μ . W przeciągu 3 min. inkubacji bakterii z tymidyną- 3H , około 80μ pasma zostaje oznakowane. Znakowanie cząsteczki rozpoczyna się z jednego końca i stopniowo rozprzestrzenia się na całość. Przy replikacji pasmo DNA rozdwa się przybierając kształt widełkowaty. Każde ramię widełek jest zbudowane z dwu łańcuchów polinukleotydowych, jednego starego i jednego nowego [8].

Jeśli nie wnikać w szczegóły, to powyższy schemat replikacji chromosomu bakterii stosuje się do chromosomów innych organizmów. U roślin *Crepis* [99] i *Fritillaria* [70] oraz u człowieka [77] synteza rozpoczyna się przy końcach chromosomów, a ustaje przy kinetochorach. W schemacie sposób rozdzielenia się replikujących się jednostek przypomina otwieranie się błyskawicznego zamka, w istocie nawet nieco bardziej szczegółowy schemat jest trudny do ustalenia. Zdarza się, że w chromosomie są strefy o nierównej intensywności czy nierównym czasie trwania syntezy. U trzykrotki główna fala syntezy biegnie zgodnie z opisanym schematem, ale po tym przy końcach długich ramion pozostają aktywne segmenty, gdzie odbywa się niejako uzupełniające włączanie tymidyny [101].

Przynajmniej jedna para długich chromosomów *Haemanthus* wykazuje asynchroniczną syntezę. W końcu okresu S , kiedy chromosomy są już naładowane DNA, odbywa się jeszcze słabe rozproszone włączanie tymidyny- 3H do długich chromosomów. Prócz tego wspomniana para posiada bardziej aktywne strefy, jedną przy końcu, a drugą bliżej środka długiego ramienia (rys. 2 e, f) [87]. Zjawisko nierównoczesnego znakowania odpowiada być może dwom szczytom aktywności syntetycznej w jądrze. Synteza w merystemie korzeni bobu posiada wyraźny szczyt nasilenia w środku interkinezy i niższy przed profazą [37]. Z pierwszym zbiega się synteza w całych, lub prawie całych chromosomach, drugim szczytowi odpowiada synteza w oddzielnych, spóźnionych strefach [104]. Nierównomierność syntezy nie jest prawidłowością ogólną, ponieważ np. w jądrach nabłonków myszy tempo syntezy jest stałe [44].

Rozważając wtórne znakowanie, opóźnianie się i nierówne tempo syntezy w różnych segmentach chromosomu, wydaje się mało prawdopodobne aby DNA chromosomu stanowił jedno ciągłe pasmo [64].

ASYNCHRONIA MIĘDZYCHROMOSOMOWA

Asynchroniczna synteza DNA w różnych chromosomach zespołu zo- stała zauważona w kulturach normalnych i rakowatych tkanek zwierzę- cych oraz w korzeniach roślin. Samice chomika mają dwa chromosomy płciowe x . W kulturach tkankowych jeden cały chromosom x i część drugiego zaczyna i kończy syntezę później niż reszta chromosomów [100]. Chromosomy płciowe samców, a mianowicie część chromosomu x i cały y również się opóźniały.

W kulturach tkanek ludzkich proces przedstawia się nieco inaczej. Chromosomy osobników męskich z normalnym układem xy nie wykazują asynchronii [58]. Pojawia się ona u nienormalnych męskich organizmów z nadliczbowymi chromosomami $xxxxy$. Trzy nadliczbowe x opóźniają się z syntezą DNA. Chromosomy dodatkowe w opisywanych przypadkach miały stosunkowo mały wpływ na charakter rozwoju osobników, w porównaniu z działaniem nadliczbowych autosomów. Słabe działanie nadliczbowych x wiąże się z ich osłabioną aktywnością fizjologiczną [88]. W komórkach pochodzących z żeńskich osobników jeden z dwu chromo- somów x syntetyzował DNA z opóźnieniem. Ten właśnie chromosom pozostaje prawdopodobnie w jądrze interfazalnym w postaci grudki chro- matyny płciowej, nazwanej ciałkiem Barra. Komórki typu xo (żeńskie z jednym tylko chromosomem x) nie mają płciowej chromatyny — cia- łek Barra. Ich jedyny x jest synchroniczny z autosomami. Z analizy wy- nika, że asynchroniczne segmenty chromosomu x są heterochromatynowe. Nie są one ściśle zlokalizowane w chromosomie, a co więcej mogą po- wstawać i zanikać w zależności od środowiska komórkowego. Należy sądzić, że segmenty heterochromatynowe przekształcają się w euchroma- tynowe i *vice versa* [58]. Asynchronia zdarza się nawet w odpowiadają- cych sobie odcinkach par chromosomów homologicznych [30].

Chromosomy rakowatych komórek HeLa wchodzą prawie równocze- śnie, w ciągu kilkunastu minut, w fazę S trwającą 5—6 godz. Zakończenie syntezy w poszczególnych chromosomach jest mniej zgodne i rozciąga się w granicach 2 godzin [64, 65].

Haemaphys posiada garnitur chromosomów złożony z 8 długich i 10 krótszych (rys. 2a). Krótkie wcześniej kończą włączanie tymidyny- 3H niż długie. W płytkach metafazowych znajdują się krótkie chromosomy oznakowane przy kinetochorach obok długich znakowanych całkowicie (ryc. 2 c, d), oraz długie chromosomy słabo znakowane, a krótkie bez śladów radioaktywności (anafaza, rys. 2f). W okresie S chromosomy krótkie kończą syntezę (znakowanie przy kinetochorach) wtedy, gdy dłu- gie jeszcze obficie przyłączają tymidynę [87].

RNA W CHROMOSOMACH

Kwas rybonukleinowy spełnia funkcję przenośnika informacji gene- tycznej od DNA do miejsca syntezy białek. Przypuszcza się, że nieduża frakcja komórkowego RNA, wybitnie aktywnego metabolicznie, powstaje w chromatynie odwzorowując strukturę DNA. Każdy odcinek DNA, o specyficznej roli w dziedziczeniu, wytwarza właściwy sobie RNA (m-RNA), który przenika do rybosomów i tam kieruje syntezą odpowied- niego białka. Nie ma pełnej zgodności wśród badaczy odnośnie miejsc

syntezy i ruchu RNA w komórce [94, 61]. Wiadomo, że zarówno jąderko, jak i chromatyna są miejscem intensywnego włączania radioaktywnych prekursorów RNA. Heterochromatynowe partie jądra są jednak znacznie mniej aktywnymi ośrodkami wbudowywania cytydyny- ^3H niż euchromatynowe [39]. Synteza wg niektórych badaczy może się odbywać niezależnie w chromatynie i jąderku, ale tylko jąderkowy RNA przechodzi do cytoplazmy [49]. W świetle tych obserwacji przedstawiony przed chwilą schemat działania m-RNA musiałby być skorygowany.

Wykrywanie i autoradiografia RNA w mitotycznych chromosomach są prawie wyłącznie ograniczone do olbrzymich chromosomów śliniankowych i szczoteczkowych [20, 27 i in.]. W „normalnych” chromosomach metafazowych *Trillium* i profazowych bobu obecność prekursora RNA opisano dopiero niedawno [47]. Sugeruje się, że materiał jąderkowy przechodzi w profazie do chromosomów, które w czasie mitozy spełniają rolę pojazdów rozwożących go do jąder potomnych. W nich materiał jąderkowy organizuje się z powrotem w jąderko. W ten sposób materiał jąderkowy nie tylko jest przenoszony przez chromosomy, ale i ma okazję do okresowego ścisłego kontaktu z chromatyną.

CHROMOSOMY POLITENICZNE

W końcu ubiegłego stulecia odkryto w gruczołach ślinowych larw owadów dwuskrzydłych specjalny rodzaj olbrzymich chromosomów. Powtórnie zwrócono na nie uwagę w latach trzydziestych. Wielkość chromosomów wynika z kilkakrotnych podziałów chromatyd, pozostających w jednym zespole. Powstaje w rezultacie chromosom złożony z tysięcy chromatyd [3]. Wielu sądzi, że szczegóły strukturalne „normalnego” chromosomu występują tutaj tysiące razy powiększone, a działalność fizjologiczna jest odpowiednio silnie zaakcentowana.

O wiązkowej budowie chromosomu politenicznego można się przekonać, jeżeli końcowe stadia jego rozwoju (ostatnie replikacje chromatyd) odbywają się w środowisku zawierającym prekursor DNA. Wtedy część chromatyd staje się radioaktywna i zaznacza się na autoradiogramie jako pasma ziarenek ułożonych wzdłuż nieoznakowanego poza tym chromosomu [105, 3].

Każdy olbrzymi chromosom posiada specyficzny dla siebie układ poprzecznych prążków o różnym stopniu chromatyczności. Dodatkowo tworzą się większe i mniejsze nabrzmienia nazywane bufkami (puffs). Bufki pojawiają się i znikają na chromosomach w zależności od okresu rozwoju komórki. U *Chironomus* politeniczne chromosomy komórek jelita środkowego, cewek Malpighiego i in. mają rozmaicie zlokalizowane bufki, specyficznie dla danego typu komórek [3]. Udało się zmienić lokalizację bufek poprzez zmianę środowiska: przeszczepiano mianowicie jądra ze ślinianek *Drosophila busckii* do cytoplazmy komórki jajowej *D. melanogaster* [46], albo stosowano podwyższoną temperaturę lub dwunitrofenol [84].

Chromosomy śliniankowe są miejscem intensywnego włączania prekursorów DNA, RNA i białek. Podobnie jak gdzie indziej, włączanie do heterochromatyny jest asynchroniczne. Wczesniejsze badania wykazały już dużą metaboliczną aktywność bufek i części prążków [97, 68, 33]. Powstawanie bufek wiąże się z intensywniejszą niż w innych częściach

chromosomu syntezą DNA [20] oraz białek [21]. Ukształtowane bufki włączają tymidynę bardzo słabo [89], natomiast są siedliskiem ożywionej syntezy RNA i białek [68, 71, 89, 92, 93]. Tempo syntezy RNA w chromosomie jest jednak słabsze niż w jąderku [53].

Na tle tych obserwacji buduje się hipotezę działania chromosomu [3]. Zawiera on szereg genów, ich działanie determinuje formowanie się odpowiednich własności komórki. Bezpośrednim wyrazem działania genu chromosomu śliniankowego jest utworzenie się metabolicznie czynnej bufki. Wzór rozmieszczenia bufek jest taki sam tylko dla komórek jednego typu. Można przyjąć, że w każdym typie komórek ujawnia się inna grupa genów określająca specyfikę tych komórek. W zasadzie wszystkie komórki organizmu mają identyczne zespoły genowe, wobec tego różnicowanie się komórek polegałoby na stopniowym włączaniu do akcji jednych, a wyłączaniu innych grup genów. Jeśli tak jest, to pozostałoby do wyjaśnienia mechanizm uruchamiający właściwe geny we właściwym czasie i miejscu.

DNA I STRUKTURA CHROMOSOMÓW

Mamy do dyspozycji cztery grupy faktów związanych z morfologią chromosomów: 1) dotyczy mikroskopowej struktury, cykliów spiralizacji i despiralizacji, prawidłowości podziału, opisywanych dokładnie przez cytologię klasyczną; 2) opracowywana obecnie morfologia ultrastruktur; w mikroskopie elektronowym chromosomy przedstawiają się jak zespoły spiralnie skręconych włókien o średnicy około 100Å, rozpadających się z kolei na elementarne nukleoproteidowe włókna o średnicy 40Å [42, 10, 16, 52]; 3) podwajanie się łańcuchów polinukleotydowych DNA odbywa się prawidłowo według wzoru Watsona i Cricka [85]; 4) syntetyzujący się w chromosomie DNA zachowuje się tak, jakby stanowił nierozzerwalną jednostkę [97].

Aby sprostać tym faktom, wysunięto wiele koncepcji o rozmieszczeniu DNA w chromosomie. Sam Taylor przedstawia trzy: 1) DNA chromosomu stanowi jedną spiralnie skręconą cząsteczkę. Uznanie tego schematu jest trudne, ponieważ w dużych chromosomach postulowana cząsteczka miałaby kilkadziesiąt centymetrów długości, jej zwinięcie i rozwinięcie w czasie replikacji wymagałoby zbyt dużo energii. Schemat również nie łatwo daje się pogodzić z częstym faktem asynchronicznej syntezy DNA; 2) w chromosomie jest kilka równoległych pasm DNA; 3) centrum chromosomu tworzą dwie osie białkowe, do każdej z nich przymocowane są prostopadle cząsteczki DNA. Każda z nich łączy się swym rozwidlonym końcem z obu osiami, a drugi koniec ma wolny.

Inny model zakłada istnienie struktury złożonej z szeregu segmentów spiralnego DNA poprzedzielanego odcinkami białkowymi lub specjalnym DNA. Skręcanie włókien odbywa się na skutek asocjacji z białkiem histonowym [13]. Podobnie zakłada się [90], że w chromosomie DNA leży na przemian z białkiem. Cząsteczki DNA są skierowane prostopadle do osi chromosomu i łączą sąsiadujące odcinki białkowe. Schematy te nie są zgodne, jak widać, z obrazami w mikroskopie elektronowym, na których chromosomy składają się z kilkudziesięciu fibryli oraz jakiejś ziarnistej substancji [42, 10].

LITERATURA

- [1] Altmann H. W., Stöcker E., Thoens W., Zeits. Zellforsch. 59, 1963, s. 116.
- [2] Bach M. K., Proc. Natl. Acad. Sc. 48, 1962, s. 1031.
- [3] Beermann W., Riesenchromosomen. Protoplasmatologia. Springer. Wien 1962.
- [4] Bell P. R., Proc. Roy. Soc. B. 153, 1960, s. 421.
- [5] Bianco L., Giustino G., Lazzarini E., Nature 194, 1962, s. 289.
- [6] Brachet J., Nature 186, 1960, s. 194.
- [7] Butzel H. M., van Wagten dok W. J., J. Gen. Microbiol. 30, 1963, s. 503.
- [8] Cairns J., J. Mol. Biol. 6, 1963, s. 208.
- [9] Chang R. S., Vertrovas H., Science 139, 1963, s. 1211.
- [10] Chardard R., Rev. Cytol. Biol. Végét. 24, 1962, s. 1.
- [11] Chèvremont M., Baecland E., C. rend. Acad. Sci. 251, 1960, s. 1097.
- [12] Chèvremont M., Chèvremont-Comhaire S., Baecland E., Arch. Biol. 70, 1959, s. 811.
- [13] Cole A., Nature 187, 1962, s. 211.
- [14] Crathorn A. R., Shooter K. V., Nature 187, 1960, s. 614.
- [15] Czumak M. G., Citologija 5, 1963, s. 24.
- [16] Dales A., Expl. Cell Res. 19, 1960, s. 577.
- [17] Deeley E. M., Davies H. G., Chayen J., Expl. Cell Res. 12, 1957, s. 582.
- [18] Devik F., Halvorsen K., Nature 197, 1963, s. 148.
- [19] Fauré-Fremiet E., Rouiller C., Gauchery M., Expl. Cell Res. 12, 1957, s. 135.
- [20] Ficq A., Pavan C., Nature 180, 1957, s. 983.
- [21] Ficq A., Pavan C., Brachet J., Expl. Cell Res., suppl. 6, 1959, s. 105.
- [22] Fitzgerald P. J., Edinoff M. L., Knoll J. E., Science 114, 1951, s. 494.
- [23] Friedkin M. D., Tilson D., Roberts D., J. Biol. Chem. 220, 1956, s. 627.
- [24] Fursov V. J., Injuszin V. M., Citologija 4, 1962, s. 574.
- [25] Gahan P. B., Chayen J., Sicox A. A., Nature 195, 1962, s. 1115.
- [26] Gall J. G., J. Bioph. Biochem. Cytol. 5, 1959, s. 295.
- [27] Gall J. G., Callan H. G., Proc. Natl. Acad. Sc. 48, 1962, s. 562.
- [28] Gall J. G., Johnson W. W., J. Bioph. Biochem. Cytol. 7, 1960, s. 657.
- [29] Gerber G., Gerber G., Altmann K. J., J. Biol. Chem. 235, 1960, s. 1433.
- [30] German J. L., Lancet I, 1962, s. 744.
- [31] Gilbert C. W., Muldal S., Lajtha L. G., Rowley J., Nature 195, 1962, s. 869.
- [32] Girgis A. M., C. rend. Acad. Sci. 256, 1963, s. 2037.
- [33] Gross J. D., Nature 180, 1957, s. 440.
- [34] Guttes E., Guttes S., Expl. Cell Res. 19, 1960, s. 626.
- [35] Harris H., Bioch. J. 72, 1959, s. 54.
- [36] Hay E. D., Revel J. P., J. Cell Biol. 16, 1963, s. 29.
- [37] Howard A., Dewey D. L., Expl. Cell Res. 24, 1961, s. 623.
- [38] Howard A., Pelc S., w: *Izotopy v biochimii*, I. L., Moskva 1953.
- [39] Hsu T. C., Expl. Cell Res. 27, 1962, s. 332.
- [40] Hughes W. L., Bond V. P., Brecher G. H., Cronkite E. P., Painter R. B., Quastler H., Sherman F. G., Proc. Natl. Acad. Sc. 44, 1958, s. 476.

- [41] Karnkowska-Górska Z., Bull. Acad. Pol. cl. II, 8, 1960, s. 353.
- [42] Kaufman B. P., w: *The cell nucleus*. Butterworths, London 1960.
- [43] Klauss B. C., J. Cell Biol. 13, 1962, s. 462.
- [44] Koburg E., Maurer W., Bioch. Bioph. Acta 61, 1962, s. 229.
- [45] Krause M., Plaut W., Nature 188, 1960, s. 511.
- [46] Krbeger H., Chromosoma 11, 1960, s. 129.
- [47] La Cour L. F., Expl. Cell Res. 29, 1963, s. 112.
- [48] Lajtha L. G., Oliver R., Lab. Invest. 8, 1959, s. 214.
- [49] Leblond C. P., Amano M., J. Histochem. Cytochem. 10, 1962, s. 214.
- [50] Lima-de Faria A., J. Bioph. Biochem. Cytol. 6, 1959, s. 457.
- [51] Lima-de-Faria A., Chromosoma 13, 1962, s. 47.
- [52] Makarov P. V., Usp. sovr. biol. 50, 1960, s. 44.
- [53] McMaster-Kaye R., J. Histochem., Cytochem. 10, 1962, s. 154.
- [54] McQuade H. A., Friedkin M., Expl. Cell Res. 21, 1960, s. 118.
- [55] Meyer-Arendt J. R., Acta Histochem. 13, 1962, s. 47.
- [56] Moorhead P. S., Defendi V., J. Cell Biol. 16, 1963, s. 202.
- [57] Morin G. A., Zajdela F., Costerousse O., Expl. Cell Res. 13, 1957, s. 204.
- [58] Morishima A., Grumbach M. G., Taylor J. H., Proc. Natl. Acad. Sc. 48, 1962, s. 556.
- [59] Natarajan A. T., Expl. Cell Res. 22, 1961, s. 275.
- [60] Oliver R., Lajtha L. G., Nature 186, 1960, s. 91.
- [61] Olszewska M. J., Wiad. Bot. 6, 1962, s. 109.
- [62] Ostrowski K., Folia Morph. 8, 1957, s. 127.
- [63] Ostrowski K., Folia Morph. 10, 1959, s. 275.
- [65] Painter R. B., Drew R. M., Giauque B. G., Expl. Cell Res. 21, 1960, s. 98.
- [65] Painter R. B., Drew R. M., Giauque B. G., Expl. Cell Res. 21, 1960, s. 98.
- [66] Pelc S., Expl. Cell Res. 29, 1963, s. 194.
- [67] Pelc S. R., Coombes J. D., Budd G. C., Expl. Cell Res. 24, 1961, s. 192.
- [68] Pelc S. R., Howard A., Expl. Cell Res. 10, 1956, s. 549.
- [69] Pelc S. R., La Cour L. F., Experientia 15, 1959, s. 131.
- [70] Pelc S. R., La Cour L. F., w: *The cell nucleus*. Butterworths, London 1960.
- [71] Pelling G., Nature 184, 1959, s. 655.
- [72] Pilgrim C., Maurer W., Naturwiss. 23, 1962, s. 544.
- [73] Plaut W., Lab. Invest. 8, 1959, s. 286.
- [74] Plaut W., Biochem. Pharmacol. 4, 1960, s. 79.
- [75] Plaut W., Mazia D., Texas Rep. Biol. Med. 15, 1957, s. 181.
- [76] Poljanova T. I., Dokl. AN SSSR, 145, 1962, s. 910.
- [77] Prescott D. M., Bender M. A., Expl. Cell Res. 29, 1963, s. 430.
- [78] Prescott D. M., Bollum F. J., Klaus B. C., J. Cell Biol. 13, 1962, s. 172.
- [79] Prescott D. M., Kimball R. F., Proc. Natl. Acad. Sc. 47, 1961, s. 686.
- [80] Reichard P., Estborn B., J. Biol. Chem. 188, 1951, s. 839.
- [81] Revel J. P., Hay E. D., Expl. Cell Res. 25, 1961, s. 474.
- [82] Rieke W., J. Cell Biol. 13, 1962, s. 205.
- [83] Ris H., Plaut W., J. Cell Biol. 13, 1962, s. 383.
- [84] Ritossa F., Experientia 18, 1962, s. 571.
- [85] Rodkiewicz B., Kerszman G., Wiad. Bot. 6, 1962, s. 217.
- [86] Rodkiewicz B., Olszewska M. J., Expl. Cell Res. 27, 1962, s. 186.
- [87] Rodkiewicz B., Olszewska M. J., Chromosoma 14, 1963, s. 568.
- [88] Rowley J., Muldal S., Gilbert C. W., Lajtha L. G., Lindsten J., Fraccaro M., Kaijser K., Nature 197, 1963, s. 251.

- [89] Rudkin G. F., Genetics 44, 1959, s. 531 (abst.).
- [90] Schartz D., w: *The cell nucleus*. Butterworths, London 1960.
- [91] Sérénó C., Durand M., C. rend. Acad. Sci. 251, 1960, s. 2243.
- [92] Sirlin J. L., Expl. Cell Res. 19, 1960, s. 177.
- [93] Sirlin J. L., Knight G. R., Expl. Cell Res. 19, 1960, s. 210.
- [94] Spirin A. S., Smirnov V. I., Izv. AN, SSSR, 1962, s. 447.
- [95] Steinert G., Firket H., Steinert M., Expl. Cell Res. 15, 1958, s. 632.
- [96] Takats S. T., Amer. J. Bot. 49, 1962, s. 748.
- [97] Taylor J. H., Science 118, 1953, s. 555.
- [98] Taylor J. H., Amer. Naturalist 151, 1957, s. 209.
- [99] Taylor J. H., Symp. Molecular Biol. Univ. Chicago Press., Chicago 1959.
- [100] Taylor J. H., J. Bioph. Biochem. Cytol. 7, 1960, s. 455.
- [101] Wimber D. E., Expl. Cell Res. 23, 1961, s. 402.
- [102] Wimber D. E., Quastler H., Stein O. L., Wimber D. R., J. Bioph. Biochem. Cytol. 8, 1960, s. 327.
- [103] Wollgiehn R., Mothes K., Naturwiss. 50, 1963, s. 95.
- [104] Woodard J., Rasch E., Swift H., J. Bioph. Biochem. Cytol. 9, 1961, s. 445.
- [105] Woods P. S., Gay H., Sengün A., Proc. Natl. Acad. Sc. 47, 1961, s. 1486.
- [106] Żinkin L. N., Zavarzin A. A., Dondua A. K., Citologija 2, 1960, s. 625.

ZJAWISKA ZACHODZĄCE W ENZYMACH POD WPŁYWEM PROMIENIOWANIA X I γ

Dostarczanie energii do układów enzymatycznych w postaci ciepła promieni ultrafioletowych, czy promieniowania jonizującego powoduje zmiany w tychże układach. Zmiany te dotyczą spadku aktywności enzymatycznej, obniżenia lepkości białek enzymatycznych, zmian w prędkości sedimentacji, spadku rozpuszczalności, różnic w zawartości niektórych grup czynnych w sekwencjach aminokwasów białek itp. [1, 9, 10, 14, 15, 16, 29, 41, 42, 43, 46, 47].

Przystępując do omówienia wpływu promieniowania X i γ na enzymy należałoby przedstawić schemat struktury enzymu, celem wyjaśnienia procesów inaktywacji.

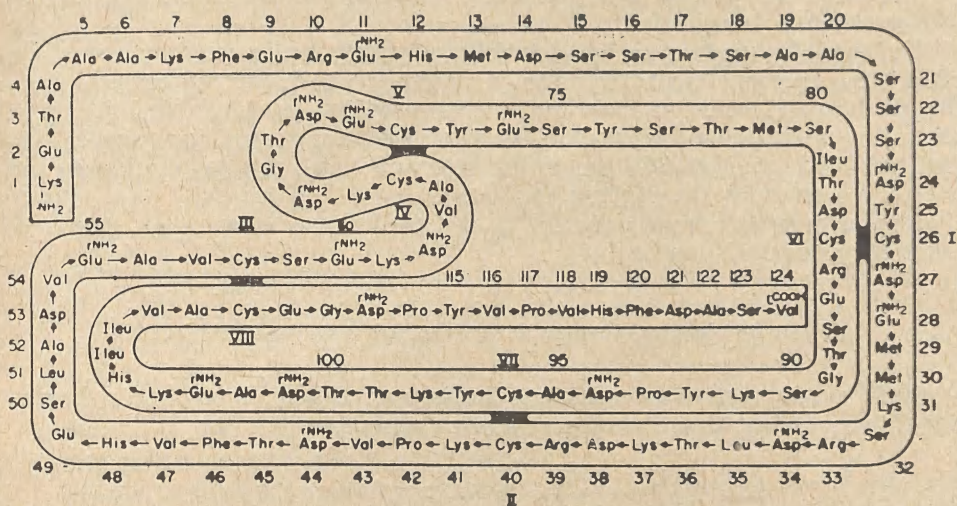
Cząsteczka białka enzymatycznego jest zbudowana z aminokwasów, występujących w określonym porządku i połączonych wiązaniami peptydowymi (struktura I rzędowa). Łańcuch peptydowy związa się w odpowiednią strukturę przestrzenną (II rzędową) uzależnioną od mostków, np. wodorowych, siarkowych. Na powierzchni drobiny enzymu, w wyniku pofałdowania łańcucha peptydowego, powstaje struktura III rzędowa. Obecność koenzymu, aktywatorów (metali, jonów, niektórych soli) i substratu umożliwia powstanie centrum aktywnego na powierzchni łańcucha peptydowego. Miejsce powstania aktywnego centrum enzymu uzależnione jest od obecności w łańcuchu białka niektórych aminokwasów, jak seryna, histydyna, tryptofan (rys. 1).

