

Polskie Towarzystwo Przyrodników
im. KOPERNIKA

KOSMOS

Seria A
BIOLOGIA



ROK XXIV

WARSZAWA 1975

ZESZYT 4 (135)

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

POLSKIE TOWARZYSTWO PRZYRODNIKÓW im. KOPERNIKA

ROK XXIV

Seria A BIOLOGIA

ZESZYT 4 (135)

K O S M O S

DWUMIESIĘCZNIK



WARSZAWA 1975

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

KOMITET REDAKCYJNY

prof. dr Tadeusz Gorczyński, prof. dr Kazimierz Petrusewicz,
prof. dr Adam Urbanek
redaktor naczelny: *prof. dr Włodzimierz Michajłow*
sekretarz: *mgr Jadwiga Kwiatkowska*

Adres redakcji: 00-901 Warszawa, Pałac Kultury i Nauki
(tel. 20-02-11, wewn. 2544)

Państwowe Wydawnictwo Naukowe — Warszawa, Miodowa 10

Nakład 1115+105. Ark. wyd. 9,25. ark. druk. 6,75

Papier druk. sat. kl. V, 70 g. 70×100

Oddano do składania 15.V.75 r. Podpisano do druku 29.IX.75 r.

Druk ukończono w październiku 1975

Zam. 379/75

B-74

Cena zł 15,—

Warszawska Drukarnia Naukowa, Warszawa, Śniadeckich 8

PRODUKCJA BIOMASY PRZY ZASTOSOWANIU PROCESÓW MIKROBIOLOGICZNYCH NA RÓŻNYCH SUBSTRATACH

WSTĘP

Problem wyżywienia jest jednym z najbardziej palących zagadnień naszych czasów. Niedobór żywności dla człowieka i paszy dla zwierząt narastać będzie w miarę przyrostu ludności. Do końca naszego stulecia podwoi się liczba mieszkańców naszego globu i trudno będzie zaspokoić potrzeby świata na niektóre podstawowe składniki żywienia. Obecna sytuację światową cechuje brak białek wysokiej jakości na pewnych terenach i niebezpieczeństwo wystąpienia globalnych braków białek w przyszłości. Coraz bardziej zwiększa się rozdział między zapotrzebowaniem na białko a jego produkcją. Jest mało prawdopodobne, aby klasyczne metody uprawy terenów oraz intensyfikacji hodowli umożliwiły usunięcie tego braku.

W przyszłości zatem mikrobiologiczne produkty będą mogły konkurować z konwencjonalną paszą w żywieniu zwierząt, a następnie z ludzkim pożywieniem. Zagadnienie wytwarzania produktów żywnościowych przy zastosowaniu niekonwencjonalnych metod interesowało badaczy od dłuższego czasu. Już przed 70 laty Emil Fischer roztoczył wizję restauracji przyszłości, do której żywność, dzięki rozwojowi przemysłu chemicznego, jest dostarczana ciągiem łączącym z kopalnią węgla. Te futurystyczne poglądy zostały w pewnej mierze zrealizowane dzięki opracowaniu procesów przemysłowych hodowania drobnoustrojów na węglowodorach. Istnieją możliwości zastosowania drobnoustrojów do produkcji biomasy w różnych zakątkach naszego globu, niezależnie od warunków klimatycznych. Te nowoczesne metody umożliwiają 50-krotne zwiększenie produkcji artykułów konsumpcyjnych w przeliczeniu na jednostkę powierzchni ziemi. Drobnoustroje stanowią bardzo zróżnicowaną grupę organizmów, które potrafią wykorzystywać różnorodne substraty. Co więcej stosunkowo łatwo można zmieniać różne cechy bakterii i grzybów stosując metody genetyczne. Wysoka zawartość białka w biomasie oraz intensywne przemiany metaboliczne drobnoustrojów stwarzają możliwość znacznie szybszego wytwarzania białka. Krowa wagi 500 kg odpowiednio karmiona daje w ciągu 24 godz. przyrost wagi równoważny 0,5 kg białka. Natomiast 500 kg drożdży, namnażanych w hodowli ciągłej, wytworzy 2500 kg masy w 24 godz. tj. 1250 kg białka. Produkcja przemysłowa zatem jest 2500 razy szybsza.

WŁAŚCIWOŚCI DROBNOUSTROJÓW UŻYWANYCH DO PRODUKCJI BIOMASY

Dobór drobnoustroju stosowanego do produkcji biomasy zależy od rodzaju substratu. Do najczęściej używanych bakterii należą: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Hydrogenomonas*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Methanomonas*, *Brevibacterium*, *Mycococcus*. Z drożdży stosowane są zazwyczaj *Candida*, *Rhodotorula* a z innych grzybów *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*. Wiele gatunków bakterii cechuje wysoka zawartość białka.

Tabela 1

Zawartość białka w biomase drobnoustrojów (wg Bunkera, 1963)

	% białka w suchej masie
<i>Lactobacillus fermentus</i>	87
<i>Alcaligenes viscosus</i>	84
<i>Escherichia coli</i>	82
<i>Bacillus subtilis</i>	63
<i>Streptomyces griseus</i>	57
<i>Lactobacillus casei</i>	47
<i>Bacillus megaterium</i>	39
<i>Rhodotorula rubra</i>	56
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	56
<i>Candida utilis</i>	53
<i>Candida arborea</i>	46
<i>Penicillium notatum</i>	38
<i>Rhizopus nigricans</i>	36
<i>Aspergillus niger</i>	33
<i>Aspergillus flavus</i>	19

Elastyczność genetyczna oraz duża różnorodność procesów metabolicznych stwarzają możliwość zastosowania drobnoustrojów do wytwarzania biomasy bogatej w białko, witaminy jak również składniki modyfikujące smak i zapach produktów spożywczych. Stosunkowo łatwo jest otrzymać w krótkim czasie mutanty bakterii za pomocą czynników chemicznych i fizycznych. Znane są metody skutecznej selekcji drobnoustrojów defektywnych pod względem syntezy, o zmienionej optymalnej temperaturze wzrostu, różniące się zdolnościami wykorzystywania substratu. Oprócz mutagenyzy i selekcji odpowiednich mutantów i form, w przypadku bakterii zachodzi możliwość dokonywania zmian genetycznych za pomocą koniugacji oraz transformacji z zastosowaniem wyosobnionego kwasu dezoksyrybonukleinowego. U wielu bakterii można wywoływać zmiany genetyczne przez transdukcję, czyli przeniesienie materiału genetycznego z jednego drobnoustroju na drugi za pomocą bakteriofagów. Ważną rolę w przenoszeniu materiału genetycznego i kontroli pewnych procesów metabolicznych odgrywają plazmidy.

Dosyć często mutanty grzybów mające dużą aktywność wykazują cechy, utrudniające ich wykorzystanie w produkcji, np. wydzielają barwnik, rosną powoli, prawie nie wytwarzają konidii. W takich przypadkach zamiast mutagenyzy używa się często heterokariony, diploidy

heterozygotyczne oraz ich rekombinanty do selekcji szczepów o odpowiednich cechach.

O tym, że niezwykle skutecznym narzędziem są metody mutacji oraz selekcji świadczy wzrost wydajności penicyliny przez *Penicillium*. O ile szczep *Penicillium*, stosowany do otrzymywania antybiotyku wytwarzał początkowo 100 jednostek antybiotyku na ml podłoża, to obecnie wydajność jego mutantów wzrosła do 30 000 j/ml. Zatem gdyby wydajność grzybka nie zwiększyła się, wówczas zamiast jednej wytwórni trzeba by wybudować jeszcze 299 takich zakładów, aby otrzymać odpowiednią ilość antybiotyku.

W mikrobiologii znane są przypadki 10 - 100-krotnego wzrostu wydajności, uzyskanych w wyniku selekcji odpowiednich mutantów. Brak jest oczywiście tak znacznego wzrostu wydajności przy selekcji mutantów roślin lub zwierząt.

W warunkach naturalnych nie spotyka się drobnoustrojów, wytwarzających większych ilości aminokwasu lizyny. Dzięki poznaniu mechanizmu biosyntezy lizyny u *Micrococcus glutamicus* oraz opracowaniu metod genetycznego blokowania różnych stadiów tej biosyntezy uzyskano wysokowydajne mutanty. Lizyna powstaje u *M. glutamicus* w wyniku przemian kwasu asparaginowego. Przy czym po powstaniu kwasu asparaginowego łańcuch biosyntezy rozwidła się na dwa, z których jeden prowadzi do syntezy lizyny, a drugi do syntezy homoseryny, treoniny i metioniny. Mutanty bakterii zablokowane w syntezie homoseryny, metioniny lub treoniny wytwarzały 30 g lizyny na litr podłoża, podczas gdy szczep wyjściowy syntetyzował jej 0,1 g/l. Tak zaczęto wytwarzać taniej lizynę dla przemysłu spożywczego i jako dodatku do karmy. Nadal jeszcze jednak znaczne koszty produkcji (10 - 20%) związane były z napowietrzaniem hodowli szczepu lizynotwórczego. Dla otrzymania szczepów bardziej ekonomicznie zużytkowujących tlen wyosobniono mutanty oddechowe drobnoustrojów. W ten sposób uzyskano mikroorganizmy wytwarzające dużo lizyny i wymagające mniejszego natlenienia podłoża.

Produkcja enzymów w komórkach bakterii jest regulowana. Wy różniamy dwa mechanizmy, kontrolujące syntezę białek enzymatycznych. Indukcję, czyli uruchamianie produkcji enzymów danego szeregu metabolicznego oraz represję, czyli zahamowanie produkcji enzymów. Mutacje genów operatorowych i regulatorowych mogą spowodować konstytutywne wytwarzanie enzymów. W przypadku operonu histydynowego mutanty takie wytwarzały 25 razy więcej enzymów biorących udział w syntezie histydyny.

SUBSTRATY WYKORZYSTYWANE DO PRODUKCJI BIOMASY

Drobnoustroje charakteryzuje stosunkowo krótki okres generacji. To szybkie tempo namnażania mikroorganizmów umożliwia otrzymanie w krótkim czasie znacznych ilości biomasy mikrobiologicznej.

Drobnoustroje można namnażać na różnych łatwo dostępnych substratach. Również produkty odpadowe przemysłu chemicznego, spożywczego i papierniczego mogą być zużytkowane do produkcji białka mikrobiologicznego. Do tych produktów należy zaliczyć substancje zanieczyszczające środowisko: ługi posulfitowe, odpady w wytwór-

niach przetworów owocowych, krochmalniach, melasę, serwatkę, uboczne produkty utleniania cykloheksanu przy produkcji poliamidu, gazy spalinowe.

Po ukazaniu się publikacji Champagnat i wsp. [9, 10] zwrócono uwagę na węglowodory ropy naftowej. Z węglowodorów często stosuje się olej gazowy. Zawiera on 10 - 25% węglowodorów parafinowych o prostych łańcuchach o długości C_{10} — C_{19} . Obok tego występują związki aromatyczne oraz izoparafiny, które nie są wykorzystywane w takim stopniu jak węglowodory o prostym łańcuchu. Należy podkreślić, że synteza biomasy komórkowej drobnoustrojów może być związana z istotnym procesem petrochemicznym odparafinowywania ropy naftowej. Dotychczas takie odparafinowywanie dokonuje się przy pomocy mocznika lub sit molekularnych.

Oczyszczone n-parafiny, zwane n-alkanami, używane są również do produkcji biomasy. Wydajność biomasy drożdży, hodowanych na węglowodorach, jest wysoka i dochodzi do 100% tzn. z tony oleju parafinowego można otrzymać tonę białkowo-witaminowego koncentratu, zawierającego 50% białka. Na podłożu z glukozą lub melasą wydajność sięga 50%.

Jeśli deficyt białka na świecie szacowany jest na 3 mln t rocznie, a w latach nieurodzaju na dużych obszarach kilkakrotnie wzrasta, wystarczyłoby zużyć 1 - 5% światowej produkcji ropy, aby zaspokoić niedobór białka.

Produkty zawierające dużo (5 - 10%) węglowodorów aromatycznych nie nadają się do użytkowania przez drobnoustroje.

Stałe węglowodory są również wykorzystywane przez bakterie. Stopień konwersji stałych węglowodorów do biomasy wynosił 40 - 100%, zależnie od użytego substratu. Dosyć powszechna jest zdolność drobnoustrojów do wykorzystywania łańcuchowych węglowodorów jako źródła energii i węgla. Liczne gatunki bakterii, należących do następujących rodzajów, wykorzystują węglowodory: *Achromobacter*, *Bacillus*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*. Z grzybów wysoką aktywność wykazują: *Candida*, *Torula*, *Hansenula*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Endomyces*.

Metan jest głównym składnikiem gazu naturalnego, gazu otrzymanego z węgla lub z oczyszczalni ścieków. Utleniany jest przez nieliczne metano-zależne drobnoustroje np. *Pseudomonas methanica*, *Methylococcus capsulatus*. Są to obligatywne drobnoustroje metanowe. Wykorzystują one metan jako źródło węgla i energii. Wyosobniono również zarodnikujące bakterie metanowe. Na szczególną uwagę w tej grupie zasługuje *Pseudomonas methanitricans* — drobnoustrój wiążący azot. Bakterie należące do wielu gatunków mogą wykorzystywać metan fakultatywnie.

Bardzo obiecujące, jako substraty dla produkcji biomasy, okazały się metanol i etanol. Otrzymywane są one przez katalityczne utlenianie węglowodorów. Alkohole te są wytwarzane w stanie czystym i w odróżnieniu od węglowodorów są łatwo rozpuszczalne w wodzie, wymagają mniejszego natlenienia.

Bakterie wodorowe utleniają wodór i energię z tego procesu wykorzystują do wiązania CO_2 . Drobnoustroje te wymagają prostych podłoży mineralnych. Jako źródło CO_2 mogą służyć gazy spalinowe. Są perspektywy szerszego zastosowania bakterii wodorowych do produk-

cji biomasy tam, gdzie jest tanie źródło molekularnego wodoru. Liczne doświadczenia nad bakteriami wodorowymi mają na celu zastosowanie ich do produkcji biomasy podczas lotów kosmicznych.

W wytwórniach koncentratów mikrobiologicznych stosuje się metodę ciągłej hodowli drobnoustrojów. Węglowodory są słabo rozpuszczalne w podłożu. Dlatego też dodaje się niekiedy związków powierzchniowo czynnych. Dla hodowli drobnoustrojów poza źródłem węgla konieczne są sole mineralne i źródło azotu zazwyczaj w postaci soli amonowych lub azotanów. Liczne gatunki drobnoustrojów wymagają dodatku związków organicznych. Odczyn podłoża dostosowuje się do wymagań drobnoustroju. Dla drożdży optymalne pH środowiska jest kwaśne (4,5 — 5,5), podczas gdy dla bakterii bliskie obojętnego. Temperatura inkubacji hodowli bakteryjnej jest zazwyczaj wyższa niż drożdży. Węglowodory nie zawierają tlenu i dlatego przy ich użyciu jako substratu konieczne jest silniejsze nawietrzanie (2,5 — 5x) w porównaniu z substratem węglowodanowym. Tlenowy wzrost drobnoustrojów jest procesem egzotermicznym i dlatego konieczne są urządzenia chłodzące.

Wyhodowaną biomasę drożdży lub bakterii odwirowywuje się, płucze lub zbiera na filtrach, a następnie suszy. Jeśli olej gazowy został użyty jako substrat, należy estrahować rozpuszczalnikami zaadsorbowane na komórkach pozostałości węglowodorów.

Zakażenia hodowli drożdży zdarzają się rzadko, ponieważ pH środowiska jest niskie i drożdże wykazują dużą dynamikę rozwoju. Natomiast w przypadku hodowli bakteryjnej należy zachować aseptyczne warunki. W Zakładach British Petroleum otrzymuje się biomasę na n-parafinach z zachowaniem warunków aseptycznych, podczas gdy na gazie olejowym nieaseptycznie.

Większość autorów jest zgodna co do tego, że pierwszymi produktami przemiany n-alkanów przez drobnoustroje są alkohole i kwasy organiczne. Powstające kwasy organiczne podlegają β -oksydacji i w postaci kwasu octowego włączane są do przemian cyklu kwasów trójkarboksylowych. Utlenianie lub asymilacja zależą od wielkości cząsteczki węglowodoru oraz jego struktury. *Candida lipolytica* utleniała n-alkany począwszy od heptanu, a zużytkowywała do syntezy składników komórkowych węglowodory zaczynając od nonanu. Izoalkany z grupą metylową w bocznym łańcuchu były wolniej utleniane od odpowiednich n-alkanów. Stosunkowo niewielka zmiana w łańcuchu bocznym wpływała na stopień wykorzystania węglowodoru.

Niektóre drobnoustroje, w tym bakterie z rodzaju *Mycobacterium*, *Nocardia* i *Pseudomonas*, utleniają węglowodory aromatyczne. Węglowodory pierścieniowe stanowią jednak substrat znacznie trudniej wykorzystywany przez drobnoustroje. Przemiana węglowodorów cyklicznych polega na rozerwaniu pierścienia i następnie rozszczepieniu powstałego łańcucha. Jest to proces złożony z wielu etapów.

SKŁAD CHEMICZNY I WARTOŚĆ ODŻYWCZA BIOMASY

Skład chemiczny biomasy zależy przede wszystkim od właściwości fizjologicznych drobnoustroju, podłoża i warunków hodowli. Równocześnie ze wzrostem szybkości namnażania drobnoustrojów zwiększa

Tabela 2

Zawartość niezbędnych aminokwasów (wg Champagnat i wsp. 1963)

	Mąka pszenna	Mięso wołowe	Mleko krowie	Suszone drożdże Torula	BP Koncen- trat białkowo- witaminowy	<i>C. lipolytica</i> * (olej gazowy)	Pseudo- monas** (metanol)
Leucyna	7,0	0,0	11,0	7,6	7,0	7,8	7,0
Izoleucyna	4,2	6,0	7,8	5,5	3,0	5,3	3,9
Walina	4,1	5,5	7,0	6,0	8,4	5,8	5,9
Treonina	2,7	5,0	4,7	5,4	9,1	5,4	4,5
Metionina	1,5	3,2	3,2	0,8	1,2	1,6	1,8
Cystyna	1,9	1,2	1,0	1,0	0,1	0,9	0,3
Lizyna	1,9	10,0	8,7	6,8	11,6	7,8	5,3
Fenylalanina	5,5	5,0	5,5	3,9	7,9	4,8	4,2
Tryptofan	0,8	1,4	1,5	1,6	1,2	1,3	—

* Wg Schachlady, 1969

** Wg Heggstream, 1969

się zawartość kwasu rybonukleinowego (RNA). Wykazano, że poziom białek i tłuszczów jest uzależniony od stosunku C:N w podłożu. Jeśli niska zawartość azotu ogranicza wzrost, nagromadza się wówczas duża ilość tłuszczu np. u *Rhodotorula* i *Nocardia* do 60-70%.

Drobnoustroje wykazują stosunkowo zrównoważony skład aminokwasów z wyjątkiem aminokwasów zawierających siarkę. Koncentrat białkowo-witaminowy firmy British Petroleum cechowała niska zawartość cystyny i metioniny zaś wysuszone drożdże wykazywały jedynie niedobór metioniny.

Drożdże i bakterie należą do organizmów zawierających stosunkowo dużo witamin z grupy B. Witaminy syntetyzują również grzyby. Wydajność *Eremothecium ashbyi* w wytwarzaniu witaminy B₂ jest bardzo wysoka, np. z 1 t marchwi można wydobyć 1 g witaminy B₂ a z tony wątroby dorsza, zaliczanej do najbogatszych źródeł tej witaminy otrzymuje się 6 g witaminy B₂. Natomiast *E. ashbyi* syntetyzuje w 1 t podłoża 25 kg witaminy B₂ czyli 25 000 razy więcej niż w marchwi (tabela 3).

Tabela 3

Witaminy rozpuszczalne w wodzie (wg Champagnat i wsp., 1963)

	Tiamina B ₁	Rybo- flawina B ₂	Kwas Nikoty- nowy PP	Kwas Panto- tenowy	Pirydo- ksyna B ₆	Koba- lamina B ₁₂
Dzienne zapotrzebowanie dla dorosłego	2	3	15	3	2	0,01
Mięso wołowe	1—3	2	40—100	7—21	1—4	
Wątroba wołowa	5—10	16	75—275	30—60	5	8
Mleko	0,3—0,7	1—3	1—5	1—4	1—3	
Suszone drożdże	2—20	30—60	200—500	30—200	40—50	
BP-Koncentrat białkowo-witaminowy	3—16	75	180—200	150—192	23	0,1

Określając wartość odżywczą preparatów mikrobiologicznych należy wziąć pod uwagę wysoką w nich zawartość związków azotowych niebiałkowych (kwasy nukleinowe, aminocukry, cholina). Nie wystarcza również oznaczenie składu aminokwasów białka. Przy ocenie wartości odżywczych preparatu należy przeprowadzić badania na zwierzętach doświadczalnych, żywiąc je białkiem mikrobiologicznym jako jedynym źródłem azotu. Określa się wzrost zwierząt doświadczalnych, efektywność karmy oraz ilość zasymilowanego azotu. Są pomyślne doniesienia o skarmianiu koncentratów mikrobiologicznych przez bydło i drób (5—10% karmy), świnię (10—20%), zwierzęta futerkowe i ryby (30—50%). Jeśli preparat ma być zużyty jako pożywienie dla ludzi należy po testach na zwierzętach przeprowadzić próby kliniczne na ludziach.

Pewne niebezpieczeństwo w spożyciu koncentratów mikrobiologicznych przez ludzi mogą stanowić kwasy nukleinowe, których zawartość jest wysoka i wynosi 8-25 g/100 g białka. Kwasy nukleinowe po spożyciu zostają rozłożone do zasad organicznych. Następnie zasady purynowe rozkładane są do kwasu moczowego. Kwas moczowy

jest słabo rozpuszczalny i przy dużym spożyciu kwasów nukleinowych, wzrasta jego stężenie w surowicy oraz moczu i może osadzać się w formie moczanów w tkankach i stawach dając objawy dny oraz tworzyć kamienie w nerkach i woreczku żółciowym. Takie niebezpieczeństwo nie istnieje u zwierząt, które wytwarzają enzym urikazę, utleniający kwas moczowy do rozpuszczalnej i łatwo wydalanej allantoiny.

Bezpieczna dzienna dawka kwasów nukleinowych dla człowieka wynosi 2 g czyli 10-20 g koncentratu białkowego dziennie. Możliwe jest usunięcie RNA z preparatów mikrobiologicznych przez działanie nukleazami, hydrolizę alkaliczną lub ograniczenie szybkości wzrostu drobnoustrojów. Na większą uwagę zasługuje metoda degradacji komórkowego RNA przez enzymy endogenne przy zastosowaniu trzy-stopniowego podgrzewania. W wyniku takiego zabiegu zawartość kwasów nukleinowych spadała z 7 do 1%.

W preparatach drożdży hodowanych na n-parafinach występuje niezbyt korzystny stosunek Ca:P ok. 0,01. Jest on o wiele niższy od proporcji występujących w większości środków spożywczych.

Zastosowanie drobnoustrojów jako źródła pożywienia dla ludzi jest również ograniczone ze względu na grubą ścianę komórkową, brak odpowiedniej konsystencji, niekiedy intensywny barwnik oraz nieprzyjemny smak i zapach. W przypadku biomasy drożdżowej stosowana jest dla poprawy wartości odżywczej i smaku autoliza lub plazmoliza drożdży. Enzymatyczny rozkład ściany komórkowej drobnoustrojów, jak również mechaniczne rozrywanie nie znalazły jeszcze szerszego zastosowania. Czynione są próby zmiany pastowatej konsystencji białka mikrobiologicznego we włóknistą formę.

Niektóre z tych metod przetwarzania białek mikrobiologicznych powodują znaczne straty w zawartości białka lub są kosztowne i nie mogą w obecnej chwili znaleźć praktycznego zastosowania.

Nie zawsze doświadczenia nabyte podczas karmienia zwierząt mogą być przeniesione bezpośrednio na ludzi. W karmie dla zwierząt braki metioniny w biomacie mikrobiologicznej mogą być uzupełnione przez dodanie tego aminokwasu. Natomiast metionina dodana do żywności wywołuje ujemne efekty u ludzi. Również ostry smak metioniny ogranicza jej zużycie przez człowieka.

Nie wiemy jeszcze, jaki może mieć wpływ na organizm ludzki długotrwałe przyjmowanie antygenów bakterii, ich ścian, steroidów, lipidów, pigmentów czy węglowodanów, zawartych w koncentratkach mikrobiologicznych. W niektórych preparatach handlowych drożdży stwierdzono stosunkowo znaczne ilości histaminy, tyraminy, które prawdopodobnie powstały wskutek dekarboksylacji histydyny i tyrozyny w wyniku zakażenia hodowli bakteriami. Czasami stwierdza się obecność mykotoksyny.

Ocena przydatności wartości odżywczej oraz nieszkodliwości nowego produktu spożywczego wymaga długotrwałych, wielostronnych i kosztownych badań zanim produkt może zostać zatwierdzony do powszechnego spożycia. Grupa ekspertów Protein Advisory Group Narodów Zjednoczonych opracowała wskazania dla tego rodzaju badań.

Zastosowanie preparatów mikrobiologicznych napotykało nieraz na przeszkody. Przy przyjmowaniu pożywienia przez ludzi dużą rolę odgrywa zapach, kolor, smak, konsystencja no i przyzwyczajenia. Pod-

czas II Wojny Światowej opracowano w Wielkiej Brytanii metodę produkcji drożdży pokarmowych (*Candida utilis*) z melasy. Produkt miał przyjemny smak, przypominający nieco smak mięsa przypieczonego. Próby wypadły na tyle pomyślnie, że po wojnie wybudowano na Trynidadzie fabrykę mającą produkować drożdże dla spożycia. Akcja ta nie dała jednak spodziewanych wyników, ponieważ zdecydowały ludzkie przyzwyczajenia. Rozpowszechnienie spożycia drożdży natrafiło na duży opór nawet głodującej ludności Azji i Afryki.

Aby uniknąć oporów natury psychicznej nazwano białko mikrobiologiczne — „jednokomórkowym białkiem” (Single cell protein).

Przez stosowanie mieszanek złożonych z konwencjonalnych produktów z preparatami mikrobiologicznymi nieprzyjemny smak biomasy mikrobiologicznej staje się niewyczuwalny.

PRODUKCJA BIOMASY MIKROBIOLOGICZNEJ

Możliwość zastosowania biomasy mikrobiologicznej jako białkowej karmy dla zwierząt oraz pożywienia dla ludzi wzbudziła duże zainteresowanie w wielu krajach. W laboratoriach licznych firm petrochemicznych bada się możliwości wykorzystania węglowodorów do wytwarzania biomasy np. w Gulf Oil, Chevron Research i Sun Oil. Esso Research (USA) wspólnie z Nestle Alimentana (Pd. Afryka) opracowują metody produkcji żywności przy zastosowaniu bakterii (*Micrococcus cerificans*) i drożdży na n-parafinach i etanolu. Jedna z wytwórni petrochemicznych przeznaczyła 30 mln dolarów na badania w tej dziedzinie.