Przedstawiony na rys. 1 model sekwencji aminokwasów rybonukleazy otrzymanej z trzustki wołu, wykazuje strukturę I i II rzędową. Rys. 2 przedstawia model struktury III rzędowej białka wraz z centrum aktywnym.

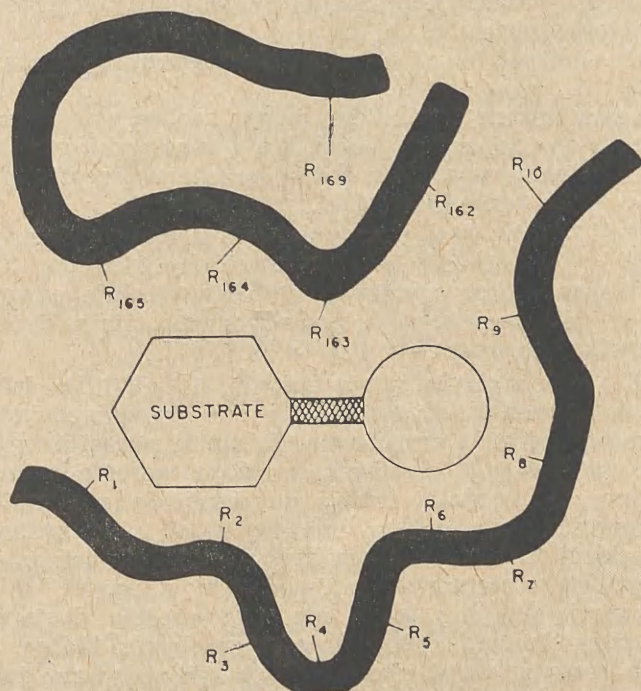
Ogólną ilość zmian, spowodowanych przez określoną dawkę promieniowania jonizującego, nazywamy skutecznością promieniowania. Efekt promieniowania zależy od wielu czynników:

- postaci enzymu (suchy czy rozpuszczony, w jednorodnym roztworze lub w mieszaniu roztworów),
- rodzaju energii i dawki promieniowania,
- temperatury,
- pH,
- obecności dodatkowych białek i innych związków chemicznych.

Rozróżniamy dwa mechanizmy wpływu promieniowania jonizującego na enzymy: bezpośredni i pośredni. Bezpośrednie działanie występuje wtedy, kiedy cząsteczka enzymu zostaje pobudzona i zjonizowana przez zaadsorbowanie energii kwantu X i γ lub przejście przez nią elektronu, bądź innej cząsteczki elementarnej. Mechanizm działania bezpośredniego



Rys. 1. Schematyczny model cząsteczki enzymatycznej rybonukleazy z trzustki wołu. Widoczna jest struktura I rzędowa (sekwencja aminokwasów) i II rzędowa (mostki siarkowe) wg Scheraga [48].



Rys. 2. Model centrum aktywnego enzymu. Łańcuch peptydowy tworzy III rzędową strukturę białka, wolne rodniki (R) formują centrum aktywne enzymu. Substrat przedstawiony schematycznie, zakreskowane przewężenie obrazuje wiązania grup czynnych związku w czasie reakcji enzymatycznej wg De Koshland [18].

polega więc na tym, że energia jest dostarczana bezpośrednio do samej cząsteczki enzymatycznej.

Działanie pośrednie zachodzi wtedy, gdy cząsteczka enzymu sama nie adsorbuje energii, lecz otrzymuje ją ze środowiska otaczającego. Zjawiska pochłonięcia energii kwantów γ i X , przejścia elektronów i jonizacji zachodzą początkowo w środowisku otaczającym enzym (np. woda, bufor itp.) i z tego środowiska rodniki bądź też elektrony są przekazywane cząsteczce enzymu i wywołują jonizację.

Mechanizm działania bezpośredniego omówimy na suchych preparatach enzymów.

SKUTKI PROMIENIOWANIA X I γ NA PREPARATACH SUCHYCH

Ilość aktywnych cząsteczek enzymów pozostających po zaadsorbowaniu dawce D jest przedstawiona jako zależność:

$$\frac{N_D}{N_0} = k (-SD),$$

gdzie

- N_D — ilość aktywnych cząsteczek enzymów po napromienieniu,
- N_0 — ilość ogólna aktywnych cząsteczek enzymu,
- D — ilość przypadków zjonizowań na jednostkę objętości,
- S — objętość cząsteczki enzymu,
- k — stała wielkość fizyczna dla określonego rodzaju promieniowania.

Zgodnie z powyższym założeniem, można zaobserwować inaktywujący wpływ kwantów energii zderzających się z cząsteczką enzymu. Istnieje pogląd, że inaktywację wywołuje jedna jonizacja specyficznie atakująca czynne grupy w cząsteczce białka [32].

Według Pollarda [44] pojedyncza jonizacja nie jest jednak wystarczająca do wywołania inaktywacji suchych preparatów enzymatycznych. W temperaturze pokojowej 110 eV wywołuje powstanie trzech jonów, które mogą przerwać słabe podwójne wiązania w drobinie białka, jak np. słabe wiązania wodorowe i $S-S$ [3, 6, 31].

Kwanty X i γ przekazują swoją energię 110 eV tylko kilku elektronom w czasie zderzeń z cząsteczką. Te zaś wywołują wiele jonizacji oddając nadmiar energii i przechodzą do stanu początkowego. Prawdopodobieństwo inaktywacji cząsteczki enzymu wzrasta wraz z energią promieniowania. Im bardziej mamy do czynienia z promieniowaniem o większej energii, tym większą energię musi zaadsorbować drobina białka, by nastąpił stan wzbudzenia krytycznego, a następnie inaktywacja [36]. Natomiast w niektórych przypadkach już nawet 5 eV może wywołać inaktywację enzymu, gdyż nie cała energia dostarczona przez kwanty jest zużywana na unieczynnienie cząsteczki białka. Ze 110 eV, dostarczonych przez 1 kwant, około 95% energii zużywane jest na wzbudzenie poziomów energetycznych orbit elektronów, a tylko 5% wystarczy na wywołanie zjawiska jonizacji.

Przy podwyższonej temperaturze ilość energii zużyta do inaktywacji enzymów jest o wiele mniejsza, np. także UF daje inaktywację już przy 5 eV [5, 36, 49]. Okazuje się, że część energii zostaje zużyta na tzw. stan

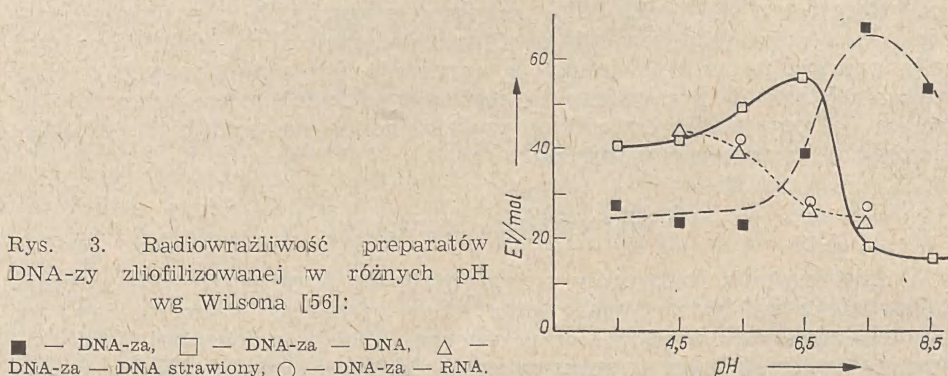
pobudzenia krytycznego cząsteczki enzymatycznej, wybicia niektórych elektronów z orbit (np. elektronu π) i rozpoczęcia procesu inaktywacji [20]. Nieduża ilość energii zostaje zużyta na uszkodzenie trzeciorzędowej struktury białka, reszta zaś zostaje rozproszona w postaci charakterystycznego rezonansowego widma spinu elektronu (ESR). Gordy i współprac. zaobserwowali w niektórych białkach, w temperaturze pokojowej, jeden z dwóch rodzajów ESR powstających w wolnych rodnikach. Są też białka o dwóch rodzajach ESR. Efekty ESR mogą występować w grupach CH, NH, OH i niektórych aminokwasach [21, 22, 23, 33, 43, 51].

Dla peptydów wolne rodniki powstają przez dysocjację wodorów w węglach w pozycji α [12]. Gordy [21] zaobserwował również specjalny sygnał ESR w atomach siarki cystyny. Sygnał ESR zależy od temperatury i pH roztworu, z którego białko było izolowane. Badania nad analizą widm spinu elektronów są nową dziedziną biofizyki o dużym znaczeniu teoretycznym, podobnie jak i magnetyczny rezonans jądrowy. Należy nadmienić, że ilość energii zmagazynowanej w cząsteczce enzymatycznej, stan tej cząsteczki (temperatura) oraz stopień jednorodności białka mają wpływ na to zjawisko.

Radiowrażliwość enzymów zależy od temperatury i czasu napromienienia [27, 44], np. inwertaza jest około 5 razy bardziej inaktywowana przy 375 °K niż przy 77 °K. Inaktywacja trypsyny wzrasta około 30% w temperaturze 350 °K w stosunku do 77 °K [45, 50].

Według Augenstina [2, 7] energia cieplna, wynosząca około 3 Kcal/mol, pochłonięta przez cząsteczkę enzymatyczną, wywołuje jej inaktywację. Dla trypsyny 2,2 Kcal/mol promieni UF wywołuje stan przegrupowania w cząsteczce elektronów i rozerwanie słabych wiązań w strukturze białka.

Enzymy otrzymane w stanie suchym z roztworów różnych buforów, zaadsorbowane mają na swojej cząsteczce sole — składniki tychże buforów, które wpływają na rozdział ładunków w drobinie enzymów po



Rys. 3. Radiowrażliwość preparatów DNA-zy zliofilizowanej w różnych pH wg Wilsona [56]:

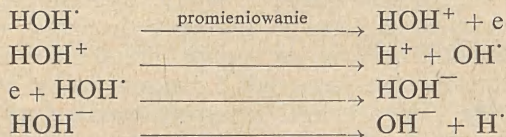
napromienieniu. Zmiany pH mają decydujący wpływ na radiowrażliwość enzymów, np. preparat enzymatyczny DNA-zy + DNA w pH 4,5 ma mniejszą radiowrażliwość niż przy pH 7,5 [56] (rys. 3). Zwykle pH minimalnej radiowrażliwości nie odpowiada maksimum pH stabilności termicznej.

Gazowe otoczenie wywołuje zmiany w radiowrażliwości suchych enzymów. Hutchinson i Watts [27, 28] badali wpływ promieni X

na lizozym. Stwierdzili oni około dwukrotnie zwiększoną inaktywację w obecności tlenu niż azotu. Tlen, przy ciśnieniu 120 mm słupa rtęci, potęgował 2,5 razy efekt promieniowania o tej samej energii w przypadku trypsyny. Ciśnienie 1 Atm. NO nie wywołało zwiększenia radio-wrażliwości.

SKUTKI PROMIENIOWANIA X I γ W ROZTWORACH WODNYCH

Weiss [54, 55] i inni stwierdzają, że w wodzie pod wpływem promieniowania jonizującego tworzą się wolne rodniki wg reakcji:



Wolne rodniki są bardzo krótkotrwałe (10^{-6} sek. w wodzie), ponieważ mają one tendencję do utraty lub przyłączenia elektronu, przez co dążą do stanu stabilnego. W wyniku autopolaryzacji wolne elektrony uwolnione od rodnika mogą otaczać się płaszczem obojętnym drobin wody, który przedłuża okres życia swobodnego elektronu, a tym samym przedłuża efekt jonizacji. Przekazywanie energii między cząsteczkami rozтворów prowadzi do lokalizacji promieniowania w niektórych miejscach enzymu, tzn. wolne rodniki, powstałe w roztworze przy zetknięciu z cząsteczką enzymu, powodują powstawanie aktywnych rodników białek, te zaś reagują z drugimi rodnikami w łańcuchu peptydowym białka, przez co wzrasta efekt inaktywacji enzymów w środowisku wodnym. Należy jednak wziąć pod uwagę, że nie wszystkie wolne rodniki, powstałe w roztworze pod wpływem promieniowania jonizującego, przenoszą energię na rodniki białka enzymatycznego.

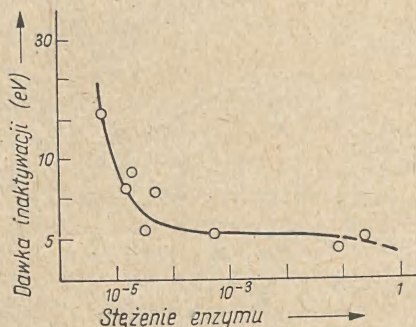
Według Lea [31] tylko 63% rodników, powstałych w roztworze, posiada skuteczność inaktywacji, ponieważ pozostałe 37% rodników traci swoją energię na wtórną jonizację uprzednio już uszkodzonych drobin białka. Inaktywacja przeważnie nie jest spowodowana przez jeden rodzaj rodnika. Istnieje wiele czynników wpływających na wydajność promieniowania w roztworach wodnych:

WPLYW STĘŻENIA ROZTWORÓW

Wyższe stężenia roztworów przyczyniają się do tego, że rodniki stają się bardziej reaktywne wobec cząsteczek roztworu (buforu), jak też i obcych cząsteczek będących w roztworze. Wzrost inaktywacji jest proporcjonalny do stężenia enzymu w działaniu bezpośrednim. Jest to rezultat tego, że kwanty energii mają w roztworze stężonym większą możliwość bezpośredniego trafienia cząsteczki białka enzymatycznego, niż poprzez drobinę wody i rozpuszczalnika (buforu), co dzieje się w roztworach rozcieńczonych, gdzie inaktywacja jest wynikiem działania zjonizowanej wody, buforu i obcych białek. Mamy więc tu do czynienia z działaniem pośrednim promieniowania, kiedy powstały rodnik musi przejść przez środowisko (buforu, wody, protoplazmy). Efekt ten zależy od stężenia enzymu, ale do pewnej granicy; potem zwiększenie stężenia enzymu nie

powoduje zwiększenia inaktywacji, ponieważ wolne rodniki rekombinują między sobą, tracą zdolność jonizacji i uniemożliwiają przez to inaktywację enzymu (rys. 4).

Istnieją związki ochraniające makromolekulę enzymu, które pochłaniają część energii dostarczonej do roztworu, a tym samym uniemożli-



Rys. 4. Zależność między stężeniem enzymu (karboksypeptydazy) w roztworze wodnym a dawką promieni X konieczną do zmniejszenia aktywności roztworu do 37% jego wartości pierwotnej wg Bacq, Alexander [8].

wiają zużycie całej energii na inaktywację enzymu. Są to np. związki bogate w grupy SH, podwójne wiązania, mostki wodorowe itp. Niektóre radioprotektory reagują z cząsteczką enzymu przez zmianę krytycznego miejsca na jego powierzchni lub przez uniedostępnienie go dla rodników inaktywujących. Taka „reaktywna ochrona” może być przypuszczalnie spowodowana wytworzeniem mieszanych dwusiarczków, jak to proponuje Eldjahn i Phil [19] lub przez maskowanie decydujących o aktywności enzymatycznej reszt aminokwasów innymi związkami chemicznymi [9, 53]. Może być również ochraniać kompleks enzym — substrat [4]. Ochranianie konkurencyjne może zachodzić np. w trypsynie przez błękit metylenowy [3].

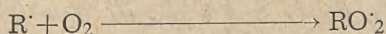
Wartość ochronna radioprotektorów jest uzależniona od stężenia, które nie musi być większe jak 2×10^{-5} g na mg enzymu [4]. Dalsze zwiększanie stężenia środka ochronnego nie daje rezultatów.

WPŁYW pH, TEMPERATURY I GAZÓW

pH roztworu może zmieniać wydajność efektu promieniowania. Wpływ ten polega na rozdzieleniu rodników od produktów napromienienia, tak samo rodzaj buforów organicznych lub nieorganicznych zmienia rozdział rodników. Zwykle pH minimum radiowrażliwości nie odpowiada maksimum pH stabilności termicznej.

Wpływ temperatury jest w reakcjach inaktywacji bardzo istotny. Skuteczność promieniowania w temperaturach wyższych jest większa.

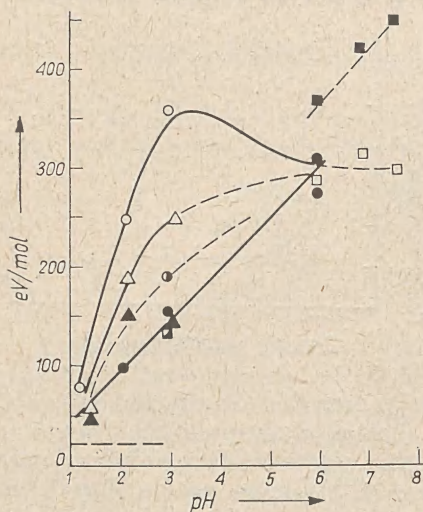
Wpływ tlenu na efekt promieniowania jonizującego może być bezpośredni i pośredni. Wolny tlen możemy przedstawić jako dwa atomy o nieparzystej ilości elektronów $\cdot\text{O}-\text{O}\cdot$. W działaniu pośrednim oba te atomy, łącząc się z rodnikiem przez jeden atom tlenu, dają nadtlenuki według reakcji:



Enzymy w rozcieńczonych roztworach w działaniu pośrednim nie wykazują na ogół zwiększenia radiowrażliwości pod wpływem tlenu [11,

26, 35, 37] z wyjątkiem tych enzymów, które posiadają grupy SH [9, 25, 38] (rys. 5).

Na rys. 5 przedstawiony jest wpływ różnych gazów na inaktywację roztworów trypsyny w zależności od pH, anionów i buforu.



Rys. 5. Wpływ różnych gazów na inaktywację roztworów trypsyny w zależności od pH, anionów i buforu wg Butlera [13]:

○ — HCl w powietrzu, △ — H₂SO₄ w powietrzu, ● — HNO₃ w powietrzu, □ — bufor fosforanowy w powietrzu, ◐ — HCl i NaCl w próżni, ◑ — H₂SO₄ w próżni, ◒ — HNO₃ w próżni, ◓ — bufor fosforanowy w próżni.

Z rys. 5 wynika, że w próżni i w powietrzu inaktywacja enzymu jest różna, istotny jest wpływ pH, obecność anionów, buforu i różnych gazów. Efekt tlenowy jest tu wyraźnie osłabiony.

Działanie bezpośrednie polega prawdopodobnie również na działaniu rodników O₂⁻, jednakże sposób w jaki O₂ i NO zmieniają skutki promieniowania nie jest jeszcze dokładnie przebadany.

STRUKTURALNE ZMIANY W CZĄSTECZCE ENZYMU POD WPLYWEM PROMIENIOWANIA

Pod wpływem promieniowania jonizującego, niektóre aminokwasy w łańcuchu białka ulegają chemicznym zmianom. Hamilton i współprac. [25] zaobserwowali, że niektóre rodniki uszkadzają pierścień pyrołu (histydyna, tryptofan). Zależność między uszkodzeniem tryptofanu a dawką jest znamienna. W DNA-zie w dostatecznie stężonych roztworach są rozkładane: lizyna, izoalanina, histydyna, kwas asparaginowy i tryptofan [39, 40]. Inni autorzy [34, 52] uważają przerwanie wiązań podwójnych za ważny krok do inaktywacji enzymu. Inaktywacja trypsyny zależy nie tylko od uszkodzeń w łańcuchu aminokwasów, ale od przerwań podwójnych wiązań w sekwencji.

Augenstine [2] uważa, że aktywność enzymów uzależniona jest od uszkodzenia centrów aktywnych na powierzchni trzeciorzędowej struktury białka. Na powierzchni trypsyny powstają wolne przestrzenie wielkości 100Å² = 2,5% powierzchni enzymu. Jest to wielkość krytyczna dla utraty proteolitycznej aktywności tego enzymu. Przerwanie wiązań peptydowych wg Jayko i Garrisona [29] w pepsynie, w wyniku zaadsorbowania energii, zmniejsza jej aktywność enzymatyczną.

Wpływ na reakcje enzymatyczne mają także układy elektronów w enzymie, np. Langendorff i Hagen [30] wykazali, że cytochromy komórkowe, na skutek stabilnego układu elektronów, reagują dopiero na bardzo duże dawki promieniowania.

Radiowrażliwość enzymów, zarówno suchych, jak i w roztworach, jest zależna nie tylko od uprzednio omówionych czynników, ale także od rodzaju, sposobu napromienienia oraz metod izolowania enzymów.

SKUTKI PROMIENIOWANIA W UKŁADACH HETEROGENNYCH

Rozpatrując wpływ promieniowania jonizującego na układy komórkowe należy się zastanowić, czy jest to wpływ bezpośredni, czy też pośredni na białka enzymatyczne w związku z ich lokalizacją w komórce. Badania wykazały, że głównym miejscem przebywania enzymów w komórce są mitochondria i mikrozomy [17, 24]. Ponieważ promieniowanie jonizujące w układach komórkowych działa pośrednio poprzez te struktury — często zmiana struktury komórki będzie wyzwalała aktywatory enzymatyczne i zmieniała przepuszczalność błony mitochondriów. Zmiana aktywności enzymatycznej będzie wskutek tego inna niż w izolowanych układach enzymatycznych omówionych poprzednio. Z chwilą kiedy promieniowanie jonizujące dotrze do cząsteczki enzymu w układzie komórkowym — efekty biofizyczne będą podobne, mimo że będzie to suma wrażliwości na promieniowanie wielu enzymów, substratów, soli, związków chemicznych, lipidów, cukrowców i fragmentów jądra — tak, że efekty promieniowania nie zawsze mogą dawać podobne wyniki, jak w układach izolowanych.

Badania aktywności enzymatycznej w układach heterogennych, pod wpływem promieniowania jonizującego, są zawsze skomplikowane i trudne do zinterpretowania, a współczesne metody analityczne nie dają powtarzalnych wyników na skutek wpływu szeregu dodatkowych czynników omówionych powyżej. Dlatego też wpływ promieniowania jonizującego na enzymy należy rozpatrywać głównie na preparatach izolowanych: suchych lub rozpuszczonych.

WNIOSKI

Na podstawie przedstawionych uprzednio danych przyjmuje się obecnie w biochemii szereg hipotez roboczych uznawanych przez różnych autorów, a wyjaśniających wpływ promieniowania jonizującego na enzymy:

1. Znaczne uszkodzenia aminokwasów na brzegach łańcuchów polipeptydowych powodują zmianę centrów aktywnych. Wpływ promieniowania dotyczy powierzchni enzymów (Lea).

2. Rozerwanie dwóch lub więcej wiązań niespecyficznie identycznych wywołuje zjawiska inaktywacji. Energia przenosi się wzdłuż łańcucha polipeptydowego, gdzie następuje rozrywanie mostków wodorowych (Pollard).

3. Zespół wolnych rodników $R^{\bullet}$ jest efektowny w badaniach biologicznych. Wolny rodnik $R^{\bullet}$ może przyjąć nieparzysty elektron z jednej z orbit atomu połączonego z atomem węgla (Howard i Flanders). Wybite elek-

trony lokalizują się w grupach S-S (w ten sposób tłumaczy się własności ochronne dwusiarczków) (Gordy, Blumenfeld, Kalmanson, Norman, Phil).

4. Fala polaryzacji zapoczątkowuje wytwarzanie ładunku elektrycznego wewnątrz makrocząsteczki, gdzie w pewnych zlokalizowanych miejscach (słabe wiązania polarne i wodorowe) następuje jednoczesne przerwanie. Inaktywację może wywołać wielokrotna jonizacja. Efekt ten wzrasta przy wzroście temperatury (Platzmann, Franck).

5. Inaktywację enzymów, podobnie jak promieniowanie, daje szereg czynników fizycznych, np. ciepło, UF. Zmiany występują w strukturze molekularnej w grupach słabych wiązań, zawierających dwusiarczki i ograniczonych innymi wiązaniami międzycząsteczkowymi, które pociągają za sobą zmianę topografii centrów aktywnych. Inaktywacja nieodwracalna tłumaczona jest przerwaniem wszystkich słabych wiązań. W przypadku gdy nie wszystkie krytyczne wiązania są przerwane — aktywność enzymatyczna może być przywrócona przez działanie różnych aktywatorów lub zabiegi fizykochemiczne (Augenstine, Setlow, Luse).

6. Interpretacja biofizyczna. Zaadsorbowana energia promieniowania zmienia poziomy wzbudzenia stanu singlet — triplet. Istnieje również wpływ elektronu na perturbację magnetyczną poziomów tripletów. Energia promieniowania wywołuje w strukturze cząsteczki białka zmiany podobne do energii cieplnej (Mason).

LITERATURA

- [1] Adelstein S., Mee L., J. Biochem. 80, 1961, s. 406.
- [2] Augenstine L. G., Adv. in Enzymology 24, 1962, s. 359.
- [3] Augenstine L. G., Science 129, 1959, s. 718.
- [4] Augenstine L. G., Rad. Research 10, 1959, s. 89.
- [5] Augenstine L. G., Carter J., Nelson D., Yorkey H., Rad Research suppl. 2, 1960, s. 19.
- [6] Augenstine L. G., Gliron C., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 47, 1961, s. 1530.
- [7] Augenstine L. G., Gliron C., Grist K., Mason R., Proc. Natl. Acad. U. S. 47, 1961, s. 1733.
- [8] Bacq Z. M., Alexander P., Fundamentals of Radiobiology, London 1961, s. 48.
- [9] Barron E. S. G., Hollender A., Radiation Biology, New York 1954, s. 283.
- [10] Barron E. S. G., Finkelstein R., Arch. Biochem. Biophys. 41, 1952, s. 212.
- [11] Bonet-Maury P., Patt F., J. Chim. Phys. 52, 1955, s. 617.
- [12] Box H., Freud H., Lilga K. T., Blois M., Free Radicals in Biolog. Systems, Acad. Press 61, New York, s. 239.
- [13] Butler J. A., Robins A. B., Rad. Research 16, 1962, s. 7.
- [14] Caputo A., Dose K., Z. Naturforschung 12b, 1957, s. 172.
- [15] Dale W. M., Russel C., Nature 175, 1955, s. 33.
- [16] Dale W. M., Russel C., J. Biochem. 62, 1956, s. 50.
- [17] De Duve C., Beaufay H., J. Biochem. 73, 1959, s. 604.
- [18] De Koshland Jr., Adv. in Enzymology 22, 1960, s. 48.
- [19] Eldjarn L., Phil A., Shapiro B., Proc. 1-st intern. confer. peaceful uses of atomic energy 2, 1956, s. 335.
- [20] Evans M., Gergely J., Biochim. et Biophys. Acta 3, 1949, s. 188.
- [21] Gordy W., Rad. Research suppl. 1, 1959, s. 491.

- [22] Gordy W., Miyagawa I., Rad. Research 12, 1960, s. 211.
- [23] Gordy W., Shields H., Rad. Research 9, 1958, s. 611.
- [24] Goutier R., Goutier-Pirotte M., Arch. Int. Physiol. 62, 1954, s. 151.
- [25] Hamilton H., Okada S., Morrison M., Biochim. et Biophys. Acta 23, 1957, s. 540.
- [26] Holmes B., Nature 165, 1950, s. 266.
- [27] Hutchinson F., Rad. Research suppl. 2, 1960, s. 49.
- [28] Hutchinson F., Watts E., Rad. Research 14, 1961, s. 803.
- [29] Jayko M., Garrison W., Rad. Research 9, 1958, s. 134.
- [30] Langendorff H., Hagen U., Experientia 11, 1955, s. 485.
- [31] Lea D. E., *Actions of radiations on living cells*, Cambridge Univ. Press, London 47.
- [32] Lea D. E., Smith K., Holmes B., Markham R., Parasitology 36, 1944, s. 110.
- [33] McCormick G., Gordy W., J. Phys. Chem. 62, 1958, s. 783.
- [34] McDonald M. R., Brit. J. Radiol. 27, 1954, s. 62.
- [35] McDonald M. R., Rad. Research 3, 1955, s. 337.
- [36] McLaren A. D., Adv. in Enzymology 9, 1949, s. 75.
- [37] Moore E., McDonald M., Rad. Research 3, 1955, s. 38.
- [38] Okada S., Biochem. et Biophys. Acta 23, 1957, s. 621.
- [39] Okada S., Arch. Biochem. Biophys. 67, 1957, s. 95.
- [40] Okada S., Rad. Research 15, 1961, s. 452.
- [41] Okada S., Fletscher G. L., Rad. Research 73, 1960, s. 92.
- [42] Okada S., Gunter G., Biochem. et Biophys. Acta 25, 1957, s. 179.
- [43] Patten F., Gordy W., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 46, 1960, s. 1137.
- [44] Pollard E. C., Guild W., Hutchinson F., Setlow R. B., Progr. in Biophysics 5, 1955, s. 72.
- [45] Pollard E. C., Powell W., Reaume S., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., 38, 1952, s. 173.
- [46] Preiss J., McNish A., Rad. Research 14, 1961, s. 337.
- [47] Romani R., Tappel A. L., Arch. Biochem. Biophys. 79, 1959, s. 323.
- [48] Scheraga H. A., Rupley J. A., Adv. in Enzymology 24, 1962, s. 161.
- [49] Setlow R. B., Rad. Research suppl. 2, 1960, s. 276.
- [50] Setlow R. B., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 38, 1952, s. 166.
- [51] Shields H., Gordy W., J. Phys. Chem. 62, 1958, s. 783.
- [52] Smith C. L., Arch. Biochem. Biophys. 50, 1954, s. 322.
- [53] Sutton H. C., J. Biochem. 64, 1956, s. 456.
- [54] Weiss J., Nature 153, 1944, s. 748.
- [55] Weiss J., Nature 157, 1946, s. 584.
- [56] Wilson D. E., Intern. J. Rad. Biol. 1, 1959, s. 360.

SERGIUSZ WINOGRADSKI I E. JOHN RUSSELL DWIE SYLWETKI UCZONYCH

Dotychczas jeszcze można się spotkać ze zdaniem, że wielcy uczeni reprezentują odrębny typ człowieka. Chciałabym wykazać, że nie jest to pojęcie właściwe. Wybrałam w tym celu 2 uczonych, z którymi miałam zaszczyt współpracować. Są to prof. S. Winogradski i Sir E. J. Russell. Postaram się nakreślić ich drogi rozwojowe i sylwetki uwypuklając, obok ich znaczenia dla rozwoju nauki, dominujące cechy ich charakteru.

Zmarły przed około 10 laty S. Winogradski pochodził z bardzo zamożnego środowiska rosyjsko-ukraińskiego. Ojciec jego miał w Rosji rozległe majątki ziemskie, domy, cukrownie, nawet bank. Matka należała do rodziny hetmana Skoropadskiego. Sergiusz urodził się w 1856 r. w Kijowie. Po ukończeniu szkół średnich, wraz z jedynym swym bratem Aleksandrem, ukończył wyższe studia prawnicze. Nie dały im one zadowolenia i obaj bracia, z natury wybitnie muzycalni, postanowili zostać muzykami. Przy muzyce pozostał jednak tylko Aleksander, który, jako światowej sławy dyrygent orkiestry, zaznajamiał stolice Europy z muzyką rosyjską.

Sergiusz ukończył w Petersburgu — jako uczeń Leszetyckiego — konserwatorium muzyczne z myślą o tym, by zostać wirtuozem. Mimo wybitnego talentu pianistycznego nigdy nim jednak nie został, gdyż, jak sam twierdził, kariera ta nie zaspokajałaby jego intelektu, a jak mi mówiła jego rodzina — nie mógł przełamać swej tremy podczas występów publicznych. Muzyki dla siebie samego nie zaniechał jednak do końca swego długiego życia.

Zżyty od dziecka z przyrodą, postanowił wreszcie przerzucić się na nauki przyrodnicze. Ukończył je w Petersburgu pod opieką uczonych tej miary, co Mendelejew i wybitni botanicy. W latach osiemdziesiątych ubiegłego wieku, będąc pod urokiem stylu pracy i geniuszu Pasteura, poświęcił się biochemii i w tym czasie wykonał w Petersburgu pracę mikrobiologiczno-fermentacyjną, poświęconą drożdżom winiarskim.

Zajmując się naturą tych drobnoustrojów i wpływem na nie środowiska hodowlanego, zrozumiał Winogradski potrzebę bliższego zapoznania się z metodami badania tej grupy organizmów. By to osiągnąć, udał się na kilkuletni staż do znanego mykologa De Bariego, pracującego w Sztrasburgu, a po śmierci De Bariego jeszcze na kilka lat do Zurychu. Podczas sześcioletniego pobytu w Alzacji i Szwajcarii przekształcił się Winogradski całkowicie w bakteriologa i bakteriologii pozostał już wierny do końca swego życia naukowego.

W pracowni De Bariego został od razu wciągnięty w wielki spór między mikrobiologami na temat istnienia wśród bakterii różnych gatunków

morfologicznych, tak samo jak wśród roślinności wyższej. Mianowicie pleomorfiści (Naegeli, Zopf i in.) przeczyli temu założeniu dowodząc, że dzięki swej plastyczności bakterie przekształcają się tylko z jednych form w różne inne. Natomiast monomorfiści, których reprezentował właśnie De Bary, w oparciu o poglądy F. Cohna i R. Kocha twierdzili, że licznie istniejące gatunki bakterii przechodzą przez właściwe sobie, dłuższe lub krótsze, cykle rozwojowe analogicznie do wyższych organizmów. Tak się zdarzyło, że obiektem tego sporu były bakterie siarkowe. Gorąca natura Winogradskiego nie wytrzymała. By wykazać błędność koncepcji pleomorfistów zajął się tymi bakteriami w ich hodowlach ciągłych i wkrótce mógł wytknąć Zopfowi i innym pleomorfistom ich błędy metodyczne i nieumiejętność obserwacji. Nie jeden więc, ale wiele odrębnych gatunków bakterii żyjących w źródłach siarczanych może utleniać siarkowodór i siarkę. Teoria pleomorfizmu upadła.

Badania fizjologiczne nad bakteriami siarkowymi doprowadziły nadto Winogradskiego do odkrycia zupełnie odrębnego sposobu odżywiania się niektórych bakterii. Grupa bakterii siarkowych i następnie odkryte przez niego grupy bakterii żelazistych i nitryfikacyjnych obywają się bez substancji organicznej, czerpiąc energię z połączeń mineralnych. Całą tę wielką grupę fizjologiczną bakterii nazwał Winogradski *anorgoksydantami*, a następnie — *autotrofami*. Było to odkrycie tak doniosłe, że zelektryzowało cały świat przyrodniczy.

Na przykładzie interesujących nas najwięcej z punktu widzenia rolniczego bakterii nitryfikacyjnych postaram się przedstawić drogi myślowe ich odkrywcy.

W latach 1889/90, w których Winogradski wyodrębnił i zbadał wszechstronnie te bakterie, mikrobiologowie opierali się wciąż jeszcze na przepisach mikrobiologii lekarskiej. Jakkolwiek w tym czasie zdawano już sobie sprawę z tego, że nitryfikacja jest zjawiskiem biologicznym, nikomu nie udawało się wyodrębnić wywołujących je bakterii. Posługiwano się bowiem w tym celu wyłącznie pożywkami organicznymi — surowicą, bulionem itp. Dopiero Winogradski zerwał śmiało z tym kanonem hodowli drobnoustrojów. Wykluczył z pożywki substancje organiczne i, po zaszczepieniu jej w tych warunkach glebą, otrzymał w niej rozwój dwu rodzajów bakterii i utlenianie soli amonowych i azotynów. Oba te rodzaje nitrozo- i nitrobakterie wyodrębnił i w czystych ich hodowlach zbadał ich właściwości fizjologiczne oraz energetykę procesów utleniania amoniaku i azotynów.

Odkrycie nitryfikatorów uważane było za tak doniosłe, że Pasteur zaproponował Winogradskiemu utworzenie w Paryżu pracowni mikrobiologicznej. Jednakże równocześnie otrzymał Winogradski zaproszenie z Petersburga, gdzie na wzór Instytutu Pasteura organizowano Instytut Medycyny Doświadczalnej i gdzie zaplanowano mu utworzenie pracowni mikrobiologii ogólnej. Poczucie obowiązku wobec ojczyzny zwyciężyło wielką pokusę współpracy z Pasteurem i Winogradski w 1891 r. powrócił do Petersburga.

W tym czasie powierzono też Pawłowowi i biochemikowi Nenckiemu pracę w tym instytucie. Ci dwaj wielcy uczeni wkrótce zorganizowali sobie duże pracownie. W przeciwieństwie do nich Winogradski stworzył jedynie małą placówkę, w której współpracowało z nim tylko dwóch asystentów — Fribes i Omeliański. Wynikło to z dwóch przyczyn. Fizjo-

logia człowieka i zwierząt nie potrzebowała żadnej popularyzacji, podczas gdy mikrobiologia była jeszcze mało doceniana. Może jeszcze ważniejszą przyczyną ograniczenia środków materialnych dla mikrobiologii było usposobienie Winogradskiego. Podczas gdy zwłaszcza Pawłow miał naturę wylewną i potrzebę oddziaływania na otoczenie, Winogradski odznaczał się nieprzystępnością i poprawnym chłodem w stosunku do ludzi, czym maskował swoją wrodzoną nieśmiałość. Pawłowa kochała młodzież, a Winogradski zbliżał się tylko do ludzi wybitnych. Inni go nuzili. Zapewne też z usposobienia jego wynikało to, że był to typowy „kabinetny uczonej”.

Toteż gdy powierzono mu w instytucie zorganizowanie komisji do zwalczania cholery, która jakoby zagrażała Rosji ze wschodu, czuł się bardzo nieszczęśliwy. Wykonał to, co do niego należało pod względem fachowym, ale nie mógł się przemóc, by w celu zdobycia środków finansowych na tę instytucję zręcznie lawirować między zwalczającymi się wówczas klikami rządowymi. Sprawa upadła.

Natomiast w swej małej pracowni petersburskiej dokonał Winogradski znowu wielkiego odkrycia mikrobiologicznego. Od dawna już zdawano sobie sprawę, że w glebie mogą następować przyrosty azotu na drodze biologicznej. Dopiero jednak precyzyjne, jak zawsze, badania mikrobiologiczne Winogradskiego, przy jego oryginalnych koncepcjach analitycznych, doprowadziły do odkrycia przez niego beztlenowej bakterii asymilującej wolny azot z powietrza. Nazwał ją *Clostridium pasteurianum*.

Badając fizjologię wyodrębnionego przez siebie organizmu, stworzył Winogradski tzw. teorię amoniakalną, która na ogół utrzymuje się do dzisiaj, a według której azot cząsteczkowy wiązany jest z powietrza na drodze redukcyjnej, dając amoniak.

Jak bardzo potrafił skupić się podczas swych badań nad oznaczonym obiektem, o tym niech świadczy fakt, że w swoich bezazotowych pożywkach znajdował też inną bakterię, jednakże odkładał zajęcie się nią na później. Był to azotobakter, którego w 8 lat później wyosobnił i opisał Beijerinck.

Wraz z Omeliańskim zajmował się też Winogradski podczas swego petersburskiego okresu w dalszym ciągu nitryfikacją, a z Fribesem — fermentacją pektynową w roszarnictwie lnu.

Rad nie rad pełnił też przez jakiś czas obowiązki dyrektora całego Instytutu Medycyny Doświadczalnej i redaktora jego Archiwów. Tę ostatnią pracę, przy jego usposobieniu trudnym do współzycia, wykonywał nieomal całkowicie samodzielnie.

W roku 1905 Winogradski opuścił Instytut. Surowy klimat Petersburga nadszarpnął jego zdrowie, przy tym ówczesne stosunki, panujące w stolicy, zupełnie mu nie odpowiadały. Instytut nie stworzył mu też należytych warunków dla rozwinięcia pracy w obranej przez niego dziedzinie. Opuszczając Petersburg sądził, że to już koniec jego kariery naukowej. Powrócił na południe i zaczął intensywnie gospodarować na wsi. Tu, u siebie, okazał się doskonałym organizatorem i zmodernizował całe gospodarstwo.

Zżyty z przyrodą i z rolnictwem zaczął prowadzić, jak się wyrażał, życie „śpiącego naukowca”. Trwało to przez wiele lat. Jego wielką pasją była nadal muzyka, a potrzeba przewycięzania fizycznych przeszkód i obcowania z dziką przyrodą zrobiła z niego wytrawnego alpinistę. Alpom

też poświęcał corocznie pewną ilość czasu. Przypuszczał, że tak już będzie do końca jego życia.

Stało się jednak inaczej. Wielka Rewolucja zmusiła tego bogatego człowieka do opuszczenia kraju wraz z całą rodziną. Początkowo osiadł w Belgradzie, gdzie zaproponowano mu pracę naukową. Wprawdzie nie znalazł tam potrzebnych do jego badań warunków, ale pobyt w tym mieście umożliwił mu powrót do mikrobiologii. Po wielu latach przerwy należało zapoznać się z literaturą światową z tego okresu, co dzięki bibliotece uniwersyteckiej było możliwe.

Długoletnia gospodarka na roli, dociekanie przyczyn dobrego lub złego plonowania roślin związały Winogradskiego jeszcze bardziej niż dotychczas z ziemią. Postanowił teraz, gdy odszedł od swego rolniczego warsztatu pracy, zająć się wyłącznie mikrobiologią gleby, tym bardziej, że pasjonowało go zawsze szukanie nowych dróg w nauce i że właśnie mikrobiologia gleby tego wymagała. Światowy dorobek naukowy w tej dziedzinie do lat dwudziestych bieżącego wieku mało posunął się naprzód. Nie było metody umożliwiającej badanie życia drobnoustrojów bezpośrednio w glebie. Opierając się na metodach odpowiadających mikrobiologii lekarskiej i ogólnej, traktowano w tym czasie glebę przede wszystkim jako miejsce poławów różnych gatunków bakterii, które badano następnie w czystych hodowlach i w sztucznych warunkach, traktując je, jak „rośliny cieplarniane”. Nie uwzględniano wzajemnego wpływu na siebie drobnoustrojów, bytujących w glebie zespołowo, i wpływu czynników ekologicznych warunkujących ich rozwój w złożonym środowisku glebowym. Należało więc opracować od podstaw metodę ekologiczną.

Widząc nowy cel naukowy przed sobą, a zarazem zmuszony po raz pierwszy w życiu do zapewnienia bytu swej rodzinie, Winogradski chętnie skorzystał z zaproszenia ówczesnego dyrektora Instytutu Pasteura — dr Roux. Sprowadzając Winogradskiego z Jugosławii do Francji Roux ofiarował mu jedną z podmiejskich posiadłości tego instytutu jako miejsce zamieszkania i pracy. Zżytemu z wsią i nie znoszącemu tłoku ludzkiego wielkich miast Winogradskiemu nie odpowiadała bowiem praca w paryskiej centrali instytutu.

Po zorganizowaniu sobie pracowni mikrobiologii gleby w 1922 r. w Brie-Comte-Robert rozpoczął teraz Winogradski drugi wieloletni okres swej pracy mikrobiologicznej, trwający do końca jego życia. Umarł w 1953 r. jako blisko 100-letni starzec. Jak mi mówiła jego wierna asystentka, p. Nikitin, zachował do końca, mimo fizycznego zniedołężnienia, jasny i krytyczny umysł. Ostatnich kilka lat życia poświęcił Winogradski na zebranie i zaopatrzenie komentarzami wszystkich swych prac mikrobiologicznych. Powstało w ten sposób wielkie dzieło pt. *Mikrobiologia gleby — 50 lat badań*. Przetłumaczono je na język rosyjski i polski.

Oprócz dawniejszych rozpraw zamieszczone w nim zostały liczne prace wykonane podczas 30-letniego pobytu we Francji. Są to opublikowane, głównie w „Annales Institut Pasteur”, rozprawy i artykuły przeglądowe na następujące tematy:

1. Opracowana przez Winogradskiego „La Méthode directe”, metoda ekologiczna, która umożliwiła współczesny rozwój mikrobiologii gleby. Odróżnienie za pomocą tej metody mikroflory rodzimej, stale bytującej w glebie, czyli „autochtonicznej”, od mikroflory „zymogenicznej”

wprowadzanej do gleby z resztkami roślin lub z obornikiem i wywołującej różne procesy fermentacyjne w zależności od składu chemicznego tych produktów.

2. W oparciu o nową metodę nowe ujęcie czynności w glebie asymilatora wolnego azotu-azotobaktera. Opis morfologiczny i fizjologiczny różnych jego gatunków, czemu towarzyszyło też rozprawienie się z neopolimorficznymi koncepcjami Löhnisa.

3. Wspólnie z Ziemięcką opracowanie „metody azotobaktera”, służącej do oznaczania potrzeb nawozowych gleby.

4. Bakterie rozkładające w glebie celulozę — wyodrębnienie licznych ich gatunków i wykazanie ich doniosłego udziału przy transformacji substancji organicznej w koloidalne ciała humusowe.

5. Wspólnie z córką — Heleną — rozszerzenie badań nad różnymi gatunkami bakterii nitryfikacyjnych, z uwzględnieniem, jak zawsze, ograniczającego ich występowanie wpływu natury środowiska glebowego.

6. Wreszcie sprawdzenie raz jeszcze zdolności asymilowania wolnego azotu przez bakterie symbiotyczne roślin motylkowych bez udziału tych roślinnych gospodarzy oraz wykazanie wydzielania wolnego amoniaku przez narośle korzeniowe tych roślin podczas ich współżycia z *Rhizobium*. Potwierdzenie teorii amoniakalnej opracowanej podczas badań nad beztlenowym asymilatorem wolnego azotu.

Zasługi naukowe Winogradskiego znane są całemu światu przyrodniczemu. On i Beijerinck nazywani są „ojcami mikrobiologii gleby”. Choć Winogradski mało dbał o różne odznaczenia, spadały one na niego jedno po drugim. Był członkiem różnych Akademii Nauk i m.in. w 1925 r. został członkiem Akademii Nauk w ZSRR.

Ten „kabinetny uczonej” prowadził swoje badania zawsze osobiście, stale mając do pomocy tylko jednego pracownika technicznego. Miał w życiu tylko 5 uczniów (Fribesa i Omeliańskiego w Petersburgu, potem we Francji — Ziemięcką, Romella i swą córkę — Helenę). Wielki przyjaciel Winogradskiego, odkrywca streptomycyny — S. A. Waksman proponował mu nie raz przyjęcie liczniejszych stażystów amerykańskich. Odpowiedź była zawsze ta sama: „tego, czym ja się interesuję, taki praktykant nie będzie umiał zrobić, a to, co on umiałby zrobić — mnie nie interesuje”.

Jakkolwiek w pracowniach jego panowała tak potrzebna mu cisza, wychował niewielu następców, niemniej dzięki swym świetnie redagowanym publikacjom miał wielki wpływ na licznych mikrobiologów. Ukazane przez Winogradskiego nowe problemy podejmowane są i rozwijane nadal w różnych pracowniach. Winogradski tego pragnął i w tym też celu przemówił do młodych, ukazując im w zebranych dziełach swego życia własne koncepcje i metody pracy.

Był to wielki uczonej-samotnik. Typ, który już zanika, przy dzisiejszej konieczności prowadzenia badań zespołowych. Obca mu była zręczna taktyka, potrzebna do organizowania większych placówek naukowych. Chociaż wrodzoną nieśmiałość pokrywał chłodną wyniosłością, miał jednak naturę bardzo gorącą, żądną pokonywania wszelkich trudności tam, gdzie chodziło o prawdę naukową. Jego „święty ogień” naukowy wyrażał się nie tylko w jego pracy, lecz także w nieraz bardzo bezwzględny rozprawianiu się z błędnymi, według niego, koncepcjami niektórych uczonych.

LITERATURA

- Waksman S. A., S. N. Winogradski, *his life and work. The story of a great bacteriologist*. Rutgers University Press, N. Brunswick, USA 1953.
- Winogradski S. N., *Mikrobiologia gleby, zagadnienia i metody — 50 lat badań*. Tłum. zbior. pod og. red. J. M. Ziemieckiej, PWRiL, Warszawa 1953, s. 834.

*

E. John Russell — to przeciwieństwo Winogradskiego pod wielu względami. Urodzony w Anglii w 1872 r., syn uboższego duchownego (z Wesleyan Church) obciążonego liczną rodziną, dzieciństwo i młodość miał bardzo ciężkie. Będąc najstarszym z dziewięciorga rodzeństwa musiał się nim opiekować od najwcześniejszych lat swego życia. Jako 14-letni chłopiec zaczął zarabiać na życie, pracując w składzie aptecznym jako subiekt sklepowy. Była to praca ciężka i źle płatna, ale rozbudziła w nim zainteresowania chemiczne. Studiując po nocach, młody John zdawał wszystkie potrzebne egzaminy szkoły średniej, a ponieważ zdał je z odznaczeniem, otrzymał stypendium na wyższe studia. W Aberystwyth ukończył Wydział Chemiczny w Manchester, specjalizując się w chemii organicznej. Został następnie asystentem Katedry Chemii Organicznej, gdzie zsyntetyzował jakiś cenny barwnik do farbowania wyrobów tkackich. Wrócono mu świetną karierę naukowo-przemysłową.

W tym czasie zainteresował się bliżej działalnością biochemiczną drobnoustrojów i dzięki temu otrzymał zaproszenie od słynnego mikrobiologa Jörgensena do jego pracowni w Kopenhadze. Wynikiem tego wyjazdu była zupełna zmiana zadań życiowych Russella.

W Danii mianowicie skonstatował kwitnący stan rolnictwa i wysoką stopę życiową jej mieszkańców. W Anglii, w latach dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku, rolnictwo stało dużo niżej, a w miastach, zwłaszcza takich jak przemysłowy Manchester, ludność robotnicza biedowała, gnieżdząc się w tzw. „slumsach”. Dzieci jej były zdziczałe i mało rozwinięte.

Wychowany wśród liczного rodzeństwa Russell żywo odczuwał potrzebę opieki nad dziećmi. Był też naówczas przejęty ożywczymi hasłami Ruskina. Postanowił więc obudzić w biedocie miejskiej zainteresowanie przyrodą i ukazać jej możliwości lepszego i pełniejszego bytu, który może dać praca na wsi. Zaczął organizować wycieczki na wieś dla dzieci, które jej nigdy nie widziały. Umiejętnie budząc w dzieciach dociekliwość badawczą uzyskiwał z pomocą tych wycieczek tak dobre wyniki, że nie zważając na oburzenie profesorów i na wszelkie inne przeszkody Russell porzucił swą świetnie się zapowiadającą karierę uniwersytecką i przeniósł się do szkolnictwa ludowego, które również postanowił zreorganizować i włąć w nie nową treść.

By to osiągnąć wystarał się najpierw o stanowisko nauczyciela chemii w szkole rolniczej, gdzie równocześnie sam zaczął się uczyć rolnictwa praktycznego i teoretycznego. Wkrótce zebrał dostateczną ilość wiadomości, by móc je ująć w przystępną formę, jako zbiór pogaderek o ziemi, o roślinach i o podstawach rolnictwa. Wydawnictwo to rozpowszechnił wśród nauczycieli szkół elementarnych. Nadal też urządzał różne kursy i wycieczki dla nauczycieli i dla dzieci.