W kilku krajach wytwarza się już koncentraty mikrobiologiczne. We Francji Zakłady BP — Lavera, wytwarzają 16 500 t preparatu rocznie na oleju gazowym. W Japonii działa lub będzie produkować w najbliższym czasie kilka wytwórni. Na uwagę zasługują Zakłady Rai Nippon (120 000 t), Kanegafuchi Chemical (60 000 t), Kyowa Hakko Kogyo oraz Mitsubishi. Na Tajwanie czynna jest wytwórnia z fermentatorem na 50 000 l. W Indiach wytwarza się 350 t rocznie biomasy a w Szkocji 4000 ton. Wytwórnia Ranks Movis Mc-Dougall w Anglii ma wytwarzać biomasę grzybów (15 000 t) na odpadach skrobiowych.

Niezwykłe szeroki rozmach znalazły te zagadnienia w Związku Radzieckim, gdzie stworzono specjalny Instytut. W dyrektywach XXIII Zjazdu KPZR uwzględniono wytwarzanie z surowca naftowego koncentratów białkowo-witaminowych z docelową produkcją około miliona ton.

W Czechosłowacji i na Węgrzech prowadzi się intensywne badania nad drobnoustrojami i substratami mogącymi mieć zastosowanie do produkcji biomasy.

Bakterie hodowane na metanie lub metanolu są przedmiotem badań w wielu ośrodkach. W Anglii pracuje wytwórnia, w której metan stosowany jest jako substrat dla namnażania bakterii (1000 t). Nawet w Stanach Zjednoczonych posiadających bogate złoża gazu naturalnego oraz ropy naftowej, zwraca się uwagę na wykorzystanie metanu otrzymanego w wyniku gazyfikacji węgla. Prognozy wskazują na budowę w USA (1974 — 1985) ponad 20 dużych zakładów gazyfikacji

węgla. Zapotrzebowanie na preparaty mikrobiologiczne będzie stale wzrastać. Według przybliżonych szacunków Japonia będzie potrzebowała w 1978 r. 1,4 mln t białka, wyprodukowanego na substracie naftowym.

UDZIAŁ DROBNOUSTROJÓW WIĄŻĄCYCH AZOT W PRODUKCJI BIAŁKA

Zastosowanie węglowodorów jako substratu do produkcji biomasy ograniczone jest określonymi zasobami ropy naftowej i gazu naturalnego. Również ilości innych substratów, które są produktami ubocznymi są ograniczone.

Zastanawiając się nad problemem deficytu białka trudno jest pominąć ostatnie badania nad bakteriami wiążącymi azot. Drobnoustroje te odgrywają istotną rolę we wzbogacaniu gleby w związki azotowe oraz roślin motylkowych w białko. W powietrzu znajdują się duże zasoby azotu, które wykorzystują niektóre bakterie oraz sinice. Mimo intensywnego rozwoju produkcji nawozów sztucznych drobnoustroje nadal wiążą kilkakrotnie razy więcej azotu od ilości azotu wprowadzanego w postaci nawozów azotowych. Słup powietrza, nad każdym hektarem ziemi zawiera 80 000 t N. Czyli do produkcji nawozów azotowych wykorzystujemy rocznie w Polsce azot znad powierzchni kilkunastu hektarów. Biorąc pod uwagę ilości wiążanego azotu, na szczególną uwagę zasługują bakterie brodawkowe, wiążące azot na drodze symbiozy z roślinami motylkowymi. Aby zwiększyć plony roślin motylkowych, stosuje się w niektórych krajach, również i w Polsce, szczepionki bakterii brodawkowych. Dzięki lepszemu poznaniu niektórych etapów wiązania azotu oraz zastosowaniu nowoczesnych metod genetyki i biologii molekularnej jest możliwe uzyskanie szczepów bakterii brodawkowych intensywniej wiążących azot na drodze symbiozy z rośliną motylkową. Wzrost plonów roślin motylkowych zwiększyłby nie tylko ilość karmy dla zwierząt. Mogłoby to mieć również bezpośrednie znaczenie dla człowieka, jeśli się uwzględni ostatnie doniesienia o opracowaniu przez amerykańskich badaczy metod preparowania białka z lucerny, odpowiedniego do spożycia przez ludzi. Nawet większe nadzieje wiąże się z białkiem lucerny niż soi.

Badania prowadzone w kilku ośrodkach, w tym również i w Polsce zmierzały do bliższego poznania genów, kontrolujących proces wiązania azotu (nif). Na szczególną uwagę zasługują prace, w wyniku których udało się ostatnio przenieść geny nif do bakterii odległych pod względem systematycznym, nie wiążących azotu. W tym samym czasie wykazano, że bakteryjny kwas dezoksyrybonukleinowy może utrzymywać się i transkrybować w komórkach roślinnych. Stwierdzono, że niektóre geny bakteryjne mogą nawet wyrażać się fenotypowo w całych komórkach roślinnych przez kilka generacji. Nie jest zatem wykluczone, że uda się przekazać geny warunkujące wiązanie azotu z bakterii do roślin. Otrzymanie roślin z systemem genetycznym wiązania azotu umożliwiłoby hodowlę roślin, dających wysokie plony bez stosowania nawozów azotowych.

Cel ten może być osiągnięty, a jego znaczenie trudno jest przecenić.

KOŃCOWE UWAGI I WNIOSKI

Biomasę mikrobiologiczną wytwarza się w kilku krajach na większą skalę. Powszechnie używanymi substratami dla hodowli drobnoustrojów są węglowodory. Wzrost cen ropy naftowej na rynkach światowych zmienił warunki ekonomiczne produkcji białka mikrobiologicznego. Z drugiej jednak strony wzrosły ceny mączki rybnej, soi oraz innych pasz białkowych.

Polska należy do krajów odczuwających stały brak pasz białkowych. Deficyt ten w latach 1960—1969 wahał się w granicach 700—160 tys. t białka. W ostatnich latach, w związku z intensywnym rozwojem hodowli zwierząt, niedobór białka w naszym kraju zaostrzył się. W najbliższym czasie zaistnieje zatem konieczność zastosowania intensywnych metod wytwarzania białka w Polsce. Zanim przystąpimy u nas do budowy wytwórni biomasy mikrobiologicznej, należałoby stworzyć odpowiednie zaplecze naukowe. Optymalnym rozwiązaniem byłoby utworzenie takiej grupy badawczej w obrębie planowanego Instytutu Mikrobiologii. Gdyby jednak zachodziła obawa, że powołanie Instytutu Mikrobiologii może ulec opóźnieniu, uważam, że należałoby powołać Stację Doświadczalną Biosyntezy Białka, w której dzięki udziałowi zdolnych specjalistów w dziedzinie mikrobiologii, biochemii i genetyki można będzie podjąć badania w najważniejszych dziedzinach produkcji biomasy mikrobiologicznej na metanie (z gazyfikacji węgla) oraz innych surowcach dostępnych w naszym kraju (np. ługi posulfitowe, odpady skrobiowe, melasa). Badania te winny koncentrować się na izolowaniu drobnoustrojów, wykorzystujących odpowiedni substrat, badaniu ich metabolizmu, otrzymywaniu mutantów o odpowiednich cechach dla produkcji, przygotowywaniu szczepów oraz opracowywaniu warunków odpowiednich dla wytwarzania biomasy.

Podczas gdy nie mamy większego dorobku w dziedzinie produkcji biomasy, to w badaniach nad bakteriami, wiążącymi azot dorobek naszych uczonych jest dosyć znaczny i cenny. Wydaje się pilną koniecznością zabezpieczenie dalszego rozwoju Zakładu Mikrobiologii Uniw. M. Curie-Skłodowskiej, zajmującego się zagadnieniami genetyki wiązania azotu przez drobnoustroje.

Zadaniem tego ośrodka winny być dalsze badania nad procesem wiązania azotu, ze szczególnym uwzględnieniem roli genów warunkujących proces wiązania azotu. Badania te winny zmierzać w przyszłości do uzyskania roślin z wbudowanymi genami, kontrolującymi wiązanie azotu.

LITERATURA

- [1] Alikhanian S. I. — *Selekcja Promyszlennych Mikroorganizmów*. Izd. Nauka, Moskwa, 1968.
- [2] Alikhanian S. I. — *Geneticzeskije Osnowy Selekcji Mikroorganizmów*. Izd. Nauka, Moskwa, 1969.
- [3] Amin P. M., Nigam J. N., Lonsane B. K., Baruah B., Singh H. D., Baruah J. N., Iyengar M. S. — *Microbial Biomass Production on Solid Hydrocarbons*. *Folia Microbiologica*, 18, 49, 1973.

- [4] Barna P. K., Bhagat S. O., Pillai K. R., Singh H. D., Barnah J. N., Iyengar M. S. — *Comparative Utilization of Paraffins by a Trichosporan Species*. Appl. Microbiology, 20, 657, 1970.
- [5] Blanch W., Einsele A. — *The Kinetics of Yeast Growth on Pure Hydrocarbons*. Biotechnol. Bioeng., 15, 861, 1973.
- [6] Borisenko E. G. — *Izgotowienie Pitatielnych Sred iz Biomasy Uglewododorodokisljajuszczich Mikroorganizmow*. Prikl. Biochim. Mikrobiol. 3, 221, 1967.
- [7] Bukin V. N., Kycewa L. C., Bazdyriewa N. M. — *Mikrobiologiczeskij Sposob Poluczenia Lizina*, w „Lizin — Poluczenie i Primienienie w Zivotnowodstwie”. Izd. Nauka. 8, 1973.
- [8] Bunker H. J. — *Microbial Food*, w „Biochemistry of Industrial Microorganisms”. Rainbow, C., Rose, A. H., Academic Press. 34, 1963.
- [9] Champagnat A., Llewelyn D. A. B. — *Protein from Petroleum*. New Scientist. 16, 612, 1962.
- [10] Champagnat A., Vernet C., Laine B., Filosa J. — *Biosynthesis of Protein-Vitamin Concentrates from Petroleum*. Nature, 197, 13, 1963.
- [11] Crawford D. L., McCoy E., Havkin J. N., Jones P. — *Production of Microbial Protein from Waste Cellulose of Thermomonospora fusca, a Thermophilic Actinomycete*. Biotechnol. Bioeng., 15, 833, 1973.
- [12] Czepigo S. W., Bojko I. D., Gołobobow A. D., Kriuczukowa A. P., Worobiewa G. I., Kozkova M. I., Fiszer P. N., Pokrowskij W. K., Korotczenko N. I. — *Poluczenie Kormowych Drozdziej iz Uglewododorodow Niefty*. Prikl. Biochim. Mikrobiol. 3, 557, 1967.
- [13] Czepigo S. W., Gradowa N. B., Michalewa W. W., Kozłowa L. I., Popowa T. E., Nieszczadin A. G., Szkop J. J., Fiedorowicz R. M. — *Izpolzowanie Bakterii kak Producentow Bielka w Proiswodstwie na Osnowie Uglewododorodow*. Prikl. Biochim. Mikrobiol. 40, 181, 1974.
- [14] Dagley S. — *Catabolism of Aromatic Compounds by Micro-Organisms*. W „Advances in Microbial Physiology” Ed. Rose, A. H., Wilkinson, J. F., Academic Press, London. 6, 1, 1971.
- [15] Damberg B. E. — *Soderzhanie Dostupnowo Lizina w Niekatorych Drozdzach poslie ich Tierniczeskowo Obezwozhiwania*. W „Lizin — Poluczenie i Primienienie w Zivotnowodstwie”. Izd. Nauka, Moskwa, 18, 1973.
- [16] Darlington W. A. — *Aerobic Hydrocarbon Fermentation — a Practical Evaluation*. Biotechnol. Bioeng., 6, 241, 1964.
- [17] Davis J. D., Coty V. F., Stanley J. P. — *Atmospheric Nitrogen Fixation by Methane Oxidizing Bacteria*. J. Bacteriol., 88, 468, 1964.
- [18] Demidowa T. A., Garbalinskij W. A., Ruban E. L. — *Potrieblenie Mikroorganizmami n-Alkanow i Nieftianych Aromaticzeskich Uglewododorodow*. Prikl. Biochim. Mikrobiol. 9, 19, 1973.
- [19] Demidowa T. W., Sidko F. J., Jeroszin N. C., Zacharowa W. A. — *Razdielnoje Opriedielenie Parafina i Drozdziej w Kulturalnom Sredie*. Prikl. Biochim. Mikrobiol. 5, 612, 1969.
- [20] Dixon R. A., Postgate J. R. — *Genetic Transfer of Nitrogen Fixation from Klebsiella pneumoniae to Escherichia coli*. Nature, 237, 102, 1972.
- [21] Dixon R. A., Cannon F. C. — *Recent Advances in the Genetics of Nitrogen Fixation*. IBP International Synthesis Meeting. Nitrogen Fixation and the Biosphere. Cambridge University Press (w druku).
- [22] Foster J. W., Davis R. H. — *A Methane-Dependent Coccus, with Notes on Classification and Nomenclature of Obligate, Methane-Utilizing Bacteria*. J. Bacteriol., 91, 1924, 1966.

- [23] Gajewski W. — *Genetyka Ogólna i Molekularna*. PWN, Warszawa, 1972.
- [24] Gledhill W. E., Hill I. D., Hodsden P. H. — *Citrate Production from Hydrocarbons by Use of a Nonsterile, Semicontinuous Cell Recycle System*. Biotechnol. Bioeng. 15, 963, 1973.
- [25] Gray W. D. — *Microbial Protein for the Space Age*. w "Developments in Industrial Microbiology", 5, 63, 1962.
- [26] Grigoriowa C. P., Worobiewa G. I., Wysłouch B. A., Maksimowa G. N., Kułajew I. S. — *Izuczenie Polifosfatow, Polisacharidow i Nukleinowych Kislot w Kлетkach Candida guilliermondii, Assimilirujuszczich Uglewodorody Niefty pri Raznych Ustowiach Kultiwirowania*. Prikl. Biochim. Mikrobiol. 9, 805, 1973.
- [27] Holsten R. D., Burns R. C., Hardy R. W. F., Herbert R. R. — *Establishment of Symbiosis between Rhizobium and Plant Cells in vitro*. Nature, 232, 173, 1971.
- [28] Ilczuk Z. — *Mikrobiologiczna synteza białka i węglowodorów ropy naftowej*. Kosmos, 17, 327, 1968.
- [29] Katinger H. W. P. — *Influence of Interfacial Area and Nonutilizable Hydrocarbons on Growth Kinetics of Candida sp. in Hydrocarbon Fermentations*. w "Advances in Microbial Engineering." Part 1. Ed. Sikyta, B., Prokop, A., Novak, M., Biotechnology and Bioengineering Symposium. No 4 Publ. John Wiley, N. J. 485, 1973.
- [30] Kersten D. K. — *Sostaw Kletok Mikobakterii is Polzujuszczich Oktadekan*. Prikl. Biochim. Mikrobiol. 3, 635, 1967.
- [31] Kihlberg R. — *The Microbe as a Source of Food*. Annual Review of Microbiology 26, 427, 1972.
- [32] Kowalski M. — *Transducing Phages of Rhizobium meliloti*. Acta Microbiol. Polon. Ser. A, 2, 109, 1970.
- [32] Krumphanzl V., Gregor V., Pelechova J., Uher J. — *Biomass and Fat Production in Rhodotorula gracilis*. w "Advances in Microbial Engineering". Part. 1. Ed. Sikyta, B., Prokop, A., Novak, M., Biotechnology and Bioengineering Symposium. No 4. Publ. John Wiley. N. Y. 245, 1973.
- [33] Lorkiewicz Z., Żurkowski W., Kowalczyk E., Górskamelke A. — *Mutagenesis and Conjugation in Rhizobium trifolii*. Acta Microbiol. Polon. Ser. A, 3, 101, 1971.
- [34] Marr E. A., Stone R. W. — *Bacterial Oxidation of Benzene*. J. Bacteriol. 81, 425, 1961.
- [35] Maul S. B., Sinskey A. J., Tannenbaum S. R. — *New Process for Reducing the Nucleic Acid Content of Yeast*. Nature, 228, 181, 1970.
- [36] Michalewa W. W., Garbalinski W. A., Botnikowa T. A., Karnaz G. W., Mielnik R. A. — *Potrieblenie Drożdżami Candida guilliermondii n-Parafinow s Raznym Molekuliarnym Wiesom*. Prikl. Biochim. Mikrobiol., 10, 35, 1974.
- [37] Munk V., Volfova O., Dostalek M., Mostecký J., Pecka K. — *Cultivation of the Yeast Candida lipolytica on Hydrocarbon. III. Oxidation and Utilization of Individual Pure Hydrocarbons*. Folia Microbiologica, 14, 334, 1969.
- [38] Pelechova J., Krumphanzl V., Uher J., Dyr J. — *Assimilation of Hydrocarbons. I. Proportion of Fatty Acids in the Cell Fat*. Folia Microbiologica, 16, 103, 1971.
- [39] Peppler H. J. — *Food and Feed Yeasts*. Microbial Technology, 157, 1967.

- [40] Pilat P., Prokop A., Volfova O., Panoś J., Ragab A. M. — *The Substrate Specificity of Two Yeast Strains Utilizing Hydrocarbons*. Folia Microbiologica, 19, 118, 1974.
- [41] Percowskaja A. F., Jeroszin W. K. — *Obrazowanie Witamina B₁₂ Parafinookisłajuszczymi Mikobakteriami*. Prikl. Biochim. Mikrobiol., 3, 50, 1967.
- [42] Pomorcewa N. W., Kustowa N. A., Machotkina T. A. — *Kultiwowanie Candida tropicalis Sztamm IBFM-303 na Sredie s n-Parafinami*. Prikl. Biochim. Mikrobiol., 5, 26, 1969.
- [43] Popowa T. E. — *Sintez Witaminow Gruppy B Sztammami Drożdżej Roda Candida pri Wyraszcziwani na n-Alkanach*. Prikl. Biochim. Mikrobiol., 4, 103, 1968.
- [44] Prokop A., Stros F. — *On the Evaluation of Productivity in Hydrocarbon Fermentation*. Folia Microbiologica, 19, 38, 1974.
- [45] Prokop A., Sobotka M., Panos J., Pecka K. — *Batch Kinetics and Oxygen Consumption of Candida lipolytica 4-1 on n-Alkanes*. Folia Microbiologica, 19, 125, 1974.
- [46] Raymond R. L. — *Microbial Oxidation of n-Paraffinic Hydrocarbons*. w "Developments in Industrial Microbiology", 2, 23, 1961.
- [47] Scheda R., Ros P. — *Hydrocarbons as Substrates for Yeasts*. Nature, 211, 660, 1966.
- [48] Schlegel H. G., Claus D., Lafferty R. M. — *Mikroorganismen im Dienste der menschlichen Ernährung*. Zbl. Bakt. II Abt. Orig., 212, 303, 1970.
- [49] Simek F., Szechenyi-Martón E., Borbiri-Bednar G. — *The Role of Nitrogen and Phosphorus in Protein Synthesis by Candida guilliermondii Cultivated on n-Alkanes*. w "Advances in Microbial Engineering". Part 1., Ed. Sikyta B., Prokop A., Novak M., Biotechnology and Bioengineering Symposium. No 4. Publ. John Wiley, N. Y., 155, 1973.
- [50] Skriabin G. K., Gołowlewa L. A. — *Mikrobiologiczeskaja Transformacja Organiczeskich Sojedinieni w Sookislitielnych Usłowiach*. Izw. Ak Nauk. Ser. Biol. 232, 1972.
- [51] Spicyna D. N., Dawidowa E. G., Gradowa N. B., Konowałow C. A. — *Assimilacja Uglewodorodow Baktierialnymi Kulturami Mycoccus species*. Prikl. Biochim. Mikrobiol., 10, 187, 1974.
- [52] Whitworth D. A., Moo-Young M., Viswanatha T. — *Hydrocarbon Fermentations: Oxidation Mechanism and Nonionic-Surfactant Effects in a Culture of Candida lipolytica*. Biotechnol. Bioeng., 15, 649, 1973.
- [53] Wolnak B., Andreen B. H., Chisholm J. A., Saadek M. — *Fermentation of Methane*. Biotechnol. Bioeng., 9, 57, 1967.
- [54] Woodbine M. — *Microbial Fat: Microorganisms as Potential Fat Producers*. w "Progress in Industrial Microbiology", 1, 181, 1959.
- [55] Zajic J. E., Volesky B. — *Continuous Production of Fungal Protein from Baseous Hydrocarbons*. Int. Congr. Microbiol. 10th, Mexico, 1970.

WYROŚLA (*CECIDIA*)—NATURALNY PRZYKŁAD "INŻYNIERII GENETYCZNEJ"

„Le crown-gall: modele experimental pour l'application du mecanisme de regulation quantitative des phenomenes genetiques a l'evenement neoplasi-que”.

E. Guillé

Istotnie, wyrośla w ogóle, a wywołane przez owady w szczególności, są jaskrawym przykładem wymuszonej, sztucznej morfogenezy, po uprzednim pobudzeniu tkanek do proliferacji. Świadczą o tym dobitnie trzy okoliczności [32, 42, 47, 52, 57, 70]:

- 1) wyrośla różnych pasożytów na tej samej roślinie posiadają krańcowo różną postać;
- 2) wyrośla tego samego pasożyta na różnych roślinach¹ mają kształty zbliżone;
- 3) budowa wewnętrzna wyrosli jest we wszystkich szczegółach dostosowana do potrzeb życiowych pasożyta.

Jest to więc ewidentny przykład „inżynierii biologicznej”, sztucznego sterowania rozwojem rośliny w kierunku dla niej nienaturalnym, lecz pożądanym dla pasożyta.

Chęć rozszyfrowania mechanizmu za pomocą którego udaje się osiągnąć tak fenomenalny efekt, od dawien dawna skłaniała nie tylko botaników i zoologów, lecz i specjalistów z wielu innych dziedzin do nieustających, intensywnych badań nad wyroślami.

Jednakże właściwe podejście do rozwiązania tego problemu zaczęło się zarysowywać dopiero w latach 1960, kiedy to udało się powiązać zjawiska cecidiogenezy z funkcjonowaniem aparatu genetycznego komórek roślinnych, w oparciu o model Jacoba i Monoda [4, 22, 23, 24, 39, 59, 65].

Wybiegając nieco naprzód można powiedzieć, że na obecnym etapie badań przyjmuje się dwa schematy cecidiogenezy [23, 57, 65]:

- 1) genetyczno-molekularny (infekcyjny) dla phytocecidów,
- 2) metaboliczny (nieinfekcyjny) dla zoocecidów.

¹ W rzadkich wypadkach polifagiczności pasożyta.

PRZEGLĄD SYSTEMATYCZNY WYROŚLI

Zarówno liczebność jak i wielopostaciowość morfologiczna tumorów roślinnych jest oszałamiająca. Wystarczy nadmienić, że samych tylko galasów owadzych i pajęczakowych naliczono (wg źródeł radzieckich) we wszystkich częściach świata ok. 15 000, z czego w Europie występuje ponad 3 000. Cały ten różnorodny materiał da się usystematyzować [32, 37, 42, 47, 50, 62, 70, 72] w zależności od etiologii, tj. czynników wywoławczych narośli, w trzy zasadnicze grupy (tab. 1):

- I — phytocecidia (wywołane przez pasożyty ze świata roślinnego),
- II — zoocecidia (wywołane przez pasożyty ze świata zwierzęcego),
- III — cecidia spontanea (powstające samorzutnie, bez udziału pasożytów).

Bardziej szczegółowy podział wyróżnia 9 dalszych podgrup: wyrośla wirusowe, bakteryjno-fagowe, grzybicze, pierwotniacze, robacze, owadzie, pajęczakowe, genetyczne i samorzutne (o nieznanej etiologii). Jako 10 podgrupę można by dołączyć narośla sztuczne (eksperymentalne).

W odróżnieniu od onkologii medycznej — w cecidiologii roślinnej przyczyny wywołujące tumory są z reguły znane (ściśle: w 8 przypadkach na 9, tab. 1).

Co się tyczy mechanizmu neoplazji — to można uznać go za rozszefowany dla 4 na 9 grup wyrośli, a mianowicie dla galasów wirusowych, bakteryjno-fagowych, stawonogowych i genetycznych (tab. 1). W pozostałych wypadkach opieramy się na razie na domysłach.

Generalnie biorąc, jak już nadmieniono, zarysowują się dwa modele czy warianty cecidiogenezy:

- 1) infekcyjny, molekularno-genetyczny,
- 2) nieinfekcyjny, metaboliczny, które zostaną poniżej omówione bardziej szczegółowo.

MECHANIZM ROZWOJU PHYTOCECIDIÓW

W zasadzie, za wystarczająco wyjaśniony można uznać na razie mechanizm powstawania wyrośli bakteryjno-fagowych (tzw. crown-gall) i wirusowych; co do innych rodzajów phytocecidów istnieją bardzo prawdopodobne, jednak nie poparte dostatecznymi dowodami przypuszczenia (tab. 1).

W skrócie mechanizm ten przedstawia rys. 1 [4, 11, 22, 23, 24, 36, 38, 39, 40, 45, 51, 59, 60, 61, 64, 65, 66, 67, 74].

Same bakterie i ich fagi nie wnikają do komórek roślinnych, pozostając zawsze w przestrzeniach międzykomórkowych. Natomiast wprowadzają one do komórek część swojej chromatyny (bakterie ok. 1/5, zaś bakteriofagi całą ilość), tj. łańcuchy DNA o zawartości 2000—6000 nukleotydów. Jest to materiał genetyczny niosący informację równoważną zaledwie kilku genom, a jednak zdolny do gruntownej zmiany przebiegu różnicowania się tkanek roślinnych, pomimo że roślina przedstawia intruzom ok. 30000 własnych genów. Widocznie drobnoustrojowe odcinki DNA włączają się do chromosomów roślinnych nie w miejscach przypadkowych, lecz w tzw. wg wyrażenia Guillé „les zones

Tabela 1

Podział systematyczny i sposób powstawania cecydów (wyrośli)

Rodzaje wyrośli		Organizmy (czynniki) wywołujące	Znany lub przypuszczalny mechanizm rozwoju narośli
Phytocecidia	wirusowe	onkogenne wirusy: np. WTV, PEMV, CWEV, BCTV i in.	penetracja aparatu genetycznego rośliny
	bakteryjno-fagowe	Liczne szczepy <i>Agrobacterium tumefaciens</i> i jego fagi, <i>Agrobacterium rhizogenes</i> , <i>Rhizobium leguminosarum</i> , <i>Agrobacterium rubi</i> i in.	przez DNA i RNA drobnoustrojów (hybrydyzacja DNA roślinnego i bakteryjnego względnie fagowego i wirusowego).
	grzybicze	pasożytnicze grzyby, np. <i>Nectria galligena</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Synchytrium endobioticum</i> , <i>Urophlyctes alfaalfae</i> , <i>Ustilago treubii</i> , <i>Gymnospermum juniperi</i> , <i>Exobasidium rhododendri</i> , <i>Taphrina</i> sp., <i>Melampsorella</i> sp. i in.	bliżej nie oznaczone substancje toksyczne wydzielane przez grzyby, ewent. wtórna infekcja wirusowa?
Zoocecidia	pierwotniacze	np.: <i>Plasmodiophora brassicae</i>	wtórna infekcja bakteryjno-wirusowa?
	robacze	nicienie (mątwiki): <i>Meloidogyne</i> sp. <i>Heterodera</i> sp. wrotki: <i>Notomota wernecki</i>	wtórna infekcja grzybicza ewent. bakteryjno-wirusowa?
	owadzie	niemal wszystkie rzędy owadów: błonkówki, muchówki, mszyce, chrząszcze, motyle, pluskwiaki itd.	sterowanie przez pasożyta (za pomocą ekskretów) metabolizmem i reakcjami wzrostowo-morfogenetycznymi rośliny.
	pajęczakowe	Liczne roztocza (<i>Acarina</i>)	
<i>Cecidia spontanea</i>	genetyczne	„obciążenie dziedziczne”	recesywne geny chromosomowe, ujawniające się w krzyżówkach międzyodmianowych
	samoistne	przyczyna nieznana	w czystych liniach, bez udziału pasożytów i podłoża dziedzicznego

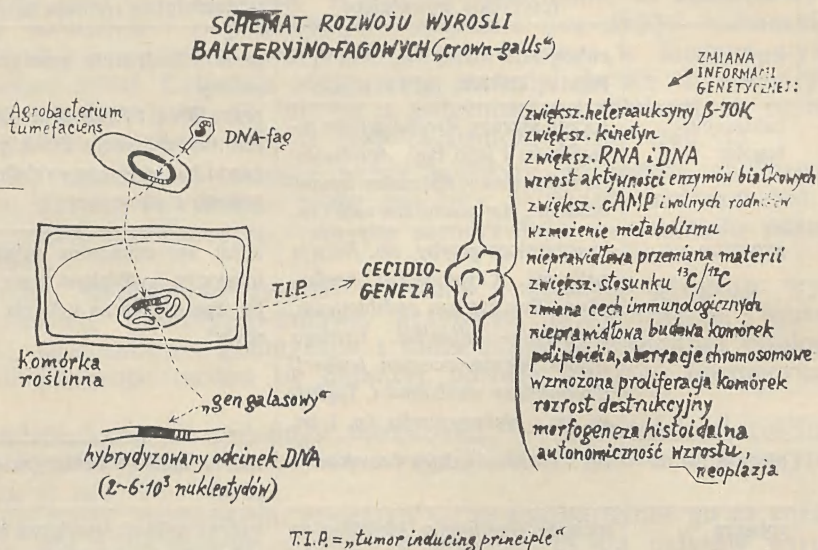
de commande” tj. w punktach wpływających na całość pracy aparatu genetycznego.

DNA faga nie jest zdolna do samodzielnego sforsowania błony komórkowej rośliny, toteż najpierw przyłącza się do chromatyny bakteryjnej i dopiero na tym nośniku wnika do komórki roślinnej.

Z chwilą trwałego wmontowania się obcopolochodnej DNA do chromosomów rośliny nabiera ona charakteru „genów galasowych” (określenie Boppa), które sterują dalszym rozwojem narośli, produkując własną komplementarną RNA i odpowiednie enzymy.

Warto wiedzieć (z punktu widzenia profilaktyki względnie terapii), że to przenikanie i usadawianie się drobnoustrojowej DNA w komórkach żywiciela trwa średnio 4 dni. W tym czasie można jeszcze niszczyć bakterie bądź antybiotykami, bądź np. podwyższoną ponad 32°C

temperaturą i w ten sposób zapobiec rozwojowi guza. Natomiast po zakończeniu inwazji tj. po upływie 4 dni „geny galasowe” tkwiące w chromosomach żywiciela są już nieosiągalne dla zewnętrznej ingerencji,



Rys. 1. Inicjacja i rozwój phytocecidów na przykładzie wyrosli bakteryjno-fagowych („crown-gall“)

przynajmniej metodami konwencjonalnymi. Byłby to pesymistyczny wniosek dla tradycyjnej hemoterapii nowotworów, lecz równocześnie bardzo istotny argument na rzecz genetycznej bądź wirusologicznej metody (np. „blokowania fagowego”).

W trakcie dalszych podziałów komórek galasowych bakteryjna DNA ulega normalnej replikacji (powieleniu), transkrypcja odpowiadającej jej RNA przebiega bardzo intensywnie, natomiast synteza RNA rośliny żywicielskiej zostaje w poważnej mierze zablokowana.

Na tym właśnie polegałaby istota i sposób działania zagadkowego dotychczas czynnika TIP (tumor inducing principle wg Brauna), który czyniono odpowiedzialnym za indukowanie rozpowszechnionych narośli typu „crown-gall”.

W sumie inicjowanie phytocecidów nie byłoby konwencjonalnym procesem infekcyjnym, lecz penetracją aparatu genetycznego przez DNA onkogennych drobnoustrojów lub inaczej integracją roślinnej DNA z DNA galasotwórczych drobnoustrojów.

Równolegle z opisanymi wyżej procesami molekularno-genetycznymi zachodzą w rozwijających się phytocecidiach charakterystyczne zmiany biochemiczne i morfologiczne, godne wyszczególnienia chociażby dla porównania z nowotworami zwierzęcymi i ludzkimi [6, 7, 12, 19, 25, 31, 34, 35, 41, 46, 49, 50, 73, 75].

A więc np. aktywność polimeraz DNA i RNA jest w galasach 2—5 razy większa niż w tkankach zdrowych, zawartość RNA zwiększa się 5—9-krotnie (stąd wzmoczona synteza białka), kilkakrotnie wzra-

sta stężenie auksyn, heteroauksyn i kinetyn (stąd szybki rozplem komórek), wybitnie wzmacnia się czynność fermentów proteolitycznych zwłaszcza 1-arginazy, kilkakrotnie zwiększa się zawartość tryptofanu (po dekarboksylacji jest on źródłem dla kwasu β -indolilo-octowego, IOK, natomiast w guzach zwierzęcych jest źródłem serotoniny), pojawiają się nieprawidłowe produkty przemiany materii jak np. oktopina (N-carboksy-etyl-arginina, której ilość wzrasta do 240 razy w porównaniu z normą), zwiększa się znamienne ilość cyklicznego cAMP („mediator messenger”, m.in. przekaźnik informacji międzykomórkowej), wzrasta ok. 10 razy udział wolnych rodników w metabolizmie wyrosli, zmienia proporcja izotopów C_{13}/C_{12} (na korzyść ^{13}C), białko narodziło uzyskuje odmienne cechy immunologiczne itd.

Ponadto występuje nieprawidłowy kształt i wielkość komórek, niezdolność do różnicowania, poliploidalność jąder, w ok. 30% aberracje chromosomowe (np. rozerwania i braki chromosomów, ubytki częściowe, zespolenia, nowe nienormalne typy chromosomów itd.); rozrost guza jest autonomiczny, destrukcyjny, morfogeneza histoidalna (rzadziej teratoidalna)².

Dla uwiarygodnienia opisanego powyżej molekularno-genetycznego schematu phytocecidogenezy — kilka słów o danych eksperymentalnych, na których został on oparty.

Do zainicjowania galasów bynajmniej nie są potrzebne całe i żywe mikroorganizmy, wystarczą ekstrakty ich DNA, byle nie były zbyt dokładnie oczyszczone: muszą zawierać domieszkę własnych polimeraz, tj. replikaz i transkryptaz [4, 38, 39, 65].

Przebieg wnikania do komórek roślinnych bakteryjnej DNA i powstawanie zhybrydizowanych odcinków chromosomów udało się prześledzić metodą autoradiograficzną, używając skrawków miąższu galasów indukowanych promieniotwórczymi hodowlami *Agrobacterium tumefaciens*, znakowanymi przy pomocy 3H -DNA [60, 65, 66].

Poddając ultracentryfugowaniu w gradiencie stężeń (w roztworze CsCl lub $Ag^+Cs_2SO_4$) ekstrakty DNA z rozwiniętych galasów oraz nie transformowanych jeszcze tkanek roślinnych — otrzymuje się:

- 1) w preparacie galasowym 3 warstwy DNA, lżejszą roślinną (o gęstości 1,62 g/ml), pośrednią roślinno-bakteryjną (o gęstości 1,709 g/ml) i cięższą bakteryjną (o gęstości 1,722 g/ml),
- 2) w preparacie z tkanek niezmiennych tylko 2 warstwy DNA, tj. roślinną i bakteryjną.

Po dodatkowym nadźwźwiękowaniu ultradźwiękami preparatu galasowego — warstwa pośrednia rozpada się i zanika, ponieważ jej składniki macierzyste wędrują częściowo ku warstwie roślinnej a częściowo ku warstwie bakteryjnej [24, 65, 67].

Tworzenie kompleksów *in vitro* pomiędzy DNA z tkanki galasowej a znakowaną trytem 3H -RNA od *Agrobacterium tumefaciens* i brak takiego łączenia się z DNA tkanek zdrowych; ta 3H -RNA łączy się tylko z bakteriopochodnymi odcinkami galasowej DNA, co można dokładnie ilościowo oznaczyć za pomocą liczników G—M (np. w preparacie kontrolnym na 150 μg DNA przypada 1330—1950 imp/min.,

² Opisana transformacja neoplastyczna komórek zostaje utrwalona dziedzicznie i utrzymuje się przy pasażowaniu *in vitro* i w przeszczepach na inne rośliny.

zaś w preparacie galasowym aż 47600 — 67000 imp./min., przy tle 850 imp./min.) [60, 65].

Wreszcie udało się ustalić dokładną sekwencję nukleotydów w materiale genetycznym *Agrobacterium tumefaciens* oraz jego fagów PS 8 i PB 6, a następnie wykazać, że cały kod genetyczny fagowy i część kodu bakteryjnego wchodzi w skład zespolonych chromosomów w naroślach typu „crown-gall” [23, 59].

Jako dowód pośredni może jeszcze posłużyć obserwacja, że wzrost galasów zostaje całkowicie wstrzymany przez znane blokery replikacji, transkrypcji i translacji, jak np. fluorouracyl, bromuracyl, mitomycyna, rifamycyna, puromycyna, aktynomycyna D itd. [50, 65].

Podobnie jakościowa i ilościowa analiza chemiczna zhybrydyzowanych odcinków chromosomów oraz eksperymenty immunologiczne [49, 56] popierają ogólną tezę.

Trudno oprzeć się wrażeniu, że przedstawiony wyżej mechanizm roślinnej neoplazji przemawia silnie również na korzyść wirusowej teorii kancerogenezy w onkologii klinicznej. Onkogenne własności i takież quasi-genetyczny mechanizm agresji stwierdzono przecież u niektórych wirusów zwierzęcych, jak np. u DNA-wirusów: wirusa polyomy, SV 40, adenowirusów, u RNA-wirusów typu C; 45 S i in. [13, 18, 20, 22].

Znane koncepcje wirusowej kancerogenezy, głoszone zwłaszcza przez Temina, jak również przez Huebnera i Todaro oraz przez Agoła usiłują niejako awansem rozciągnąć powyższą koncepcję na całą onkologię medyczną [3, 14, 18, 20, 30, 44, 55, 68].

Jednakże, jak zobaczymy dalej przy rozpatrywaniu sposobu powstawania wyrośli owadzych, byłby to na razie krok pochopny i niezupełnie uzasadniony obecnym zasobem wiadomości na ten temat, a tym bardziej w przypadku wyrośli genetycznych (spontanicznych) i takichże guzów u zwierząt [1, 10, 19, 21, 33, 63].

MECHANIZM POWSTAWANIA ZOOCECIDÓW

W grupie wyrośli spowodowanych przez pasożyty zwierzęce najdokładniej została przebadana inicjacja i rozwój galasów owadzych, które dominują licznie wśród zoocecidów [2, 15, 32, 37, 42, 47, 52, 57, 62, 70].

Galasy owadzie zapoczątkowywane w dwojaki sposób przedstawione są na rys. 2 [15, 32, 57, 62, 70].

- 1) w trakcie nakłuć tkanek roślinnych przez żerujące owady w celu wysysania soków — wstrzykują one do kanału wkłucia znaczną ilość własnej śliny, która następnie pobudza tkanki do lokalnego rozrostu i uformowania galasu;
- 2) przy składaniu jaj (wprowadzanych za pomocą pokładelka w głąb tkanek roślinnych, bądź zostawionych na wierzchu) owady galasowe wydają pewną ilość wydzieliny narządów rozrodczych, która to wydzielina stanowi w danym razie początkowy bodziec galasotwórczy, zaś dalszych porcji chemicznych stymulatorów dostarczają zapewne rozwijające się larwy — znowu w formie śliny i ekskretów.

Jakież składniki zawiera ślina galasotwórczych owadów? Otóż poszczególne gatunki galasówek posiadają w swej ślinie odmienne zesta-

wy aminokwasów (zwłaszcza chodzi o tryptofan i histydynę), związków fenolowych i enzymów, ponadto w znacznej ilości jest zawarty kwas β -indolylo-octowy (IOK, heteroauksyna), inne auksyny i kinetyny, swoiste

SCHEMAT INICJACJI I ROZWOJU WYROŚLI OWADZICH (galasów).

Wariant
I.



fermenty
aminokwasów
heteroauksyn
zw. fenolow
ski, nieoznac
białka
sole

CP

CECIDIO-
GENEZA



NARZUCONA
ZMIANA
METABOLIZMU:

zwiększ. β -IOK i kinetyn
zwiększ. RNA i DNA
wzrost aktywności enzymów
spaczona przemiana materii
przewaga anabolizmu
wzmocniony rozplm komórek
nieprawidłowa wielkość i forma komórek
nieprawidł. struktura komórek
poliploidia, wielojądrazność
aberracje chromosomowe
rozrost zazwyczaj uporządkowany
morfogeneza organoidalna
niezupelna autonomiczność wzrostu

Wariant
II.



C.P. = „cecidogennyj princip”

Rys. 2. Inicjacja i rozwój zoocecidiiów na przykładzie wyrośli owadziech (galasów)

białka (m.in. lipoproteina), cukry, nie oznaczone bliżej związki organiczne, sole mineralne itd. [2, 15, 57, 58].

Jeśli chodzi o fermenty, to występują głównie proteazy, peptydazy, sacharazy, fenolazy, pektynazy, polifenoloksydazy, fosfatazy itp.

W ogóle ślina galasówek odznacza się dużą zawartością aminokwasów i heteroauksyn, a małą związków fenolowych; dokładnie odwrotnie jest u gatunków nie indukujących galasów w trakcie pasożytnictwa. Toteż właśnie tym 3 substancjom przypisuje się wiodącą rolę w zoocecidogenezie (rys. 3), i upatruje się w nich poszukiwany od dawna czynnik CP („cecidogennyj princip”), wg Andersa i in.

Domniemanie to potwierdzałyby m.in. ta okoliczność, że jeśli niegalasotwórczym owadom wstrzykiwać do hemolimfy tryptofan, który zwiększa pulę aminokwasów i częściowo przekształca się w IOK, to ukłucia tych owadów zaczynają wywoływać narośla [57]. Udaje się też sztucznie indukowanie galasów za pomocą wstrzyknięć „syntetycznej śliny” owadziej, stanowiącej laboratoryjną mieszaninę ww. związków, przy czym owe sztuczne galasy są z wyglądu podobne do naturalnych [58].

Według Schaellera szczegółowa rola ww. trzech składników CP wygląda następująco:

- heteroauksyna zabezpiecza rozplm i rozrost masy komórkowej tworzącej galas;
- aminokwasy (zwłaszcza tryptofan i histydyna) wpływają na morfogenezę wyrośli;
- zaś związki fenolowe sterują całym tym procesem dzięki temu, że przekształcają się w tkance roślinnej w chinony, te zaś re-

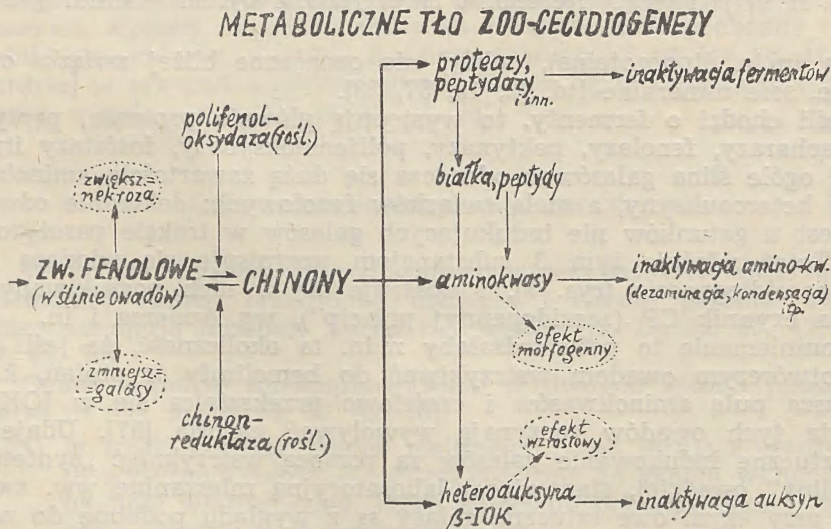
gulują przemianę enzymatyczną białek, aminokwasów i hormonów wzrostowych. Przytoczone zapatrywania ilustruje rys. 3.

Co do fenoli, względnie chinonów, to istotnie przekonano się, że ich zwiększenie w ślinie owadów prowadzi do nekrozy tkanek w miejscach ukłuć, natomiast zmniejszenie dopiero umożliwia indukowanie wyrosli.

Odnosnie charakterystyki morfologicznej [34, 35, 57, 70], to należy zaliczyć zoocecidia do potworniaków (teratomata), nowotworów narządowych, których konkretny kształt zależy też od rodzaju porażonych tkanek roślinnych (mięszkowe bądź przewodzące), od sposobu wprowadzania śliny (ciągły lub przerywany) itp., od zachowania się larw pasożyta itd.

Również i tutaj mamy do czynienia z anomaliami w wielkości i formie komórek, z nietypowymi komórkami, z aberracjami chromosomowymi, poliploidią itd., wielojądrzastością itp. oraz z niefizjologicznymi makrostrukturami [25].

Pod względem biochemicznym [1, 57, 70, 73] spotykamy się znowu z ok. 10-krotnym zwiększeniem kwasów nukleinowych zwłaszcza RNA (co świadczy, że i tutaj musi zachodzić jakaś interferencja z aparatem genetycznym rośliny), stwierdzamy nadmierny poziom związków indolowych (zaliczanych przeciw do kancerogenów), konstatujemy pojawianie się nietypowych substancji jak np. związki przeciwhistaminowe, bądź monstrualnie zwiększoną produkcję niektórych składników fizjologicznych jak np. garbników (które np. w galasach chińskich stanowią do 85% masy narośli) itp.



Rys. 3. Biochemiczne podłoże cecidiogenezy w galasach owadzych (wg Schaellera, uzupełnione)

Co uderza w modelu rozwojowym zoocecydiiów — to brak udziału czynnika zakaźnego, gdyż cały proces wydaje się tutaj polegać na przebiegach metabolicznych. Jest to woda na młyn dla przeciwników wirusowej teorii kancerogenezy.

Jednakże istnieje pewna okoliczność pozwalająca mimo wszystko podejrzewać współudział infekcji. Chodzi o to, że wszystkie galasy owadzie są wewnątrz zakażone (i to dość masowo) różnymi bakteriami, ponieważ nakłuwanie tkanek roślinnych dla złożenia jaj czy wyssania soku odbywa się przecież w warunkach niesterylnych.

W przypadku galasów powodowanych przez muchy oliwkowe *Dacusoleae* wiadomo całkiem na pewno, że są to w istocie narośla wywoływane przez *Pseudomonas savastanoi*, będący szczepem *Agrobacterium tumefaciens*. Przewód pokarmowy a zwłaszcza narządy płciowe muchy oliwkowej są wypełnione gęstą hodowlą tego drobnoustroju i mucha spełnia jedynie rolę przenosiiciela infekcji [7].

Czy przypadkiem nie jest tak również z innymi galasami? Jak na razie oficjalna cecidiologia odrzuca tę sugestię, a to z dwóch powodów:

- 1) dowiedziono, że galasy spontaniczne, tzw. genetyczne, powstają bez jakiegokolwiek udziału pasożytów drobnoustrojowych;
- 2) sztuczne galasy wywoływano za pomocą syntetycznej śliny, przygotowanej jałowo w warunkach laboratoryjnych.

Tak więc sprawa unitarystycznej, infekcyjnej teorii onkogenezy pozostaje otwarta również w cecidiologii.

WYROŚLA SAMOISTNE (NIEPASOŻYTNICZE)

Należą tutaj cecidia, w których najsubtelniejszymi metodami nie udaje się wykryć żadnych pasożytów; wyrastają one nawet w warunkach hodowli gnotobiotycznych.

Pierwszym ich rodzajem są tzw. nowotwory genetyczne, wykryte przez Kostoffa, a powstające w krzyżówkach pokrewnych odmian roślin tego samego gatunku [1, 10, 63]. Klasyczną pod tym względem rośliną jest tytoń, posiadający ok. 300 odmian, z których ponad 10% przy krzyżowaniu międzyodmianowym wytwarza osobniki porażone naroślami.

Analiza genetyczna takiego materiału wykazała [63], że skłonność do wytwarzania tych guzów jest przekazywana na pokolenia potomne ściśle według praw Mendla. Dalej wyjaśniono, że przyczyną tego zjawiska są pewne recesywne geny chromosomowe, a więc typowe „obciążenie dziedziczne” jak przy wielu innych chorobach o podłożu genetycznym.

Jak wiadomo od czasu badań Gordona [1, 21], również w świecie zwierzęcym, mianowicie u niektórych ryb jak *Xiphophorus maculatus* czy *Platyhypocylus*, zdarzają się podobne nowotwory genetyczne, np. melanomy.

Drugim rodzajem spontanicznych wyrośli są guzy występujące w czystych liniach, bez udziału pasożytów, ale też i bez wyraźnego podłoża dziedzicznego [1, 33]. Stwierdzono je — m.in. w formie guzków i brodawek na korzeniach — u szeregu roślin niemotylikowych, i to w warunkach sterylnych hodowli laboratoryjnych. Ich etiologia i patogeneza są na razie nie ustalone.

UTYLITARNE ASPEKTY NOWSZYCH BADAŃ
NAD WYROŚLAMI (CECIDIAMI)

Poza znanymi od dawna garbnikami — wykryto ostatnio w licznych zoo- i phytocecidach (wyroślach) różne biologicznie czynne substancje, niektóre o znaczeniu medycznym.

Na przykład z wyrośli typu „crown-gall” u roślin psiankowatych oraz z dębianek węgierskich i angielskich wyosobniono związki przeciwhistaminowe tomatynę i gomatynę, chroniące zwierzęta przed wstrząsem histaminowym [73].

Galasom na śródziemnomorskim dębie *Quercus ilex* przypisuje się jeszcze od czasów starożytnych własności lecznicze przeciwko złośliwym zmianom skórny, czym zainteresowano się obecnie ponownie [28, 29].

Podobnie narośla na glicynii *Wistaria sinensis* uchodzą w medycynie japońskiej za lek przeciw wszelkiego rodzaju guzom nowotworowym [28].

W fytopatologii stwierdzono doświadczalnie antagonistyczny bądź synergistyczny wpływ niektórych wirusów na rozwój tumorów roślinnych czyli tzw. interferencję firusowo-fagową [53, 72]; istnieją widoki na wykorzystanie tego efektu w onkologii, chociaż naturalnie jest to szalenie ryzykowne, ponieważ cecidiogenne wirusy i fagi mogłyby się okazać rakotwórczymi również w organizmie zwierzęcym i ludzkim, lub wywołać nieprzewidziane zmiany genetyczne. Wprawdzie wiadomo, że owady przenoszące fytopatogenne wirusy same nie zapadają na nowotwory [43], że *Agrobacterium tumefaciens* wywołuje u zwierząt niegroźne stany zapalne, zaś spośród innych galasowych drobnoustrojów w zasadzie tylko *Cryptococcus neoformans* jest niebezpieczny, gdyż wywołuje uogólnioną kryptokokozę. Niemniej wskazana jest maksymalna ostrożność, ponieważ wkraczamy tutaj już na ryzykowny teren inżynierii genetycznej³.

Z kolei dla lecznictwa ogólnego może być interesująca znana powszechnie narośl mszysta na dzikiej róży („bedegware”, galas *Rhodites rosae*), która ma być — zgodnie z europejską medycyną ludową — bardzo wszechstronnym lekiem, m.in. środkiem przeciw bezpłodności, przeciw wściekliwości, lekiem uspakajającym i przeciwbólowym, pomocnym w chorobach nerek i jelit, w skazie limfatycznej u dzieci, w robaczycach itp. [29].

Jak widać użyteczność galasów w medycynie nie musi ograniczać się tylko do roli surowca garbnikowego.

Zaś dla biologii w ogóle — cecidia... ów „eksperyment przyrody”... będą zawsze atrakcyjnym, modelowym obiektem dla badania praw morfogenezy i wzorem metod ingerowania w procesy genetyczne.

³ W tym względzie ostrzeżeniem jest m.in. objaw „koleczastych krwinek”, które pojawiają się we krwi zwierząt po długotrwałym wstrzykiwaniu niesterylizowanych wyciągów z galasów *Schizoneura lanuginosa* na wiązie korkowym (sposzczenia własne).