Studiując w dalszym ciągu nauki rolnicze i analizując ich poziom na początku naszego stulecia, doszedł do wniosku, że nauki te są w Wielkiej

Brytanii oparte na koncepcjach przestarzałych i, że należy je unowocześnić przy pomocy bliższego zbadania warunków naturalnych, a więc całego skomplikowanego podłoża, którym jest gleba oraz oddziaływania jej na rośliny. W związku z tym postanowił przyczynić się do oparcia nauk rolniczych na solidnych podstawach teoretycznych nauk przyrodniczych. Toteż chętnie się zgodził na objęcie stanowiska naukowego w Stacji Doświadczalno-Rolniczej w Rothamsted pod Londynem. Przenosząc się w 1907 r. do tej, jednej z najstarszych na świecie placówki naukowo-rolniczej, zaczął w niej pracować jako chemik-gleboznawca. Szybko teraz oceniono jego krytyczny umysł, niestrudzoną pracowitość i wybitne zdolności organizacyjne. Już w 1912 r. został dyrektorem całości i był nim w Rothamsted aż do roku 1943, kiedy to przeszedł na emeryturę.

W roku 1912 Stacja Rothamstecka miała już poważne osiągnięcia. Z pomocą założonych w połowie XIX wieku stałych pól doświadczalnych wykazała znaczenie stosowania nawozów mineralnych i przez wiele lat badano w niej bilans azotowy gleb pod różnymi uprawami roślinnymi. W tym czasie zatrudniała jednak zaledwie kilku pracowników i składała się z kilku prowizorycznych pomieszczeń pracownianych.

Zajmując się badaniami własnymi, Russell był jednak przede wszystkim organizatorem i to na skalę niezwykłą. Postanowił przekształcić małą stację doświadczalną w wielki instytut naukowo-rolniczy, kierujący rozwojem wiedzy rolniczej i jej zastosowaniem w całym imperium brytyjskim. Należało w tym celu apelować do ofiarności różnych instytucji i osób, by zdobyć potrzebne fundusze na rozszerzenie i zmodernizowanie pracowni i na możliwość zatrudnienia w nich najlepszych specjalistów. W ciągu około 30 lat kierowania tą Stacją wybudował w niej duży kompleks gmachów wyposażonych w nowoczesne urządzenia i aparaturę. W szybkim teraz czasie zatrudniono tam ponad setkę pracowników naukowych, nie licząc personelu technicznego. Zachowując swą historyczną nazwę „Stacja Doświadczalno-Rolnicza” — wielki ten Instytut zajął się podstawowymi badaniami w dziedzinach fizyki, chemii i biologii gleby oraz fizjologii roślin, ich chorób i szkodników. Rok rocznie zaczęło Rothamsted ściągać do swych pracowni pracowników naukowych z całego imperium brytyjskiego, a także praktykantów z innych krajów. M. in. odbywali tu praktyki różni badacze polscy. Nawiązano łączność z uniwersytetami z jednej — i z praktyką rolniczą z drugiej strony. Podczas obu wielkich wojen Stacja współpracowała z władzami w organizowaniu samowystarczalnej produkcji żywności dla wysp brytyjskich, co jeszcze bardziej wzmoгло jej autorytet.

Do szczytowych osiągnięć tej instytucji, podczas jej znajdowania się pod kierownictwem Russella, można zaliczyć: powstanie w niej całej szkoły metodyki statystycznej, z Fisherem i Yeatsem na czele; rozwój badań w dziedzinie fizjologii roślin (szkoła Gregoriego), wirusologii (Bawden), biochemii (Pirie) oraz zorganizowanie Imperialnego Biura Gleb (Russell i Jacks).

Do obowiązków pracowników naukowych Rothamsted należy, obok badań własnych, krzewienie ich w rolnictwie brytyjskim oraz pomoc w organizowaniu rolnictwa w całym Imperium (obecnie w Commonwealth). Tak na przykład, z inicjatywy dyrekcji Rothamsted powstał w Kenii wielki instytut rolniczo-kolonialny, którego badania objęły Kenię, Tanganikę i Ugandę.

Jak się przedstawiała działalność Russella jako badacza naukowego?

Głównym jego zainteresowaniem była zawsze gleba jako siedlisko drobnoustrojów i roślin. Osobiste badania nad życiem gleby rozpoczął Russell w początkach naszego stulecia. W tym czasie mikrobiologowie zajmowali się prawie wyłącznie bakteriami glebowymi i badali je w oderwaniu od ich naturalnego środowiska. Występowanie i działalność w glebie innych grup drobnoustrojów były pomijane. Russell, wraz z Hutchinsonem doszli do przekonania, że populacja gleby jest bardzo różnorodna, że wzajemne oddziaływanie na siebie różnych grup drobnoustrojów jest w glebie ustawiczne i, że związane to jest z warunkami biotycznymi gleby.

Zwracając specjalną uwagę na rolę pierwotniaków glebowych jako „pożeraczy bakterii”, uczeni ci opracowali znaną teorię „cykliów rozwojowych bakterii i pierwotniaków w glebie”. Stwierdzili mianowicie, że silny rozwój bakterii następujący po dopływie do gleby odpowiedniego dla nich pożywienia, pociąga za sobą wzmoczenie się liczebności pierwotniaków. Te ostatnie zmniejszają ilość bakterii, po czym — w braku dostatecznej ilości żeru — same zaczynają zanikać.

Badania te dały impuls do matematycznej interpretacji zmienności nasilenia rozwoju różnych drobnoustrojów w zespołach glebowych. W Rothamsted prowadzono je nadal w dużej pracowni mikrobiologicznej we współpracy z wydziałem statystycznym zorganizowanym przez R. G. Fishera. Wydział ten odtąd zaczął pomagać w opracowaniu planów i wyników wszelkich doświadczeń z drobnoustrojami i z innymi organizmami.

Drugą dużą pracą mikrobiologiczną, podjętą przez Russella z punktu widzenia wpływu drobnoustrojów na stan żyzności gleby, było badanie biologii tzw. „gleb zmęczonych” i opracowanie sposobu przywracania im żyzności, polegającego na tzw. „częściowej sterylizacji gleby”. Russell stwierdził, że w glebach zmęczonych, źle plonujących, nagromadzają się drobnoustroje szkodliwe dla rozwoju roślin. Przez odpowiednie zastosowanie środków termicznych lub chemicznych tylko szkodliwa mikroflora jest zabijana, a pozostająca przy życiu mikroflora pożyteczna może się zacząć dobrze rozwijać. Równocześnie też stwierdził, że po zabiegu częściowej sterylizacji plony roślin mogą wzrastać bardzo wydatnie. Ten sposób przywracania żyzności glebom zmęczonym został wprowadzony do praktyki ogrodniczej.

Rzucając hasła i hipotezy robocze, pomagając wciąż wzrastającemu licznie personelowi naukowemu Rothamsted w planowaniu i opracowaniu jego prac, troszczył się Russell ustawicznie o podnoszenie poziomu i zasięgu działalności powierzanej sobie placówki. Ten niezwykle żywotny i pracowity człowiek, obok wymienionych trosk i zajęć, znajdował jeszcze w ciągu 30-letniego kierowania Stacją Doświadczalno-Rolniczą w Rothamsted — czas na redagowanie licznych publikacji. Najbardziej znanym dziełem Russella jest jego duża monografia pt. *Warunki glebowe i wzrost roślin* (*Soil conditions and plant growth*). Od 1912 r. ukazało się już 9 wydań tej pracy i przetłumaczono ją na 7 języków europejskich i azjatyckich, m. in. także na język polski. Praca ta odzwierciedla ogólny cel badań Russella i jego współpracowników. Jest nim poznanie siedliska roślin i drobnoustrojów, którym jest gleba, oraz zbadanie rozwoju roślin w różnych warunkach siedliskowych i uprawowych.

Inne większe publikacje Russella poświęcone są też przeważnie żyzno-

ści gleby, jej nawożeniu i produkcji roślinnej. Nie zaniedbuje przy tym swych wydawnictw popularnych, do których zawsze przywiązuje wielką wagę. W sumie opublikował dotychczas wiele cennych rozpraw, kompendii, pogadanek popularnych i innych wydawnictw.

Ale to jeszcze nie wyczerpuje jego działalności. Za jedno z najważniejszych swoich zadań uważa Russell doradztwo w Brytyjskim Ministerstwie Rolnictwa i w różnych innych instytucjach. Zajmuje się tym od kilkudziesięciu lat i w związku z tym odbywa liczne podróże nie tylko w kraju, ale nieomal po całym świecie. Rządy różnych krajów korzystają bowiem z jego doświadczenia i zdolności organizacyjnych i zapraszają go jako rzeczoznawcę w sprawach organizacji produkcji rolnej i doświadczałnictwa. W Indiach, Pakistanie, Australii, Kanadzie, Palestynie i w innych krajach zaznajamia się na miejscu ze stanem rolnictwa, ze stopą życiową ludności i z jej zdolnościami do pracy oraz z możliwościami rozwoju placówek badawczych i produkcji rolniczej. Na tych podstawach opracowuje następnie perspektywiczne plany rolnicze.

Syntetyzując swe studia w różnych krajach publikuje w ramach organizacji międzynarodowych takie prace jak np. *Ludność i produkcja żywności na świecie* (*World population and world food supplies*, 1954 i 1955).

Muszę tu wspomnieć, że ten wielki podróżnik zwiedzał też kilka razy Polskę, którą z wielką przyjaźnią opisał w swej autobiografii, wydanej w 1956 r. pt. *Zawołała mnie ziemia* (*The land has called me*). Wyrazem tej przyjaźni było podczas II Wojny Światowej organizowanie pomocy dla nauki polskiej i zapraszanie różnych młodych naszych pracowników na staże naukowe w instytucjach angielskich.

Jest przewodniczącym lub członkiem honorowym licznych towarzystw naukowych. Między innymi jest członkiem Polskiej Akademii Nauk.

W ciągu 20 lat emerytalnych nie zaprzestał uczestniczenia w licznych pracach w kraju i za granicą. Dopiero teraz, już jako 90-letniemu starcowi, doktorzy zabronili mu dalszych podróży. Wobec tego zajął się tym, na co nigdy nie mógł znaleźć czasu. Opracowuje mianowicie historię brytyjskich nauk rolniczych.

Zdaję sobie sprawę, że różnorodna, przejawiająca się na różnych szczeblach nauki i życia działalność Sir Johna Russella jest trudna do zwięzłego jej scharakteryzowania. Spróbuję jednak zreasumować doniosłość jego osiągnięć i streścić jego ogólną charakterystykę jako człowieka.

Jako wybitny badacz i jako inicjator oparcia rozwoju rolnictwa na podstawach nauk ścisłych, jest Russell także znakomitym organizatorem rolnictwa w skali światowej, a obok tego gorącym społecznikiem, wierzącym w możliwości rozwojowe człowieka, któremu zawsze jest gotów pomóc. Trudne warunki jego dzieciństwa i młodości wyrobiły w nim wielką odporność na różne przeciwności, które jednak, dzięki zaletom swej inteligencji i charakteru, potrafił pokonywać. Wychował też, oprócz licznej rodziny własnej, wielkie zastępy dobrych specjalistów i organizatorów.

LITERATURA

- Russell J. E., *The land has called me*, G. Allen Ltd., London 1956 (autobiografia).
Russell J. E., *Warunki glebowe a wzrost roślin*, tłum. zbior. z 8 wyd., PWRiL, Warszawa 1958, s. 694.

Symposia of the International Society for Cell Biology, vol. 1, *The Interpretation of Ultrastructure*, Edit. R. J. C. Harris, Acad. Press, New York — London 1962, X + 438.

Nakładem Academic Press ukazała się w 1962 r. nowa, wartościowa pozycja z serii *Symposia of the International Society for Cell Biology* — tom I pt. *The interpretation of ultrastructure*. Jest to bardzo cenna książka dla wszystkich cytologów, a zwłaszcza dla tych, którzy zajmują się mikroskopią elektronową. Książka składa się z 22 rozdziałów i omawia najrozmaitsze zagadnienia związane z ultrastrukturą i techniką mikroskopowo-elektronową.

I. *Chemiczne utrwalcze dla mikroskopii elektronowej* (B. A. Afzelius, Stockholm). Autor omawia kilka, skrajnie różnych, powszechnie używanych utrwalczy, podkreślając ich wady i zalety. Uwagi swoje ilustruje starannie dobranymi elektronogramami. Rozdział kończy obszerna dyskusja uczestników sympozjum, podkreślających znaczenie między innymi takich czynników jak pH, zawartość różnych jonów, stężenie, obecność rozpuszczalników organicznych (np. etanolu), które mogą wpływać na zmianę struktur biologicznych. Zestawienie literatury dotyczącej tego tematu jasno naświetla ten podstawowy problem dla mikroskopii elektronowej.

II. *Plastiki rozpuszczalne w wodzie — dla celów cytochemii ultrastrukturalnej* (E. H. Leduc, USA, W. Bernhard, Paris). Autorzy omawiają znaczenie plastiku (w którym jest zatopiona tkanka) dla badań histochemicznych. Porównują właściwości kilku różnych plastików, omawiając wyniki morfologiczne i histochemiczne po zastosowaniu różnych utrwalczy w połączeniu z różnymi plastikami. Tkanki zatopione w plastikach hydrosolubnych traktowali roztworami pepsyny, trypsyny, DNA-zy i RNA-zy i uzyskiwali wyniki bardzo ciekawe i specyficzne.

III. *Krytyczna ocena ultrastrukturalnych modeli w zależności od utrwalania* (F. Sjöstrand, USA). Autor wykazuje, że w zależności od sposobu utrwalania te same struktury biologiczne mogą mieć bardzo różny wygląd i rozmiary. Różne utrwalcze chemiczne ujawniają lub „podkreślają” różne szczegóły w budowie komórki; utrwalcze fizyczne działają jeszcze inaczej, a porównanie wyników uzyskanych przy pomocy mikroskopu elektronowego, w świetle spolaryzowanym i przy użyciu promieni X, ujawnia znaczne różnice ultrastrukturalne. Autor proponuje ciekawe schematy dla zilustrowania budowy molekularnej niektórych struktur biologicznych.

IV. *Interpretacja ultrastruktury jądra komórkowego* — (H. Ris, USA). Autor wskazuje na trudności w interpretacji niektórych obrazów jądra komórkowego w różnych okresach życia komórki. Na skrawkach ultracienkich widać tylko bardzo małe fragmenty np. chromosomów i konieczne jest nawiązanie do danych klasycznej cytologii i cytogenetyki, aby odtworzyć trójwymiarowy obraz jądra.

V. *Korelacja danych uzyskanych w mikroskopie elektronowym i z dyfrakcji promieni X odnośnie ultrastruktury systemów błon lipoproteinowych* (J. B. Finean, Birmingham). Na przykładzie otoczki myelinowej autor wykazuje i wyjaśnia różnice w obrazach uzyskanych przy pomocy mikroskopu elektronowego i z dyfrakcji

promieni X. Stwierdza, że przy przygotowywaniu tkanki nerwowej dla mikroskopu elektronowego, grubość warstewek w otoczce myelinowej może zmaleć nawet o 30%, jako wynik błędów technicznych oraz podaje sposoby ich uniknięcia.

VI. *Ilościowa mikroskopia elektronowa* (R. E. Burge, London). Przedmiotem tego rozdziału jest omówienie uszkodzeń cienkich skrawków tkanki i izolowanych struktur biologicznych, wywołane promieniowaniem i sublimacją. Zjawiska fizyczne, zachodzące na preparacie, autor ujmuje we wzory matematyczne. Zajmuje się także zagadnieniem wielkości uzyskiwanego kontrastu w mikroskopie elektronowym.

VII. *Cytologia i mikrocytologia żywych i utrwalonych składników cytoplazmatycznych w jajach Tubifex i w komórce Amoeba proteus* (F. E. Lehmann, M. Henzen, F. Geiger, Bern). Autorzy porównują wyniki cytologii klasycznej z wynikami uzyskanymi w mikroskopie elektronowym oraz wpływ różnych utrwalaczy na mikroskopową morfologię tych organizmów.

VIII. *Optyczne i mikroskopowo-elektronowe badania błoniastych organelli cytoplazmatycznych* (Ito Susumu, USA). Głównym zagadnieniem jest retikulum endoplazmatyczne, jego morfologia i dynamizm oraz niezwykła stabilność żywych komponent błoniastych po śmierci zwierzęcia.

IX. *Aktywność fosfatazy nukleozydowej cytomembran* (A. B. Novikoff, E. Essner, S. Goldfischer, M. Heus, USA). Rozdział, bogato ilustrowany licznymi mikrofotografiami i elektrogramami oraz schematami, omawia rozmieszczenie wielu enzymów w błonach komórkowych, w retikulum endoplazmatycznym, w aparacie Golgiego i lysosomach. Autorzy szeroko omawiają rolę tych enzymów w komórce oraz znaczenie wzajemnego powiązania systemu różnych cytomembran komórkowych.

X. *Kombinacja metod barwienia cytochemicznego dla lokalizacji enzymów w mikroskopie elektronowym* (S. J. Holt, M. Hicks, London). Szereg metod histochemicznych mających zastosowanie w mikroskopii optycznej, udaje się po niewielkich modyfikacjach zaadoptować dla mikroskopii elektronowej. Autorzy tego rozdziału oceniają różne metody utrwalania oraz metody histochemiczne, z punktu widzenia ich przydatności dla mikroskopii elektronowej.

XI. *Lokalizacja nukleoprotein w elektronogramach: wiązanie metali i autoradiografia* (H. Swift, USA). Autor rozpatruje najpierw metody „barwienia” preparatu przy pomocy soli metali dla celów mikroskopii elektronowej, następnie na kilku przykładach omawia lokalizację nukleoprotein i lipidów, wreszcie podaje podstawowe zasady autoradiografii aplikowanej dla mikroskopii elektronowej.

XII. *Badanie naturalnej i sztucznej DNA — zawierającej plazmy metodą cienkich skrawków* (E. Kellenberger, Genève). Rozdział dotyczy chromosomów w różnych stanach chemicznych, fizycznych i fizjologicznych DNA, oraz różnych artefaktów chromosomów, powstających w czasie przygotowywania preparatu dla mikroskopu elektronowego. Autor wykazuje, jak bardzo obraz zależy od sposobu przygotowania preparatu.

XIII. *Negatywne barwienie i jego zastosowanie do badań wirusów i ich reakcji serologicznych* (T. F. Anderson, USA). Negatywne barwienie zwiększa kontrast oraz chroni drobne cząsteczki przed powstawaniem artefaktów. Autor ilustruje swoje rozważania niezwykle instruktywnymi elektronogramami, przedstawiającymi zarówno ultrastrukturę wirusów, jak i ich reakcje antygenowe.

XIV. *Ocena techniki negatywnego barwienia dla badania ultrastruktury* (R. C. i R. W. Horne, London). Autorzy podają teoretyczne podstawy negatywnego barwienia, jego praktyczne zastosowanie oraz pokazują szczegóły, które można uwioczyć przy pomocy tej metody.

XV. *Ultrastruktura aparatu mitotycznego* (P. Harris, D. Mazia, USA). Tytuł rozdziału wystarczająco jasno mówi, co jest przedmiotem rozważań.

XVI. *Interpretacja ultratektury w rosnących ścianach komórkowych u roślin* (A. Frey-Wyssling, Zürich). Autor zajmuje się ultratekturą pierwotnej błony komórkowej, różnymi typami ułożenia włókien w tej błonie oraz teoriami wyjaśniającymi to zróżnicowanie.

XVII. *Analiza naturalnej celulozy przy pomocy mikroskopu elektronowego oraz dyfrakcji elektronowej* (R. D. Preston, Leeds). Stosując metodę dyfrakcji elektronowej, mikroskop elektronowy oraz hydrolizę i chromatografię bibułową, autor w wyczerpujący sposób przedstawia budowę mikrofibryli naturalnej celulozy.

XVIII. *Molekularna struktura systemów lipidów — woda oraz modele błon komórkowych studiowanych przy pomocy mikroskopu elektronowego* (W. Stoeckenius, USA). Dotychczasowe dane o strukturze błon komórkowych uzupełnione wynikami mikroskopii elektronowej wykazały, że składa się ona z dwu molekularnych warstewek lipidów, otoczonych z obu stron warstewkami protein.

XIX. *Ewolucja wewnątrzkomórkowych systemów membran fosfolipidowych* (E. H. Mercer, London). Na materiale owotestis ślimaka autor śledzi różne typy wewnątrzkomórkowych inkluzji fosfolipidowych.

XX. *Odzyskanie wirusów z krwi szczurów zaszczepionych leukemią* (A. J. Dalton, J. B. Moloney, USA). Po wielokrotnym odwirowaniu krwi szczurów z leukemią, autorzy uzyskali w obrazie mikroskopowo-elektronowym liczne wirusy leukemii. Uważają, że ta metoda otwiera nowe źródło uzyskiwania wirusów leukemii.

XXI. *Mikroskop elektronowy w badaniach różnicowania zarodkowego* (R. Weber, Bern). Autor zajmuje się ultrastrukturą oocytów i komórek zarodkowych, nawiązując do ich morfogenetycznej organizacji.

XXII. *Nowe propozycje w badaniach biologicznej ultrastruktury przy pomocy mikroskopu elektronowego o wysokiej zdolności rozdzielczej* (H. Fernandez-Moran, USA). Obok mikroskopu elektronowego stosuje się coraz częściej metodę dyfrakcji elektronowej oraz mikroskop o wysokiej zdolności rozdzielczej, co pozwala wnikać w molekularną strukturę obiektów biologicznych. Autor podaje szereg metod przygotowania obiektu do takich właśnie badań.

Ten krótki przegląd rozdziałów powinien zorientować w tematyce i zagadnieniach poruszanych w książce, a nazwiska współautorów gwarantują jej wysoki poziom naukowy. Każdy cytolog przeczyta ją na pewno z dużym zainteresowaniem i pożytkiem.

Wanda Byczkowska-Smyk

PROBLEMY BIOLOGICZNE, WYNIKAJĄCE Z WALKI ZE SZKODNIKAMI I CHOROBIAMI*

Książka pod tym tytułem obejmuje 12 referatów, wygłoszonych w październiku 1959 r. na Sympozjum, zorganizowanym w Królewskim Towarzystwie Geograficz-

* *Biological problems arising from the control of pests and diseases* — edited by R.K.S. Wood. The Institute of Biology, London 1960.

nym w Londynie dla omówienia licznych problemów, związanych ze zwalczaniem chorób i szkodników u roślin, zwierząt, a nawet u ludzi. Po każdym z osobna referacie odbyła się dyskusja nad тезami autora. Osobna dyskusja ogólna zakończyła Sympozjum.

Sympozjum, poświęcone ubocznym skutkom stosowania chemicznych pestycydów, nie uwzględniło jednak ubocznego wpływu herbicydów na roślinność, na świat organiczny w ogóle i na środowiska.

Książka niewielka (116 stron tekstu), uderza jednak ilością i różnorodnością poruszonych w niej tematów. Są to zagadnienia z zakresu fizjologii, ekologii i biologii, zarówno roślin i zwierząt — pasożytów i żywicieli, jak człowieka; zagadnienia z dziedziny genetyki i hodowli roślin, zagadnienia rolnicze, ekonomiczne, nawet społeczne; problemy medyczne, zarówno z dziedziny genetyki medycznej, jak zdrowia społecznego; nawet pewne problemy ze styku etyki, socjologii i biologii (tzw. „dobór etyczny”). Niejednokrotnie zahaczono też w referatach o tematy z zakresu ochrony przyrody.

Argumenty i wywody autorów i dyskutantów nie wszystkie przekonują nas w równej mierze. Wszystkie jednak przynoszą wiele ciekawych danych, a przede wszystkim materiał wartościowy i interesujący także dla polskiego czytelnika.

Nie siląc się na jakiegokolwiek polemizowanie z twierdzeniami dyskusyjnymi, podaję w dużym skrócie istotną treść referatów oraz najważniejszych wypowiedzi dyskutantów.

Przebieg Sympozjum wskazuje na coraz bardziej postępujące zrozumienie, że stosowanie pestycydów, chociaż już nieuniknione w obecnym układzie stosunków, jest jednak w pewnym sensie igraniem z ogniem. Stąd konieczność możliwego ograniczenia stosowania tych preparatów. Stąd też konieczność wszechstronnych, a wieloletnich badań ich ubocznych skutków oraz opartego na wynikach takich badań ustawowego uregulowania sposobu i rozmiarów ich używania.

Zachód zbyt daleko poszedł w chemizacji rolnictwa i ogrodnictwa (nie mówiąc już o leśnictwie). Płaci za to zbyt wysoką cenę, stąd dziś coraz poważniej zaznaczają się tam tendencje odwrotowe. Ostatnio prasa i radio doniosły o wynikach prac specjalnej komisji, powołanej przez prezydenta Stanów Zjednoczonych AP dla zbadania szkodliwości pestycydów. Ze względu na znaczną ilość zatruc ludzi, na olbrzymie szkody w faunie ptasiej, w rybostanie zbiorników wodnych i rzek itd., komisja ta zaleciła poważne ustawowe ograniczenia stosowania pestycydów, przy ostrych sankcjach karnych.

Jak wydawca stwierdza we wstępie do omawianej książki, prawie każda metoda zwalczania chorób czy szkodników (angielski wyraz „pests” nie ma jedno-wyrazowego odpowiednika w języku polskim) musi mieć niektóre skutki szkodliwe. Nieustanny jest stały wzrost stosowania pestycydów, zwłaszcza w ostatnich dziesięci latach, w związku ze zmianą stosunków społecznych, ekonomicznych, stosunków agrarnych, między innymi ze zwiększaniem się trudności roboczych.

Nieunikniony jest więc również wzrost ilości problemów związanych ze skutkami ubocznych działań pestycydów. By można było opanować je i zneutralizować, konieczne jest przede wszystkim dokładne ich poznanie.

Doświadczenie wykazało w wielu przypadkach, że najprostsze i najskuteczniejsze metody walki ze szkodnikami i chorobami, wobec akumulacji ubocznych skutków szkodliwych, mogą okazać się dużo kosztowniejsze i mniej celowe od metod innych, choćby bardziej skomplikowanych i powolniejszych w działaniu. Jest to zjawisko niebezpieczne i wymagające przeciwdziałania, istnieje bowiem tendencja do stosowania przede wszystkim takich metod prostych, lecz bardzo ryzykownych.