LITERATURA

- [1] Artamonow W. I. — *Obszczebiologiczeskie aspekty opucholeobrazowania*. Usp. sowrem. biol., 75, 441—51, 1973.
- [2] Anders F. — *Untersuchungen über das Cecidogene Princip der Reblaus*. Biol. Zentralbl., 80, 2, 199—223, 1961.
- [3] Agol W. I. — *Protowirusy* — Priroda, 11, 28—35, 1973.
- [4] Beiderbeck R. i wsp. — *On the question of crown-gall tumor initiation by DNA of bacteriophage PS 8*. J. Virol., 11, 345—50, 1973.
- [5] Beiderbeck R. — *Amanitin inhibits tumor induction by Agrobacterium tumefaciens*. Z. Naturforsch. (B), 27, 1393—4, 1972.
- [6] Beljanski M. i wsp. — *Relationship between l-asparaginase activity and the oncogenic power of different Agrobacterium mutants*. C. R. Hbd. Acad. Sci. (D), 274, 3560—63, 1972.
- [7] Beltra R. — *Study of the hormonal fraction of the tumors produced in the olive tree by Pseudomonas sevestanoi*. Microb. Esp. 15, 13—33, 1962, 16, 15—24, 1963.
- [8] Braun A. C. — *Plant tumors: introductory remarks*. Trans. NY Acad. Sci., 24, 739—40, 1962.
- [9] Braun A. C., Wood H. N. — *On the inhibition of tumor inception in the crown-gall disease with the use of ribonuclease A*. Proc. Natl. Ac. Sci., 56, 1412—22, 1966.
- [10] Burgess J. i wsp. — *The structure and development of a genetic tumor of the pea*. Protoplasma, 76, 315—25, 1973.
- [11] Davies C. H. i wsp. — *Induction of crown-gall by nitrosoguanidinetreated Agrobacterium tumefaciens*. Mutat. Res., 20, 283—85, 1973.
- [12] Drlica K. A. i wsp. — *Cyclic AMP levels in normal nad transformed cells of higher plants and in crown gall tumors*. Biochem. Biophys. Res. Comm., 56 (3), 753—59, 1974.
- [13] Eckhart W. — *Transformation of animal cells by oncogenic DNA viruses*. Physiol. Rev., 48, 513, 1968.
- [14] Freeman A. E. i wsp. — *RNA tumor virus genomes as determinants of chemically-induced transformation in vitro*. Bibl. Haematol., 39, 617—34, 1973.
- [15] Gawriłow K. I. — *K woprosu o przyczinach obrazowania opucholewych narostow gallow na rastieniach pri parazitizmie nasiekomych*. Žurn. Obszcz. Biol., XXVI, 4, 475—78, 1965.
- [16] Gautheret R. J. — *Tumor phenomena in plants and their relation to the problem of cancer*. Ann. Pharm. Fr., 22, 147—58, 1964.
- [17] Gautheret R. J. — *Les phenomenes tumoreux chez les vegetaux*. Actualité Pharmacol., XIX, 1—27, 1967.
- [18] Geissler E. — *Eine einheitliche Hypothese der Cancerogenese*. Biol. Rundschau, 8, 6, 412, 1970.
- [19] Geri C. i wsp. — *Differences in RNase complements between tissues of a genetically tumorous strain (Nicotiana glauca x N. langsdorfii hybrid) and its non tumorous parents, grown in vitro*. Ital. J. Biochem., 22, 23—35, 1973.
- [20] Gerszenzon S. M. — *Obratnaja transkripcja i jejo znaczenie dla obszczej genetiki i onkologii*. Usp. sowrem. biol., 75, 3, 323—29, 1973.
- [21] Gordon M. — *Geneticzeskaja koncepcja wozniknowenia melanom*. w „Genetika raka”, Moskwa, 501—11, 1961.
- [22] Guillé E., Quetier F. — *Le crown-gall: modèle experimental pour l'étude du mecanisme de la transformation tumorale*. C. R. Hbd. Acad. Sci. (D), 270, 26, 3307—10, 1970.

- [23] Guillé E. i wsp. — *Le crown-gall: modele experimental pour l'application du mecanisme de regulation quantitative des phenomenes genetiques dans l'evenement neoplasique*. Bull. Canc. (Paris), 57, 217—38, 1970.
- [24] Guillé E., Grisvard J. — *Modifications of genetic information in crown-gall tissue cultures*. Biochem. Biophys. Res. Comm., 44, 6, 1402—09, 1971.
- [25] Gupta S., Gadgil V. N. — *Caryotype and chromosome abnormalities in normal and crown-gall tissue culture of Vicia faba*. Trans. Bose Res. Inst. (India), 35 (1), 17—24, 1972/73.
- [26] Hadley G. H. — *Cancer and plant tumors*. Rev. Immun. (fr.), 28, 141—5, 1964.
- [27] Hadley G. H. — *On the relation of plant tumors to human cancer*. Krebsarzt, 18, 185—9, 1963.
- [28] Hartwell J. L. — *Plants used against cancer*. Lloydia, 32, 2, 153—205, 1969, 33, 1, 97—194, 1970.
- [29] Hovorka D., Kronfeld A. — *Vergleichende Volksmedizin*, Bd. 1 u. 2. Stuttgart, 1908—1909 r.
- [30] Huebner R. J., Todaro G. J. — *Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer*. Proc. Natl. Acad. Sci., 64, 1087, 1969.
- [31] Johnson R. i wsp. — *Detection and quantitation of octopine in normal plant tissue and in crown-gall tumors*. Proc. Natl. Ac. Sci. USA, 71 (2), 536—39, 1974.
- [32] Kapuściński S. — *O galasach i ich twórcach*. Przyroda Polska, R. XIII, 8, 6—12, 1969.
- [33] Kahn A. G. — *Podocarpus root nodules in sterile culture*. Nature, 215, 5106, 1170, 1967.
- [34] Kupila S. — *Crown-gall as an anatomical and cytological probleme: a review*. Canc. Res., 23, 497—509, 1963.
- [35] Kupila-Ahvenieni S. — *Morphogenesis of crown-gall*. Advanc. Morphogen., 7, 45—78, 1968.
- [36] Kurdjian A. — *Phages and tumor induction in plants*. XI Int. Bot. Congr. Abstr., 119, 1968.
- [37] Küster E. — *Die Gallen der Pflanzen*. Lipsk 1911.
- [38] Leff J., Berdsley R. E. — *Action tumorigen de l'acide nucleique d'un bacteriophage present dans les cultures de tussu tumoral de tournesol Helianthus annuus*. C. R. Hbd. Ac. Sci., 270, 1505—07, 1970.
- [39] Leff J., Beardsley R. E. — XI Int. Bot. Congr. Abstr., 125, 1968.
- [40] Lecatsus G. — *Nucleosids and plant tumors*. S. Afr. J. Sci., 62, 352—55, 1966.
- [41] Maciejewska-Potapczykowa W., Urbanek H. — Acta Soc. Botan. Polon., 31, 92—101, 1962.
- [42] Mani M. S. — *Ecology of plant galls* — Haga, 1964.
- [43] Maramorosch K. i wsp. — *Multiplication and cytopathology of a plant tumor virus in insects*. Natl. Canc. Inst. Monogr., 31, 493—507, 1969.
- [44] Meier H. i wsp. — *Chemical carcinogenesis: differential action of virious compounds, derepression of endogenous C-type RNA genomes, and influence of different genotypes of mice*. Bibl. Haematol., 39, 551—73, 1973.
- [45] Meins F. J. — *Regulation of phenotypic expression in crown gall theratoma tissues of tobacco*. Dev. Biol., 24, 287—300, 1971.
- [46] Mosora F. i wsp. — *Free radicals and C_{13}/C_{12} ratio in plant tumors*. C. R. Acad. Sci. (D), 275, 599—601, 1972.

- [47] Mowszowicz J. — Wyrośla (zoocecidia)... Łódź. Tow. Nauk., 70, Wyd. III, 1961.
- [48] Moskwa W. — Czynniki pobudzające i hamujące wzrost roślin we krwi chorych na raka i w guzach rakowych. *Patol. Polska*, 1, 1, 19—33, 1950.
- [49] Niles R. M., Mount M. S. — A comparison of chromatins isolated from healthy and crown-gall tumor tissue of *Vicia faba*. *Plant Physiol.*, 52 (4) 368—72, 1973.
- [50] Nultsch W. — Die pflanzlichen Tumoren. *Deutsch. Med. Wochschr.*, 89, 2384—88, 1964.
- [51] Parsons C. L. — Bacteriophage activity in homogenates of crown-gall tissue. *J. Virol.*, 2, 651, 1968.
- [52] Porter Felt E. — *Plant galls and gall makers*, NY 1970.
- [53] Price W. C. — Strains (of viruses), mutation, acquired immunity and interference, w *Plant Virology* (ad. Corbetta. Sisler), 1964 r., rozdz. V.
- [54] Rhatac H. C., Raychandhuri S. F. — Interaction of two plant viruses and the crown gall bacterium in tobacco. *Phytopathology*, 55, 2, 130, 1965.
- [55] Rhim J. S. i wsp. — In vitro carcinogenesis studies: dual effect of RNA tumor viruses and carcinogenic chemicals or DNA viruses. *Bibl. Haematol.*, 39, 635—48, 1973.
- [56] Serkiz L. V. — Rozliczja w antygenom składzie białek z opucholewych narostów i zdrowych roślinnych tkanek. *Mikrobiol. Żurn.* 34, 117, 1972.
- [57] Schaeller G. — Wie entstehen die Pflanzengallen? *Biol. Rundschau*, 8, 5, 346—50, 1970.
- [58] Schaeller G. — Untersuchungen zur Erzeugung künstlicher Pflanzengallen. *Marcellia*, 35, 3, 131—53, 1968.
- [59] Schilperoort R. A. i wsp. — The presence of both phage PS 8 and *Agrobacterium tumefaciens* A 6 DNA base sequences in A 6 induced sterile crown-gall tissue cultured in vitro. *Europ. J. Biochem.*, 33, 1—7, 1973.
- [60] Schilperoort R. A. i wsp. — Formation of complexes between DNA isolated from tobacco crown-gall tumors and RNA complementary to *Agrobacterium tumefaciens* DNA. *Bioch. Biophys. Acta*, 145, 2, 523—25, 1967.
- [61] Shirodkar A. N. i wsp. — Importance of reverse transcriptase in plant tumor tissue of viral origin cultivated in vitro. — *Experientia*, 29, 535—6, 1973.
- [62] Slepian E. J. — Patologiczkie nowoobrazowania na roślinach i ich wzbudzieli. Wyd. WDNCh ZSRR 1964.
- [63] Smith H. N. — Genetic Control of *Nicotiana* plant tumors. *Trans. NY Acad. Sci.*, ser. II, 24, 7, 741—46, 1962.
- [64] Srivastava B. J. — DNA polimerase and terminal desoxynucleotydyl transferase activity of normal and bacteria-free crown-gall tumor tissue cultures of tobacco. *Biochem. Biophys. Acta*, 299, 17—23, 1973.
- [65] Stroun M. i wsp. — *Agrobacterium* RNA synthesis in tomato cells and crown-gall induction. *J. Bacter.*, 106, 2, 634—39, 1971.
- [66] Stroun M. i wsp. — Natural release of nucleic acids from bacteria into plant cells. *Nature*, 227, 607—8, 1970.
- [67] Stroun M., Anker P. — Apparition de DNA de densité différentes chez *Solanum lycopersicum* au cours de la période d'induction d'une tumeur par la bactérie A. t. C. R. Hbd. Ac. Sci. (D), 264, 10, 1342—45, 1967.
- [68] Temin H. M. — *J. Natl. Canc. Inst.*, v 46, 111, 1971.

- [69] Tokhtamuratov E. — *Isolation of antitumor substances from the culture fluid of Actinomyces tumemacerans*. Fed. Proc., (transl. suppl.), 24, 119—20, 1965.
- [70] Troll W. — *Allgemeine Botanik*, rozdział: Phyto- und Zoomorphosen (Gallen) Stuttgart 1959.
- [71] Venulet F., Moskwa W. — *Recherches sur les toxines dans le sang des malades cancéreux*. Schweiz. Med. Wochschr., 82, 3, 55, 1952.
- [72] Walker Ch. J. — *Plant pathology* — NY 1969.
- [73] Wakkary J. A. i wsp. — *Isolation and some pharmacological properties of two biologically active substances of crown-gall infected tomato plants.*, p. I/II. Arch. Int. Pharmacodyn. Therap., 183, 2, 289—314, 1970.
- [74] Wood H. N. — *Plant carcinogenesis*. Progr. Exp. Tumor Res., 9, 286—311, 1967.
- [75] Wood H. N. — *Characterisation of naturally occurring kinins from crown-gall tumor cells of Vinca rosea*. Coll. intern. CNRS, 123, 1963/64.

WYDŁUŻONA ONTOGENEZA CZY PRZEMIANA POKOLEŃ?

(O rozmnażaniu się *Digenea*)

Przywry-*Digenea* charakteryzują się cyklem rozwojowym, który można chyba uznać za najbardziej skomplikowany wśród płazińców, a może w ogóle wśród pasożytów. W ogólnym zarysie najbardziej pospolity cykl rozwojowy przywr ma przebieg następujący: z zapłodnionego jaja rozwija się larwa — miracidium, która po dostaniu się do mięczaka (I żywiciel pośredni) przekształca się w sporocystę macierzystą zdolną do rozmnażania. Jej potomstwo — sporocysty potomne lub redie macierzyste, po osiągnięciu odpowiedniego stopnia rozwoju znów się rozmnażają, dając cercarie lub redie potomne, które z kolei produkują cercarie. Te ostatnie opuszczają mięczaka, wydostają się do środowiska zewnętrznego, następnie opanowują bezkręgowce lub kręgowce (II żywiciel pośredni), w których przekształcają się w metacercarie, a następnie dostają się do przewodu pokarmowego żywiciela ostatecznego (kręgowce), gdzie osiągają dojrzałość płciową. Z przebiegu cyklu rozwojowego widać, że rozmnażanie się ma miejsce kilkakrotnie — dorosłe przywry (hermafrodytyczne), sporocysty macierzyste, sporocysty potomne ewentualnie redie macierzyste i redie potomne wydają potomstwo. O ile sposób rozmnażania postaci hermafrodytycznych, nie odbiegający zresztą od sposobu rozmnażania innych płazińców, nie budził nigdy wątpliwości, to rozmnażanie sporocyst i redii było przedmiotem wielu hipotez, często zupełnie sprzecznych. Poglądy na ten temat nie zostały dotychczas uzgodnione, chociaż prowadzone badania wskazują, że bardziej przekonujące jest traktowanie rozmnażania się sporocyst i redii jako partenogenezy. Rozwiązanie problemu rozmnażania w tej fazie cyklu rozwojowego jest podstawą właściwego rozumienia jego istoty, a to z kolei ma duże znaczenie przy rozważaniach dotyczących powstania i ewolucji cyklów rozwojowych oraz całej gromady *Digenea*.

ROZMNAŻANIE POSTACI HERMAFRODYTYCZNYCH

Hermafrodytyczne przywry mają układ rozrodczy typowy dla płazińców. Procesy dojrzewania zachodzą w czasie wzrostu przywry w żywicielu ostatecznym. Spermatogeneza przebiega w zasadzie normalnie. Spermatogonie I rzędu, leżące w pobliżu peryferii każdego jądra, dzielą się mitotycznie, tworząc dwie spermatogonie II rzędu, które pozostają razem na skutek niecałkowitego rozdzielenia się cytoplazmy.

Następny podział daje grupę spermatogonii III rzędu, a one z kolei dzielą się, dając rozetkę 8 spermatocytów I rzędu, które jednocześnie przechodzą typową mejotyczną profazę (wykazują biwalenty w diakinezie i metafazie). Powstałych 16 spermatocytów II rzędu przechodzi drugi podział dojrzewania, dając grupę 32 spermatyd. Spermatogenezie towarzyszy powstawanie typowej nitkowatej budowy plemnika z pojedynczym ogonkiem, zawierającym dwa wiciowe elementy.

Jajnik składa się w większości z dużych oocytów I rzędu otoczonych na peryferiach gonady przez oogonie i młode oocyty (z wyjątkiem miejsca, w którym odchodzi jajowód). Mitozę rzadko obserwowano w komórkach oogonii. Młode oocyty I rzędu, nieco większe od oogonii, pozostają w pobliżu ścianki jajnika do chwili, kiedy profaza podziału mejotycznego przesunie się do stadium pachytenu; następnie przemieszczają się w kierunku środka jajnika. W tym czasie chromosomy wracają do stadium rozproszonego, jądro staje się pęcherzykowane a komórka wydłuża się. Całkowicie wyrośnięte oocyty są sfłoczone i przez to mają kształt „kanciasty”. Dopiero wychodząc z jajowodu stają się kuliste. W jajowodzie oocyty łączą się ze spermą i razem z kilkoma lub większą liczbą komórek żółtkowych zostają w ootypie otoczone skorupką jajową. W początkowym odcinku macicy proces oogenezy zostaje wznowiony. Następują kolejno dwa podziały redukcyjne z wyrzuceniem ciałek kierunkowych, przy czym w metafazie pierwszego podziału widoczne są chromosomy w postaci biwalentów. Dopiero po podziałach dojrzewania zlewają się pęcherzykowane przedjadra męskie i żeńskie, tworząc zygotyczne jądro.

Zapłodnienie jest najczęściej krzyżowe, chociaż występuje też samozapłodnienie, często przy braku partnerów do kopulacji. U niektórych gatunków, rozmnażających się w stadium progenetycznych metacerkarii zamkniętych w otoczkach, możliwe jest wyłącznie samozapłodnienie.

W zasadzie przywry są diploidalne, chociaż publikowane były obserwacje świadczące o tym, że mogą wśród nich występować poliploidy. Cable [4] cytuje obserwacje Cannona, który stwierdził u jednego z gatunków *Bunodera* szczep triploidalny w stosunku do podstawowej liczby chromosomów $n=8$, co zaznaczało się wyraźnie w morfologii tych szczepów. Ponieważ nie znalazł u tych triploidów plemników w żeńskim układzie rozrodczym, ani też nie stwierdził spermatogenezy w jądrach uważa, że jaja tych przywr mogą rozwijać się partenogenetycznie. Pewne dane na temat możliwości partenogenetycznego rozwoju jaj przywr były publikowane przy badaniach rozdzielnopłciowych przywr z rodziny *Schistosomatidae*. Jednak w tym przypadku można podejrzewać wtórne wystąpienie hermafrodytyzmu, co przy innej okazji było obserwowane u *Dendritobilharzia pulverulenta* (Braun, 1901) [24].

Na podstawie badań cytologicznych stwierdzono, że hermafrodytyczne przywry nie mają chromosomów płci. W przypadku przywr rozdzielnopłciowych (rodzina *Schistosomatidae*) rozdzielnopłciowość ma podłoże genetyczne. U przywr z tej rodziny obserwowano chromosomy płciowe, w stosunku do których samice są heterozygotyczne a samce homozygotyczne [25].

Pierwszy podział bruzdkowania jest nierównomierny i daje dwie komórki — mniejszą propagacyjną i większą somatyczną. Komórka somatyczna dzieli się kilka razy, natomiast podziały komórki propa-

gacyjnej są początkowo wstrzymane. Potem dzieli się ona również, ale rzadziej. W końcu rozwoju embrionalnego powstaje larwa miracidium, która ma wewnątrz grupę komórek germinatywnych, pochodzących bezpośrednio od komórki propagacyjnej. Po dostaniu się do żywiciela pośredniego miracidium przekształca się w sporocystę macierzystą.

ROZMNAŻANIE SPOROCYST I REDII

Po przekształceniu się miracidium w sporocystę macierzystą, komórki germinatywne dzielą się i rozwijają, tworząc następne pokolenie tzw. worków germinatywnych, którymi mogą być sporocysty potomne lub redie macierzyste. Może być kilka generacji redii, ale tylko jedna generacja sporocyst potomnych. Sporocysty potomne i redie potomne produkują cercarie. W każdej generacji następuje namnażanie komórek germinatywnych. Liczba produkowanych zarodków jest różna w różnych grupach przywr.

Od dawna interesowało badaczy jakiego typu rozmnażanie ma miejsce w tej części cyklu rozwojowego i jak należy traktować komórki germinatywne. Rozważane były trzy możliwości interpretacji tego zjawiska: rozmnażanie dwupłciowe, partenogenetyczne (komórki germinatywne — partenogenetyczne jaja) i bezpłciowe typu poliembrionii lub pączkowania. Przyjęcie każdej z tych hipotez wpływa zasadniczo na interpretację samego cyklu rozwojowego, rozpatrywanego albo jako przemiana pokoleń albo jako wydłużona ontogeneza.

ROZMNAŻANIE DWUPŁCIOWE

Ten typ rozmnażania stwierdzony był tylko przez Woodheada [27, 28, 29, 30, 31], który dowodził, że sporocysty i redie mają tak samo jak postacie hermafrodytyczne, pasożytujące w kręgowcach, gonady męskie i żeńskie. Są one wprawdzie prymitywnie zbudowane, ale zachodzą w nich procesy spermatogenezy i oogenezy. Woodhead prowadził badania na sporocystach i rediach kilku gatunków przywr z rodzaju *Bucephalus*, *Brachylaemus*, *Paragonimus*, *Schistosomatium*. Niestety inni badacze nie potwierdzili tych obserwacji, mimo że stosowano w badaniach różne techniki, z użyciem mikroskopu elektronowego włącznie.

PARTENOGENEZA

Koncepcja partenogenetycznego rozmnażania sporocyst i redii wysunięta została już przez Grobbena [13] i nadal jest przedmiotem dyskusji. Wiele prac było i jest prowadzonych w celu udowodnienia lub obalenia tej koncepcji. Koncentrowano się głównie na poszukiwaniu ciąłek kierunkowych w procesie dojrzewania, mających świadczyć o tym, że komórka germinatywna jest komórką jajową. Wielu badaczy sprzeciwiało się w ogóle rozważaniu partenogenezy w przypadku organizmów pozbawionych płci i gonad, tak jak sporocysty i redie.

Partenogenezę można rozpatrywać w aspekcie reprodukcji, determinacji płci i cytologii. Ten ostatni aspekt ma w przypadku przywr

największe znaczenie. Z tego punktu widzenia wyróżniono u zwierząt kilka typów partenogenezy, które usystematyzował Suomalainen [23]. Wyróżnia on dwa zasadnicze cytologiczne typy partenogenezy: generatywną (haploidalną) i somatyczną (diploidalną lub poliploidalną). Ten drugi typ obejmuje partenogenezę automiktyczną i apomiktyczną (odpowiedniki mejotycznej i amejotycznej partenogenezy wg White [26]).

W partenogenezie generatywnej występuje normalna oogeneza z dwoma podziałami redukcyjnymi, w czasie których następuje łączenie się chromosomów w pary, koniugacja biwalentów, tworzenie chiasm. Z jaj rozwijających się bez zapłodnienia powstają haploidalne samce, z jaj zapłodnionych — diploidalne samice. Spermatogeneza przebiega bez redukcji chromosomów, ponieważ samce są haploidalne. Ten typ partenogenezy determinuje jednocześnie płęć.

W partenogenezie somatycznej automiktycznej wczesne stadia podziału mejotycznego przebiegają tak samo jak przy dojrzewaniu jaja, wymagającego zapłodnienia. Pary chromosomów łączą się w stadium zygoten, występuje crossing-over i chiasmy. W metafazie widoczna jest haploidalna liczba biwalentów. Jajo przechodzi dwa podziały, z których pierwszy jest morfologicznie redukcyjny (czasem drugi — postredukcja). Diploidalna liczba chromosomów zawsze jest odtworzona ale w różny sposób: przez zlanie się jąder podziałowych; przez zlanie się jądra drugiego ciała kierunkowego z jądrem jaja; przez pozostanie podzielonych chromosomów przy drugim podziale w tym samym jądrze (endomitoza).

W partenogenezie apomiktycznej nie występuje redukcja chromosomów ani też zlanie się jąder w czasie dojrzewania jaj. W podziałach dojrzewania mogą występować, przynajmniej częściowo, cechy mające charakter mejozy. Chromosomy są bardziej skurczone niż w mitozie, niekiedy łączą się w pary w stadium zygotenu — wtedy jądro wykazuje haploidalną liczbę biwalentów. Potem chromosomy oddzielają się od siebie i jądro ma w diakinezie znów diploidalną liczbę chromosomów. Prawdopodobnie homologiczne chromosomy nie tworzą crossing over ani chiasm, które utrzymują potem biwalenty razem. Jaja, przy partenogenezie apomiktycznej, przechodzą tylko jeden podział dojrzewania, w którym chromosomy dzielą się jak w mitozie. W wielu przypadkach jednak chromosomy w „diakinezie” przypominają mejotyczne chromosomy — skurczone, grube i krótkie. Suomalainen zalicza przywry do zwierząt rozmnażających się przez apomiktyczną partenogenezę.

Niewiele badań cytologicznych prowadzono nad komórkami germinatywnymi sporocyst i redii. Z dawniejszych prac można przytoczyć badania Cary [5] nad *Megalodiscus temperatus*, a z późniejszych — Bednarza [1] nad *Fasciola hepatica* i Khalila i Cable'a [15] nad *Philophthalmus megalurus*, przy czym ta ostatnia warta jest dokładniejszego omówienia.

Cykl rozwojowy *Philophthalmus megalurus* (Cort, 1914) jest, w stosunku do innych gatunków przywry, wydłużony o dodatkowe stadium sporocysty, która rozwija się w miracidium, jeszcze w tym czasie, zanim opuści ono skorupkę jajową. Jest więc w tym cyklu minimum 5 generacji: miracidium, sporocysta, redia macierzysta, redia potomna i hermafrodytyczna postać dorosła. Autorzy badali oogenezę

i spermatogenezę u postaci hermafrodytycznych, obserwowali redukcję chromosomów w czasie podziałów mejotycznych, następnie bruzdkowanie zapłodnionego jaja i dalsze losy komórki propagacyjnej w kolejnych generacjach. Przy pierwszym podziale zapłodnionej komórki jajowej oddzielają się dwa blastomery nierównej wielkości: większa komórka somatyczna i mniejsza propagacyjna. Komórka somatyczna dzieli się dalej, a propagacyjna pozostaje w interfazie do chwili, w której zarodek miracidium osiąga 5—7 komórek. Wtedy ponownie dzieli się nierównomiernie, dając większą komórkę somatyczną i mniejszą, którą autorzy interpretują jako oogonium. Tak jak komórka propagacyjna, oogonium pozostaje w interfazie do czasu, aż zarodek osiągnie 15—20 komórek, powstałych z podziałów komórek somatycznych, a następnie przechodzi zmiany takie jak oogonie przekształtujące się w oocyty I rzędu w gonadach osobników hermafrodytycznych. Autorzy obserwowali te komórki we wczesnym stadium zygotenu, co wskazywało, że był to oocyt. Oocyt ten przechodzi profazę mejotyczną, aż do stadium diakynezy (wykazując 10 biwalentów) po czym wstępuje w stadium interfazy przemieszczając się w tym czasie do środka zarodka miracidium. Z oocyty tego powstanie później zarodek sporocysty (oocyt odpowiada pospolitej w literaturze komórce germinatywnej). Pierwszy podział oocyty jest nierówny i, tak jak w czasie podziału zapłodnionego jaja, ukazuje się diploidalna liczba chromosomów (20). Powstaje większa komórka somatyczna i mniejsza propagacyjna, która pozostaje w interfazie do czasu osiągnięcia przez zarodek sporocysty liczby 5—7 komórek somatycznych. Następuje znów nierówny podział komórki propagacyjnej, dający potomną komórkę propagacyjną, której podział jest wstrzymany do czasu, aż zarodek osiągnie ok. 15 komórek. Kolejne podziały komórki propagacyjnej dają małe, ciemno barwiące się komórki ubogie w cytoplazmę, które autorzy interpretują jako oogonie. W czasie namnażania rozpraszają się one w zarodku sporocysty. Nie zostało z całą pewnością stwierdzone czy oogonie w sporocystach dzielą się, natomiast wyraźnie były obserwowane podziały w rediach. Być może oogonie są produkowane przez sukcesywne podziały potomnej komórki propagacyjnej. Przed wykluciem się miracidium z jaja, oogonie sporocysty zaczynają przekształcać się w oocyty. Nie rozpoczynają one bruzdkowania zanim sporocysta nie przywędruje do serca ślimaka. Tam kolejno z oocytów rozwijają się zarodki redii w ten sam sposób, jaki był opisany dla komórki germinatywnej miracidium (nierówny podział oocyty, w czasie którego ukazuje się diploidalna liczba chromosomów, powstanie komórki somatycznej i propagacyjnej, wstrzymanie rozwoju tej ostatniej, podziały komórki somatycznej itp.). Kiedy zarodek redii ma ok. 15 komórek, potomna komórka propagacyjna zaczyna serię nierównych podziałów, produkując za każdym razem oogonium, które może następnie się dzielić. Liczba podziałów potomnej komórki propagacyjnej i oogonii nie została ustalona. W każdym razie suma ich podziałów musi być większa w zarodku redii macierzystej niż sporocysty, bo produkują one więcej redii potomnych. W miarę namnażania komórek somy, oogonie rozpraszają się w zarodku redii macierzystej. Mogą one występować pojedynczo lub grupami. Ich małe ciemne jądra były przez niektórych autorów interpretowane jako degenerujące jądra lub ciała kierunkowe. W zarodku redii, składającym się

z 30 komórek, jądra niektórych oogonii rozszerzają się i zaczynają przekształcać w oocyty. Nieliczne z nich wykazują zjawiska charakterystyczne dla profazy podziału mejotycznego. W starszych zarodkach zjawiska te występują częściej. Podział oocyty nie następuje bezpośrednio po diakinezie. Jądro wchodzi w interfazę, w tym czasie oocyt wędruje do wnętrza zarodka, rozszerza się i nabiera wyglądu „typowej” komórki germinatywnej, opisywanej w sporocystach i rediach. Przemiana oogonii w oocyty jest zasadniczo zakończona zanim redia macierzysta opuści sporocystę. Po opuszczeniu sporocysty redia macierzysta rośnie gwałtownie. Zarodki redii potomnych, które zaczęły się rozwijać jeszcze przed opuszczeniem sporocysty, rosną a następnie młode redie potomne opuszczają redię macierzystą, migrują do gruczołu trawiennego ślimaka. Każda z nich produkuje kilka redii następnego pokolenia (wnuki) przypuszczalnie z pierwszych rozwijających się oocytów. Potem rozwijają się tylko cerkarie. Wczesny rozwój drugiego pokolenia redii jest taki sam jak poprzednich generacji. W zarodkach cercarii komórki związku płciowego produkowane są w ten sam sposób, ale nie przechodzą zmian premejotycznych. Wędrują tylko do wnętrza zarodka, dzielą się mitotycznie i tworzą zbite skupisko komórek. Dalsze zmiany zachodzą dopiero w procesie dojrzewania postaci hermafrodytycznych w żywicielu ostatecznym.

Podobne obserwacje prowadził Bednarz [1] u *Fasciola hepatica*. Interpretacja tych faktów spotkała się jednak później z krytyczną oceną innych autorów. Bednarz stwierdził w komórkach rozrodczych generacji niehermafrodytycznych w stadium wczesnej profazy wyraźne różnicujące chromonemy w zrebie jądrowym. Później zaznacza się one jako nici nie wykazujące specjalnej orientacji (nie tworzą tzw. bukietu). Obserwował też stadium pachyten, w którym występuje wyraźna dwoistość każdego z partnerów, charakteryzująca tzw. tetradę, które są rozrzucone po całym jądrze — stadium diakinezy. W metafazie autor stwierdził diploidalną liczbę chromosomów (12), z czego wnioskuje, że w profazie jaj dzieworodnych przy partenogenezie diploidalnej występuje koniugacja chromosomów — stadia leptoten i pachyten mają przebieg normalny, natomiast w stadium diakinezy występuje dekoniugacja — chromosomy dzielą się podłużnie i w ten sposób zostaje zachowana ich diploidalna liczba. Następnie zostaje wyrzucone jedno ciało kierunkowe, a komórka jajowa dzieli się potem nierównomiernie, dając dużą komórkę ektodermalną i mniejszą germinatywną, z której po dalszych podziałach powstanie redia macierzysta (następna generacja). Wewnątrz zarodków redii macierzystych występują komórki somatyczne i rozrodcze w rozmaitych stadiach dojrzewania oraz 10 do 30 ciałek kierunkowych, które na skutek mnożenia się komórek w zarodku w większości wypychane są na jego obwód. Liczba ciałek kierunkowych jest równa liczbie potomstwa wyprodukowanego później przez osobnika, który rozwinie się z tego zarodka. Zarodki cercarii mają tylko jedno ciało kierunkowe, pochodzące z jaja, które dało mu początek. Bednarz opisuje też struktury, które nazywa jajnikiem rozproszonym umiejscowionym, stosując terminologię Sinicyna [21]. W miracidium są to komórki rozrodcze połączone ze sobą delikatną warstwą tkanki, a w rediach — gruba warstwa tkanki embrionalnej z komórkami jajowymi ułożonymi w kilka warstw.

Obserwowane przez Bednarza zmiany premeiotyczne w komórkach, nazywanych przez niego jajowymi, nie budziły zastrzeżeń, natomiast interpretacja małych komórek jako ciałek kierunkowych spotkała się z krytyczną oceną Khalila i Cable [15]. Autorzy ci uważają, że występuje bardzo duże podobieństwo między tymi komórkami a pierwotnymi komórkami germinatywnymi czyli oogoniami, które obserwowali w zarodkach *P. megalurus*. Obecność w zarodkach cercarii jednego ciała kierunkowego również przeczy tej interpretacji, ponieważ wszystkie procesy dojrzewania u postaci hermafrodytycznych zachodzą w gonadach. Autorzy sądzą, że tych małych komórek mogło być więcej w zarodkach cercarii i mogły się znajdować wśród drobnych komórek somatycznych o luźnej organizacji, o których mówi Bednarz, że m.in. dzięki nim można odróżnić zarodki cercarii od zarodków redii.

Przedstawione przez Khalila i Cable argumenty wydają się słuszne i skłaniają do traktowania tych komórek nie jako ciałek kierunkowych a jako oogonii. Brak podziałów dojrzewania i wyrzucania ciała kierunkowych nie stoi w sprzeczności z interpretacją rozmnażania sporocyst i redii jako partenogenezy.

Inni badacze śledzili losy komórek germinatywnych podczas cyklu rozwojowego — ich podziały i dalsze koleje pierwszych blastomerów. James i Bowers [14] przedstawili takie obserwacje przeprowadzone na dwóch gatunkach przywr — sporocystach *Bucephalopsis haimeana* (przedstawiciel rodziny *Bucephalidae*, w której Woodhead obserwował gonady we wszystkich generacjach cyklu rozwojowego) i sporocysty *Cercaria dichotoma* (*Gymnophallidae*).

Cykl rozwojowy *B. haimeana* ma tylko dwie generacje — miracidium powstałe z zapłodnionego jaja przekształca się w sporocystę, która następnie rozrasta się, rozgałęzia i zaczyna produkować cercarie — larwy postaci hermafrodytycznej. Nie ma w tym cyklu sporocyst potomnych. Zwiększenie liczby sporocyst może się odbywać tylko przez odrywanie fragmentów sporocysty i dalszy ich samodzielny wzrost i rozgałęzianie, a następnie produkują one cercarie. Ścianka sporocysty (oglądana w mikroskopie elektronowym) składa się, zgodnie z interpretacją autorów, z zewnętrznego jądrzastego tegumentu, leżącego na błonie podstawowej. Pod błoną podstawową leży warstwa mięśni a dalej subtegument złożony z bardzo dużych i nieregularnych komórek parenchymatycznych, między którymi osadzone są myoblasty z warstwy mięśniowej i obficie rozrzucone małe komórki germinatywne. Mają one stosunkowo duże jądra z widocznym jąderkiem i wąskie pasmo cytoplazmy. W czasie wzrostu sporocysty komórki germinatywne dzielą się mitotycznie. W rezultacie pojedyncze komórki germinatywne rozmieszczone są w całym subtegumencie wewnątrz lub w pobliżu błony podstawowej. Zanim zaczną się rozwijać, komórki germinatywne przemieszczają się w kierunku jamy ciała sporocysty, gdzie zostają otoczone przez wyrostek komórki parenchymatycznej, tworzący strukturę określaną przez innych autorów jako cysta germinatywna. Komórka germinatywna zamknięta w cyście dzieli się mitotycznie, dając dużą komórkę germinatywną i małą somatyczną, która następnie przechodzi dwa podziały. Powstaje zarodek złożony z 1 komórki germinatywnej i 4 somatycznych, który uwalnia się z cysty do jamy ciała sporocysty, gdzie następują dalsze podziały komórek

somatycznych. Jedna z nich tworzy komórkę okrywającą, która otacza kulę zarodkową. Komórka germinatywna dzieli się dopiero wtedy kiedy zarodek składa się z 14 komórek somatycznych i germinatywnej i 1 okrywającej. Komórki germinatywne przechodzą mniej podziałów niż somatyczne i ostatecznie tworzą zawiązek płciowy rozwijającej się tak cercarii. Mogą występować pewne dodatkowe modyfikacje w rozwoju zarodków: podział zarodka, składającego się z 28 komórek somatycznych, 2 germinatywnych i 1 okrywającej na dwie części, z których powstaną dwie cercarie (poliembrionia); komórka germinatywna, znajdująca się w cyście, może dzielić się wielokrotnie mitotycznie. Powstaje masa złożona z komórek germinatywnych, które kolejno rozwijają się tak samo jak pojedyncze komórki w subtegumencie, a kiedy zarodek składa się z 5 komórek wypada do jamy ciała sporocysty i rozwija się dalej w sposób wyżej opisany. Masy germinatywne mogą leżeć swobodnie w jamie ciała sporocysty, zawsze jednak zamknięte są w cyście germinatywnej. Nie obserwowano pojedynczych komórek germinatywnych w jamie ciała sporocysty ani też rozpadu masy zarodkowej na poszczególne komórki. Autorzy nie obserwowali też mejozy ani wyrzucania ciałek kierunkowych.

Sporocysty potomne *Cercaria dichotoma* mają podobnie do *B. haimeana* zbudowaną ściankę ciała. Pojedyncze komórki germinatywne są rozsiane w subtegumencie. Zanim zaczną się dzielić, przesuwają się do dystalnego końca komórek subtegumentu, gdzie każda zostaje zamknięta w cyście zarodkowej (germinatywnej). Zarodki złożone z 1 komórki germinatywnej i 4 somatycznych uwalniają się do jamy ciała sporocysty. Dalsze podziały dają zarodek złożony z 1 komórki germinatywnej, 7 somatycznych i jednej okrywającej i dopiero wtedy dzieli się komórka germinatywna. Komórki germinatywne pozostają oddzielone w czasie rozwoju cercarii i tworzą ostatecznie zawiązek rozrodczy. W rozmnażaniu sporocyst *C. dichotoma* nie występują żadne dodatkowe modyfikacje.

Na podstawie powyższych obserwacji James i Bowers interpretują rozmnażanie sporocyst obu gatunków jako apomiktyczną partenogenezę.

Oddzielanie się przy pierwszym podziale komórki germinatywnej dwóch nierównych komórek — somatycznej i propagacyjnej i ich dalszy niezależny rozwój obserwowali też inni autorzy. Obserwacje te wiążą się z wysuniętą przez Leuckarta [17] koncepcją ciągłości linii płciowej w rozwoju przywr [6], [10], [19].

ROZMNAŻANIE BEZPŁCIOWE

Koncepcja rozmnażania bezpłciowego powstała w XIX w. prawie równocześnie z koncepcją partenogenezy. Steenstrup [22] interpretował rozmnażanie sporocyst i redii jako wewnętrzne pączkowanie. Inni badacze szukali innych rozwiązań, tym bardziej, że poszukiwanie procesów dojrzewania i wyrzucania ciałek kierunkowych w komórkach germinatywnych, mających udowodnić zjawisko partenogenezy, nie dały spodziewanych wyników. Skłoniło to Brooksa [3] do wysunięcia koncepcji poliembrionii. Pozostaje ona w ścisłym związku z teorią ciągłości linii płciowej u przywr, zresztą wielokrotnie wiarygodnie udokumentowaną od czasu jak ją sformułował Leuckart [17]. Zgod-

nie z nią można bezpośrednio wyprowadzić komórki rozrodcze sporocysty i redii od zapłodnionego jaja. Komórki te nie przechodzą podziałów redukcyjnych, pozostają oddzielone od komórek somatycznych w czasie całego rozwoju i nigdy nie znajdują się w gruczołach rozrodczych. Zatem namnażanie się komórek germinatywnych w jamie ciała sporocyst i redii jest w rzeczywistości poliembrionią pierwotnej zygoty (zapłodnionego jaja). W rozwoju miracidium, sporocyst i redii potomnych, liczne komórki somatyczne odszczepiają się od komórek linii płciowej, aby utworzyć ich tkanki, natomiast komórki germinatywne i powstałe z nich zarodki lokalizują się w jamie ciała sporocyst i redii. Zgodnie z koncepcją ciągłości linii płciowej w cyklu rozwojowym *Digenea*, tylko plemniki i dojrzałe jaja mają zredukowaną liczbę chromosomów, a podziały redukcyjne mają miejsce w gonadach osobników dojrzałych. Ponieważ jednak rozmnażanie sporocyst i redii nie odpowiada definicji poliembrionii, zwolennicy tej teorii zmuszeni byli do zmodyfikowania definicji i utworzenia na użytek *Digenea* specjalnego pojęcia opóźnionej poliembrionii, rozumianej nie jako rozpad zarodka lub bruzdkującego jaja na grupy komórek lub blastomery, z których rozwijają się oddzielne osobniki, lecz jako rozpad zapłodnionego jaja na zawiązki, z których kolejno rozwijają się osobniki i stadia larwalne (sporocysty i redie) a w końcu postać hermafrodytyczna, produkująca zapłodnione jaja.

Ten kierunek poszukiwań przedstawia i podsumowuje praca Corta i wsp. [10] oparta na wcześniejszych badaniach własnych i danych z literatury, dotyczących obserwacji w różnych grupach przywr (*Par-amphistomatidae*, *Echinostomata*, *Heterophyidae*, *Paragonimidae*, *Halipegidae*, *Monorchiiidae*, *Plagiorchioidea*, *Strigeida*, *Spirorchiiidae*, *Schistosomatidae*, *Bucephalidae*). Obserwacje te potwierdzają zjawisko ciągłości linii płciowej oraz obecność diploidalnej liczby chromosomów w komórkach germinatywnych w tym obfitym materiale. Badania prowadzone były na materiale żywym i sekcjonowanym, ale obserwacje rozwoju dotyczyły w większości przypadków gotowych komórek germinatywnych, a nie ich pochodzenia i momentu oddzielenia się od komórki propagacyjnej.

Koncepcja pączkowania jako sposobu rozmnażania się sporocyst i redii odżyła w rozważaniach Clarka [8] nad interpretacją cyklu rozwojowego przywr. Uważa on, że jest to typ pączkowania wewnętrzne-go, przy czym pączek jest początkowo jednokomórkowy.

POLIEMBRIONIA CZY PARTOGENEZA?

Dalsze rozważania będą dotyczyły tylko poliembrionii i partenogenezy, ponieważ rozmnażanie płciowe w takiej formie jak przedstawił Woodhead [27, 28, 29, 30, 31] nie było, jak wspomniałam, potwierdzone przez innych badaczy.

Na tle przedstawionych w poprzednim rozdziale argumentów i obserwacji wyraźnie widać, że za partenogenezą przemawiają (wprawdzie nieliczne ale konkretne) badania cytologiczne, podczas gdy teorie poliembrionii czy też wewnętrznego pączkowania opierają się na powierzchniowych obserwacjach rozwoju zarodków sporocyst i redii i stanowią raczej konstrukcję myślową, mającą wyjaśnić problem rozmna-

zania bez udziału procesów płciowych. Poszukiwania idące w tym kierunku wynikły z mylnego założenia, że partenogenezę można udowodnić tylko przez wykazanie wiarygodnych procesów dojrzewania, zakończonych wyrzuceniem ciałek kierunkowych.

Poliembrionia w takim sensie, jaki jej nadano u *Digenea*, nie mieści się w definicji tego terminu (rozpad zarodka lub bruzdkującego jaja na części, z których rozwiną się samodzielne osobniki). Zastosowanie określenia „opóźniona poliembrionia” pozbawia ten termin właściwego znaczenia. Próba zastąpienia go przez wewnętrzne pączkowanie jednokomórkowe [8] też niczego nie wyjaśnia. Clark uważa, że jeżeli nie można ustalić jajowej lub niejajowej struktury komórek germinatywnych to nie ma kryteriów odróżniania pączkowania od partenogenezy. W związku z tym nie traktuje on komórek germinatywnych jako partenogenetyczne jaja, a uważa je za wewnętrzne jednokomórkowe pączki. Pączkowanie wewnętrzne zalicza Clark [7] do „rozmnażania regeneracyjnego”, którym to terminem proponuje objąć wszystkie formy namnażania, w których wzrastająca liczba potomstwa nie powstaje z jaj. Uważa on, że należy unikać paradoksalnej, jego zdaniem, sytuacji, kiedy w partenogenezie występują bezpłciowe jaja, a w pseudogamii pozornie płciowe zapłodnienie, chociaż przy braku syngamii nie ma płci, mimo że biorą w tym procesie udział i jaja, i plemniki.

Wydaje się, że tak ujęta sprawa pączkowania jest tylko różnicą terminologiczną, ponieważ nie przeszkadza Clarkowi [8] akceptować tych wszystkich zmian i procesów, które zostały wykazane w badaniach cytologicznych.

Za partenogenetycznym rozmnażaniem sporocyst i redii przemawiają następujące argumenty:

1. Wyniki badań cytologicznych. W czasie przygotowania komórek germinatywnych do rozwoju tzn. podczas przejścia od komórki propagacyjnej, oddzielającej się w czasie bruzdkowania zapłodnionego jaja lub komórki germinatywnej poprzedniej generacji, do komórki germinatywnej, z której rozwinię się następna generacja (co odpowiada przejściu oogenezy w oocyty) występują pewne procesy mejotyczne, które jednak nie prowadzą do podziałów dojrzewania i wyrzucenia ciałek kierunkowych. W rezultacie komórki germinatywne mają diploidalną liczbę chromosomów. Badania cytologiczne, wprawdzie nieliczne, przedstawiają w sposób przekonujący zachodzące procesy mejotyczne, które mogą być w różnych grupach czy gatunkach przywrócone w różnym stopniu posunięte lub też mogą nie występować. Świadczy o tym jednak o wywodzeniu się komórek germinatywnych z komórek jajowych. Ważny jest również fakt, że te nieliczne obserwacje procesów mejotycznych dotyczyły komórek poprzedzających komórki germinatywne, natomiast tym ostatnim poświęcano najwięcej uwagi.

2. Organizacja wnętrza komórki rozrodczej. Zarówno tam, gdzie procesy mejotyczne w oogoniach (komórkach poprzedzających komórki germinatywne) były obserwowane, jak i w tych przypadkach gdzie obserwowano rozwój komórki germinatywnej bez badań cytologicznych, stwierdzono te same sekwencje podziałów bruzdkowania. Są one dokładnie takie same jak sekwencje podziałów zapłodnionego jaja. Świadczy to o takiej samej organizacji komórki jajowej i komórek germinatywnych, i tym samym może potwierdzać jajowy charakter komórek germinatywnych.

3. Ciągłość linii płciowej. Oddzielanie się komórki propagacyjnej i związana z tym wczesna segregacja komórek rozrodczych występuje też w innych typach świata zwierzęcego. Dobrze udokumentowane przykłady rozwoju linii płciowej znane są u *Diptera* i *Anura* [11]. Powstające w trakcie bruzdkowania zapłodnionego jaja *Drosophila*, na jego tylnym końcu, komórki polarne są prekursorami pierwotnych komórek płciowych. W dalszym rozwoju razem z częścią blastodermę przesuwają się ku grzbietowej części zarodka, wchodzą w obręb tylnej części jelita środkowego i razem z nim wpuklają się do wnętrza zarodka. Komórki polarne opuszczają potem jelito, przebijają się przez jego ściankę i przemieszczają się wewnątrz zarodka aż do miejsca, w którym powstaną przyszłe gonady. Po otoczeniu się przez somatyczne elementy mezodermalne, komórki polarne przekształcają się w pierwotne komórki płciowe. Proces różnicowania jaja odbywa się dopiero w stadium poczwarki.

Przedstawione skrótkowo losy komórek płciowych *Drosophila* pozwalają łatwiej zrozumieć płciowy charakter rozmnażania sporocyst i redii, generacji uważanych za pedogenetyczne larwy płciowych przodków [21]. Niezależny rozwój linii płciowej i możliwość rozwoju pierwotnych komórek płciowych przed pojawieniem się gonady może w dużym stopniu wyjaśnić brak gonady w tych pedogenetycznych pokoleniach przywr. Natomiast sam fakt występowania ciągłości linii płciowej wskazuje na jajowy charakter komórek germinatywnych. Komórki te rozmnażają się partenogenetycznie, nie przechodząc mejozy. Podziały komórek germinatywnych, znajdujących się w subtegumencie sporocysty można traktować [14] jako homologiczne mitotycznym podziałom komórek płciowych w gonadach osobników hermafrodytycznych przywr, w wyniku których powstają oogonie i spermatogonie, a pojedyncze komórki germinatywne jako diploidalne partenogenetyczne jaja (odpowiednio oogonie i oocyty [15]). Natomiast powstanie mas zarodkowych, tak jak u *Bucephalopsis haimeana*, można traktować jako poliembrionię diploidalnego partenogenetycznego jaja, chociaż obserwacje prowadzone u innych gatunków przywr wskazują, że nie ma różnic między komórkami germinatywnymi w subtegumencie, w cystach zarodkowych i w masach zarodkowych, które znajdują się w jamie ciała sporocyst.

Przedstawione argumenty przemawiają za traktowaniem rozmnażania się sporocyst i redii jako partenogenezy, odpowiadającej w klasyfikacji Suomalainena [23] partenogenezie somatycznej (diploidalnej) apomiktycznej, która jest modyfikacją rozmnażania płciowego. Powstała ona jako adaptacja do pasożytnictwa, zmierzająca do szybkiego zwiększenia liczby potomstwa, co przy parokrotnej zmianie środowiska, zanim pasożyt osiągnie żywiciela ostatecznego, jest bardzo istotne. Wczesne oddzielenie się materiału płciowego od somatycznego może korzystnie chronić materiał genetyczny od wpływu środowiska zewnętrznego i innych niekorzystnych czynników.

INTERPRETACJA CYKLU ROZWOJOWEGO PRZYWR

Przyjęcie partenogenezy, poliembrionii lub innych form rozmnażania bezpłciowego sporocyst i redii w zasadniczy sposób wpływa na interpretację cyklu rozwojowego *Digenea*. Zasadniczo istnieją dwie cał-

kowiecie przeciwstawne interpretacje — przemiana pokoleń i pojedyncza ontogeneza z metamorfozą. Pierwsza powstała w połowie XIX w., przy czym Steenstrup [22] uważał, że jest to przemiana hermafrodytycznego pokolenia płciowego i bezpłciowo rozmnażających się sporocyst i redii (przemiana pokoleń typu metagenezy), Grobben [13], Leuckart [16] i Schwarze [20] przyjmowali partenogenetyczne rozmnażanie się sporocyst i redii, zmieniających się z pokoleniem hermafrodytycznym (heterogeneza), a Claus [9] uważa sporocysty i redie za pedogenetyczne larwy, rozmnażające się partenogenetycznie. Drugi sposób interpretacji przedstawiony jest w koncepcji Brooksa [3], według którego cykl rozwojowy zamyka się w obrębie jednego pokolenia zamkniętego w granicach od rozwoju zapłodnionego jaja do wytworzenia gamet w osobniku hermafrodytycznym. Brooks traktuje sporocysty i redie jako stadia rozwojowe i uważa je za pochodne pierwszej komórki propagacyjnej, formującej się w czasie pierwszego podziału zapłodnionego jaja. Dalsze podziały komórki propagacyjnej dają grupę komórek (rozpatrywanych jako oogonie), które dzielą się przedwcześnie nie przechodząc mejozy, a z każdego tak powstałego blastomeru rozwija się zarodek. Liczba powstałych zarodków odpowiada liczbie blastomerów (poliembryonia). Przedwczesne bruzdkowanie hamuje rozwój somy rozwijających się osobników, w których znów bardzo wcześnie oddziela się komórka zarodkowa i poprzednia sytuacja powtarza się — w ten sposób powstają sporocysty i redie, a w nich w podobny sposób rozwijają się cercarie. W tym jednak przypadku nie ma hamowania rozwoju somy, więc powstaje postać hermafrodytyczna. W ten sposób zachowana jest ciągłość linii płciowej.

Z przedstawionymi tu koncepcjami ujęcia cyklu rozwojowego przywrócić się problem generacji. Zwolennicy przemiany pokoleń (metagenezy i heterogenezy) jako pokolenie traktują następujące po sobie w cyklu rozwojowym osobniki, których osobnicze życie kończy się wydaniem potomstwa. Niektóre z tych pokoleń przechodzą metamorfozę: sporocysta macierzysta, której larwą jest miracidium, osobniki hermafrodytyczne z ich kolejnymi stadiami larwalnymi cercarią i metacercarią (czasami też mezocercarią); inne rozwijają się bez metamorfozy: sporocysty potomne, redie macierzyste, redie potomne. Natomiast z punktu widzenia teorii Brooksa cały cykl rozwojowy od zapłodnionego jaja do postaci hermafrodytycznej dojrzałej płciowo traktowany jest jak jedno pokolenie, jedna ontogeneza. Podobne ujęcie cyklu rozwojowego proponuje ostatnio Clark [8]. Pokolenie rozpatruje on w sensie jednostki genealogicznej a nie w odniesieniu do produkcji potomstwa. Zdaniem Clarka taka definicja odzwierciedla sposobność rekombinacji genetycznej i odpowiada okresowi pomiędzy zapłodnieniem jaja, które oznacza moment inicjacji nowego osobnika a podziałami meiotycznymi, które są początkiem embriogenezy w ich potomstwie. Wychodząc z takiego założenia, uważa on cykl rozwojowy przywr za sekwencje stadiów wewnątrz pojedynczej historii życiowej (ontogenezy) związanej kolejnymi metamorfозami. Nie ma przemiany pokoleń a tylko sekwencja morf wewnątrz generacji.

Nie można bez zastrzeżeń zgodzić się z taką koncepcją generacji. Po pierwsze dlatego, że jako odstęp między rekombinacjami genów może być rozpatrywana tylko u organizmów rozmnażających się płcio-

wo, i to nie wszystkich. Na przykład u poliploidalnych wirków [2] występuje ciekawy sposób regulacji materiału chromatynowego oraz zdolność do rozwoju jaj po zaplemnieniu ale bez zapłodnienia. Jądro plemnika, który wniknął do oocyty jeszcze przed podziałami dojrzewania, zostaje usunięte w trakcie dojrzewania komórki jajowej, która z punktu widzenia materiału genetycznego rozwija się dalej właściwie jak partenogenetyczne jajo (*Dugesia benazzi*). Podobne zjawiska mogą zachodzić również u poliploidalnych przywr. Jak więc w przypadku braku rekombinacji przedstawia się problem generacji? Po drugie przebieg cyklu rozwojowego przywr nie odpowiada definicji metamorfozy, która dotyczy zmiany budowy zwierzęcia w czasie przejścia od jednego do drugiego stadium rozwoju osobniczego. W przypadku przywr osobnik macierzysty produkuje potomstwo o innej budowie, a sam niezmienny żyje pewien czas obok niego, co nie jest przecież metamorfozą. Tak samo jak w przypadku poliembrii, zastosowanie terminu metamorfoza w stosunku do cyklu rozwojowego przywr pozbawia ten termin precyzji i zmienia jego znaczenie. Przyjęcie partenogenezy jako sposobu rozmnażania się sporocyst i redii zwalnia z potrzeby poszukiwania tak skomplikowanego sposobu widzenia generacji i pozwala na stosowanie kryteriów reprodukcyjnych.