Ze względu na brak miejsca omówić mogą tutaj treść niektórych tylko referatów, traktując je jedynie jako przykłady.

J. T. Martin: «Następstwa rozpowszechnionego stosowania chemikaliów na rośliny i skutki dla człowieka».

Ze stosowania łącznych metod gospodarczo-biologicznych w kombinacji z chemikaliami wypływają nowe problemy i nowe niebezpieczeństwa dla zwierząt i człowieka:

a) powstawanie ras szkodników i organizmów patogenicznych, odpornych na chemikalia;

b) wysoka toksyczność preparatów chemicznych, niebezpieczna zwłaszcza dla pracowników zajętych przy opryskiwaniu czy opylaniu roślin. Niektóre nowe chemikalia absorbowane są przez roślinę i dają początek metabolitom, toksycznym przynajmniej przejściowo;

c) znaczna trwałość niektórych chemikaliów w liściach i owocach, niebezpieczna dla konsumentów;

d) w organizmach ludzkich i zwierzęcych akumulowanie zjadanych przez dłuższy czas związków o zasadniczo niewielkiej toksyczności, które w ten sposób stają się niebezpieczne. Stąd konieczność dokładnego określenia warunków, pod jakimi preparaty takie mogą być stosowane bez większego ryzyka.

Ilość trujących pestycydów ogromnie wzrosła w porównaniu do stosunków przedwojennych. Wówczas wyraźnie toksyczne były tylko nikotyna i związki arsenu. Obecnie w Anglii znanych jest ponad 50 preparatów trujących, szczególnie toksyczne dla ssaków są pewne insektycydy organo-fosforowe.

W badaniach testowych na zwierzętach poziom ostrej toksyczności wyraża się przez określanie wyrażonej w miligramach ilości trucizny, przypadającej na jednostkę wagi żywej. „Średnia dawka letalna” to ilość miligramów trucizny, wystarczająca do zabicia najmniej 50% osobników, poddanych badaniom (LD 50). Na ogół brak wyraźnej niezgodności pomiędzy wysokością dawek toksycznych dla zwierząt testowych — i dla człowieka. Możliwość i stopień zatrucia zależy od: stężenia chemikaliów w preparatach nierozpuszczonych i rozpuszczonych; sposobu wytwarzania rozpyłu lub mgławicy; sposobu i częstotliwości stosowania preparatu; sposobu reagowania organizmu na truciznę — wewnętrznie lub zewnętrznie (wchłanianie przez skórę lub połykanie, podrażnienia skóry i błon śluzowych itp.).

Najwyższą ostrą toksyczność dla człowieka i zwierząt-ssaków (LD 50 dostownie — poniżej 50 mg/kg wagi żywej) wykazują zwłaszcza nikotyna, szereg preparatów organo-fosforowych, endryna i ezodryna-dwa chlorowane węglowodory, używane jako insektycydy, fungicydy organo-rtęciowe, herbicydy: DNC, dinoseb i arseniny, jak TEPP, dimefoks, paration, sulfotep, schradan i demeton. Nieco mniej niebezpieczne (LD 50 = 50 — 200 mg/kg) są arseniany, dieldryna i metylo-dematon.

Znacznie niższą toksyczność (LD 50 — daleko powyżej 200 mg/kg) wykazuje szereg innych preparatów, jak np. DDT i BHC, dalej organo-fosforowe insektycydy: malathion, diazinon, dipterex, różne typy organicznych i nieorganicznych fungicydów oraz herbicydów selektywnych i nieselektywnych, pod warunkiem odpowiedniego sposobu stosowania. Niezmiernie trudne do ustalenia, a tym samym trudne do uniknięcia są niebezpieczne zatrucia chroniczne i chroniczna toksyczność.

W Anglii specjalny naukowy podkomitet Komitetu Nadzorczego w Ministerstwie Rolnictwa bada te stosunki, ogłasza wykazy pestycydów, dopuszczonych do powszechnego użytku (około 40 preparatów), wskazania dla producentów chemikaliów, wskazówki dla rolników i ogrodników. Szczególną uwagę zwraca się na określenie minimalnych okresów czasu, jakie upłynąć muszą między zastosowaniem preparatu a zbiorem produktów jadalnych, by trucizny, znajdujące się na

powierzchni lub wewnątrz tkanek roślinnych, ulec mogły rozkładowi; zapewnia on przejście trucizn w formy nietoksyczne dzięki wpływom czynników atmosferycznych, utlenianiu itp. Szczególną wagę posiada to dla produktów liściowych, ze względu na dużą powierzchnię blaszek. Najmniejsze ryzyko przedstawia przy tym wczesne stosowanie pestycydów, przed wykształceniem się liści i innych jadalnych części roślin.

Największy nacisk kładzie się na odpowiednie stosowanie chemikaliów oraz na pouczanie praktyków o związanych z nimi niebezpieczeństwach.

Autor wysuwa szereg postulatów natury praktycznej. Podkreśla przy tym, że poleganie jedynie na przestrzeganiu „tolerancji” byłoby absolutnie niewystarczające dla ochrony człowieka, byłoby zresztą i zbyt kosztowne i niewykonalne w szerszym zakresie. „Tolerancja” posiada jednak ważne znaczenie, gdyż określa maksymalny poziom pozostałości pestycydów w produktach roślinnych i daje podstawę do dyskwalifikacji ziemioplodów o wyższej zawartości chemikaliów.

Światowa Organizacja Zdrowia po starannych badaniach zwróciła uwagę na pozostałości chemikaliów w jadalnych surowcach roślinnych oraz na przepisy prawne, regulujące odpowiednie stosowanie pestycydów. Bardzo ważne jest zabezpieczenie osób innych przed zatruciami podczas i po zastosowaniu preparatów (widoczne ostrzeżenia, zakaz opylania i opryskiwania na wietrze itp.), dalej odpowiedzialne przechowanie zbiorników trucizn i zabezpieczenie ich przed dziećmi, przed zetknięciem się z wodą i materiałami pokarmowymi, niszczenie opakowań nie nadających się do powtórnego użytku (miażdżenie i palenie). Tu należy też ochrona wód płynących i stojących wraz z odpływami drenowymi przed wylewaniem do nich resztek trucizn, myciem w nich zbiorników i naczyń, maszyn i narzędzi używanych do opryskiwania i opylania, ubrań roboczych powalanych chemikaliami itp. Odpadki takie i wodę, zabrudzoną chemikaliami, powinno się wylewać jedynie do specjalnych otworów w ziemi, w warunkach uniemożliwiających przesiekanie zanieczyszczeń do wód gruntowych. Pomimo zmniejszania się niebezpieczeństwa zatruć dzięki przestrzeganiu obowiązujących przepisów prawnych, konieczne jest jednak położenie nacisku na:

- a) długoterminowe badania toksykologiczne wszystkich pestycydów oraz potencjalnych zatruć ostrych i chronicznych, wywoływanych przez nie u ludzi i zwierząt;
- b) oficjalne badania laboratoryjne próbek wszelkich surowców pokarmowych, podejrzanych o trujące właściwości;
- c) oficjalne badania laboratoryjne preparatów chemicznych używanych do ochrony surowców pokarmowych w składach i magazynach.

W dyskusji podkreślono, że selektywne insektycydy, zabijające mszyce, a oszczędzające owady pożyteczne, są niestety bardzo silnie trujące dla człowieka i ssaków (np. nikotyna i schradan). Z ubolewaniem stwierdzić to muszą biologowie, których zdaniem działania i wysiłki ludzkie powinny tylko uzupełniać przyrodę, a nie prowadzić z nią walki. Ze względu na niebezpieczeństwa dla człowieka i zwierząt, jakie przedstawia stosowanie chemicznych pestycydów, olbrzymia jest odpowiedzialność entomologów, botaników, fitopatologów i w ogóle przyrodników, których zadaniem jest opracowanie wskazówek dla praktyki.

Insektocydy, chroniące przed owadami magazynowe zapasy surowców pokarmowych, powinny być używane w minimalnych ilościach, nie ma tu bowiem mowy o wypłukiwaniu chemikaliów przez deszcze i w ogóle o usuwaniu ich pozostałości przez czynniki atmosferyczne.

M. Barber: «Problem bakterii odpornych na leki».

Już Ehrlich — ojciec chemoterapii — przepowiadał, że pojawienie się szczepów mikrobów odpornych na leki stanowić będzie jeden z głównych problemów przy-

szłości w zakresie zwalczania epidemii. In vitro większość szczepów bakterii odporna jest na większość antybiotyków, w klinikach jednak szczepy takie występują tylko w niektórych ich gatunkach (np. *Staphylococcus pyogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas pyocyaneus* i in.). Niebezpieczne jest długotrwałe stosowanie antybiotyków; odporne szczepy bakterii szczególnie często powstają po streptomycynie.

Wyróżnia się dwa główne typy bakterii odpornych:

a) niewrażliwe na leki;

b) niszczące (rozkładające) leki. Niekiedy w obecności jakiegoś leku rozwój bakterii jest lepszy, niekiedy nawet zupełnie od leku zawisły (zwłaszcza od streptomycyny). Bakterie typu b) wytwarzają z reguły enzym lub inny związek antagonistyczny, inaktywujący antybiotyk. Tak np. gronkowce odporne na penicylinę wytwarzają enzym penicylinazę, rozszczepiający pierścień beta-laktanowy w drobinie penicyliny. Poszczególne komórki gronkowca pozostają wrażliwe na penicylinę, niezdolne do wzrostu w jej obecności. W kulturach, jeśli inoculum zbyt małe, bakterie pozostają wrażliwe na antybiotyki, jednak jeśli jest duże, to okazują się nań zupełnie odporne. Jednakże odporne szczepy bakterii rosną wolniej, często tracą wirulencję w zetknięciu z antybiotykami, mogą też okazywać zmianę odporności w stosunku do antybiotyków innych.

Sposób powstawania odpornych szczepów bakterii jest sprawą sporną. Zdaniem autorki wytwarzają się one raczej nie pod bezpośrednim wpływem chemikaliów, ale przez selekcję mutantów, powstających spontanicznie. Jeśli brak odpowiedniego środowiska, jako wolniej rosnące zostają one zdystansowane w rozwoju przez szczepy wrażliwe na leki. Obecność antybiotyków (czy innych związków) odwraca stosunki i powoduje wyrugowanie wrażliwych szczepów bakterii. Także zdolność do wytwarzania enzymu penicylinazy występuje dzięki spontanicznym mutacjom, jednak bardzo rzadkim.

Gdy w 1940 r. po raz pierwszy zastosowano penicylinę w szpitalach, wrażliwe na nią były niemal wszystkie szczepy *Staphylococcus pyogenes*. Jednak już od roku 1948 coraz częściej pojawiały się szczepy na nią odporne i coraz częstsze były zakażenia gronkowcami. Szpitale stały się po prostu stacjami hodowlanymi dla szczepów gronkowców odpornych na penicylinę. Później wytworzyły się szczepy odporne zarówno na ten związek, jak na streptomycynę i antybiotyki tetracykliczne. Szczepy gronkowców, odporne na erytromycynę i novobiocynę, są bardzo rzadkie, gdyż antybiotyków tych używa się tylko w razie infekcji bakteriami niewrażliwymi na inne antybiotyki.

W tej sytuacji, obok bezspornych i ogromnych korzyści, stosowanie antybiotyków przyniosło dużo złego: doprowadziło do zmniejszenia odporności organizmów na infekcje, umożliwiło rozwój odpornych szczepów gronkowców o szczególnie silnej wirulencji i to odpornych wielostronnie, zarówno gdy chodzi o zapoczątkowanie zakażenia, jak i jego nasilenie. Wyeliminowanie szczepów wrażliwych oczyściło pole dla szczepów odpornych i umożliwiło im przenoszenie się z pacjenta na pacjenta, przy wzrastającej tym samym wirulencji.

Autorka żąda:

- 1) ograniczenia ilości antybiotyków, dopuszczonych do obrotu, oraz odpowiedniego ich dawkowania;
- 2) unikania zakażenia w szpitalach (zupełne jego wykluczenie jest w praktyce niemożliwe, gdyż gronkowce to ubikwisty);
- 3) izolacji zakażonych chorych.

Wszystko to bardzo trudne — w większości szpitali występują różnorodne mikroby odporne, o odporności wielorakiej, a głównym ich źródłem są właśnie zaka-

zeni pacjenci. Jak dotąd obracamy się w błędnym kole: wskutek stosowania antybiotyków ujawnia się coraz więcej mikroorganizmów odpornych na różne antybiotyki; mikroorganizmy te z kolei atakują się... coraz większą ilością antybiotyków.

W dyskusji stwierdzono, że nadużywanie antybiotyków jest z pewnością odpowiedzialne za zakażenia odpornymi na nie bakteriami i to przede wszystkim w chirurgii, jednak nie w *poliomyelitis* i innych infekcjach wirusowych. Jak dotąd brak analogicznych danych z zakresu weterynarii, jednak jest bardzo dużo dowodów klinicznych na fakt zastępowania gronkowców nieodpornych przez szczepy odporne i to nawet w trakcie leczenia tego samego chorego.

W ogólnej dyskusji nad przebiegiem całego Sympozjum podniesiono szereg interesujących zagadnień. Zwrócono uwagę, że o szczepach odpornych na trucizny mówiono tylko w odniesieniu do bakterii i owadów, pominięto jednak patogeniczne grzyby. Szczepy takie stwierdzono u grzybów atakujących owoce, ale nie zboża. A jednak wobec bardzo krótkiego cyklu rozwojowego grzybów istnieją u nich szczególnie korzystne warunki dla powstawania szczepów odpornych. Powodem braku takich szczepów jest być może niespecyficzność dotychczasowych fungicydów i rozpowszechnione stosowanie ich w dużych dawkach.

Jeśli się wprowadzi fungicydy bardziej specyficzne, problem odporności grzybów stanie się poważniejszy. Już obecnie np. chlorowane nitrobenzeny o specyficznym działaniu na gatunki rodzaju *Botrytis* wywołują powstawanie szczepów odpornych w badaniach laboratoryjnych, a prawdopodobnie także i w polu. Tłumaczyłoby to nieskuteczność pewnych nowych fungicydów.

Podkreślono doniosłe znaczenie równowagi ekologicznej. Wszystkie różnorodne efekty i problemy, związane z walką z chorobami i szkodnikami, to skutki naruszenia przez nas tej równowagi. Jedynie ostra rywalizacja umożliwia wytwarzanie się odporności u młodych zwierząt. Nienaturalna, przesadna higiena przekreśla także odporność u dzieci (np. *poliomyelitis*). Podobnie *coccidiosis* szerzy się wśród drobiu, jeśli kurczęta wychowane są w warunkach skrajnie higienicznych, w jakich za młodu unikają uodparniającego zakażenia pasożytami.

W Indiach Zachodnich ludność tubylcza, niegdyś odporna na żółtą febrę, po wytopieniu moskitów straciła tę odporność wskutek zataraty dawniejszej równowagi ekologicznej z moskitami i wirusem febry. Pasożyt i żywiciel mogą żyć obok siebie w równowadze ekologicznej, osiągniętej przez nich w drodze ewolucji, burząc ją wywołuje się zarazę.

Człowiek nie może oczywiście wyrzec się nowych metod walki z chorobami, ale w przyszłości przekona się dowodnie, jak ważna jest zasada zachowania równowagi ekologicznej. W dyskusji tej padały nawet bardzo dosadne sformułowania roli samego człowieka w przyrodzie, jako największego jej niszczyciela i burzyciela. Jeden z dyskutantów określił człowieka jako samolubnego pasożyta, który postawił się ponad zasadniczymi prawami przyrody, w lekkomyślnej i jednostronnej ocenie jej roli roszcząc sobie prawo do wytopienia dowolnej części świata żywego.

Przebieg Sympozjum wykazał dowodnie, jak niezmiernie skomplikowane są problemy związane ze stosowaniem pestycydów. Wykazał dalej, że wbrew dotychczasowej praktyce nie można spraw tych traktować jednostronnie. To, co dotychczas uważa się za uboczne skutki stosowania pestycydów, skutki zatem mniej ważne — mogą to być zjawiska natury zarówno biologicznej czy rolniczej, jak społecznej czy ekonomicznej — w zbyt wielu wypadkach odgrywać może rolę decydującą, znacznie ważniejszą niż wytopienie jakiegoś pasożyta czy organizmu chorobotwórczego.

Podkreślenie różnorodności zjawisk, bezpośrednio lub pośrednio związanych z życiem, stwierdzenie powiązań przyczynowych, łączących te zjawiska w jeden cykl

czy łańcuch, zwrócenie uwagi na kapitalne znaczenie równowagi ekologicznej jako podstawy zdrowego rozwoju nie tylko biocenoz w przyrodzie, ale i społeczeństw ludzkich, stanowią główny i bardzo cenny dorobek Sympozjum.

Człowiek w wieku techniki, wpatrzony w pewien tylko cel — bezpośredni i stosunkowo łatwy do osiągnięcia, lekceważy z reguły inne skutki swoich poczynań, skutki dalsze, pośrednie, ale wagi nieraz olbrzymiej. Wszelkie zagadnienia traktuje z reguły tylko wycinkowo, nie obejmując ich całości. W dążeniu do osiągnięcia wyników przede wszystkim bezpośrednich i wymiernych, człowiek zbyt często doprowadza do niewymiernych po prostu szkód i strat, niejednokrotnie nieodwracalnych. Lekkomysłne niszczenie przez człowieka ekologicznej równowagi populacji i biocenoz, przy tym niszczenie różnorodnych form w przyrodzie, podstawowej dla wytworzenia się i utrzymania tej równowagi, przypomina przysłowiowe zachowanie się słonia w składzie porcelany. Tylko, że słon nie uważa siebie za „Pana stworzenia”.

Sympozjum nie znalazło odpowiedzi na szereg zagadnień, nie siłło się na rozwiązanie wielu skomplikowanych problemów. Trudno zresztą w wielu przypadkach pokusić się o to w dzisiejszym stanie szeregu dziedzin wiedzy. Bezsporną zasługą Sympozjum jest jednak, że zagadnienia te i problemy zostały śmiało postawione, że rzucono na nie snop jasnego światła, może po raz pierwszy w takim układzie. Obrazy Sympozjum są zarówno oskarżeniem, jak przede wszystkim ostrzeżeniem.

Marian Nowiński

Proceedings of the symposium on cytochemical progress in electron microscopy, Oxford 1962. Journal of the Royal Microscopical Society 1962. Parts 3 & 4, s. 106—244.

Nakładem Royal Microscopical Society (Londyn) ukazały się materiały Sympozjum o postępie cytochemii w badaniach elektronowo-mikroskopowych. Wobec dużego zainteresowania histochemią oraz szybkiego rozwoju mikroskopii elektronowej w Polsce, praca ta na pewno spotka się z dużym zainteresowaniem.

Książka składa się z dwudziestudwu referatów, omawiających kilka zagadnień. Głównym tematem jest omówienie różnych technik, pozwalających tak przygotować preparat, aby mikroskop elektronowy mógł być użyty do badań w wielu dziedzinach biologii.

Dziewięć referatów zajmuje się techniką przygotowania preparatu do mikroskopu elektronowego — zwłaszcza rolą utrwalania, „barwienia” metalami ciężkimi i negatywnego barwienia. Zagadnienia te ilustruje kilka szczegółowych prac, o różnych technikach wykrywania lipidów, białek, glikogenu.

Cztery referaty zajmują się autoradiografią w mikroskopie elektronowym. Autorzy tych referatów omawiają teoretyczne podstawy autoradiografii elektronowej, rolę emulsji oraz podają wyniki kilku specjalnych prac, przeprowadzonych przy pomocy mikroskopu elektronowego, używając znakowanych związków.

Następnym, szeroko omawianym problemem jest wykrywanie aktywności enzymatycznej przy użyciu mikroskopu elektronowego. W tym dziale omawiane są ogólne zasady cytochemii ultrastrukturalnej, rola plastiku użytego do zatopienia tkanki, cytochemiczne wykrywanie niektórych enzymów w komórkach normalnych i nowotworowych (np. ATP-aza) oraz histochemiczna analiza niektórych ultrastruktur (łącznie 7 referatów).

Dwa referaty były poświęcone technice badań immunologicznych w mikroskopii elektronowej oraz cytochemicznej lokalizacji przeciwciał.

Autorami referatów są specjaliści z różnych krajów, zarówno Europy, jak i USA.

Książka jest ilustrowana 97 elektronogramami, zawiera 11 tabel porównawczych i wykresów, kilka rysunków-schematów oraz indeks autorski i rzeczowy. Każdy referat uzupełniony jest spisem literatury oraz pełnym tekstem dyskusji.

Mimo że książka zajmuje się zagadnieniami dość specjalnymi, na pewno wielu biologów przestudiuje ją z dużym dla siebie pożytkiem.

Wanda Byczkowska-Smyk

WYSTĘPOWANIE SUBSTANCJI TOKSYCZNEJ W HEMOLIMFIE OPARZONYCH RAKÓW
*ORCONECTES VIRILUS I PROCAMBARUS CLARKII**

Stwierdzono występowanie substancji toksycznej, która uwalnia się w wyniku uszkodzenia systemu krążenia, powodując śmierć zwierzęcia. Substancja toksyczna tego rodzaju występuje u morskich bezkręgowców. Podjęto badania dla oznaczenia, który z dwu raków posiada zdolność do wytwarzania substancji toksycznej po oparzeniu.

Samce i samice raków *Orconectes* i *Procambarus*, o wadze od 5 do 50 g, zostały użyte do doświadczenia. Przy przeprowadzaniu oparzenia przednia część zwierzęcia była zabezpieczona plastikową przepaską, zaś ogon aż do podstawy fałdu grzbietowego (*carapax*) został zanurzony na przeciąg 3 minut w kąpieli z wody słodkiej o stałej temperaturze 76°C. Po tego rodzaju oparzeniu płyn naczyniowy usuwano natychmiast z dawców przez wbicie igły pomiędzy podstawę fałdu grzbietowego i pierwszy segment odwłokowy. Hemolimfę powoli wyciągano ze zwierzęcia, a następnie poddano wirowaniu przez 20 minut do 3000 obrotów. Płyn surowiczy zebrany z powierzchni wstrzykiwano domięśniowo w kleszcze normalnym rakom w ilości 0,003 ml/gr. wagi ciała. Raki doświadczalne, podobnie jak kontrolne, były utrzymywane w wodzie o temperaturze 12°C co najmniej na 7 dni przed terminem doświadczenia. Kontrolnym zwierzętom podano podobnie odwirowany płyn z hemolimfy pobranej z raków nie poddanych oparzeniu.

Dla oznaczenia, która z dwu aktywnych komponent ciepłostalej lub ciepłochwiejnej ma działanie toksyczne, płyn pobrany z raków oparzonych, jak i kontrolnych podzielono na dwie części. Jedna część została poddana sterylizacji, druga zaś jedynie przechowywano do bezpośredniego użycia. Pierwszą część próbki, po odwirowaniu w ilości 5—10 ml, poddano dializie przez 150 ml roztworu izotonicznego podczas 12 godzin przy temperaturze 5°C.

Odwirowana surowica z hemolimfy oparzonego raka powodowała, po wstrzyknięciu jej normalnym zwierzętom, śmierć w 91,1% średnio po $30,6 \pm 11,4$ godzinach. Kontrolne zwierzęta z wstrzykniętą surowicą z nieoparzonego raka padły jedynie w 24,1% po okresie $40,8 \pm 15,7$ godzin.

W przypadku, gdy roztwory doświadczalne i kontrolne poddano sterylizacji, wirowaniu, a następnie dializie, wyniki były nieco inne. Przy surowicy doświadczalnej z oparzonych raków, po wymienionych zabiegach, śmiertelność wynosiła 69,0% z czasem przeżywania $36,7 \pm 20,3$ godzin, podczas gdy nie traktowana w ten sposób surowica powodowała w 100,0% śmiertelność i czas przeżycia był krótszy — $24,4 \pm 13,1$ godziny. Kontrolna surowica dializowana dawała natomiast 35,0% śmiertelności i czas przeżycia $39,2 \pm 23,8$ godzin, podczas gdy nie traktowana surowica dawała śmiertelność jedynie w 12,5% i czas przeżycia wynosił $38,7 \pm 12,4$.

Doświadczenie wykazało, że w hemolimfie oparzonych raków obydwu gatunków obecny był czynnik toksyczny. Kontrolne zwierzęta z wstrzykniętą surowicą nor-

* D. H. Griffin, A. B. Cheet, *Toxic substance in blood of scalded crayfish (Orconectes virilus and Procambarus clarkii)*. Proc Soc. Exp. Biol. and Med. 110, 1962, s. 495—496.

malnego raka miały dłuższy czas przeżywania i niższy % śmiertelności. Stwierdzono również, że substancja z oparzonego raka, mająca własności toksyczne, jest ciepłochwijną, ponieważ częściowo traci swoje właściwości po dokonaniu zabiegu sterylizacji i dializy.

Stanisław Brodzicki

ZWIĄZEK MIĘDZY ETIOLOGIĄ, FENOMENEM KOMÓREK LE I PRZECIWCIAŁAMI
ANTIJDROWYMI W ROZSIANYM LUPUS ERYTHEMATOSUS: HIPOTEZA*

Niektóre zmiany, występujące w metabolizmie leukocytów o różnokształtnych jądrach (PMN), w oddychaniu, w obecności surowicy pacjentów cierpiących na rozsiany *lupus erythematosus* (DLE), zdają się naśladować zmiany związane z fagocytozą.

Stwierdzoną, że jeśli PMN królików lub świnek morskich pochłaniają pewne substancje, zmniejsza się ilość ziarnistości cytoplazmatycznych (lizosomów). Ziarnistości te zawierają pewną ilość enzymów hydrolitycznych oraz dezoksyrybonukleazę. pH środowiska drobnoustrojów fagocytowanych w leukocytach zbliża się do 5. Ta kwasowość wystarcza do lizy i uwolnienia enzymów zawartych w ziarnistościach. Fakt, że zwiększone powstawanie kwasu mlekowego towarzyszy fagocytozie każe przyjąć, że jest to właśnie czynnik obniżający pH wewnątrz komórki i uwalniający DNA-azę.