PODSUMOWANIE

Na tle dotychczasowych badań i dzisiejszego stanu wiedzy można uznać za najbardziej uzasadniony pogląd, który traktuje cykl rozwojowy jako przemianę pokoleń — obupłciowego i kilku partenogenetycznych (heterogeneza). W cyklu rozwojowym występują następujące generacje: sporocysta macierzysta, której larwą jest miracidium, sporocysta potomna (tylko jedna generacja), pokolenie hermafrodytyczne, którego larwami są cercarie, metacercarie, a w niektórych cyklach też mezocercarie. Drugi wariant cyklu rozwojowego to sporocysta macierzysta, redia macierzysta, redia potomna (kilka generacji), pokolenie hermafrodytyczne. Dla wszystkich generacji rozmnażających się partenogenetycznie używa się w literaturze terminu partenita, zaproponowanego przez Sinicyna [21], natomiast dla pokolenia hermafrodytycznego — marita. Pokolenie partenit uważa się za pedogenetyczne larwy. Rozmnażają się one przez partenogenezę somatyczną (diploidalną) apomiktyczną, która jest modyfikacją rozmnażania płciowego, marity natomiast przechodzą zwykły proces dwupłciowego rozmnażania. W polskiej terminologii partenita i marita jeszcze się nie przyjęły.

LITERATURA

- [1] Bednarz S. — *The developmental cycle of germ cells in Fasciola hepatica* L. 1758 (Trematodes: Digenea). *Zoologica Pol.*, 12, 439—466, 1962.
- [2] Benazzi Lentati G. — *Gametogenesis and egg fertilization in planarians*. *Int. Rev. Cytol.*, 27, 101—179, 1970.
- [3] Brooks F. G. — *Studies on the germ cell cycle of trematodes*. *Am. J. Hyg.*, 12, 299—340, 1930.

- [4] Cable R. M. — *Parthenogenesis in parasitic helminths*. Am. Zool., 11, 267—272, 1971.
- [5] Cary L. R. — *The life history of Diplodiscus temperatus* Stafford with especial reference to the development of the partenogenetic eggs. Zool. Jb., Abt. Anat. Ont., 28, 595—659, 1909.
- [6] Chen P.-D. — *The germ cell cycle in the trematode Paragonimus kellicotti* Ward. Trans. Am. microsoc. Soc., 56, 208—236, 1937.
- [7] Clark W. C. — *The ecological implications of parthenogenesis*. 103—113 (A. D. Love (Ed.) — *Perspectives in Aphid Biology*) (Entomological Society of New Zealand Bulletin 2), 1973.
- [8] Clark W. C. — *Interpretation of life history pattern in the Digenea*. Int. J. Parasit., 4, 115—123, 1974.
- [9] Claus C. F. W. — *Zur morphologischen und phylogenetischen Beurteilung des Bandwurmkörpers*. Wien. klin. Wsch., 2, 36, 697—700, 37, 716—718, 1889.
- [10] Cort W. W., Ameel D. J., Van der Woude A. — *Germinal development in the sporocysts and rediae of the digenetic trematodes*. Expl Parasit., 3, 185—255, 1954.
- [11] Czołowska R. — *Linia płciowa a ciągłość struktur cytoplazmatycznych*. Kosmos, Warszawa, Ser. A, 23, 335—350, 1974.
- [12] Ginecinskaja T. A. — *Trematody, ih žiznennye cikly, biologija i evolucija*. Izd. Nauka, Leningrad, 411, 1968.
- [13] Grobben C. — *Doliolum und sein Generationswechsel nebst Bemerkungen über der Generationswechsel der Acephalen, Cestoden und Trematoden*. Arb. zool. Inst. Univ. Wien, 4, 1882.
- [14] James B. L., Bowers E. A. — *Reproduction in the daughter sporocyst of Cercaria bucephalopsis haimeana* (Lacaze-Duthiers, 1854) (Bucephalidae) and *Cercaria dichotoma* Lebour, 1911 (non Müller) (Gymnophallidae). Parasitology, 57, 607—625, 1967.
- [15] Khalil G. M., Cable R. M. — *Germinal development in Philophthalmus megalurus* (Cort, 1914) (Trematoda: Digenea). Z. Parasit. Kde, 31, 211—231, 1968.
- [16] Leuckart R. — *Die menschlichen Parasiten und die von ihnen herrührenden Krankheiten. Ein Hand- und Lehrbuch für Naturforscher und Aerzte*. Leipzig u. Heidelberg, 766, 1963.
- [17] Leuckart R. — *The parasites of man, and the diseases which proceed of them. A textbook for students and practitioners. Natural history of parasites in general. Systematic account of the parasites infesting man. Protozoa-Cestoda*. Transl. from the German with the cooperation of the author. Edinburgh, 771, 1886.
- [18] Pearson J. C. — *A phylogeny of life-cycle patterns of the Digenea*. Advances in Parasitology, 10, 153—189, 1972.
- [19] Rees G. — *Studies on the germ cell cycle of the digenetic trematode Parorchis acanthus* Nicoll. Part II. Structure of the miracidium and germinal development in the larval stages. Parasitology, 32, 372—390, 1940.
- [20] Schwarze W. — *Die postembryonale Entwicklung der Trematoden*. Ztschr. wissensch. Zool., 43, 41—86, 1885.
- [21] Sinicyn D. F. — *Materijaly po estestvennoj istorii trematod. Distomy ryb i ljagušek okrestnostej Varšavy*. Izv. varš. Univ., 7—9, 1—96, 1905.
- [22] Steenstrup J. J. S. — *Über den Generationswechsel oder die Fortpflanzung und Entwicklung durch abwechselnde Generationen, eine eigen-*

- tümliche Form der Brutpflege in den niederen Tierklassen. Copenhagen, 140, 1842.
- [23] Suomalainen E. — *Parthenogenesis' in animals*. Advances in genetics, 3, 193—253, 1950.
- [24] Ulmer M. J., Vande Vusse F. J. — *Morphology of Dendritobilharzia pulverulenta* (Braun, 1901) Skrjabin, 1924 (Trematoda: Schistosomatidae) with notes on secondary hermaphroditism in males. J. Parasit., 56, 67—74, 1970.
- [25] Walton A. C. — *Some parasites and their chromosomes*. J. Parasit., 45, 1—20, 1959.
- [26] White M. J. D. — *Animal cytology and evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, 1945.
- [27] Woodhead A. E. — *The germ cel cycle in the trematode family Bucephalidae*. Trans. Am. microsc. Soc., 50, 169—187, 1931.
- [28] Woodhead A. E. — *The germ cell cycle in trematodes*. J. Parasit., 19, 164, 1932.
- [29] Woodhead A. E. — *Bisexual reproduction in the mother sporocyst of Paragonimus kellicotti* (Trematoda). Trans. Am. microsc. Soc., 73, 16—28, 1954.
- [30] Woodhead A. E. — *The germ cell cycle in the trematode family Brachylaemidae*. Trans. Am. microsc. Soc., 74, 28—37, 1955.
- [31] Woodhead A. E. — *Germ cell development in the first and second generations of Schistosomatium douthitti* (Cort, 1914) Price, 1931 (Trematoda. Schistosomatidae). Trans. Am. microsc. Soc., 76, 173—176, 1957.

NARZĄDY WĘCHU RYB

Węch jest jednym z dominujących zmysłów u bardzo wielu gatunków zwierząt zarówno lądowych jak i wodnych. U większości ryb zmysł powonienia odgrywa ważną rolę w orientacji przestrzennej, w zdobywaniu pokarmu, w reakcjach obronnych oraz gwarantuje zachowanie gatunku. Stopień wrażliwości węchowej jest ściśle związany z ekologią poszczególnych gatunków.

U ryb o słabych zdolnościach węchowych, nazywanych mikrosmatycznymi np. szczupak, stynka, nadymkowate, rola węchu jest znikomą [15]. Narządy węchu są u nich słabo wykształcone. Ryby o dobrze rozwiniętym zmysle powonienia, nazywane makrosmatycznymi, charakteryzują się wysoką wrażliwością na różnorodne substancje w szerokim zakresie ich stężeń. Zmysłowa część narządów węchu (rozety węchowe) jest u nich znacznie silniej wykształcona niż u ryb mikrosmatycznych. Do ryb makrosmatycznych zaliczane są tak powszechnie znane gatunki jak rekin, węgorz, miętus, piskorz i pstrąg. Pod względem wrażliwości węchowej węgorz i rekin mogą być porównywane z nadzwyczaj dobrym węchowcem lądowym, jakim jest pies. Są znane przypadki nocnych wędrówek węgorzy na żer do rozkładających się szczątków zwierząt, znajdujących się w znacznej odległości od zbiorników wodnych. Drapieżne rekiny i piranie są silnie wyczulone na zapach krwi i mogą być niebezpieczne nawet dla dużych zwierząt lekko zranionych w wodzie. Zatem gatunki te są wrażliwe na śladowe nawet ilości substancji zapachowych i potrafią bardzo dokładnie zlokalizować ich źródło z dużej odległości. Miętus jest drapieżnikiem nocnym i zdobycz odnajduje głównie przy pomocy węchu, zaś głodzony, a doświadczalnie pozbawiony węchu, nie reaguje na pokarm nawet z odległości 1 cm.

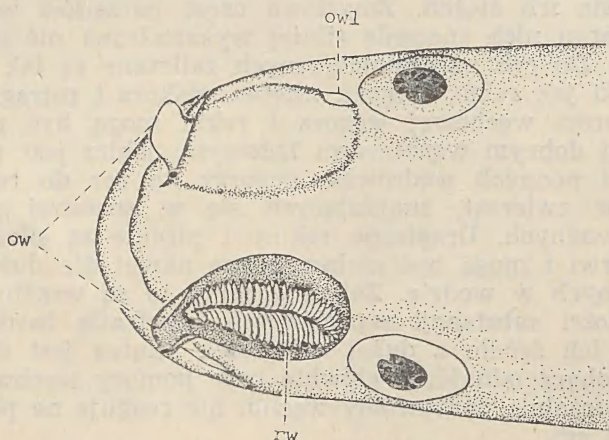
Konwencjonalny podział ryb na mikro- i makrosmatyczne jest w dużym stopniu umowny, gdyż większość gatunków zajmuje położenie pośrednie. W okresie godowym obie grupy ryb wykazują zwiększoną wrażliwość na specyficzne zapachy, jak zapach płci odmiernej lub zapach tarlisk. Ryby łososiowate wędrują na tarliska do rzek, bezbłędnie odnajdując „rodzinne miejsca”, odległe nieraz o tysiące kilometrów.

U stadnych gatunków ryb karpiokształtnych stwierdzono dużą wrażliwość na substancje zawarte w kolbkowych komórkach gruczołowych naskórka. Zawartość tych komórek, uwalniana przy zranieniu ryby, wywołuje reakcję strachu u innych członków stada. W związku z tym substancje te nazwano alarmowymi [20]. Reakcja strachu pojawia się w pewnym stadium rozwoju ryby, dopiero wtedy, gdy w jej skórze uformują się komórki kolbkowe. Niektóre gatunki są także wrażliwe na substancje zapachowe wydzielane przez drapieżniki.

Pomimo istniejących różnic w wykształceniu narządów węchu pod względem anatomicznym oraz ich wrażliwości, ogólny plan budowy tych narządów i nabłonka zmysłowego u poszczególnych gatunków jest podobny.

U kręgowców (minog, śluzica) występuje jeden tylko worek węchowy, otwierający się na zewnątrz nieparzystym przewodem. Narząd węchu u minoga kończy się ślepo w okolicy przysadki, zaś u śluzicy otwiera się do gardzieli. Nieparzystość narządu węchu kręgowców jest zapewne zjawiskiem wtórnym, na co wskazuje obecność u nich dwóch nerwów węchowych.

Narządy węchu ryb mają postać dołków o różnych wymiarach i kształtach. U ryb spodoustych dołki węchowe znajdują się na spodzie głowy, pomiędzy jej przednim końcem a otworem gębowym. Wyjątek stanowi *Chamydoselachus*, u którego narządy węchu znajdują się na górnej stronie pyska. Dołki węchowe, położone w różnej odległości od otworu gębowego, mają owalny kształt. Brzegi dołków zaopatrzone są w wyrostki, które w różnym stopniu mogą przykrywać dołek, najczęściej tworzą skórny pomost dzielący dołek na dwie części. Powstają w ten sposób dwa otworki: przednim woda dostaje się do dołka a tylnym wypływa, kierując się do otworu gębowego.

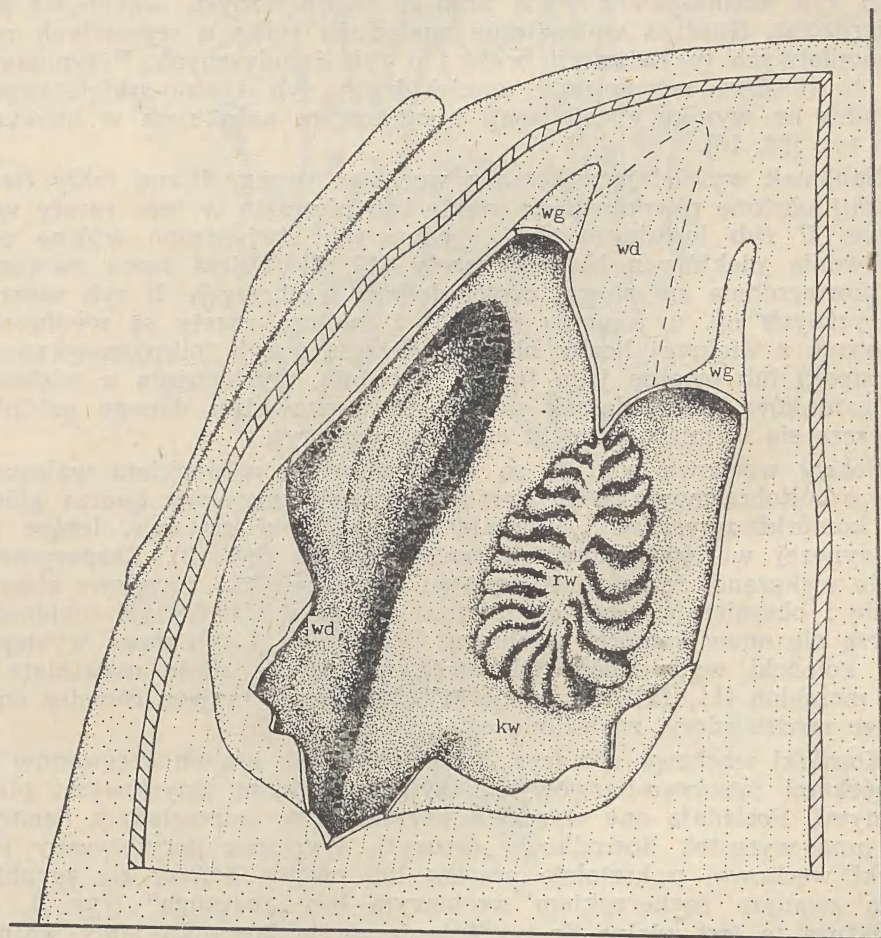


Rys. 1. Narządy powonienia węgorza; po stronie lewej wycięto skórę i tkanki odsłaniając rozetę węchową.

ow — otwór wlotowy, owl — otwór wylotowy, rw — rozeta węchowa (wg Kałuży [17], uzupełnione).

U ryb kostnoszkieletowych dwa dołki węchowe mieszczą się po stronie grzbietowej, pomiędzy końcem pyska i oczami. Każdy z nich otwiera się na zewnątrz zwykle dwoma otworami (nozdrzami): przednim — wlotowym i tylnym — wylotowym (rys. 1). Otwór wlotowy może być zaopatrzony od tyłu w specjalny, wystający do góry fałd, kierujący wodę do jamy nosowej w czasie ruchu ryby. U węgorza otwór wlotowy znajduje się na końcu skierowanej do przodu rury (rys. 1), u podeszwicy oba otwory leżą na końcach rurek. U ryb cieternikowatych oraz antarktycznych ryb nototeniokształtnych dołki węchowe otwierają się na zewnątrz wspólnym otworem każdy.

Woda może przepływać przez narząd węchu w sposób bierny, podczas poruszania się zwierzęcia, bądź też prąd wody może być podtrzymywany ruchem rzęsek wewnątrz jamy węchowej (np. węgorz i szczupak). U większości ryb w dołku węchowym wyróżnia się komorę węchową z rozetą oraz worki nosowe będące uchyłkami komory węchowej (rys. 2). Poruszające się kości szczękowe i międzyszczękowe zmieniają pojemność worków, co z kolei powoduje wymianę wody omywającej rozetę węchową. Wśród ryb kostnoszkieletowych najsilniej wykształcone worki nosowe stwierdzono u antarktycznych ryb



Rys. 2. Dołek węchowy *Gymnodraco acuticeps* Boul., górną ścianę z otworem węchowym zewnętrznym usunięto.

kw — komora węchowa, rw — rozeta węchowa, wd — worki nosowe dolne, wg — worki nosowe górne (wg Jakubowskiego [16]).

nototeniokształtnych [16]. Worki nosowe dolne sięgają u nich aż pod spód czaszki do elastycznej wyściółki podniebienia. Dzięki temu, oprócz mechanicznego oddziaływania kości trzewio czaszki, na elastyczne worki nosowe działają także siły ssąco-tłoczące jamy gębowej i komory

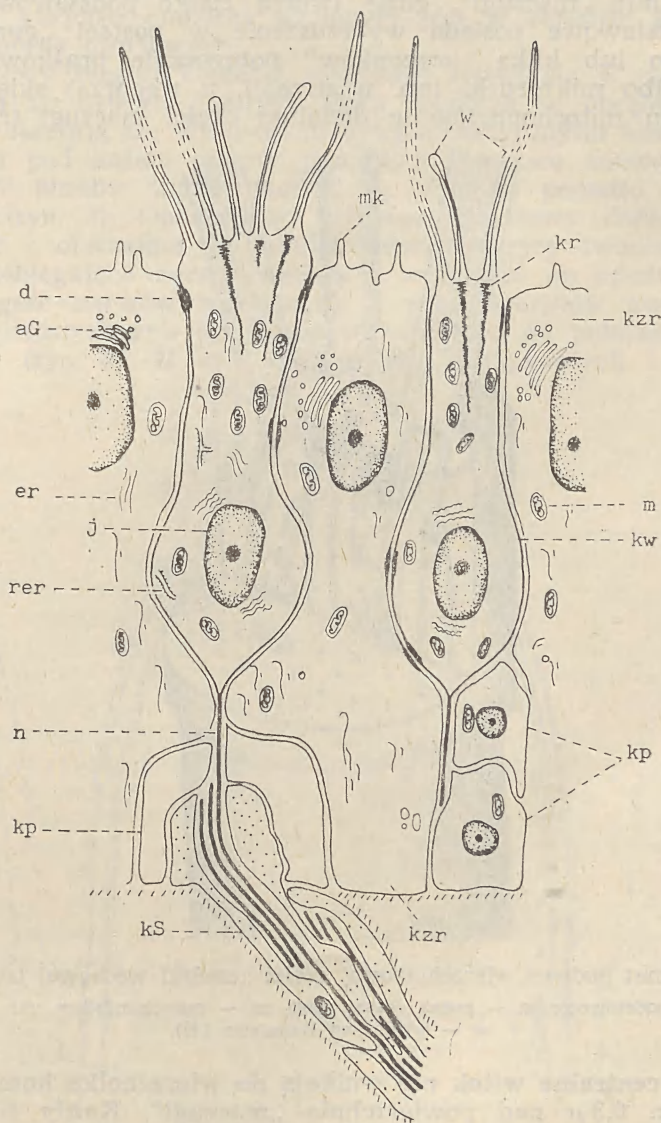
skrzelowej, powstające podczas ruchów oddechowych aparatu skrzelowego. W konsekwencji następuje sprawniejsza rytmiczna wymiana wody w komorach węchowych. U jednego z tych gatunków (*Gymnodraco acuticeps* Boul.) stwierdzono połączenie worków nosowych z jamą gębową, a więc obecność nozdrzy wewnętrznych [16]. Jest to dalsze usprawnienie budowy jam nosowych, gdyż u *Gymnodraco* woda zasysana do jam nosowych przepływa przez choany do jamy ustnej; cyrkulacja w kierunku odwrotnym jest niemożliwa. Dzięki temu staje się możliwa podwójna kontrola tej samej próbki wody, przez receptory rozet węchowych i przez receptory smakowe jamy gębowej. U niższych ryb kostnoszkieletowych nozdrzy wewnętrznych dotychczas nie stwierdzono. Nozdrza wewnętrzne znaleziono tylko u wymarłych ryb trzonopłetwych (u *Latimerii* brak) i u ryb dwudysznych. Przypuszcza się, że nozdrza wewnętrzne u niektórych ryb kostno-szkieletowych powstały w wyniku specjalizacji i są nowym nabytkiem w ewolucji tych ryb [22, 16].

Nabłonek wyścielający komory węchowe tworzy liczne fałdy (tzw. blaszki) ułożone równolegle do siebie lub pierzasto w tzw. rozety węchowe. U ryb łososiowatych i spodoustych stwierdzono wtórne pofałdowania niektórych blaszek rozety [19, 6]. Dzięki temu zwiększa się powierzchnia zmysłowej części dołków węchowych. U ryb makrosmatycznych np. u węgorza (rys. 1) i miętusa rozety są wydłużone i złożone z większej liczby blaszek, okrągłe u ryb mikrosmatycznych (szczupak) lub owalne jako forma pośrednia, występująca u większości gatunków. Ilość blaszek w rozecie węchowej u danego gatunku zwiększa się w miarę wzrostu ciała młodych ryb.

Rozety węchowe pokryte są wielorzędowym nabłonkiem walcowatym o żółtobrazowym zabarwieniu. Nabłonek zmysłowy tworzą głównie komórki zmysłowe i otaczające je komórki zrębowe, leżące na pojedynczej warstwie komórek podstawowych (rys. 3). Eksperymentalnie wykazano, że w miarę upływu czasu komórki zmysłowe starzeją się i obumierają a w ich miejsce z komórek twórczych nabłonka tworzą się nowe komórki węchowe. Dodatkowo u ryb mogą występować komórki wydzielnicze (śluzowe), szczególnie silnie rozwinięte u ryb morskich [11, 12] oraz komórki labiryntowe, mające również charakter wydzielniczy, znalezione ostatnio u troci [5].

Komórki węchowe ryb (rys. 3) podobnie jak innych kręgowców są komórkami czuciowo-nerwowymi czyli komórkami zmysłowymi pierwotnymi. Posiadają one wyrostek peryferyczny (odpowiednik dendrytu) oraz wyrostek dośrodkowy (neuryt). Wyrostek peryferyczny komórki węchowej o kształcie pręcika lub czopka kończy się zgrubieniem zwanym pęcherzykiem węchowym lub „maczugą” (rys. 3, 4). Struktura ta jest zdolna do wydłużania się w kierunku jamy węchowej lub kurczenia w głąb nabłonka [23]. U większości ryb w nabłonku zmysłowym znajduje się jeden rodzaj komórek węchowych, które na końcu maczugi posiadają 5—20 witek. Długość witek wynosi 15 do 20 μ i grubość 0,2 do 0,5 μ [9]. Witki mogą być dwojakiego rodzaju: krótsze, zakończone zgrubieniem oraz dłuższe, zwężające się stopniowo ku wierzchołkowi. Zdarzają się również u ryb kostnoszkieletowych (np. u sumy) komórki węchowe posiadające obok zwyczajnych witek pęczki złożone z 15 do 30 witek krótszych i cieńszych. Takie zgrupowanie witek zajmuje pole o średnicy 1 do 1,5 μ [9]. Witki komórek zmysło-

wych są około dwukrotnie krótsze od rzęsek komórek nabłonka wyścielającego niezmysłową część jamy węchowej. Ruch witek jest nie-



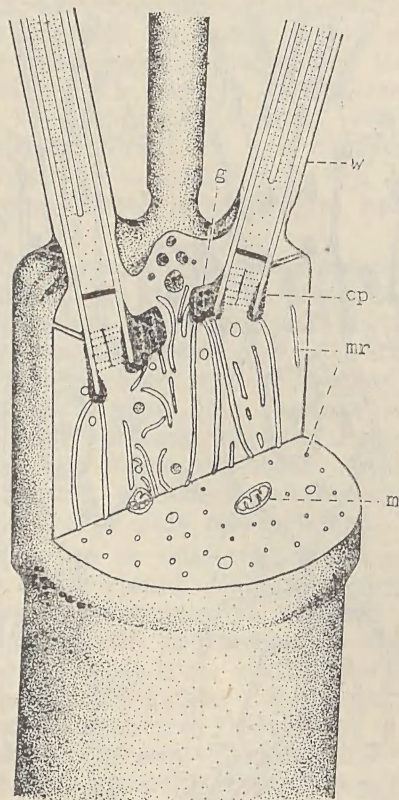
Rys. 3. Schemat budowy nabłonka węchowego ryb.

aG — aparat Golgiego, d — desmosomy, er — siateczka endoplazmatyczna gładka, j — jądro komórkowe, kr — korzonek, ks — komórka Schwanna, kw — komórka węchowa, kzr — komórka zrębowa, mk — mikrokosmki, n — neuryt, rer — siateczka endoplazmatyczna szorstka, w — witek (na podstawie rycin Bronsteina [8, 9] oraz Gemne i Doving [14]).

równomierny i niesynchronizowany i w niczym nie przypomina ruchu rzęsek nabłonka migawkowego [8].

Witki od zewnątrz pokryte są błoną plazmatyczną, a wewnątrz zawierają dwa filamenty centralne i dziewięć par filamentów pery-

ferycznych. Filamenty peryferyczne pojedynczych witek, jak również należących do pęczków, swoją podstawową częścią zanurzone są w cytoplaźmie „maczugi”, gdzie tworzą ciało podstawowe (rys. 4). Ciało podstawowe posiada wybrzuszenie w postaci „guzka” (basal foot), jeden lub kilka „korzonków” poprzecznie prążkowanych (np. u suma) albo mikrorurki (np. u strzebli, u węgorza) skierowane ku zgrupowaniu mitochondriów w distalnej części maczugi (rys. 3 i 4).



Rys. 4. Schemat budowy wierzchołkowej części komórki węchowej tzw. „maczugi”.

cp — ciało podstawowe, g — guzek (basal foot), m — mitochondrium, mr — mikrorurki, w — witki (wg Bannister [4]).

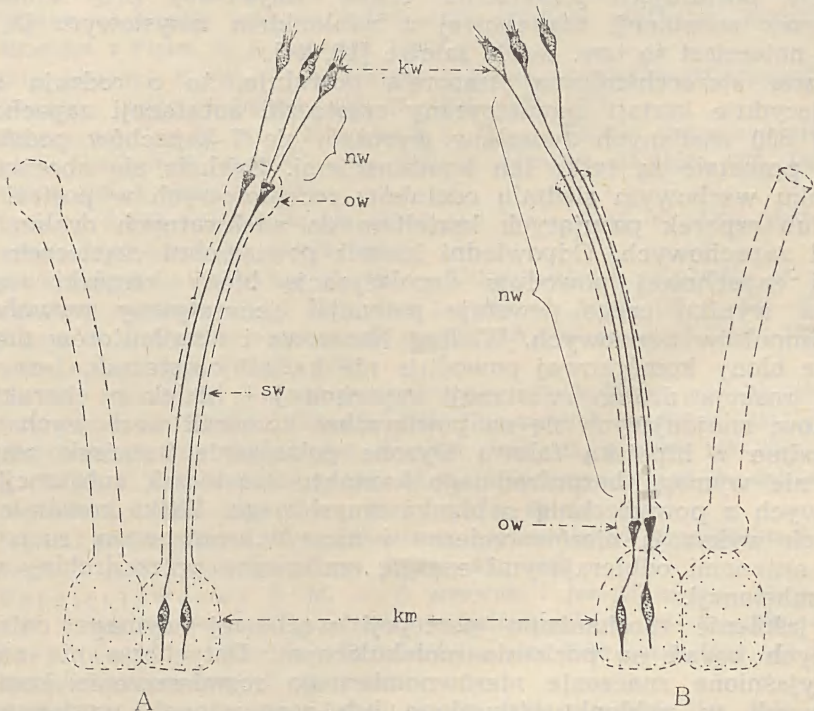
Filamenty centralne witek nie wnikają do wierzchołka komórki i kończą się ok. $0,3\mu$ nad powierzchnią „maczugi”. Każdy filament ma wygląd prostego cylindra, w ścianie którego znajduje się 10 podłużnie ustawionych włókienek o średnicy 35 do $40\text{ \AA}$, składających się z paciorkowatych tworów oddalonych o ok. $90\text{ \AA}$ od siebie. Włókienka te są zbudowane z polipeptydów typu β zbliżonych do miozyny. Kurczą się one pod wpływem ATP nawet pośmiertnie [3, 1].

Poza komórkami zmysłowymi z witkami znaleziono u strzebli i węgorza jeszcze dwa inne typy komórek węchowych. Jedne z nich mają „maczugę” pokrytą wyłącznie mikrokosmkami posiadającymi centriole, co wskazywałoby, że są to niedorozwinięte lub niedojrzałe formy komórek z witkami. Drugi typ to nieliczne komórki zmysłowe posiadające na swojej powierzchni wypustkę o kształcie sztyfcika, do którego

z pęcherzyka węchowego wchodzi liczne włókna [4, 21]. Tego typu komórek nie znaleziono dotychczas u innych kręgowców.

Budowa korpusu komórki węchowej jest w zasadzie podobna do innych komórek czuciowych.

Dośrodkowy biegun komórki węchowej zwręży się w cienkie gładkie włókno tj. neuryt. Neuryty kilku komórek w obrębie warstwy zmysłowej otaczają się wyrostkami cytoplazmatycznymi komórek podporowych i pod kątem ostrym przenikają warstwę komórek podstawowych. W obrębie tkanki łącznej są otoczone ponadto komórkami Schwanna (rys. 3). Opuszczając nabłonek zmysłowy dołków węchowych wraz z otaczającą je tkanką łączną neuryty tworzą dwa medialnie przebiegające nerwy węchowe, wnikające do opuszek węchowych. Długość nerwów węchowych a więc neurytów komórek węchowych u różnych ryb jest różna w zależności od położenia opuszek węchowych (rys. 5). U ryb spodoustych, karpioatych i dorszowa-



Rys. 5. Drogi węchowe różnych ryb (schemat): A — spodoustych, karpioatych, dorszowatych, B — pozostałych ryb.

km — kresomózgowie, kw — komórki węchowe, nw — neuryty tworzące nerw węchowy, ow — opuszki węchowe, sw — szlak węchowy (wg Bodrowej [7], nieco zmienione).

tych nerw węchowy jest bardzo krótki. U przeważającej większości ryb opuszki węchowe przylegają do kresomózgowia i u nich nerwy węchowe są długie. Neuryty komórek nerwowych usytuowanych w opuszkach tworzą szlak węchowy prowadzący wprost do ośrodka węchowego znajdującego się w ciałku prążkowanym. U kręgowstych narządy węchu przylegają do silnie wykształconych płatów węchowych kresomózgowia i u nich nerw jak i szlak węchowy są skrajnie krótkie.

Nabłonek węchowy poza częścią zmysłową zawiera część podporowatą, tzw. komórki zrębowe. Biorą one udział w metabolizmie tkanki zmysłowej, podtrzymują komórki węchowe oraz je od siebie izolują. U ryb dotychczas nie znaleziono połączeń między komórkami węchowymi. Kontakt komórek węchowych między sobą za pomocą specjalnych wypustek stwierdzono u kręgowców lądowych [10]. Na granicy zetknięcia się komórek zmysłowych z komórkami zrębowymi występują desmosomy. U ryb część apikalna komórek podporowych zaopatrzona jest w nieliczne mikrokosmki (rys. 3). W górnej części komórek podporowych znajduje się słabo rozwinięty aparat Golgiego oraz ziarenka barwnika, który okolicy węchowej nabłonka nadaje brunatno-żółte zabarwienie.

Mechanizmy percepcji węchowej dotychczas nie zostały wyjaśnione jednoznacznie. Współczesne poglądy dotyczące pobudzenia komórek węchowych można podzielić na dwie grupy. Pierwsza obejmuje hipotezy postulujące pobudzenie części zmysłowej przy kontakcie cząsteczek substancji zapachowej z nabłonkiem zmysłowym [2, 18], druga natomiast to tzw. teorie falowe [13, 24].

Teoria stereochemiczna Amoore'a postuluje, że o rodzaju zapachu decyduje kształt geometryczny cząsteczki substancji zapachowej. Wśród 600 zbadanych związków wyróżnia się 7 zapachów podstawowych, pozostałe są tylko ich kombinacjami. Zakłada się obecność w nabłonku węchowym siedmiu odcinków receptorowych w postaci dołków lub szparek pasujących kształtem do adekwatnych drobin substancji zapachowych. Odpowiedni kształt powierzchni cząsteczek substancji zapachowej powoduje depolaryzację błony komórki węchowej, w wyniku czego powstaje potencjał generatywny wywołujący serię impulsów nerwowych. Według Nazarowa i współautorów depolaryzację błony komórkowej powoduje nie kształt cząsteczek, lecz wzajemna reakcja drobin substancji zapachowej i białek o charakterze enzymów, znajdujących się na powierzchni komórek węchowych.

Zgodnie z hipotezą falową Dysona pobudzenie komórek zmysłowych nie wymaga bezpośredniego kontaktu cząsteczek substancji zapachowych z powierzchnią nabłonka zmysłowego. Witki komórek węchowych wykazują nierównomierny i niesynchronizowany ruch i są jakby antenami odbierającymi energię emitowaną przez drobiny wonnych substancji.

Wyjaśnienie mechanizmu percepcji węchowej wymaga dalszych żmudnych badań na poziomie molekularnym. Dotychczas nie zostało też wyjaśnione znaczenie nierównomiernego rozmieszczenia komórek węchowych w nabłonku (skupione lub rozproszone), występowanie kilku rodzajów komórek węchowych i kilku rodzajów witek węchowych nawet u tego samego gatunku.

LITERATURA

- [1] Aleksandrow V. Ja., Arronet N. J. — *Adezinotrifosfat wyzywaet dwiżenie resniczek miercatielnogo epitelia ubitogo glicerimowej ekstrakcijej*. Dokł. AN SSSR, 110, 3, 457—460, 1956.
- [2] Amoore J. E. — *Stereochemical theory of olfaction*. Nature, 198, 4877, 271—272, 1963.

- [3] Atsbury W., Beington E. i Weibul C. — *The structure of bacterial flagella*. Symp. Soc. Exp. Biol. 9—282, 1955.
- [4] Bannister L. H. — *The fine structure of the olfactory surface of teleostean fishes*. Quart. J. micr. Sci., 106, 4, 333—342, 1965.
- [5] Bertmar G. — *Labyrinth cells, a new cell type in vertebrate organs*. Z. Zellforsch., 132, 245—256, 1972.
- [6] Bertmar G. — *Secondary folding of olfactory organ in young and adult sea trout*. Acta Zoologica, 53, 113—120, 1972.
- [7] Bodrowa N. W. — *Strojenije organa obonianijsa u niekotorych priesnowodnych ryb*. Biull. Inst. Wodochan., 6, 47—49, 1960.
- [8] Bronstein A. A. — *Prizizniennye nabludienija nad dwizeniem wołoskow oboniatelnykh kletok*. Dokl. AN SSSR, 156, 3, 715—718, 1964.
- [9] Bronstein A. A. i Piatkina G. A. — *Ultrastrukturnaja organizacija wołoskow oboniatelnykh kletok kostistych ryb*. Citologija, 8, 5, 642—645, 1966.
- [10] Bronstein A. A. i Piatkina G. A. — *Ultrastrukturnaja organizacija organa obonianijsa stiepnioj czieriepachi (Testudo horsfield)*. Żurnal Ewol. Biochim. i Fizioł., 4, 5, 449—455, 1968.
- [11] Diewiczyna G. W. — *Morfologija organow obonianijsa trieskowych (siem. Gadidae)*. Woprosy Ichtiol., 126, 77, 1094—1103, 1972.
- [12] Doroszenko M. A. i Pinczuk L. E. — *Nowyje dannyje o siekretornykh elemientach oboniatelnogo epitelia donnykh morskich ryb*. Dokl. AN SSSR, 219, 3, 756—758, 1974.
- [13] Dyson G. M. — *The Raman effect and the concept of odour, perfum and essen*. Oil Record, 28, 13—19, 1937.
- [14] Gemme G. i Doving K. B. — *Ultrastructural properties of primary olfactory neurons in fish (Lota lota L.)*. Am. J. Anat., 126, 4, 457—476, 1969.
- [15] Hara T. J. — *„Chemoreception” w: Fish physiology*. Acad. Press New York and London, 5, 4, 79—120, 1972.
- [16] Jakubowski M. — *Anatomical structure of olfactory organs provided with internal nares in the Antarctic fish Gymnodraco acuticeps Boul. (Bathylarconidae)*. Bull. l'Acad. Pol. Sc., Ser. biol., 23, 2, 1975, 115—120.
- [17] Kałuża J. — *The blood vessels of the olfactory organ of the eel (Anguilla anguilla L.)*. Acta Biol. Crac., Ser. zool., 2, 89—96, 1959.
- [18] Nazarow Ł. A. — *K miechanizmu rozdrażnienija oboniatelnykh receptorow u ryb*. Fizioł. Żurnal, 54, 7, 824—831, 1968.
- [19] Perejesławcewa S. M. — *O strojenii i formie organa obonianijsa u ryb*. Trudy St.-Petersburg. obszcz. jestestwoispyt., 9, 36—49, 1878.
- [20] Pfeiffer W. — *Über die Verbreitung der Schreckreaktion bei Fischen*. Naturwissenschaften, 47, 23, 1960.
- [21] Schulte E. — *Untersuchungen an der regio olfactoria des Aals Anguilla anguilla L.* Z. Zellforsch., 125, 210—228, 1972.
- [22] Szarski H. — *Pochodzenie płazów*. PWN, 1961.
- [23] Winnikow J. A. i Titowa Ł. K. — *Morfologija organa obonianijsa*. Miedgiz., M—L, 1957.
- [24] Wright R. H. — *Nauka o zapachu*. PWN, 1972.

BADANIE KRWI METODĄ ELEKTROD PROSZKOWYCH

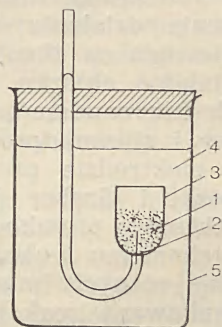
Wyniki badań, które przedstawiamy w tej pracy, należą do biofizyki, dyscypliny nauki zajmującej się fizycznymi i fizykochemicznymi aspektami procesów przebiegających w organizmach żywych lub związanych z wyodrębnionymi z nich organami, tkankami, komórkami lub cieczami ustrojowymi. W naszych doświadczeniach posłużyliśmy się elektrodami proszkowymi, w których adsorpcja na rozwiniętej powierzchni elektrody daje rejestrowany sygnał elektryczny — odpowiedni potencjał elektrody. Interpretacja tego sygnału, jego przebiegu w czasie, prowadzi do prawdopodobnego opisu procesów zachodzących na powierzchni lub w pobliżu rozdrobnionej fazy w elektrodzie proszkowej (w naszych badaniach — grafitu).

Elektrody proszkowe są narzędziem pracy badawczej od przeszło 20 lat. Różne ich warianty były opisywane szczegółowo [17, 18]. Na rysunku 1 przedstawiamy elektrodę pracującą w układzie nieruchomym, na rysunku 2 — elektrodę z przepływem gazu. Półogniwa zwane elektrodami proszkowymi służą do badania powierzchni fazy rozdrobnionej lub do badania cieczy, lub gazu stykających się z tą powierzchnią. Zmiany zachodzące w cieczy stykającej się z adsorbentem elektrody proszkowej powodują zmiany jej potencjału.

Elektrody proszkowe znalazły zastosowanie w różnych dziedzinach wiedzy [18], dla przykładu wymienimy z prac zagranicznych badanie aktywności katalitycznej [13], stanów powierzchni substancji nieorganicznych [11], określanie stężenia deuteru [19, 20].

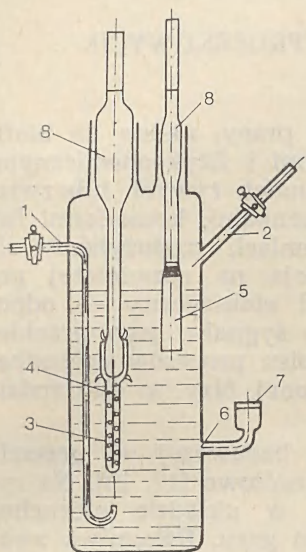
Rys. 1. Elektroda proszkowa.

1 — substancja rozdrobniiona; 2 — elektroda wyprowadzająca (druć platynowy wtopiony w dno próbówki, styka się z rtęcią, znajdującą się w rurce przytopionej do dna próbówki; rtęć jest łącznikiem z drutem miedzianym, dochodzącym do przyrządu pomiarowego); 3 — próbówka otwarta u góry, zawierająca rozdrobnioną substancję; 4 — roztwór ciekły; 5 — naczynie zewnętrzne.



Zwrócimy szczególną uwagę na biologiczne zastosowania elektrod proszkowych. Pierwszą pracę z tej dziedziny ogłosiła A. Hankus w 1963 r. [7]. Mierzyła ona i interpretowała potencjały utleniające-redukujące w ściekach, szlamach, zawiesinach liści, układach w trakcie

fermentacji. Grabiec i Michajłow [2] opisują elektrodę proszkową, w której zastosowali przepływ cieczy (roztwór fizjologiczny soli), a badali potencjometryczny obraz żywotności jaj *Fasciola hepatica*. Dalsze



Rys. 2. Węglowa elektroda proszkowa pracująca w przepływie chloru.

1 — wlot chloru; 2 — wypływ chloru; 3 — naczynie szklane o dziurkowanych ściankach, zawierające rozdrobniony węgiel aktywowany; 4 — platynowa elektroda wyprowadzająca; 5 — elektroda pomocnicza z blaszki platynowej; 6 — włókno azbestowe wtopione w ściankę szklaną; 7 — mostek elektrolityczny dla elektrody odniesienia; 8 — rtęć jako łącznik.

badania tego typu ci sami autorzy przeprowadzili z jajami *Triaenophorus nodulosus* [3]. Jest godne uwagi, że badania w elektrodach proszkowych mogą być prowadzone bez zabicia bądź uszkodzenia obiektu badań. Potencjometryczny obraz rozwoju jaj i coracidia *Triaenophorus nodulosus* opisali Grabiec, Guttowa i Michajłow [4], a Grabiec, Michajłow i Honowska zbadali tą samą metodą aktywność metaboliczną jaj i larw *Haemonchus contortus* [5].

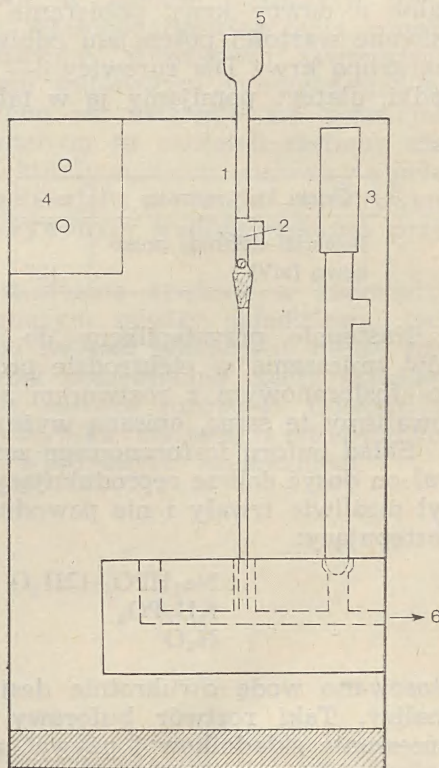
Janczarski, Lubaszka i Grabiec stosują elektrody proszkowe do śledzenia działania acetylocholino, chlorku acetylocholino oraz kwasu octowego na tkankę mózgową [8], a Janczarski, Lubaszka i Kłopotcki działanie chlorku acetylocholino na elektrody proszkowe zawierające lub nie zawierające tkanki mózgowej [9]. Badaniu wpływu inhibitorów i stymulatorów na tę tkankę oraz zachowaniu się samej tkanki w elektrodzie proszkowej poświęcona jest praca Janczarskiego, Lubaszki i Grabca [10]. Grabiec, Tomassi i Podbielski [6] zastosowali elektrody proszkowe obok śledzenia chemiluminescencji do badania mechanizmu reakcji utleniania pirogallolu nadtlenkiem wodoru w obecności różnych katalizatorów organicznych (enzymy) i nieorganicznych. Studiowana reakcja jest wzorcem w badaniach metabolizmu pasożytów.

W referowanych tu badaniach zastosowaliśmy elektrodę proszkową adaptowaną do układów biologicznych przez Grabca i Michajłowa [2]. Stosowany w niej jest przepływ cieczy. Wprowadziliśmy kilka modyfikacji, z których najważniejszą było zastosowanie rozdrobnionego grafitu jako fazy rozdrobnionej zamiast stosowanej przez Grabca i Michajłowa skrobii. Wykorzystywany przez nas układ obu elektrod proszkowej i odniesienia, przedstawiamy na rys. 3.

Korzystaliśmy z rozdrobnionego grafitu spektroskopowo czystego o powierzchni właściwej ok. $70 \text{ m}^2/\text{g}$. Jest on słabym adsorbentem, adsorbującym głównie fizycznie i jednocześnie wymiennikiem elektro-

Rys. 3. Zestaw pomiarowy z przepływową elektrodą proszkową.

1 — elektroda proszkowa; 2 — drut platynowy (elektroda wyprowadzająca), zanurzony w warstwie grafitu, spoczywającej na kłębku waty; 3 — nasycona elektroda kalomelowa; 4 — wyprowadzenie przewodów od elektrod do potencjometru; 5 — wlot cieczy badanej; 6 — wypływ cieczy.



nów z cząstkami, które bądź zaadsorbują się na graficie, bądź dostatecznie do niego zbliżą. Adsorbcja i wymiana elektronów wpływają na wartość skoku potencjału na granicy faz grafit/ciecz; zmiany rejestrowano elektrometrem, połączonym z samopisem. Wartość potencjału elektrody proszkowej (wynikająca ze skoku potencjału wspomnianej granicy faz), jest charakterystyczną dla składu fazy ciekłej i biegnących w niej procesów.

W pierwszej części naszej pracy zastosowaliśmy metodę elektrod proszkowych do badania surowicy krwi ludzkiej. Surowicę rozcieńczoną buforem fosforanowym lub nie rozcieńczoną przepuszczano przez elektrodę proszkową (1 na rys. 3). Po pewnym czasie trwania przepływu potencjał elektrody proszkowej ustalał się. Tę ustaloną wartość przyjmowaliśmy za charakterystyczną. Pracowaliśmy w temperaturze, otoczenia $23 \pm 2^\circ \text{C}$ [14].

Stwierdziliśmy, że surowicom każdej z grup odpowiada specyficzna wartość potencjału elektrody proszkowej, co przedstawiamy w tab. 1 (wartości średnie). Występuje wpływ czynnika R_h krwinek. Wartości potencjału rosną według następującej kolejności surowic (tab. 1):

$\alpha+$, $\emptyset+$, $\beta+$, $\alpha\beta+$, $\emptyset-$, $\alpha-$, $\alpha\beta-$

Surowice $\alpha+$, $O+$, $\beta+$ dają zbliżone wartości potencjału, podobnie $O-$ oraz $\alpha-$. Surowice $\alpha\beta+$ i $\alpha\beta-$ wykazują ekstremalne wartości potencjału w zespole surowic odpowiednio $Rh+$ i $Rh-$.

Zaobserwowaliśmy, że w przypadkach specjalnych, jak stany zapalne u dawcy krwi, pobieranie przez niego niektórych leków, używane wartości potencjału odbiegały od innych przypadków z tą samą grupą krwi. Dla surowicy $\beta-$ mieliśmy tylko takie specjalne przypadki, dlatego pomijamy ją w tablicy 1.

Tabela 1

Grupa krwi surowicy	$\alpha+$	$O+$	$\beta+$	$\alpha\beta+$	$O-$	$\alpha-$	$\alpha\beta-$
Potencjał elektrody proszkowej [mV]	-127	-112	-109	-100	-86	-80	-52

Następnie przystąpiliśmy do potencjometrycznego śledzenia skutków zmieszania w elektrodzie proszkowej zawiesiny krwinek w buforze fosforanowym z roztworem surowicy w tymże buforze [15]. Stosowaliśmy tę samą, opisaną wyżej, elektrodę proszkową.

Skład buforu fosforanowego został dobrany w ten sposób, aby nadawał on dosyć dobrze reprodukujący się potencjał elektrodzie proszkowej, był możliwie trwały i nie powodował hemolizy krwinek. Skład ten był następujący:

$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	10,5 g
KH_2PO_4	0,908 g
H_2O	494,0 g

Stosowano wodę dwukrotnie destylowaną, a oba fosforany czyste do analizy. Taki roztwór buforowy można było stosować po dobie od zmieszania składników i używać następnie w ciągu tygodnia, przechowując go w zamrażarce. Po tym okresie ulegał on działaniu drobnoustrojów, czego pierwszym sygnałem był spadek potencjału elektrody proszkowej, następnie obniżanie się wykładnika jonów wodorowych (pH) i wreszcie występował bezbarwny, galaretowany osad.

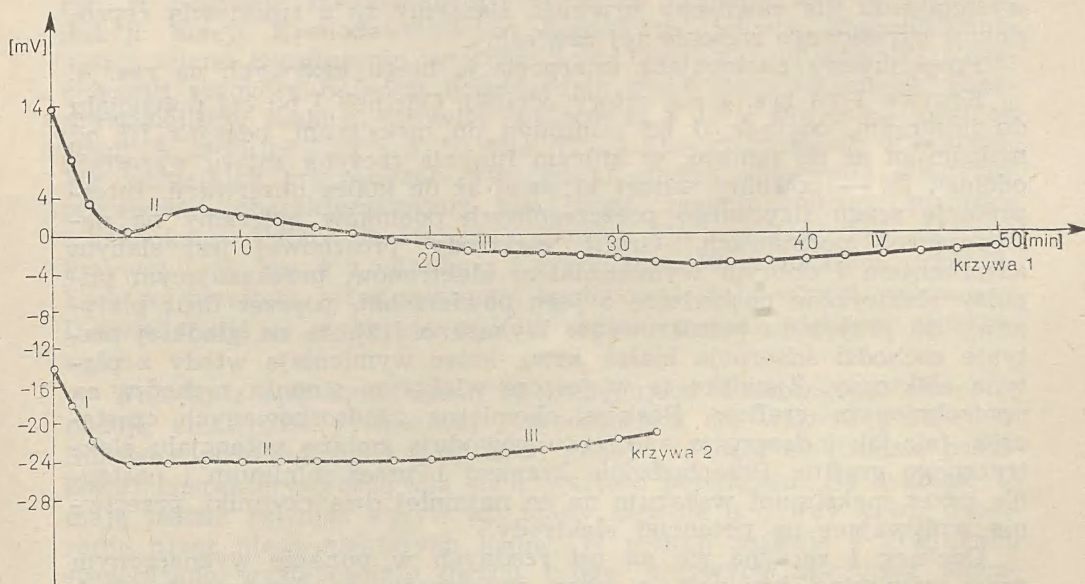
Świeży roztwór buforowy wykazywał $pH=7,43$ w temperaturze $21^\circ C$ i nadawał grafitowej elektrodzie proszkowej potencjał w granicach od $+125$ do $+150$ mV w stosunku do nasyconej elektrody kalomelowej w temperaturze otoczenia, $24 \pm 2^\circ C$.

Krwinki otrzymywano z krwi żyłnej pobranej w dniu doświadczenia na czczo, do której na 2 cm^3 dodawano $0,2\text{ cm}^3$ ampułkowanego roztworu cytrynianu sodowego (stosowanego w oznaczeniach Odczynu Biernackiego). Krwinki przemywano dwukrotnie $0,9\%$ roztworem chlorku sodowego w wodzie dejonizowanej w wirówce i, przed samym doświadczeniem, buforem fosforanowym, po czym przygotowywano 5% , $7,5\%$ lub 10% (objętościowo) zawiesinę krwinek w buforze.

Surowica pochodziła od osób nie obciążonych chorobami układu krwiotwórczego, kolagenozami lub wyraźnymi zmianami białek krwi. Krew pobierano na czczo przeddzień badania potencjometrycznego. Przygotowywano roztwory surowic w buforze fosforanowym o stężeniu (objętościowo) $1,25\%$, $2,5\%$, 5% , 10% , 20% , 40% . Doświadczenia potencjometryczne wykonywano w temperaturze otoczenia, zmieniającej się w granicach od 22 do $26^\circ C$. Postępowano w ten sposób, że

badane ciecze wprowadzano przepływem do naczynia elektrody proszkowej i rozpoczynano obserwację wskazań elektrometru. Na wstępie zbadano w ten sposób poszczególne ciecze, mające stanowić składnik układu reagującego, który był celem badań. Oznaczono potencjał roztworu buforowego, roztworów surowic w buforze o różnych stężeniach, zawiesin krwinek w buforze. Właściwe doświadczenia prowadzono następująco. Do naczynia elektrody proszkowej zawierającej proszek grafitowy zwilżony roztworem buforowym wprowadzano zawiesinę krwinek w buforze i czekano na ustalenie się potencjału elektrody. Wówczas, w momencie uznanym za początek rachuby czasu, rozpoczynano wprowadzanie do elektrody roztworu surowicy i przez 20 do 40 min. obserwowano bieg potencjału w czasie, rejestrowany automatycznym zapisem oraz odczytywanym według wskazań przyrządu z bezpośredniego odczytu.