Poznanie mechanizmu uwalniania DNA-azy wewnątrz komórki mogłoby być korzystne w uświadaniach ustalenia powstawania LE komórek.

Wpływ surowicy DLE na oddychanie. Stopień wzrostu intensywności oddychania leukocytów w obecności DLE podano w tabl. 1. Przy końcowym stężeniu surowicy (10%) oddychanie leukocytów jest o 24% szybsze w obecności surowicy DLE niż w środowisku fosforanowego płynu Krebsa-Ringera i o 19% szybsze niż w obecności normalnej surowicy. Bez względu na zastosowane stężenie surowicy, zawsze występuje znacznie większa aktywność oddychania u komórek w obecności surowicy DLE niż w obecności surowicy normalnej.

Zużycie glukozy i produkcja kwasu mlekowego. Leukocyty, oddychające w obecności surowicy DLE, wytwarzają również znacznie więcej kwasu mlekowego niż komórki w obecności płynu Ringera lub surowicy normalnej (tabl. 1). W obecności surowicy DLE substrat jest również intensywniej zużywany przez leukocyty niż w obecności płynu Krebsa-Ringera lub surowicy normalnej.

Aktywność DNA-azy ziarnistości leukocytów. Aktywność wyizolowanych ziarnistości podano w tabl. 2. Aktywność swoista DNA-azy ziarnistości wynosi 12,3 przy substracie DNA z grasicy cielęcej i 1,4 przy substracie z reszt jąder komórkowych. Różnica wynika z zastosowania odmiennych substratów. Jednak w obu przypadkach aktywność jest znacznie wyższa od aktywności kontroli. Należy podkreślić, że aktywność DNA-azy zanika po ogrzewaniu na wrzącej łaźni wodnej przez 20 min.

Zwrócono już uwagę, że wpływ surowicy DLE na przemianę leukocytów o różnokształtnych jądrach świnek morskich wyraża się w zmianach występujących w czasie fagocytozy. W obu przypadkach oddychanie, powstawanie kwasu mlekowego i zużycie substratu jest podobne. Oprócz tego stwierdzono w tych komórkach lizę ziarnistości jako skutek fagocytozy. Aktywność DNA-azy ziarnistości można z łatwością wykryć (tabl. 2), stosując jako substrat DNA z grasicy cielęcej lub

* A. J. Sbarra, W. A. Bardave, W. Shirley, *Relationship between aetiology, LE cell phenomenon and antinuclear antibodies in disseminated Lupus erythematosus: a hypothesis*. Nature, t. 198, nr 4876, s. 159.

osad z reszt jąder. Te obserwacje służą za podstawę hipotezy, która usiłuje skorelować etiologię, powstawanie komórek LE i przeciwciał antyjądrowych w DLE.

Możliwe jest, że bakterie, wirusy, grzyby lub inne substancje mogą być czynnikiem etiologicznym w DLE. Czynniki te są fagocytowane przez leukocyty, prowadząc do takich zmian w przemianie, jak wzrost wytwarzania kwasu mlekowego (tabl. 1) oraz towarzyszące mu obniżenie pH. Ziarnistości ulegają lizie przy niskim pH i uwalniają DNA-zę wewnątrzkomórkową. „Zaktywowana” w ten sposób DNA-za może teraz atakować DNA jąder (tabl. 12), prowadząc co najmniej do częściowej depolimeryzacji DNA i zaburzeń w jądrze. Jądra te mogły być obecnie podatne na opsonizację i fagocytozę przez leukocyty lub mogły być wyłapane przez tkanki zdolne do immunizacji. W pierwszym przypadku zjawia się komórki LE, w drugim — powstaną przeciwciała antyjądrowe. Zrozumiałe, że proces ten występuje zawsze tam, gdzie występuje fagocytoza.

Konstancja Jakutowicz

ZEBRANIA, ZJAZDY I KONFERENCJE NAUKOWE

I KRAJOWY KONGRES BIOCHEMII

Początki rozwoju polskiej biochemii po II wojnie światowej nie były łatwe. Prof. Bolesław Skarżyński, który referował sprawy biochemii na I Kongresie Nauki Polskiej, zobrazował jej ówczesny stan w następujących słowach:

„Gałęzią wiedzy, której stan w tej chwili musi budzić szczególnie duży niepokój, jest biochemia. Ta nauka, mająca w Polsce piękne tradycje wiążące się z nazwiskami: Nenckiego, Marchlewskiego, Bądryńskiego, Białaszewicza, Parnasa, znalazła się w okresie powojennym w szczególnie ciężkiej sytuacji. Jedną z głównych przyczyn tego stanu jest bolesny ubytek w latach wojny wielu najznakomitszych naszych pracowników w tej dziedzinie, i to zarówno zajmujących wybitne stanowiska profesorów, jak i rokujących najlepsze nadzieje młodych docentów... Trudności lokalowe, braki w aparaturze i odczynnikach, niedostateczna liczba wykwalifikowanych starszych pracowników naukowych, przeciążenie pracą dydaktyczną, wiążą się razem w zawiły splot czynników wzajemnie się warunkujących, a ciążyących niekorzystnie nad tą gałęzią teoretycznych nauk lekarskich. W tej dziedzinie konieczny jest zbiorowy wysiłek i większy jednorazowy wkład materialny dla jak najszybszego usunięcia dotychczasowych piętrzących się trudności”.

Apel prof. B. Skarżyńskiego nie pozostał bez echa. Powołano najpierw Komisję Biochemiczną przy Radzie Naukowej Min. Zdrowia, a w roku 1952 szerszą reprezentację — Komitet Biochemiczny Wydziału Nauk Biologicznych PAN, który zajął się organizowaniem całej polskiej biochemii. W roku 1953 zaczęto wydawać kwartalnik „Postępy Biochemii”, drukujący artykuły przeglądowe; w roku następnym „Acta Biochimica Polonica”, poświęcone oryginalnym pracom doświadczalnym; organizowano konferencje i sympozja; powstawały nowe placówki biochemiczne w wyższych uczelniach i instytutach; koordynowano współpracę między resortami; subsydiowano pewne kierunki badań itp.

W następnych latach do prac nad rozwojem polskiej biochemii oraz należytych wykorzystaniem zwiększającej się kadry biochemicznej włączyło się Polskie Towarzystwo Biochemiczne, powstałe w 1958 r. Towarzystwo zaczęło organizować oddziały, które są głównym terenem wzajemnych kontaktów i wymiany doświadczeń; w ramach Towarzystwa organizowano kursy i sympozja; ufundowano stypendia, nagrody za najlepsze prace; rozpoczęto wydawanie „Monografii Biochemicznych” itp.

Również z inicjatywy Towarzystwa został zwołany I Krajowy Kongres Biochemii. Chcąc mieć pełny przegląd dorobku polskiej biochemii w czasach powojennych, zdecydowano się na włączenie do tematyki obrad wszystkich zgłoszonych problemów, opracowywanych w Polsce. Zgłoszeń było nadspodziewanie dużo. Na Kongres zakwalifikowano około 450 komunikatów, które wydrukowano w tomie streszczeń dostarczonym uczestnikom Kongresu.

Kongres odbył się w Łodzi, w dniach 4—7 września 1963 r. W obradach wzięło udział około 700 osób, w tym kilka osób z zagranicy. Otworzył Kongres Prezes Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, prof. Bronisław Filipowicz, omawiając w swoim inauguracyjnym przemówieniu historię rozwoju polskiej biochemii oraz powstanie i działalność Polskiego Tow. Biochemicznego. Sesja otwarcia miała miejsce w sali Państwowej Filharmonii Łódzkiej. Wśród liczą-

nie zgromadzonych gości i biochemików był wiceminister Zdrowia i Opieki Społecznej, doc. Feliks Widy-Wirski, przedstawiciele miejscowych władz z Michaliną Tatarkówną-Majkowską — I Sekretarzem Komitetu Łódzkiego PZPR na czele, rektorzy wyższych uczelni oraz liczni sympatycy biochemii i przedstawiciele pokrewnych towarzystw naukowych. W ramach sesji otwarcia prof. Włodzimierz Mozołowski wygłosił odczyt pt. «Biochemia naszego dziesięciolecia». Sesja zakończona została koncertem symfonicznym w wykonaniu Państwowej Filharmonii Łódzkiej.

Sesje robocze odbywały się w Politechnice Łódzkiej. Obradowano w sekcjach, sympozjach i kolokwiah. Najliczniej obsadzona została sekcja biochemii klinicznej, na którą zgłoszono 127 komunikatów. Obradowano więc w kilku podsekcjach, a tematem były: metabolizm aminokwasów i peptydów, nerka, biochemia krwi — czerwonej i osocza. Omawiano również procesy toczone się w przewodzie pokarmowym, biochemię tkanki łącznej i wiele innych tematów związanych z biochemicznymi aspektami pracy organizmu ludzkiego. Liczny udział w Kongresie Pracowników Służby Zdrowia jest najlepszym dowodem, jak silna więź łączy biochemię z medycyną i jak bardzo biochemia i metodyka biochemiczna pomaga w rozwiązywaniu zagadnień medycznych.

Nie jest to zresztą niespodzianką dla naszych biochemików, wiadomo bowiem, że początki rozwoju biochemii polskiej miały miejsce w pracowniach lekarskich i do II wojny światowej wydziały lekarskie były głównym miejscem kształcenia biochemików.

Drugą co do ilości zgłoszonych komunikatów była sekcja poświęcona biochemii białek. Zgłoszono 66 komunikatów. Zainteresowanie obradami tej sekcji było duże, a dyskusja bardzo ożywiona. Omawiano głównie zagadnienia struktury i własności białek oraz biosyntezę tych związków. Okazuje się, że w tej dziedzinie polskie pracownice mają już znaczny, poważny dorobek. Wiele powiązań i wspólnych tematów z sekcją białek miała sekcja kwasów nukleinowych, na którą zgłoszono 31 komunikatów. Zagadnienie znaczenia i budowy różnych odmian kwasów nukleinowych, to jeden z najbardziej istotnych problemów, pasjonujących obecnie zarówno biochemików, jak i adeptów wielu innych nauk biologicznych. W Polsce ten dział rozwija się dość żywo, szczególnie fizykochemiczne badania kwasów nukleinowych i ich elementów składowych, a także biosynteza tych związków. Daleko również posunięte są analityczne badania kwasów nukleinowych oraz metodyka ich izolowania i oczyszczania.

Skromniej reprezentowane były sekcje: biochemia drobnoustrojów, immunochemia, biochemia roślin oraz sekcja, na której referowano nowe metody biochemiczne i aparaturę. Na każdą z tych sekcji zgłoszono po dwadzieścia kilka komunikatów. Bardzo dużą frekwencją i zainteresowaniem cieszyła się ostatnia z tych sekcji. Nic dziwnego — wiadomo, że do większości współczesnych badań biochemicznych konieczna jest precyzyjna, często bardzo kosztowna aparatura. Odczuwamy w Polsce duże braki na tym polu. Temat ten był szeroko dyskutowany na Kongresie, nie będę go jednak rozwijał, gdyż bardzo żywa polemika na podobny temat prowadzona była, jak wiadomo, na łamach „Kosmosu”, Czytelnicy więc są w tej dziedzinie dobrze zorientowani.

Z innych wspomnianych sekcji dużym powodzeniem cieszyła się immunochemia. Pracowano tam w trzech podsekcjach, których tematem były: bakterie i grzyby, bakteriofagi i immunologia. Z prowadzonych dyskusji wynika niedwuznacznie, że metodyka biochemiczna ma decydujące dziś znaczenie w rozwiązywaniu zagadnień immunologicznych. Stosunkowo wielką liczbę komunikatów nadesłano do sekcji, której tematem była biochemia drobnoustrojów. Organizmy te są bardzo wygodnym materiałem do badań biochemicznych i temat ten jest

bogato reprezentowany w Polsce. W tym samym mniej więcej czasie zaprojektowany został zjazd mikrobiologów, co niekorzystnie odbijało się na frekwencji zainteresowanych tymi zagadnieniami. Sekcja biochemii roślin również była zbyt skromna w zestawieniu z bogactwem substancji chemicznych, występujących w świecie roślinnym. Temat ten przewijał się również w wielu innych sekcjach, a zwłaszcza w sympozjach, szczególnie takich jak alkaloidy lub biochemia żywienia i żywności. Sympozja różniły się tym od sekcji, że temat obrad był ściślej sprecyzowany, a czas referatów, komunikatów i dyskusji mniej ograniczony. W ramach Kongresu odbyło się 5 sympozjów. Największą liczbę komunikatów i referatów (58) nadesłano na sympozjum biochemii żywienia i żywności. Tematyka była bardzo różnorodna, referowano głównie prace analityczne i metodyczne, lecz poruszane były również zagadnienia związane z hodowlą zwierząt i roślin, witaminy, enzymy. Enzymatyka była bardzo szeroko reprezentowana w wielu innych sekcjach i sympozjach, a sympozjum o utlenieniu biologicznym, to prawie wyłącznie enzymatyka.

Inne sympozja to: biochemia ewolucyjna i porównawcza — temat mający w Polsce duże tradycje; biochemia lipidów, głównie połączenia kwasu fosforowego z tymi związkami; oraz chemia i biochemia alkaloidów. Ten ostatni temat rozwija się w Polsce bardzo żywo i to w kilku poważnych pracowniach.

W czasie Kongresu zorganizowano również dwa kolokwia: jedno na temat aminokwasów i peptydów moczu, drugie z dziedziny polifosforanów. Na kolokwiałach specjaliści i zainteresowani tymi zagadnieniami mogli wymienić swoje uwagi i podzielić się swoimi spostrzeżeniami.

Na sesji zamknięcia Kongresu projektowane było podsumowanie obrad. Podsumowanie wyników tak dużego zjazdu, z tak urozmaiconą tematyką obrad, byłoby, z konieczności, bardzo powierzchowne i subiektywne. Zdecydowano przeto, że podsumowania dokonają przewodniczący sekcji, sympozjów i kolokwii, w oparciu o wygłaszane komunikaty i prowadzoną dyskusję i polemiki, a uwagi ich i wnioski zostaną ogłoszone w „Postęпах Biochemii”. Na krótkiej przeto sesji zamknięcia wygłoszono kilka okolicznościowych przemówień i podziękowań uczestnikom i organizatorom, po czym Kongres został zamknięty przez przewodniczącego Komitetu Organizacyjnego, prof. dr B. Filipowicza.

Oceniając z grubsza walory omawianego Kongresu należy stwierdzić, że ujemną jego stroną był zbyt szeroki wachlarz problemów i zbyt duża liczba uczestników, co utrudnia zwykle i dyskusję, i głębsze podejście do zagadnienia. Równoległe prowadzenie obrad w kilku sekcjach rozprasza uwagę i uniemożliwia wysłuchanie tych wszystkich doniesień, które nas interesują. Jak wspominałem jednakże na początku, organizatorzy godzili się z tymi mankamentami, aby uzyskać pełny obraz współczesnej biochemii polskiej. Z przeglądu tematów, tak obficie nadesłanych na Kongres, widać kierunki obecnych zainteresowań. Widać również, że pewne kierunki biochemicznych badań są traktowane po macoszemu. Tak np. badania węglowodanów, mające tak piękne tradycje w Polsce, są obecnie zaniedbane. W naszym kraju, gdzie planowanie odgrywa tak dużą rolę, znajdują się niewątpliwie możliwości poparcia zaniedbanych bądź deficytowych kierunków badań. Dodać można, że kongres był pierwszym, urządzonym na taką skalę, zjazdem polskiej biochemii. Zjazd umożliwił więc zapoznanie się wzajemne i to nie tylko specjalistów z pewnej określonej dziedziny, lecz również badaczy dziedzin pokrewnych — i to są dodatnie strony Kongresu.

W czasie trwania Kongresu czynna była na terenie gmachu obrad wystawa aparatury biochemicznej oraz odczynników chemicznych, zaprezentowanych przez firmy krajowe. Czynna była również wystawa książki biochemicznej ostatniego pięciolecia. Wystawę zorganizowała biblioteka Politechniki Łódzkiej z pomocą in-

nych łódzkich bibliotek naukowych. Chętnym umożliwiono odwiedzenie łódzkich teatrów i kin oraz zwiedzanie starej Łodzi i nowych dzielnic, w zarezerwowanych dla uczestników Kongresu autokarach.

Warto może wspomnieć, że w czasie trwania Kongresu odbyło się również Walne Zebranie Polskiego Towarzystwa Biochemicznego. Ustępujący Zarząd złożył sprawozdanie z dwu-i półletniej kadencji. Po udzieleniu absolutorium przystąpiono do wyborów nowego Zarządu Polskiego Towarzystwa Biochemicznego. Na czele nowo wybranego Zarządu stanął prof. Kazimierz Zakrzewski z Warszawy.

Bronisław Filipowicz

I OGÓLNOPOLSKIE SYMPOZJUM GENETYCZNE (POZNAŃ 19-21. XI. 1963)

Z inicjatywy prof. dr Stefana Barbackiego, kierownika Zakładu Genetyki Roślin PAN w Poznaniu, przy współudziale Wydziałów II i V PAN odbyło się w Poznaniu pierwsze powojenne Sympozjum Genetyczne. Miało ono za cel zrobienie przeglądu dorobku eksperymentalnych prac różnych działów genetyki w Polsce.

W ciągu trzech dni obrad plenarnych i sekcyjnych wygłoszono ok. 100 referatów i komunikatów o bieżących pracach genetycznych wykonywanych w Polsce. Na posiedzeniu plenarnym I-go dnia profesorowie: S. Barbacki, Wł. Kunicki, W. Gajewski, W. Folejewski i A. Horst, w dłuższych referatach, dali przegląd stanu współczesnego genetyki ogólnej, mikroorganizmów, w zastosowaniu do hodowli roślin i zwierząt, a także i genetyki człowieka. Dalsze obrady odbywały się w sekcjach: genetyki mikroorganizmów, genetyki roślin kwiatowych, genetyki zwierząt i genetyki człowieka.

Na zjazd przybyło nadspodziewanie dużo osób, bo około 400. Aż dziwi to, że w kraju, w którym mówi się, że genetyki prawie nie ma, aż tyle osób interesowało się Sympozjum Genetycznym. Niewątpliwie na zjeździe większość uczestników stanowili hodowcy roślin i także wśród referatów olbrzymia większość dotyczyła hodowli i genetyki roślin uprawnych.

Sympozjum miało spełnić chyba dwie funkcje: zapoznać słuchaczy ze współczesnym stanem tej nauki, a poza tym dać pełny przegląd prac prowadzonych w Polsce. Tę pierwszą funkcję spełniło ono chyba niewystarczająco. Zbyt krótki czas, przeznaczony dla zaproszonych przez organizatorów referentów, uniemożliwił bardziej wyczerpujące przedstawienie problemów współczesnej genetyki, co ze względu na wielkie tempo rozwijania się tej nauki byłoby niewątpliwie korzystne dla licznych uczestników zjazdu. Drugie zadanie Sympozjum spełniło lepiej. Dało dość reprezentatywny przegląd tego, co w genetyce teoretycznej, a zwłaszcza stosowanej robi się obecnie w kraju. Chyba po raz pierwszy hodowcy roślin i zwierząt, mikrobiologowie i medycy zebrali się razem w jednej sali obrad. To jest niewątpliwie pozytywna strona zjazdu. Wiele osób mogło się zorientować po raz pierwszy, kto i gdzie w Polsce pracuje w bardzo różnych działach genetyki. Słabość w Polsce prac z genetyki ogólnej teoretycznej (w sensie ilości ośrodków i pracowników, a nie jakości prac) w stosunku do genetyki stosowanej, zwłaszcza w hodowli roślin, wyszła bardzo rażąco i pouczająco. Uderzały też bardzo nieliczne referaty z genetyki człowieka, co przynajmniej częściowo wynikało jednak z faktu, iż nie wszystkie ośrodki genetyki człowieka w Polsce były na Sympozjum reprezentowane.

Program zjazdu był bardzo przeładowany, prawie z pominięciem czasu na dyskusję, czego należy niewątpliwie żałować. Z drugiej jednak strony organizatorzy poznańskiego zjazdu mieli bardzo ciężkie zadanie, aby zmieścić wielką ilość referatów w dwóch salach, w ciągu trzech dni.

Niewątpliwie inicjatywa zwołania I Ogólnopolskiego Sympozjum Genetycznego była bardzo pożyteczna i spełniła w pełni swój cel zapoznania nas z tym, co w Polsce robi się w różnych ośrodkach w kraju i umożliwiła wielu ludziom nawiązanie pożytecznych kontaktów naukowych i bezpośredniej dyskusji zakulisowej.

Nie podejmuję się tu dyskutować nad poziomem i wartością naukową licznych wygłoszonych referatów. Były one na bardzo różnym poziomie i być może część mogła być wyeliminowana przed ustaleniem programu Sympozjum. Z drugiej jednak strony, jako pierwsza tego rodzaju konferencja dawała możliwie pełny przegląd wszystkich ośrodków w Polsce i ludzi w nich pracujących.

Zebrani na zjeździe uczestnicy postanowili poza tym zorganizować Polskie Towarzystwo Genetyczne i w tym celu wybrali kilkusobowy komitet organizacyjny, który ma opracować projekt statutu przyszłego towarzystwa.

Wacław Gajewski

XXXV ZJAZD POLSKIEGO TOWARZYSTWA BOTANICZNEGO WE WROCŁAWIU
W DNIACH 26—29 CZERWCA 1963 R.

W dniach 26 do 29 czerwca 1963 r. odbył się we Wrocławiu Walny Zjazd Polskiego Towarzystwa Botanicznego, którego głównym problemem naukowym był wkład współczesnej botaniki w nauki rolnicze w Polsce. W dniu 26. 6. 1963 r., o godz. dziewiątej, zgodnie z programem, w Auli Politechniki, w imieniu Komitetu Organizacyjnego powitał zebranych na Zjeździe botaników gospodarz Zjazdu, przewodniczący Oddziału Wrocławskiego Polskiego Towarzystwa Botanicznego, prof. dr Stefan Gumiński.

Otwarcia Zjazdu dokonał Prezes Towarzystwa, prof. dr Henryk Teleżyński. Na wstępie odczytał list prof. dr Kazimierza Sembrata z powitaniem i pozdrowieniami w imieniu Polskiego Towarzystwa Zoologicznego, Instytutu Zoologicznego oraz własnym i z życzeniami Zjazdowi Botanicznemu owocnych obrad.

Po otwarciu Zjazdu przystąpiono do Walnego Zgromadzenia, które rozpoczęło przyjęciem porządku dziennego i wyborem czterech Komisji Walnego Zgromadzenia w następującym składzie:

Komisja Mandatowa: prof. dr Józef Mądalski, prof. dr Mikołaj Kostyniuk,

Komisja Matka: dr J. Berndt (Toruń), prof. dr Józef Kochman (Warszawa), prof. dr J. Kornaś (Kraków), prof. dr W. Moycho (Łódź), prof. dr A. Paszewski (Lublin), doc. dr H. Szafranówna (Poznań), prof. dr St. Tolpa (Wrocław).

Komisja Skrutacyjna: doc. dr Krawiecowa, doc. dr Kowal, doc. dr Polakowski,

Komisyjne przyjęcie protokołu z Walnego Zgromadzenia 1962 r.: prof. dr W. Zabłocka, doc. dr Irena Grochowska.

Po zapoznaniu się z protokołem, Komisja uznała jego zgodność z przebiegiem Walnego Zgromadzenia w Warszawie w 1962 r. i postawiła wniosek o przyjęcie protokołu przez Walne Zgromadzenie.

Protokół został przyjęty i zatwierdzony. Następnie Sekretarz Generalny, prof. dr Tadeusz Gorczyński złożył sprawozdanie ogólne z działalności Towarzystwa za ubiegły rok, a Skarbnik, doc. dr Skirgiełło przedstawiła sprawozdanie finansowe za 1962 r. oraz preliminarz budżetowy na 1963 rok.

Sprawozdanie i preliminarz przyjęto.

Po wysłuchaniu protokołu Komisji Rewizyjnej, który przedstawiła doc. dr Irena Grochowska, Walne Zgromadzenie udzieliło absolutorium ustępującemu Zarządowi Głównemu Towarzystwa, po czym przystąpiono do wyborów nowego Zarządu.

Na wniosek Komisji Matki zostały wybrane do Zarządu Głównego następujące osoby:

Przewodniczący — prof. dr Henryk Teleżyński.

Członkowie Zarządu Głównego: prof. dr Z. Czubiński, prof. dr T. Gorczyński, prof. dr W. Gajewski, prof. dr S. Gumiński, doc. dr L. Karpowiczowa, prof. dr J. Kornaś, prof. dr M. Kostyniuk, prof. dr J. Mądalski, prof. dr A. Paszewski, doc. dr A. Skirgiełło, prof. dr T. Sulma, prof. dr J. Zabłocki.

Komisja Rewizyjna: prof. dr H. Czechtowa, doc. dr I. Grochowska, prof. dr J. Szuleta; zastępcy członków: prof. dr J. Tomanek, doc. dr J. Ważny.

W związku z wyborami prof. dr H. Teleżyński zwrócił uwagę zebranych na to, że może korzystniej byłoby dla Towarzystwa, gdyby Zarząd Główny ukonstytuował się w innym ośrodku akademickim, a nie w Warszawie, oczywiście po uprzednim przemyśleniu i przygotowaniu możliwości realizacji prac Zarządu.

Z okazji XX-lecia PRL prof. dr Adam Paszewski zaprosił zebranych na Walny Zjazd Towarzystwa w 1964 r. do Lublina.

Mimo uchwały z dnia 20 września 1961 r., że walne zjazdy będą się odbywały co drugi rok, zebrani postanowili wyjątkowo w 1964 r. zorganizować walny zjazd w Lublinie.

Prof. M. Nowiński wystąpił z wnioskiem aby PTB wyłoniło Komisję, która by zajęła się ustaleniem terminologii dla wszystkich działów botaniki. W sprawie tej zabierali głos doc. dr H. Szafranówna, prof. dr A. Paszewski i prof. dr T. Gorczyński. Z wypowiedzi dyskutantów wynikało, że Komisja Słownictwa Biologicznego Wydziału II PAN pracuje nad słownikiem biologicznym, którego I tom ukaże się prawdopodobnie w 1965 r.

Prof. M. Nowiński zwrócił uwagę, że prace drukowane w „Acta Societatis Botanicorum Poloniae” w językach obcych nie mają polskich tytułów i streszczeń w języku polskim. Ponieważ znajomość języków obcych wśród młodzieży jest raczej słaba, to może być przyczyną małej prenumeraty tego cennego czasopisma.

W ożywionej dyskusji wzięli udział prof. J. Mądalski, prof. A. Paszewski, prof. B. Zabłocki, wypowiadając się za umieszczaniem streszczeń w języku polskim.

Prof. B. Pawłowski wystąpił z wnioskiem, aby umieszczać bezpośrednio przed tytułem w obcym języku tytuł polski. Wniioskowi temu sprzeciwił się redaktor naczelny, prof. W. Gajewski, proponując, aby tytuł w języku polskim umieszczać bezpośrednio nad streszczeniem polskim. Wypowiedź prof. W. Gajewskiego poparła prof. H. Czechtowa.

Prof. M. Nowiński sformułował wniosek w sposób następujący: „walne zgromadzenie zobowiązuje redaktorów wszystkich wydawnictw PTB do umieszczania bezpośrednio pod tytułem pracy drukowanej w obcym języku tytułu w języku polskim, a na końcu — streszczenia w języku polskim”.

W jawnym głosowaniu na 31 osób uprawnionych, 23 głosowało za wnioskiem.

Prof. W. Zabłocka wystąpiła z wnioskiem, aby w wydawnictwach Polskiego Towarzystwa Botanicznego prace drukowane były tylko w 3 językach kongresowych — francuskim, angielskim i rosyjskim. Prof. W. Gajewski wyjaśnił, że drukowanie w języku rosyjskim sprawia dużo trudności. Prof. B. Pawłowski wyraził opinię, że nie należy również wyłączać łaciny. Prof. M. Nowiński opowiedział się za tym, aby drukować również prace w języku niemieckim, ponieważ język ten znany jest dobrze na ziemiach północnych i zachodnich.

Prof. H. Teleżyński zakończył dyskusję wypowiedzią, że sprawy te były obszernie dyskutowane na jednym z zebrań Zarządu Głównego, gdzie postanowiono, że w „Acta Societatis Botanicorum Poloniae” należy drukować możliwie najwięcej prac w językach obcych, szczególnie w angielskim i francuskim, unikając w miarę możliwości języka niemieckiego. Prof. H. Teleżyński zobowiązał się również zorganizować specjalne zebranie Zarządu Głównego w celu przedyskutowania sprawy wydawnictwa „Acta Societatis Botanicorum Poloniae”.

Prof. S. Gumiński zaproponował, aby zastanowić się nad nawiązaniem bliższych kontaktów z Czechosłowackim Towarzystwem Botanicznym.

Na zakończenie prof. H. Teleżyński podziękował prof. S. Gumińskiemu, doc. Z. Gumińskiej i wszystkim, którzy wzięli udział w pracach nad przygotowaniem Zjazdu.

W czasie plenarnych obrad naukowych zostały wygłoszone 3 referaty:

1. Prof. dr S. Tołpa i dr F. Zawistowski: «Fitosocjologia w melioracji łąk».
2. Prof. dr P. Strebeyko: «Dynamika rozwojowa czterech podstawowych zbóż».
3. Prof. dr K. Starmach: «Algologia w produkcji żywności».

Referat pierwszy wygłosił dr F. Zawistowski, który metodami fitosocjologicznymi i ekologicznymi uzasadniał konieczność wzmocnienia prac na terenach zmeliorowanych. Aktualne metody fitosocjologiczne zostały włączone do rozpoznania i ulepszenia efektów gospodarczych w różnych zespołach łąkowych. Referat wywołał zainteresowanie zebranych i dyskusję specjalistów. Głos zabierali profesowie: Nowiński z Poznania, Kornaś z Krakowa, Tołpa z Wrocławia i inni.

Prof. P. Strebeyko w swoim referacie przedstawił doświadczenia fizjologiczne, nie tyle ściśle dotyczące rozwoju zbóż — ile podstaw mechanizmu tego procesu na tle stosunków fotosyntezy i warunków z nimi związanych, pobudzających syntezę związków organicznych, umożliwiających zwiększenie masy roślinnej. Autor nawiązał do konieczności przeprowadzania tego rodzaju badań w związku ze stałym wzrostem ludności, a jednocześnie słabym tempem postępu produkcji środków żywności. Zebrani zgodnie ocenili problem jako bardzo ważny nie tylko z teoretycznego, ale i praktycznego punktu widzenia, szczególnie w gospodarce rolnej, przy czym w dyskusji prof. S. Gumiński zwrócił uwagę na znaczenie zielonych części kłosa dla fotosyntezy; doc. T. Ryłska uważa za decydującą w rezultacie fotosyntezy nie powierzchnię asymilacyjną liści, a ilość wody dostępnej w czasie fotosyntezy; prof. T. Gorczyński uważa, że ilość i jakość światła, a nie powierzchnia liści wpływa na efekt fotosyntezy i że raczej szarmonizowany wpływ ogółu czynników, przystosowanych do wymagań fizjologicznych rośliny, stanowi o rezultacie fotosyntezy; oraz ostatni dyskutant, prof. B. Świętochowski, w rozważaniach autora widzi braki związane z niedostatecznym zbadaniem udziału systemu korzeniowego w wynikach fotosyntezy.

Prof. K. Starmach bardzo sugestywnie przedstawił w swoim referacie zagadnienie wykorzystania planktonu roślinnego w procesach tworzenia środków żywienia dla wzrastającej stale liczby ludzi na ziemi. Referat zawierał wiele materiału porównawczego, który uzasadniał optymistyczny pogląd autora na możliwości wykorzystania powierzchni wód dla uzupełnienia w przyszłości deficytu żywnościowego dla ludzi i zwierząt, żyjących na ziemi.

W drugim dniu Zjazdu (27.VI) odbywały się równoległe sympozja.

Przed południem: sympozjum «Torf i torfowiska», któremu przewodniczył prof. dr St. Tołpa. Wygłoszono następujące referaty:

1. Dr St. Marek: «Biologia i stratygrafia torfowisk olszynowych w Polsce».
2. Mgr inż. St. Wąs: «Udział mchów w rozwoju torfowisk w Polsce».
3. Dr J. Koprowski: «Fracja torfowa jako osłona przed napromienieniem Rtg.».
4. Prof. dr St. Tołpa, dr W. Czyżewski: «Zastosowanie frakcji torfowych jako biostymulatorów w żywieniu zwierząt domowych».
5. Prof. dr M. Niklewski i współpracownicy: «Badania nad preparatami torfowymi».

Symposium «Fitosocjologia pól uprawnych», przewodniczy prof. dr B. Świętochowski. Referaty:

1. Prof. dr B. Świętochowski: «Znaczenie badań fitosocjologicznych nad zbiorowiskami segetalnymi dla produkcji rolniczej».

2. Doc. dr A. Krawiecowa: «Badania florystyczne nad chwastami segetalnymi Dolnego Śląska».

3. Prof. dr J. Kornaś: «Z nowszych badań nad zbiorowiskami segetalnymi». Wszystkie referaty wzbudziły żywe zainteresowanie botaników pracujących w uczelniach rolniczych.

Po południu: symposium «Praca korzenia», przewodniczył prof. dr S. Gumiński. Referaty:

1. Prof. dr S. Gumiński: «Powiązania pomiędzy oddychaniem i pobieraniem wody i soli mineralnych przez korzenie».

2. Prof. dr B. Świętochowski: «System korzeniowy zbóż».

3. Prof. dr N. Balicka: «Rizosfera».

Wygłoszone referaty są typowym przykładem jedności w teorii i praktyce w dziedzinie botaniki.

Symposium «Hodowla i genetyka», przewodniczył prof. dr S. Barbacki. Referaty:

1. Prof. dr W. Gajewski: «Współczesny pogląd na strukturę i funkcję genu».

2. Prof. dr S. Barbacki: «Genetyka w hodowli roślin».

Obydwa referaty, uzupełniające się, wywołały żywe zainteresowanie zebranych.

W trzecim dniu (28.VI) Zjazdu odbywały się posiedzenia naukowe sekcji.

Obradom Sekcji Florystyczno-Fitosocjologicznej przewodniczył prof. Z. Czubicki.

Wygłoszono następujące referaty:

1. Doc. dr A. Medwecka-Kornaś, prof. dr J. Kornaś: «Rola gatunków zastępczych w niektórych zespołach leśnych północnoamerykańskich i europejskich».

2. Doc. dr M. Jasnowski: «Torfowiskowe zespoły roślinne klasy *Scheuchzeria Caricetea fuscae* w Polsce».

3. Mgr R. Durski: «Ocena torfowisk jako warsztatu pracy rolnika, przy zastosowaniu metod fitosocjologicznych».

4. Dr A. Pałczyński: «Bagno Wizna w woj. białostockim na tle niektórych czynników siedliskowych».

5. Dr H. Tokarz: «Zbiorowiska olszy na Wysoczyźnie Elbląskiej».

6. Dr I. Kuczyńska: «Zbiorowiska leśne kompleksu pomiędzy Oławą a Brzegiem nad Odrą».

7. Mgr T. Jelinowski: «Zbiorowiska roślinne kompleksu leśnego w Mątwach Żuławy».

8. Dr L. Fagasiewicz: «Odmiany niektórych gatunków z podrodzaju *Eucarex*».

9. Mgr K. Rostański: «Gatunki z rodzaju *Oenothera* na Śląsku».

10. Dr R. Sowa: «Ciekawe gatunki synantropijne oraz niektóre roślinne zespoły ruderalne m. Łodzi».

11. Doc. dr A. Krawiecowa: «Interesujące gatunki roślin naczyniowych w Górach Opawskich».

12. Dr I. Kuczyńska: «Roślinność rezerwatu Łęczzak».

13. Doc. dr A. Krawiecowa: «Glony stawów rezerwatu Łęczzak».

14. Dr J. Kadłubowska: «Analiza morfologiczna nowych dla Polski gatunków *Spirogyra*».

15. Mgr J. Urbanek: «Mszaki zbiorowisk leśnych uroczyska Żądłowice».

16. Mgr W. Koła: «Badania nad szparkami oddechowymi u trzech gatunków rodzaju *Marchantia*».

17. Mgr J. Fabiszewski: «Wstępne badania nad zespołami porostów nadrzewnych w Górach Białskich i Kotlinie Kłodzkiej».

18. Dr St. Kuzielówna: «Porosty drzew owocowych Doliny Łącka».

Referaty i doniesienia, choć krótkie, były bardzo interesujące tak dla florystów, jak i praktyków.

Obradom Sekcji Mykologiczno-Fitopatologicznej przewodniczyła przed południem doc. dr A. Skirgiełło, po południu prof. dr W. Zabłocka. Wygłoszono następujące referaty:

1. Doc. dr A. Skirgiełło: «Organizacja i praca Komitetu do kartowania grzybów wyższych Europy».

2. Mgr W. Wojewoda: «Grzyby wyższe w zespołach leśnych Ojcowskiego Parku Narodowego».

3. Mgr M. Lisiewska: «Grzyby wyższe zespołów leśnych Puszczy Bukowej pod Szczecinem».

4. Doc. dr A. Nespiak: «Uwagi o systematyce rodzaju *Cortinarius* Fr.».

5. Dr Z. Maciejowska: «O morfologii i pozycji systematycznej niektórych wor-kowców zaliczanych do rzędów *Eurotiales* i *Pleosporales*».

6. Doc. dr K. Mańska: «Metodyczne badania nad grzybami gleb leśnych».

7. Mgr M. Gierczak: «Grzyby glebowe szkółek leśnych a choroby zgorzelowe siewek drzew».

8. Mgr W. Rudnicka: «Wstępne studia nad grzybami wyizolowanymi z piasku».

9. Dr Z. Maciejowska: «Grzyby glebowe wyizolowane z uprawy kalafiorów na torfach».

10. Mgr S. Stpiczyńska: «Studia nad grzybami wodnymi rzek Jeziorny i Świdra».

11. Doc. dr J. Ważny, dr J. Czajnik: «Występowanie grzybów niszczących drewno w budynkach na terenie Polski».

12. Doc. dr W. Truszkowska: «Obserwacje *Helminthosporium tiliae* na podroście lipy w Białowieskim Parku Narodowym».

13. Dr A. Golenia: «O niektórych właściwościach występowania grzyba *Peronospora tabacina* w Polsce».

14. Dr St. Czaplińska: «Skład gatunkowy mikroflory nasion lucerny siewnej w zależności od warunków przechowywania».

15. Mgr H. Moroniowa: «Obserwacje wpływu wilgotności na mikroflorę nasion kapusty podczas przechowywania».

16. Mgr J. Mikołajska: «Z dotychczasowych obserwacji nad *Mastigosporium album* i *Mastigosporium rubricosum*».

17. Mgr S. Czyżewska: «Badania nad patogenicznością różnych gatunków *Fusarium* w stosunku do lnu».

18. Mgr B. Łacicowa: «Badania nad morfologią i biologią *Fusarium poae* oraz jego patogenicznością względem siewek pszenicy».

19. Mgr J. Poczopko-Górska: «Badania nad grzybem *Gaumanomyces graminis* na pszenicach w Polsce».

Obradom Sekcji Paleobotanicznej przewodniczył przed południem prof. dr Wł. Szafer, po południu prof. dr M. Kostyniuk.

W czasie obrad wygłoszono referaty:

1. Prof. dr Wł. Szafer: «Kiedy i jak powstały lasy tatrzańskie».

2. Doc. dr J. Dyakowska: «Zmienność współczesnego pyłku *Picea excelsa*».

3. Doc. dr A. Skirgiełło: «Szczątki grzybów z nadwiślańskich głazów narzutowych».
4. Dr M. Reymanówna: «Nowe rośliny z dolnojurajskich osadów w Grojcu k/Krakowa».
5. Mgr T. Orłowska-Zwolińska: «Zmiany w spektrach sporowo-pyłkowych na przełomie triasu i jury na obszarze Polski północno-zachodniej».
6. Mgr J. Mamczar: «Badania sporowo-pyłkowe osadów dolnej kredy z rejonu Rogoźna».
7. Doc. dr Raniecka-Bobrowska: «Spektra sporowo-pyłkowe osadów oligocen-skich i miocen-skich niektórych obszarów woj. wrocławskiego».
8. Dr M. Łańcucka-Środoniowa: «Miocen Polski południowej w świetle badań paleobotanicznych».
9. Dr L. Stuchlik: «Profil starszego neogenu z Rypina w świetle badań palynologicznych».
10. Mgr L. Jakubowska: «Spektra sporowo-pyłkowe osadów sarmackich Niziny Sandomierskiej i Lubelszczyzny».
11. Doc. dr K. Lubliner-Mianowska: «Analiza pyłkowa osadów dennych Zatoki Meklemburskiej».
12. Mgr M. Ralska-Jasiewiczowa: «Historia roślinności okolic jeziora Mikołajki w późnym glacie i w holocenie».
13. Mgr Z. Janczyk-Kopikowa: «Paleobotaniczne badania osadów młodszego plejstocenu z miejscowości Podgłębokie na Lubelszczyźnie».
14. Dr K. Szczepanek: «Późnoplejstocenska flora z Ustronia nad Wisłą».
15. Mgr Borówko-Dłużakowa: «Interglacja mazowiecki w Puszczy Kampino-skiej».

Obradom Sekcji Fizjologicznej przewodniczył przed południem prof. dr B. Wojciechowski, po południu prof. dr A. Paszewski.

Wygłoszono następujące referaty:

1. Dr Z. Starck: «Wpływ korzeni jako akceptorów asymilatów na ich przemieszczanie».
2. Prof. dr H. Birecka, dr J. Skupińska: «Fotosynteza, przemieszczanie i akumulacja asymilatów w roślinach zbożowych w okresie kształtowania się ziarna. I. Badania nad jęczmieniem jarym».
3. Prof. dr H. Birecka, dr Dankic-Włodkowska: «Fotosynteza...». II. Badania nad pszenicą jara.
4. Dr St. Szymański: «Oddziaływanie syntetycznych związków humusowych na wzrost roślin».
5. Mgr W. Czerwiński: «O mechanizmie stymulacji pobierania soli mineralnych wywołanej przez humian sodowy».
6. Prof. dr S. Gumiński, dr Z. Gumińska: «Porównanie działania humianu i wersanianu w kulturach wodnych wietrzonych i niewietrzonych».
7. Dr M. Borys: «Wpływ pH, związków fenolowych i nieoczyszczonych wyciągów z pędów brzoskwiń na wzrost *Fusicoccum amygdali* Del. *in vitro*».
8. Dr J. Buczek: «Wpływ soli amonowych i azotanów na gospodarkę wodną roślin w powiązaniu z oddychaniem korzeni i liści».
9. Mgr D. Zielińska: «Przyczyny wysokiej transpiracji lnu».
10. Dr Z. Krzywański: «Przemiany oddechowe liści dwu odmian ziemniaków zakażonych lub poddanych działaniu toksyny *Phytophthora infestans*».
11. Mgr B. Szał: «Wpływ żywienia chlorkiem wapnia i molibdenianem sodu na plon części nad i podziemnych ziemniaków».

12. Dr M. Borys: «Wpływ żywienia borem, chlorkiem wapnia i siarczanem wapnia na odporność drzew owocowych na *Fusicoccum amygdali* Del.».
13. Mgr T. Baszyński: «Badania nad syntezą i funkcją tokoferoli u roślin».
14. Doc. dr K. Blaim: «Przyczynek do biochemii tytoni beznikotynowych».
15. Doc. dr K. Blaim i mgr E. Gawroński: «Trygonelina jako substancja wzrostowa korzeni».

Po obradach naukowych omówiono sprawy organizacyjne. Zebrani postanowili reaktywować działalność Sekcji Fizjologicznej Polskiego Towarzystwa Botanicznego. Na przewodniczącego wybrano jednogłośnie doc. dr Mariana Michniewicza.

W czwartym dniu Zjazdu (29.VI) odbyły się następujące wycieczki:

1. Do kopalni odkrywkowej węgla brunatnego w Turossowie oraz na torfowisko przejściowe ze stanowiskiem *Pinus uliginosa* w Węglińcu.
2. Na torfowisko wysokie ze stanowiskiem *Betula nana* w Zieleńcu.
3. Do Arboretum w Wojsławicach.
4. Do majątku doświadczalnego IUNG w Ławicy.

W czasie wycieczek odbyły się liczne dyskusje w gronie fachowców.

Tadeusz Gorczyński

NADZWYCZAJNE POSIEDZENIE KRAKOWSKIEGO ODDZIAŁU POLSKIEGO TOWARZYSTWA BOTANICZNEGO (19. IX. 1963)

W dniu 19 września 1963 r. odbyło się w Krakowie nadzwyczajne posiedzenie Oddziału Polskiego Towarzystwa Botanicznego, na którym wygłosili referaty dwaj wybitni paleobotanicy zagraniczni, bawiący w Polsce w związku z sympozjum paleobotanicznym, zorganizowanym w 100-letnią rocznicę urodzin prof. Mariana Raciborskiego.

Posiedzeniu przewodniczył prof. dr Wł. Szafer.

Na posiedzenie przybyło z górą 50 osób spośród botaników krakowskich oraz goście z innych ośrodków w kraju, którzy w poprzednich dniach brali udział w sympozjum paleobotanicznym.

Pierwszy był referat prof. T. M. Harrisa z uniwersytetu w Reading (Anglia), znanego specjalisty od flor jurajskich, pt.: «Forest fire in the mesozoic». Referat był wygłoszony w języku angielskim, a słuchacze mieli do dyspozycji powielone polskie tłumaczenie skróconej wersji referatu.

Prof. Harris mówił o szczególnym materiale roślin kopalnych, który składał się niemal wyłącznie ze szczątków jednej tylko rośliny, *Cheirolepidium* (*Cheirolepis*) *Muensteri* (*Coniferae*). W materiale tym były reprezentowane odłamki kory, łuski szyszek, liście, nasiona i pylniki tej rośliny.

Te szczątki roślin znaleziono w Walii w jaskiniach wyerodowanych w wapieniu wieku karbońskiego. Jaskinie te wytworzyły się we wzgórzach, które istniały w okresie permskim i triasowym, lecz zostały później zatopione przez wznoszące się morze liasowe. Szczątkom roślinnym towarzyszyły kości drobnych ssaków lądowych. Stwierdzenie przez prof. Harrisa, że szczątki roślinne należą do *Cheirolepidium Muensteri*, rośliny występującej w górnym retyku i dolnej jurze, datuje ściśle wiek tych szczątków zwierzęcych.

Bardzo interesujący był sposób zachowania szczątków *Ch. Muensteri*. Oto występują one w postaci fuzytu, substancji nie dającej się odróżnić od węgla drzewnego, który tworzy się dziś pod wpływem ognia. Jednak wśród paleobotaników istnieje do dzisiaj spór, czy fuzyt (kopalny węgiel drzewny) powstał w ten sposób pod wpływem naturalnych pożarów wywołanych uderzeniami pioruna, czy też

w inny sposób, w następstwie rozkładu szczątków roślinnych w wilgotnym środowisku w obecności tlenu. Prof. Haris przeprowadził dokładną analizę właściwości zbadanych szczątków *Ch. Muensteri* takich jak ich ciężar właściwy, wielkość, kształt, spękania poprzeczne, zniekształcenia, wielka odporność na działanie kwasu azotowego $+KClO_3$. Porównując te właściwości z właściwościami węgla drzewnego, otrzymanego drogą eksperymentu przez ogrzewanie fragmentów roślinnych przykrytych piaskiem, oraz z właściwościami węgla drzewnego powstającego współcześnie w czasie pożaru leśnego, wykazał on, że szczątki *Ch. Muensteri* musiały przekształcić się w fuzyt również pod wpływem ognia. Obserwacje współczesnych pożarów dowiodły, że po pożarze lasu pozostają jedynie zwęglone kawałki pni drzew, inne zaś szczątki roślinne ulegają zupełnemu zniszczeniu. Natomiast po pożarze wrzosowiska, gdzie gleba jest wilgotna, i po pożarach ściółki leśnej można zawsze znaleźć fragmenty zwęglonych gałązek, liści, kwiatów wrzosu itp., które już następnie nie ulegają zniszczeniu i można je znaleźć na miejscu jeszcze w kilka lat po pożarze. Prof. Harris przyjmuje, że w podobnych warunkach musiały powstać, zachowane w postaci fuzytu, szczątki *Cheirolepidium*. Fuzyt, bardzo do niego podobny, był znajdowany w dużej ilości w skałach ładowych, poczynając od dewonu. Zdaniem prof. Harrisa fuzyty te powstały również w następstwie pożarów leśnych.

Druga teoria powstania fuzytu mówi, że wytworzył się on w następstwie rozkładu szczątków roślinnych w wilgotnym środowisku w obecności tlenu. Jednak słuszność tej teorii nie została nigdy udowodniona w drodze eksperymentalnej.

Drugim z kolei był referat prof. F. Němejca z uniwersytetu Karola w Pradze (Czechosłowacja) na temat ekologii i stratygrafii trzeciorzędowych flor Czechosłowacji. Był on wygłoszony w języku czeskim.

Prof. Němejce wykazał, że w trzeciorzędzie Czechosłowacji można wyróżnić kilka analogicznych typów flor powtarzających się w wielu miejscowościach w osadach od górnego eocenu po pliocen. Skład gatunkowy tych flor odzwierciedla wahania klimatyczne. Najwyraźniej widoczne jest pogorszenie się klimatu pod koniec oligocenu i z początkiem miocenu, które wyraża się zanikaniem tropikalnego elementu indomalajskiego we florach z tego czasu. We florach z środkowego miocenu (burdygał-helwet) występuje polepszenie się klimatu, ale nigdzie nie doprowadza już ono do restytucji flory prawdziwie tropikalnej. Wymienione wyżej zmiany są najbardziej wyraźne z pomiędzy szeregu innych oscylacji klimatycznych, rozpoczynających się w oligocenie.

Drugim zjawiskiem, znajdującym wyraz we florach trzeciorzędowych Czechosłowacji, było wysychanie morza. W wyniku tego procesu zanikł stopniowo gatunki atlantyckie, a pojawiły się gatunki orientalne, kserofityczne.

W dyskusji, po referacie, wzięli udział obecni polscy paleobotanicy zadając prelegentowi szereg pytań specjalnych. Między innymi poruszano kwestię, czy w gruboziarnistych piaskowcach mogły zachować się również liście o cienkich blaszkach i czy wobec tego flory z takiego piaskowca mogą dać dobry obraz roślinności. Z uwag wypowiedzianych przez dyskutantów wynikało jednak, że cienkie liście także mogą się w tych warunkach zachować, choć najczęściej tylko w postaci odpornej siatki nerwacji.

Na zakończenie dyskusji prof. W. Szafer podkreślił potrzebę dalszej współpracy naukowej między Polską a Czechosłowacją w dziedzinie poznania flor trzeciorzędowych, licznie występujących w obydwu krajach, aby można było uzyskać obraz wpływu łańcucha Karpat na roślinność w trzeciorzędzie.

NAGRODY WYDZIAŁOWE W 1963 R.

Wydział II Nauk Biologicznych Polskiej Akademii Nauk przyznał w 1963 r. wydziałowe nagrody naukowe następującym pracownikom nauki:

1. Prof. dr J. Zurzycki (Kraków, Uniwersytet Jagielloński, Katedra Fizjologii Roślin) — za pracę pt. *The action spectrum for the light dependent movements of chloroplasts in Lemna trisulca L.*
2. Dr Jerzy Żuk (Warszawa, Zakład Genetyki Ogólnej PAN) — za pracę pt. *An investigation on polyploidy and sex determination within the genus Rumex.*
3. Mgr Maria Jerka-Dziodoszowa (Warszawa, Zakład Biologii Instytutu im. Nenckiego) — za pracę pt. *Morphogenesis in division and regeneration of Urostyla grandis Ehrb.*
4. Doc. dr Lech Wojtczak, doc. dr Paulina Włodawer, mgr J. Zborowski (Warszawa, Zakład Biochemii Instytutu im. Nenckiego) — za pracę pt. *ATP-induced contraction of rat-liver mitochondria and synthesis of phospholipids.*

K. Św.

WYMIANA NAUKOWA WYDZIAŁU II PAN Z ZAGRANICĄ W 1963 r.

Międzynarodowe Kongresy

1. Międzynarodowy Kongres Genetyczny, Holandia, Haga, 2—10.IX, prof. dr W. Gajewski.
2. Międzynarodowy Kongres Genetyki Drzew, Szwecja, Sztokholm, 22—30.VIII, prof. dr S. Białobok.
3. VIII Międzynarodowy Kongres Weterynaryjny, NRF, Hanower, 14—21.VIII, prof. dr W. Stefański, prof. dr J. Brill.
4. XVI Międzynarodowy Kongres Zoologiczny, USA, Waszyngton, 20—27.VIII, prof. dr Z. Kielan-Jaworowska, prof. dr K. Petruszewicz, prof. dr K. Sembrat.
5. Międzynarodowy Kongres Europejskich Mykologów, Szkocja, Glasgow, 31.VIII—7.IX, prof. dr J. Kochman.
6. VII Europejski Kongres Spektroskopii Molekularnej, Węgry, Budapeszt, 22—27.VII, dr K. Wierzchowski, mgr K. Berens.

Zjazdy Narodowe, Sympozja, Narady

1. Zjazd Cytologiczny, ZSRR, Moskwa 31.V—5.VI, dr M. Jordan.
2. Zjazd Komitetu do Spraw Międzynarodowego Programu Biologicznego, Włochy, Rzym, 25—30.I, prof. dr K. Petruszewicz.
3. Zjazd, poświęcony badaniom flory i fauny Karpat, CSRS, 13—15.V, dr M. Dylewska.
4. Konferencja na temat zoogeografii lądowej, ZSRR, Taszkent, 23.IX—2.X, prof. dr K. Petruszewicz, dr Z. Pucek.

5. Międzynarodowa Konferencja Fizjologiczna, poświęcona stuleciu publikacji dzieła Séczenowa pt. *Odruchy mózgu*, ZSRR, Moskwa, 24—30.XI, prof. dr J. Konorski, doc. dr S. Brutkowski, dr E. Fonberg.
6. Kongres Zwalczenia Chorób Zakaźnych, NRD, Lipsk, 14—16.X, prof. dr T. Korzybski.
7. Kolokwium, poświęcone regulatorom wzrostu roślin, Francja, 15—20.VII, dr M. Tomaszewski.
8. Sympozjum Biofizyki Komórkowej, Rumunia, 25—27.IV, dr M. Piechowska.
9. Sympozjum na temat degeneracji i regeneracji tkanki nerwowej, Holandia, 15—19.VII, prof. dr L. Lubińska.
10. Sympozjum pt. «Fizjologia, ekologia i biochemia kiełkowania», NRD, 8—14.IX, dr B. Suszka.
11. Posiedzenie Międzynarodowej Komisji Motyliczej, CSRS, Koszyce, 14—17.VI, prof. dr E. Żarnowski.
12. Sympozjum na temat biochemii lipidów, Szwecja, Sztokholm, 5—7.VIII, prof. dr W. Niemierko, doc. dr P. Włodawer.
13. Sympozjum na temat kwasów nukleinowych, CSRS, 15—18.V, prof. dr J. Heller, dr K. Wierzchowski.
14. Międzynarodowe Spotkanie Towarzystw Biochemicznych, Anglia, Oxford, 18—20.VII, prof. dr I. Reifer.
15. Sympozjum na temat transformacji bakterii, Węgry, 13—18.VIII, prof. dr R. Pakuła.
16. Sympozjum pt. «Struktura i funkcja materiału genetycznego», NRD, 26—29.VIII, prof. dr R. Pakuła.
17. Międzynarodowe Sympozjum Paleontologiczne, NRD, Weimar, 23—28.IX, doc. dr M. Młynarski.
18. Posiedzenie Komisji do badań nad zwiększeniem produktywności składników użytecznych roślin uprawnych, Francja, Paryż, 23—24.IX, prof. dr I. Reifer.
19. Posiedzenie Komitetu IUBS do badań ekologii i produktywności zbiorowisk łądowych, Belgia, Bruksela, 29.IX—4.X, prof. dr K. Petruszewicz, doc. dr A. Kornaśowa.
20. Narada na temat badań produkcji wtórnej, Francja, Paryż 11—13.XII, prof. dr K. Petruszewicz.
21. Posiedzenie Niemieckiego Towarzystwa Biochemicznego, NRD, 3—7.XII, prof. dr J. Heller, dr M. Piechowska, mgr D. Barszcz.
22. Międzynarodowy Zjazd Psychologów, USA, sierpień, prof. dr J. Konorski.

Wyjazdy dla wygłoszenia odczytów

1. Prof. dr W. Szafer (botanika) — Dania — 10 dni.
2. Prof. dr J. Konorski (neurofizjologia) — Kanada — 2 tyg.

Wyprawy badawcze

1. Wyprawa paleontologiczna polsko-radziecko-mongolska do Mongolii — 3 mies., doc. dr J. Kulczycki, doc. dr H. Makowski, mgr A. Sulimski, mgr D. Walkowski, inż. M. Kuczyński.
2. Wyprawa botaniczna do Wietnamu — 8 tyg. — prof. dr J. Kornaś, dr T. Przybylski.

Wyjazdy specjalizacyjne

1. Prof. dr W. Michajłow (parazytologia) — Norwegia — 3 tyg.
2. Mgr K. Kowalska (zoologia) — ZSRR — 3 tyg.
3. Doc. dr J. Kulczycki (paleozoologia) — ZSRR — 10 dni.
4. Doc. dr P. Trojan (ekologia) — ZSRR — 3 tyg.
5. Dr Z. Wajdowicz (hydrobiologia) — ZSRR — 4 tyg.
6. Prof. dr Z. Grodziński (zoologia) — ZSRR — 4 tyg.
7. Dr Z. Komala (biologia) — ZSRR — 4 tyg.
8. Dr W. Bugała (dendrologia) — ZSRR — 2 tyg.
9. Mgr M. Kiepusa (paleozoologia) — ZSRR — 4 tyg.
10. Doc. dr W. Bazyluk (zoologia) — ZSRR — 4 tyg.
11. Dr A. Przełęcka (biochemia) — ZSRR — 3 tyg.
12. Prof. dr T. Jaczewski (zoologia) — ZSRR — 4 tyg.
13. Mgr K. Berens (biochemia) — ZSRR — 10 dni.
14. Mgr D. Barszcz (biochemia) — ZSRR — 10 dni.
15. Mgr Z. Tramer (biochemia) — ZSRR — 10 dni.
16. Mgr B. Pisarski (zoologia) — ZSRR — 3 tyg.
17. Mgr J. Plisko (zoologia) — ZSRR — 3 mies.
18. Doc. dr B. Czapliński (parazytologia) — ZSRR — 3 mies.
19. Mgr J. Olszewski (zoologia) — ZSRR — 4 mies.
20. Mgr R. Pisarska (zoologia) — ZSRR — 3 mies.
21. Dr H. Jakubczyk (ekologia) — ZSRR — 6 mies.
22. Dr A. Malczewski (parazytologia) — ZSRR — 4 tyg.
23. Dr M. Mroczkowski (zoologia) — Szwecja — 3 tyg.
24. Doc. dr M. Młynarski (zoologia) — Węgry — 2 tyg.
25. Mgr O. Matlak (hydrobiologia) — Węgry — 4 tyg.
26. Mgr H. Gołaszewska (biochemia) — Węgry — 2 tyg.
27. Mgr J. Gruda (biochemia) — Węgry — 2 tyg.
28. Dr K. Galewski (zoologia) — Węgry — 4 tyg.
29. Mgr J. Szczehura (paleozoologia) — Jugosławia — 4 tyg.
30. Dr Z. Przyjałkowski (parazytologia) — NRD — 4 tyg.
31. Mgr K. Kowalska (zoologia) — NRD — 3 tyg.
32. Dr J. Staszkievicz (botanika) — Rumunia — 2 tyg.
33. Mgr K. Niewiadomska (parazytologia) — Rumunia — 4 tyg.
34. Mgr E. Kierych (zoologia) — Rumunia — 4 tyg.
35. Dr J. Staszkievicz (botanika) — Bułgaria — 2 tyg.
36. Prof. A. Drozdowicz (mikrobiologia) — Bułgaria — 2 tyg.
37. Dr M. Drzał (ochrona przyrody) — Bułgaria — 2 tyg.
38. Dr R. Bielawski (zoologia) — Bułgaria — 4 tyg.
39. Prof. dr B. Pawłowski (botanika) — CSRS — 2 tyg.
40. Dr S. Klimaszewski (zoologia) — CSRS — 8 tyg.
41. Dr Z. Kajak (ekologia) — CSRS — 3 tyg.
42. Doc. dr Z. Zielińska (biochemia) — CSRS — 4 tyg.
43. Dr J. Pinowski (ekologia) — CSRS — 7 dni.
44. Dr K. Grodzińska (botanika) — CSRS — 2 tyg.
45. Mgr E. Krzyżanek (hydrobiologia) — CSRS — 3 mies.
46. Dr B. Burakowski (zoologia) — Mongolia — 4 tyg.
47. Mgr H. Szelegiewicz (zoologia) — Mongolia — 4 tyg.

Wyjazdy na Stypendia

1. Doc. dr S. Błęszyński (zoologia) — Anglia — 3 mies., styp. PAN.
2. Dr I. Kąkol (biochemia) — NRF — 10 mies., styp. PAN.
3. Dr L. Stuchlik (botanika) — Szwecja — 6 mies., styp. PAN.
4. Dr J. Buchowicz (biochemia) — USA — 7 mies., styp. PAN.

Centre national de Recherche scientifique

1. Doc. dr A. Kornasiowa (botanika) — Francja — 10 tyg.
2. Dr A. Riedel (zoologia) — Francja — 5 mies.
3. Dr B. Żernicki (neurofizjologia) — Francja — 3 mies.

Stypendia fundacji Wandy Roehr

1. Doc. dr K. Browicz (botanika) — Anglia — 6 mies.
2. Dr G. Biernatowa (paleozoologia) — NRF — 3 mies.
3. Doc. dr S. Dryl (biologia) — Japonia — 3 mies.
4. Dr J. Razowski (zoologia) — Anglia — 4 mies.

Stypendia w ramach porozumienia PAN z krajami zachodnimi

1. Dr K. Mamakowa (botanika) — Norwegia — 4 mies., styp. norweskie.
2. Dr K. Zieliński (neurofizjologia) — Kanada — 12 mies., styp. kanadyjskie.
3. Dr R. Klekowski (hydrobiologia) — Dania — 6 mies., styp. duńskie.
4. Dr M. Jeżewska (biochemia) — Francja — 6 mies., styp. Rządu Francuskiego.

Wyjazdy na stypendia zagranicznych instytucji

1. Dr S. Łukiewicz (biologia) — Włochy — 8 mies., styp. Instytutu Anatomii Porównawczej w Palermo.
2. Doc. dr P. Szafrński (biochemia) — Francja — 6 mies., styp. Faculte de Medecine de Strassbourg.
3. Doc. dr A. Bajer (botanika) — Szwecja — 6 mies., styp. Instytutu Genetyki Uniwersytetu w Lund.
4. Dr M. Dydyńska (neurofizjologia) — Anglia — 12 mies., styp. University College London.
5. Dr W. Ławicka (neurofizjologia) — USA — 12 mies., styp. National Institute of Mental Health, Bethesda.

Wymiana bezdewizowa

1. Prof. dr B. Pawłowski (botanika) — Rumunia — 2 tyg.
2. Dr S. Pawłowska (botanika) — Rumunia — 2 tyg.
3. Dr Cz. Marański (parazytologia) — NRF — 10 dni.
4. Dr R. Bielawski (zoologia) — NRF — 2 tyg.
5. Doc. dr S. Brutkowski (neurofizjologia) — NRF — 4 tyg.
6. Dr J. Szarkowski (biochemia) — Szwajcaria — 2 mies.

Przyjazdy gości zagranicznych

I. Udział w zjazdach

1. Uroczystość 100-lecia urodzin prof. dr M. Raciborskiego — Kraków, 15—20. IX, prof. dr F. Nemejc — CSRS, prof. dr A. Wachramiejew — ZSRR, prof. dr T. H. Harris — Anglia.
2. Zjazd Sekcji Dendrologicznych Polskiego i Czeskiego Tow. Botanicznego — Kórnik, 8—12.IX, dr I. Klasterski, dr J. Janik, inż. A. Svoboda, inż. J. Hofman.
3. XV Zjazd Polskiego Tow. Mikrobiologów — Wrocław, 11—14.XI, prof. dr Dionyz Blascovic — CSRS.
4. Międzynarodowa Wycieczka Fitosocjologów, 3—11.VI; udział wzięło 61 botaników z 15 krajów.

II. Przyjazdy w ramach umów z ZSRR oraz krajami demokracji ludowej

1. Dr Jirina Zelena (neurofizjologia) — CSRS — 7 dni.
2. Dr B. Rezabova (biochemia) — CSRS — 2 tyg.
3. Dr P. Javornicky (hydrobiologia) — CSRS — 2 tyg.
4. Inż. Vlastimir Barus (parazytologia) — CSRS — 10 dni.
5. K. n. J. Groschaft (parazytologia) — CSRS — 2 tyg.
6. Dr I. Novotna (botanika) — CSRS — 2 tyg.
7. Dr Milan Silha (biochemia) — CSRS — 2 tyg.
8. Dr O. Koldowsky (biochemia) — CSRS — 7 dni.
9. Dr H. Hanusalkova (biochemia) — CSRS — 7 dni.
10. Inż. Iri Spaleny (biochemia) — CSRS — 2 tyg.
11. Inż. K. Heinrichova (biochemia) — CSRS — 2 tyg.
12. Dr O. Buresova (neurofizjologia) — CSRS — 2 tyg.
13. Inż. O. Šikl (biochemia) — CSRS — 3 tyg.
14. Inż. R. Zahradnik (biochemia) — CSRS — 7 dni.
15. Prof. dr J. Kratochwil (zoologia) — CSRS — 7 dni.
16. Dr F. Bencat (botanika) — CSRS — 7 dni.
17. Dr I. Tomasco (botanika) — CSRS — 7 dni.
18. Prof. dr S. Stankovic (hydrobiologia) — Jugosławia — 10 dni.
19. Dr H. Wagner (biochemia) — NRD — 6 tyg.
20. Dr G. Löber (biochemia) — NRD — 2 tyg.
21. Dr K. Kramarczyk (biochemia) — NRD — 3 tyg.
22. Dr H. Fritsche (chemia) — NRD — 3 dni.
23. Dr E. Geisler (biochemia) — NRD — 2 tyg.
24. Dr L. Wylczewa (biochemia) — Bułgaria — 2 tyg.
25. Dr G. Markow (ekologia) — Bułgaria — 2 tyg.
26. Dr Anton Pagacnik (antropologia) — Jugosławia — 4 tyg.
27. Prof. dr O. A. Obut (paleozoologia) — ZSRR — 3 tyg.
28. Dr W. W. Missarzewski (paleontologia) — ZSRR — 6 mies.
29. Dr W. D. Fonin (paleontologia) — ZSRR — 6 mies.
30. Dr E. Marjai (mikrobiologia) — Węgry — 4 tyg.
31. Dr Daszczewek (paleontologia) — Mongolia — 3 mies.
32. Dr Dawczyn (paleontologia) — Mongolia — 3 mies.
33. Dr Cewegrzał (paleontologia) — Mongolia — 3 mies.
34. Dr Konstantin Radulescu (zoologia) — Rumunia — 3 tyg.

III. Naukowcy zaproszeni przez Wydział II, placówki i Komitety naukowe Wydziału II

1. Prof. dr D. A. Young (zoologia) — USA — 3 tyg.
2. Prof. dr Jean Brachet (anatomia) — Belgia — 7 dni.
3. Prof. dr J. Kamin (neurofizjologia) — Kanada — 2 tyg.
4. Prof. dr Kenneth Thimann (biochemia) — USA — 14 dni.
5. Prof. dr Silvio Ranci (histochemia) — Włochy — 7 dni.
6. Dr Zoltan Kasab (zoologia) — Węgry — 14 dni.
7. Prof. dr Otto Westphal (biochemia) — NRF — 10 dni.
8. Prof. dr T. S. Work (biochemia) — Anglia — 7 dni.
9. Prof. dr T. Macan (hydrobiologia) — Anglia — 10 dni.
10. Prof. dr M. Florkin (biochemia) — Belgia — 7 dni.
11. Dr W. Norsell (neurofizjologia) — Szwecja — 4 tyg.
12. Dr P. Hahn (biochemia) — CSRS — 10 dni.
13. Dr C. Michalec (biochemia) — CSRS — 10 dni.
14. Dr R. B. Roberts (biochemia) — USA — 7 dni.
15. Prof. dr H. Gillet (botanika) — USA — 7 dni.
16. Prof. dr A. Soulerac (neurofizjologia) — Francja — 6 dni.
17. Prof. dr Clarke Birch (ekologia) — Australia — 10 dni.
18. Prof. dr H. Pollock (mikrobiologia) — Anglia — 10 dni.
19. Prof. dr Alain Chaboud (parazytologia) — Francja — 7 dni.
20. Prof. dr Johann Assem (ekologia) — Holandia — 10 dni.
21. Prof. dr G. P. Hess (botanika) — USA — 7 dni.
22. Prof. dr Ch. M. Pomert (neurofizjologia) — USA — 7 dni.
23. Prof. dr R. F. Gekker (paleontologia) — ZSRR — 10 dni.
24. Dr E. Uibarlayova (botanika) — CSRS — 7 dni.
25. Dr E. Zavadil (botanika) — CSRS — 7 dni.

Na stypendium British Council przebywali w Polsce dr J. Steiner (neurofizjologia) — 4 tyg., prof. dr T. Mann (biochemia) — 10 dni oraz dr A. Dunca (hydrobiologia) — 3 mies.; w ramach porozumienia z CNRS przyjechali do Polski — dr Emil Postel (hydrobiologia) — 3 tyg. oraz doc. dr Daniel Dornier — Belgia. Na roczny staż specjalizacyjny do Zakładu Neurofizjologii Instytutu im. Nenckiego przyjechał z USA dr Gaylor Ellison. Dr Ellison jest stypendystą National Institute of Mental Health. W ramach porozumienia między PAN a Kanadą gościł w Polsce prof. dr Leon Kamin.

Wyjazdy do poszczególnych krajów

Anglia 5	Holandia 2	Norwegia 4	USA 6
Belgia 2	Japonia 1	NRD 9	Vietnam 2
Bułgaria 4	Jugosławia 1	NRF 7	Węgry 8
CSRS 11	Kanada 2	Rumunia 6	Włochy 2
Dania 2	Mongolia 7	Szwecja 7	ZSRR 27
Francja 8		Szwajcaria 1	

K. Św.

KSIĄŻKI NADESŁANE

1. Wiktor Dembiński i Zofia Sadowska, *Kuralonowe narzędzia połowu ryb*, Inst. Ryb. Śródl., Olsztyn 1963, s. 16.
2. Wiktor Dembiński i Karol Różycki, *Tabele do obliczania ciężaru bawełnianych i stylonowych tkanin sieciowych*, Inst. Ryb. Śródl., Olsztyn 1963, s. 13.

CONTENTS

I

<i>Andrzej Grębecki</i> — Some Problems of the Electrophysiology of Movement and Uptake in Protoza	105
<i>Bohdan Rodkiewicz</i> — Physiology of Chromosomes in the Light of the Autoradiographic Research	124
<i>Jerzy E. Maruchin, Sławomir R. Lipski</i> — Phenomena occurring in Enzymes under the Influence of X and Gamma Rays	133
<i>J. Marszewska-Zięmicka</i> — <i>Sergiej Vinogradsky</i> and <i>E. Jahn Russell</i> — silhouettes of two scientists	148

II

BOOK REVIEW

<i>Wanda Byczkowska-Smyk</i> — Symposia of the International Society for Cell Biology. Vol. 1. The Interpretation of Ultrastructure. Edit. R. C. Harris	157
<i>Marian Nowiński</i> — Biological Problems arising from the Control of pests and diseases	159
<i>Wanda Byczkowska-Smyk</i> — Proceedings of the Symposium on Cytochemical Progress in Electron Microscopy, Oxford 1962	165

III

SCIENTIFIC CHRONICLE

<i>Stanisław Brodzicki</i> — The Occurrence of Toxic Substances in Blood (<i>Hemolympha</i>) of scalded Crayfish <i>Orconectes virilus</i> and <i>Procambarus clarkii</i> ; <i>K. Jakubowicz</i> — Relationship between Aetiology, LE Cell Phenomenon and Antinuclear Antibody in disseminated <i>Lupus erythematosus</i> : a hypothesis	167
---	-----

IV

SESSIONS, MEETINGS AND SCIENTIFIC CONFERENCES

<i>Bronisław Filipowicz</i> — The First National Congress on iBochemistry . . .	171
<i>Wacław Gajewski</i> — The First All-Poland Genetic Symposium	174

<i>Tadeusz Gorczyński</i> — The 35th Congress of the Polish Botanical Society held in Wrocław	175
<i>Maria Reymanówna</i> — Extraordinary Session of the Cracow Branch of the Polish Botanical Society	181

V

MISCELLANEA

<i>K. Św.</i> — Department rewards in 1963	183
<i>K. Św.</i> — Scientific exchange of the Department II of the Polish Academy of Sciences with abroad in 1963	183

СОДЕРЖАНИЕ

I

Анджей Гренбецки — Избранные вопросы электрофизиологии движения и поглощения у простейших	105
Богдан Родкевич — Физиология хромосомов в свете автордиографических исследований	124
Ежи Е. Марухин, Славомир Р. Липски — Явления возникающие в энзимах под влиянием излучения X и гамма	138
Я. Маршевска-Земенца — Сергей Виноградский и Е. Джон Рюссель — два силуэта учёных	148

II

РЕЦЕНЗИИ

Ванда Бычковска-Смык — Symposia of the International Society for Cell Biology, vol. 1. The Interpretation of Ultrastructure, Edit. R. C. Harris	157
Мариан Новиньски — Биологические проблемы, возникающие при борьбе с вредителями и болезнями	159
Ванда Бычковска-Смык — Proceedings of the Symposium on Cytochemical Progress in Electron Microscopy, Oxford 1962	165

III

НАУЧНАЯ ХРОНИКА

Станислав Бродзицки — Выступление токсической субстанции в гемолимфе опшаренных раков <i>Orconectes virilus</i> i <i>Procambus clarkii</i> ; К. Якутович — Связь между этиологией, феноменом клеток LE и антиядерными антителами в рассеянном <i>lupus erythematosus</i> : гипотеза	167
---	-----

IV

СОБРАНИЯ, СЪЕЗДЫ И НАУЧНЫЕ КОНФЕРЕНЦИИ

Бронислав Филипович — I Краевой Конгресс Биохимии	171
Вацлав Гаевски — I Всепольский Симпозиум по Генетике	174

Тадеуш Горчиньски — XXXV Съезд Польского ботанического общества во Вроцлаве	175
мария Рейман — Чрезвычайное заседание Краковского отдела Польского ботанического общества	181

V

MISCELLANEA

К. Съв. — Награды в Отделении биологических наук ПАН в 1963 году . .	183
К. Съв. — Научный обмен II Отделения биологических наук ПАН с загра- ницей в 1963 году	183

SPIS TREŚCI

I

<i>Andrzej Grębecki</i> — Wybrane zagadnienia elektrofizjologii ruchu wchłaniania u pierwotniaków	105
<i>Bohdan Rodkiewicz</i> — Fizjologia chromosomów w świetle badań autoradiograficznych	124
<i>Jerzy E. Maruchin, Sławomir R. Lipski</i> — Zjawiska zachodzące w enzymach pod wpływem promieniowania α i gamma	133
<i>J. Marszeswka-Zamięcka</i> — <i>Sergiusz Winogradsky</i> i <i>E. John Russell</i> — dwie sylwetki uczonych	148

II

RECENZJE

<i>Wanda Byczkowska-Smyk</i> — <i>Symposia of the International Society for Cell Biology. vol. 1. The Interpretation of Ultrastructure. Edit. R. C. Harris</i>	157
<i>Marian Nowiński</i> — <i>Problemy biologiczne, wynikające z walki ze szkodnikami i chorobami</i>	159
<i>Wanda Byczkowska-Smyk</i> — <i>Proceedings of the Symposium on Cytochemical Progress in Electron Microscopy, Oxford 1962</i>	165

III

KRONIKA NAUKOWA

<i>Stanisław Brodzicki</i> — Występowanie substancji toksycznej w hemolimfie oparzonych raków <i>Orconectes virilus</i> i <i>Procambarus clarki</i> ; <i>K. Jakutowicz</i> — Związek między etiologią, fenomenem komórek LE i przeciwciałami antyjądrowymi w rozsianym lupus erythematosus: hipoteza	167
--	-----

IV

ZEBRANIA, ZJAZDY I KONFERENCJE NAUKOWE

<i>Bronisław Filipowicz</i> — I Krajowy Kongres Biochemii	171
<i>Wacław Gajewski</i> — I Ogólnopolskie Sympozjum Genetyczne	174

<i>Tadeusz Gorczyński</i> — XXXV Zjazd Polskiego Towarzystwa Botanicznego we Wrocławiu	175
<i>Maria Reymanówna</i> — Nadzwyczajne posiedzenie Krakowskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Botanicznego	181

V

MISCELLANEA

<i>K. Św.</i> — Nagrody wydziałowe w 1963 r.	183
<i>K. Św.</i> — Wymiana naukowa Wydziału II PAN z zagranicą w 1963 r. . . .	183
Książki nadesłane	188