Mieszaniu roztworu surowicy z zawiesiną krwinek w elektrodzie proszkowej, a więc i reakcjom biegnącym między składnikami tych dwóch cieczy, odpowiadały specyficzna wartość potencjału, niższe znaczenie od wartości wyznaczanych przez poszczególne ciecze składowe (roztwór buforowy, zawiesina krwinek, roztwór surowicy). Dowodzi to powstawania nowych składników w wyniku zmieszania stosowanych roztworów, a więc i biegu procesów wywołanych zmieszaniem.



Rys. 4

Opisany sposób postępowania pozwolił na otrzymanie dwóch reprodukujących się, odmiennych względem siebie, obrazów potencjometrycznych. Jeden odpowiadał aglutynacji krwinek po zmieszaniu, zaś drugi przypadkom, gdy zmieszanie krwinek z surowicą nie prowadziło do aglutynacji [16].

Na rys. 4 przedstawiamy przypadki krzywych potencjał elektrody

proszkowej w funkcji czasu. Krzywa 1 odpowiada biegowi procesu aglutynacji, krzywą 2 otrzymuje się, gdy aglutynacja nie zachodzi.

Stosowano krwinki grup A, B, AB, O; surowice anty-A (α), anty-B (β), zawierające aglutyniny anty-A i anty-B ($\alpha\beta$) oraz nie zawierające aglutynin grupowych układu ABO ($\emptyset$). W tym typie doświadczeń nie uwzględnialiśmy czynnika Rh.

Stosowano surowice i krwinki pochodzące od poszczególnych osób oraz zgodne grupowo mieszaniny surowic i mieszaniny krwinek pięciu lub sześciu osób. Mieszaniny te zawierały surowice anty-A (α), które łączono w elektrodzie proszkowej z mieszaniną krwinek grupy A, oraz surowice anty-B (β), łączone z krwinkami grupy B. Uzyskano krzywe tych samych typów co w przypadkach mieszania surowic i krwinek pochodzących od pojedynczych osób.

Krzywą 1 z rys. 4 otrzymano prowadząc reakcję między 10% zawiesiną krwinek AB z 2,5% roztworem surowicy α . Surowica i krwinki pochodziły od pojedynczych osobników. Wyjściowy potencjał zawiesiny krwinek wynosił +14 mV.

Krzywa 2 na rys. 4 odpowiada doświadczeniu, w którym zmieszano 5% zawiesinę krwinek grupy B z 2,5% roztworem surowicy $\emptyset$. Wyjściowy potencjał zawiesiny krwinek wynosił -14mV.

Wartość potencjału elektrody proszkowej reprodukowała się dobrze dla roztworu buforowego i dla roztworów surowic. Znaczne rozrzuty występowały dla zawiesiny krwinek. Łączymy to z trudnością reprodukcji określonego stężenia tej zawiesiny.

Proponujemy następującą interpretację biegu krzywych na rys. 4.

Krzywa 1 na rys. 4 ma cztery odcinki. Odcinek I od osi potencjału do minimum, odcinek II od minimum do maksimum, odcinek III od maksimum aż do punktu, w którym funkcja zaczyna znowu wzrastać, odcinek IV — powolny wzrost krzywej aż do końca obserwacji. Interpretację sensu fizycznego poszczególnych odcinków opieramy na następujących podstawach. Grafit elektrody proszkowej jest słabym adsorbentem i dobrym wymiennikiem elektronów, przekazującym impulsy elektryczne pochodzące z jego powierzchni, poprzez drut platynowy do przyrządu pomiarowego. Wykazano [12], że na gładkiej platynie zachodzi adsorpcja białek krwi, które wymieniają wtedy z platyną elektrony. Zjawiska te w jeszcze większym stopniu zachodzą na rozdrobnionym graficie. Reakcja chemiczna zaadsorbowanych cząsteczek, tak jak i desorpcja adsorbatu powodują zmianę potencjału elektrycznego grafitu. Przechodzenie krzywej 1 przez minimum i następnie przez maksimum wskazuje na co najmniej dwa czynniki, przeciwnie wpływające na potencjał elektrody.

Odcinek I zaczyna się na osi rzędnych w punkcie wyznaczonym przez zawiesinę krwinek, a więc związanym z adsorpcją krwinek i składników roztworu buforowego na graficie. Wprowadzenie roztworu surowicy powoduje reakcję na powierzchni grafitu i adsorpcję składników surowicy. Zachodzi adsorpcja przeciwciał surowicy na związanych z grafitem krwinkach. Towarzyszy temu spadek potencjału elektrody (odcinek I). Następnie rozpoczyna się proces aglutynacji. Roztwór surowicy wyznaczyłby znacznie wyższą wartość potencjału adsorpcją swoich składników, stąd, wobec stałego przepływu tego roztworu, występuje przejście przez minimum i wzrost (odcinek II). Pod-

czas aglutynacji wiązanie krwinek z grafitem zostaje osłabione, co daje możliwość białkom surowicy zajmowania części powierzchni grafitu. Następujące osiadanie i adsorpcja produktów aglutynacji powodują ponowne obniżenie potencjału i zablokowanie powierzchni (odcinek III). Powolne wymywanie produktów aglutynacji i reszty krwinek roztworem surowicy w buforze powoduje po pewnym czasie wzrost potencjału (odcinek IV).

W interpretowaniu danych doświadczalnych wykorzystujemy poglądy przedstawione w monografii [1], gdzie przyjęto dwuetapowy przebieg aglutynacji: początkowo aglutyniny łączą się z aglutynogenem na powierzchni czerwonych krwinek, co stanowi ich uczulenie, po którym następuje właściwa aglutynacja.

Krzywa 2 na rys. 4 ma trzy wyróżniające się odcinki. Odcinek I, dla początkowej fazy doświadczenia, wskazuje na bieg reakcji między krwinkami i składnikami surowicy (nie jest to reakcja aglutynacji), gdyż potencjał zmierza do wartości swoistej, niższej od wyznaczonej przez poszczególne roztwory oddzielnie. Odcinek II odpowiada zablokowaniu powierzchni grafitu krwinkami i produktami reakcji, wiązonymi dosyć mocno, gdyż dopiero po ok. 20 min. przepływu roztworu surowicy zaczyna się wzrost potencjału (odcinek III), co przypisujemy wymywaniu adsorbatów przez roztwór surowicy.

Określiśmy czułość stosowanej przez nas metody potencjometrycznej. W tym celu zastosowaliśmy wzorcową surowicę anty-A, (α), produkcji Stacji Krwiodawstwa w Warszawie, jałową, ampulkowaną, której miano izoaglutynin wynosiło 1:32. Otwieraliśmy ampulki i rozcieńczali surowicę buforem bezpośrednio przed doświadczeniem. Przeprowadziliśmy reakcję surowicy wzorcowej z 10% zawiesiną krwinek grupy A, stosując 1,25%, 2,5% oraz 5 % roztwory surowicy w buforze. We wszystkich przypadkach występował spadek potencjału elektrody proszkowej, charakterystyczny dla biegu reakcji między surowicą i krwinkami. Tylko dla stężenia surowicy 5% uzyskano krzywą typu krzywej 1 na rys. 4 z minimum i maksimum. W pozostałych przypadkach po przejściu przez minimum następował stały wzrost potencjału. Doświadczenia te wykazują wysoką czułość metody elektrod proszkowych.

Wnioski z opisanych badań są następujące. Poszczególne surowice nadają elektrodzie proszkowej reprodukującą się wartość potencjału. Surowice poszczególnych grup krwi nadają na ogół elektrodzie proszkowej charakterystyczną dla nich wartość potencjału. Na wartość tę mają jednak również wpływ np. stany zapalne u dawcy krwi, pobieranie przez niego niektórych leków. W reakcji surowic z krwinkami stwierdzono występowanie dwóch typów krzywych zależności potencjału elektrody proszkowej od czasu: jeden charakterystyczny dla procesu aglutynacji, drugi uzyskuje się, gdy aglutynacja krwinek nie zachodzi.

Sądzymy, że opisana metoda może znaleźć zastosowanie w badaniach immunologicznych reakcji antygen-przeciwciała, oraz wszędzie tam, gdzie na skutek jakichś procesów następują zmiany we krwi człowieka lub zwierzęcia, np. w zagadnieniach parazytologii i w różnych innych stanach chorobowych.

LITERATURA

- [1] Boorman K. E., Dodd B. E. — *Blutgruppen* — *Serologie*, Veb. Gustav Fischer Verlag, Jena 1964.
- [2] Grabiec S., Michajłow W., — Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. sci. biol., 20, 12, 881, 1972.
- [3] Grabiec S., Michajłow W., — Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. sci. biol., 21, 1, 65, 1973.
- [4] Grabiec S., Guttowa A., Michajłow W. — Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. sci. biol., 18, 11, 723, 1970.
- [5] Grabiec S., Michajłow W., Honowska M. — Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. sci. biol., 21, 78, 551, 1973.
- [6] Grabiec S., Tomassi W., Podbielski T. — Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. sci. biol., 22, 3, 187, 1974.
- [7] Hankus A. — *Zeszyty Naukowe Polit. Krak.*, 8, 1963.
- [8] Janczarski I., Lubaszka E., Grabiec S. — Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. sci. biol., 19, 4, 243, 1971.
- [9] Janczarski I., Lubaszka E., Kłopotcki T. — *Acta Physiol. Pol.*, 22, 287, 1971.
- [10] Janczarski I., Lubaszka E., Grabiec S., T.—I. — *T. J. Life Sci.*, 2 63, 1972.
- [11] Rakshit S. C., Mitra A. K., *J. Indian Chem. Soc.* 47, 7, 686, 1970; *ibid.*, 48, 9, 835, 1971.
- [12] Ramasamy N., Sinivasan S., Sawyer P. N. — *Electrochim. Acta*, 19, 137, 1974.
- [13] Rohländer W. — *Chem. Technik*, 18, 460, 1966.
- [14] Solik A., Tomassi W. — Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. sci. biol., 22, 10, 675, 1974.
- [15] Solik A., Tomassi W. — Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. sci. biol., 23, 6, 431, 1975.
- [16] Solik A., Tomassi W. — Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. sci. biol., 23, 7, 1975.
- [17] Tomassi W. — *J. Electroanal. Chem.*, 4, 343, 1962.
- [18] Tomassi W. — *Wiadomości Chem.*, 22, 1, 89, 1968.
- [19] Znamirovski V. — *Studii și Cercetări de Fizică*, 14, 233, 1963; *ibid.*, 15, 247, 1964.
- [20] Znamirovski V., Babes V. — *Electroch. Acta*, 10, 713, 1965.

UWAGI O PRAWACH MENDLA

Szybki rozwój genetyki molekularnej tak zaabsorbował uwagę genetyków, że mało kto zajmuje się zagadnieniami genetyki klasycznej, mimo że wiele spraw nie zostało jeszcze wyjaśnionych. Klasycznym przykładem jest zdefiniowanie praw Mendla. Nikt, oczywiście nie kwestionuje epokowego znaczenia praw Mendla w rozwoju nauk biologicznych. Brak jest jednak zgodności poglądów co do zdefiniowania tych praw, a nawet ich liczby. Najczęściej wymieniane są trzy prawa [6, 12, 14, 17, 22, 24, 27]. Niektórzy autorzy podają większą liczbę reguł, ustalonych przez Mendla, a mianowicie cztery [4, 5, 8, 9]. Wielu genetyków wyróżnia jedynie dwa prawa [3, 7, 10, 15, 16, 18, 19, 21, 25]. Jeszcze inni [11] podają dwa prawa, lecz równorzędnie traktują również wniosek Mendla, dotyczący czystości gamet. Są też autorzy, którzy nie zajmują własnego stanowiska w tej sprawie [20], albo też nie podają definicji praw Mendla, lecz samo wyjaśnienie mechanizmu dziedziczenia się cech [1, 2, 26]. Strickberger [23] omawia trzy prawa Mendla, nie podając ich definicji ani numeracji.

Odpowiedzialny za ten stan rzeczy jest niewątpliwie sam Mendel [13], który nie podał wyraźnych definicji odkrytych przez siebie reguł dziedziczości, a jedynie omówił je na przykładach. Mendel sformułował wyłącznie prawo dowolnego łączenia się cech, pisząc [13] (s. 21—22): „jeżeli w mieszańcu łączymy kilka cech zasadniczo różnych, to potomstwo jego przedstawia człony szeregu kombinacyjnego, który powstaje z połączenia szeregów rozwojowych każdych dwóch par cech różniących się pomiędzy sobą. Przez to zostaje równocześnie udowodnione, że zachowanie się każdej poszczególniej pary cech różniących się w mieszańcu jest niezależne od innych różnic obu roślin pierwotnych”.

Jest to jedyne prawo Mendla, wyraźnie sformułowane i podane jako takie przez niego samego. Najczęściej spotykana i chyba najlepiej pasująca do treści nazwa tego prawa jest prawo dowolnego łączenia się cech czyli rekombinacji. Zazwyczaj też wymieniane jest ono jako ostatnie prawo Mendla, a więc drugie lub trzecie. Wydaje się, że obecnie można zaproponować zwięzłą definicję tego prawa: „Cechy skrzyżowanych ze sobą organizmów mogą tworzyć różne, najczęściej dowolne, kombinacje w osobnikach potomnych”.

W ujęciu tym pominięto numer kolejny pokolenia, w którym następuje rekombinacja cech, ponieważ przy krzyżowaniu homozygot jest to pokolenie drugie mieszańców, natomiast przy krzyżowaniu heterozygot jest to pokolenie pierwsze. Uwzględniono również ograniczenie ważności tego prawa, jakie powodowane jest np. występowaniem zjawiska sprzężenia cech i genów.

Najwięcej nieporozumień wywołuje prawo pierwsze, zwane najczęściej prawem jednolitości mieszańców pierwszego pokolenia, prawem dominowania albo prawem segregacji czyli niezależnego dziedziczenia się cech. Prawo to nie zostało zdefiniowane przez Mendla. Wydaje się, że można dopatrzeć się takiej definicji w następującym stwierdzeniu Mendla [13] (s. 9): „Wyrażenie recesywne zostało wybrane z tego względu, że cechy w ten sposób nazwane występują u mieszańców w stopniu słabszym, albo zanikają zupełnie, pojawiają się natomiast w ich potomstwie, jak to później wykazemy, w stanie niezmienionym”.

Istotą tego prawa jest stwierdzenie, że cechy organizmów nie zanikają w mieszańcu, aczkolwiek niektóre cechy, np. ustępujące, nie są widoczne w mieszańcu. Ujawniają się one w następnym pokoleniu. W definicji tego prawa należałoby więc podkreślić ten fakt, jako najważniejszy; natomiast jednolity wygląd mieszańców pokolenia pierwszego lub dominacja jednej cechy nad drugą mają tu znaczenie mniejsze. Prawo to jest niewątpliwie najważniejszym stwierdzeniem Mendla i chyba winno być traktowane jako prawo I. Definicję tego prawa można sformułować następująco: „Cechy skrzyżowanych organizmów nie tracą swej indywidualności w mieszańcu, choć niektóre z nich mogą być niewidoczne; cechy te ujawniają się w stanie niezmienionym w następnym pokoleniu mieszańców”. Jest to więc prawo segregacji albo rozszczepienia się cech.

Integralną częścią odkryć Mendla jest prawo czystości gamet, ma ono wskazać znaczenie drugorzędne w porównaniu do prawa segregacji, ponieważ służy wyjaśnieniu mechanizmu, umożliwiającego segregację, jak również rekombinację. Mendel pisze [13] (s. 32): „Prawo kombinacji cech różniących się, według którego odbywa się rozwój mieszańców, znajduje zatem umotywowanie i wyjaśnienie w tym, że mieszańce wytwarzają komórki jajowe i pyłkowe w ilościach odpowiadających dokładnie wszystkim stałym kombinacjom, jakie powstają z cech łączonych w zapłodnieniu”.

Aktualna definicja prawa czystości gamet winna być inna, bowiem istotą tego prawa jest stwierdzenie, że allele wykluczają się w gametach. Można więc zaproponować taką np. definicję: „Z dwu alleli jednego genu, występujących w komórkach somatycznych organizmu diploidalnego, w gamecie może znaleźć się tylko jeden z nich”.

Wydaje się, że prawo to należy zachować w takiej lub innej postaci, a nie łączyć w jedno z prawem segregacji. W prawie tym Mendel jak gdyby domyślił się istnienia genów i mechanizmu podziału mejozy. Zachowując prawo czystości gamet, którego znaczenie jest podrzędne w stosunku do pozostałych, oddajemy hołd intuicji naukowej Mendla i jego zdolności zarówno analitycznego jak i syntetycznego myślenia.

W ten sposób zaproponowano definicję najważniejszych wniosków Mendla w postaci trzech praw: I prawa czyli prawa segregacji albo rozszczepiania się cech; II prawa czyli prawa czystości gamet i III prawa czyli prawa rekombinacji albo dowolnego łączenia się cech.

Wybór cytowanej literatury jest niewątpliwie przypadkowy, ale znalezione w niej poglądy są chyba reprezentatywne dla całości literatury genetycznej.

LITERATURA

- [1] Beisson J. — *Genetyka*. Wiedza Powszechna, Warszawa 1974.
- [2] Bresch C. — *Klassische und molekulare Genetik*. Springer, Berlin 1964.
- [3] Gajewski W. — *Genetyka ogólna i molekularna*. PWN, Warszawa 1972.
- [4] Gulayev G. B. — *Genetika*. Kolos, Moskwa 1971.
- [5] Ivanova O. A. — *Genetika*. Kolos, Moskwa 1974.
- [6] Kappert H. — *Die vererbungswissenschaftlichen Grundlagen der Züchtung*. Parey, Berlin 1953.
- [7] Kraczkiewicz Z. — *Cytologia ogólna*. Cz. II. PWN, Łódź — Warszawa, 1958.
- [8] Lobašev M. E. — *Genetika*. Iz-vo Leningradskogo Univ., Leningrad 1967.
- [9] Lobašev M. E., Vatti K. V., Tichomirova M. M. — *Genetika s osnovami selektsii*. Prosveščenie. Moskwa 1970.
- [10] Makarewicz A. — *Genetyka roślin w zarysie*. SGGW, Warszawa 1957.
- [11] Malinowski E. — *Genetyka*. Wyd. IV. PWN, Warszawa 1974.
- [12] Petrov D. F. — *Genetika s osnovami selektsii*. Wyssaya Skola, Moskwa 1971.
- [13] *Prace naukowe Jana Grzegorza Mendla*. Książka, Warszawa 1948.
- [14] Rieger R., Michaelis A., Green M. M. — *A glossary of genetics and cytogenetics*. Springer, Berlin 1968.
- [15] Rieger R., Michaelis A., Green M. M. — *Słownik terminów genetycznych*. PWRiL, Warszawa 1974.
- [16] Rodkiewicz B. — *Zarys genetyki*. Wyd. II. PWN, Warszawa 1974.
- [17] Schmalz H. — *Pflanzenzüchtung*. VEB Deutsch. Landwirtschaftsverlag, Berlin 1964.
- [18] Sharp L. W. — *Introduction to cytology*. McGraw-Hill, New York 1934.
- [19] Skowron S. — *Dziedziczność*. Wiedza Powszechna, Warszawa 1960.
- [20] Sosna M. (ed.). — *Gregor Mendel Memorial Symposium. 1865—1965*. Academia, Prague 1966.
- [21] Srb A. M., Owen R. D., Edgar R. S. — *Genetyka ogólna*. PWN Warszawa 1969.
- [22] Strasburger E. i in. — *Botanika*. PWRiL Warszawa 1960.
- [23] Strickberger M. W. — *Genetics*. Mac Millan, New York 1968.
- [24] Stubbe H. — *Kurze Geschichte der Genetik bis zur Wiederentdeckung der Vererbungsregeln Gregor Mendels*, Fischer, Jena 1963.
- [25] Tarkowski Cz. (wyd.). — *Przewodnik do ćwiczeń z genetyki, hodowli roślin i nasiennictwa*. Akademia Rolnicza, Lublin 1973.
- [26] Winchester A. M. *Heredity — Barnes and Noble*, New York 1962.
- [27] Wolkenštejn M. W. — *Na skrzyżowaniu dróg wiedzy. Współzależność w rozwoju molekularnej fizyki, chemii i biologii*. PWN, Warszawa 1975.

Karol Starmach: *Cryptophyceae* — Kryptofity, *Dinophyceae* — Dinofity, *Raphidophyceae* — Rafidofity. Flora Ślaskowa Polski, t. 4, Warszawa — Kraków, PWN, 1974. s. 520, cena 100 zł.

Jest to już dwunasta pozycja z serii „Flora Ślaskowa Polski” zapoczątkowanej przez prof. K. Starmacha w 1963 roku. Obejmuje trzy wyraźnie różniące się od siebie gromady glonów. Autor pozostawia otwartą kwestię ustawienia tych gromad w systematyce roślin i ich przynależności do typu.

Część dotycząca kryptofitów (s. 7—114) obejmuje opisy 24 rodzajów i 107 gatunków. Są to rośliny wyłącznie jednokomórkowe, opatrzone wiciami w stadium wegetatywnym (rzęd *Cryptomonadales*) lub tylko w czasie rozmnażania (rzęd *Tetragonidiales*). Ich najbardziej charakterystyczną cechą jest osadzenie wici w gardzieli lub bruzdzie wysłanej trychocystami mającymi zdolność wystrzelania galaretowatych nici. Ponieważ oznaczanie musi się opierać na materiale żywym, często specjalnie traktowanym, autor podaje metody stosowane do unieruchamiania, barwienia i utrwalania. Z Polaków mało badaczy zajmowało się nimi; przy opisach nowych gatunków spotykamy tylko nazwisko St. Wisłoucha (z Krymu) i J. Czosnowskiego (z okolic Zakopanego i Krakowa).

Trzon książki stanowi opracowanie dinofitów (s. 115—417). Do ich poznania przyczyniła się bardzo J. Wołoszyńska. Wiele diagnoz wyszło spod jej pióra i piękne rysunki precyzyjnie uwydatniające szczegóły struktury pancerzyków komórek. Na jej cześć nazwano rodzaj *Wołoszynskia* i rodzinę *Wołoszynskiaceae*.

Dinofity zostały podzielone na dwie podgromady: bezbruzdowe (*Adinophycidae*), w wodach słodkich bardzo słabo poznane oraz bruzdowe (*Dinophycidae*), w obrębie których powszechnie znany, najbogatszy w gatunki jest rząd bruzdnic (*Peridinales*). Błona bruzdnic złożona jest z płytek, których kształt, układ i ornamentacja dostarcza ważnych cech taksonomicznych. Jednak zmienność układów płytek jest zawiła, co bardzo utrudnia oznaczanie gatunków z rodzajów *Peridinium*, *Sphaerodinium* i innych. Autor zestawiał i dobrze objaśnił opisywane w rozrzuconej literaturze typy zmienności (tzw. *tabulatio*) i ich rysunkowe schematy dla rodzajów, podrodzajów i gatunków. Ostatnio wykazano, że w wątpliwych przypadkach dobrze jest posłużyć się badaniami powierzchni płytek w skaningu, gdyż ich struktura okazała się w szczegółach mniej zmienna niż ilość płytek i ich układ. Zebrane zostały także opisy gatunków w rzędzie *Dinococcales* o nieruchomych komórkach wegetatywnych, często epifitycznych, produkujących przy rozmnażaniu pływki typu bruzdnic *Gymnodinium*. Kilka aerofitycznych gatunków naskalnych opisał autor z Groty Twardowskiego w Krakowie.

Autor wspomina o istnieniu jeszcze trzech rzędów morskich dinofitów, bardzo zróżnicowanych: *Dinophysiales*, *Dinotrichales* i *Dinamoebidiales*. Dla tego ostatniego załączył nadzwyczaj interesujący opis i rysunki jedyne gatunku ślaskowego *Dinamoebidium coloradense* posiadającego amebowate komórki wegetatywne i zoospory typu *Gymnodinium*. Gatunek ten został wykryty niejawnie, bo w 1970 r. w górskim potoku w Kolorado przez osiadłego w Ameryce polskiego znawcę bruzdnic Adama Bursę, ucznia Wołoszyńskiej.

W sumie autor zestawiał opisy 302 gatunków dinofitów należących do 37 rodzajów, uwzględniając występujące w wysłodzonych, przybrzeżnych wodach Bałtyku.

Rafidofity (opatrywane też mylącą nazwą chloromonad), to zestaw zaledwie 20 gatunków z 12 rodzajów (s. 473—498) obejmujących wyłącznie wiciowce różniące się wieloma cechami od innych grup systematycznych. Są wśród nich także gatunki bezbarwne, nawiązujące do wiciowców zwierzęcych, o których autor pisał w 5 t. tego wydawnictwa przy okazji opisywania złotowiciowców. Polakowi L. Cienkowskiemu zawdzięczamy nazwę jednego z rodzajów *Vacuolaria* oraz opis *V. virescens*.

Zestawiając do wszystkich trzech gromad opisy gatunków z obfitej, bardzo rozrzuconej literatury uporządkował autor w wielu przypadkach nazwy łacińskie lub zakwalifikowanie do właściwego rodzaju. Autor nie podał pełnych danych o geograficznym rozprzestrzenieniu gatunków, ani większości stanowisk podawanych w naszej literaturze, prawdopodobnie dlatego, że wymagają one krytycznego opracowania. Całość książki ilustrowana jest licznymi, doskonale wykonanymi rysunkami, wśród których duża część to nieraz trudno dostępne ikonotypy. Pomaga to w korzystaniu z książki także obcokrajowcom, którzy przyjęli ten tom równie życzliwie jak poprzednie.

Za techniczną poprawność wydania, precyzyjne skłiszowanie rysunków i szybkie tempo druku należy się pochwalać krakowskiemu Oddziałowi Państwowego Wydawnictwa Naukowego i Drukarni Uniwersytetu Jagiellońskiego. Nakład tego tomu, jak i kilku poprzednich, jest mały, wynosi 720 egzemplarzy. Zważywszy, że przeszło połowa egzemplarzy przeznaczona jest na wymianę zagraniczną, nie dziwnego, że w kraju już po kilku dniach nie sposób było ich kupić. Botanicy i hydrobiolodzy są rozżaleni, nie ma czym szkolić studentów i brakujących w Polsce specjalistów, a wydawca — Instytut Botaniki PAN — jest bezradny. Mimo zatwierdzenia przez Polską Akademię Nauk nakładu 1500 egzemplarzy, przedsiębiorstwo zaopatrujące księgarnie zamawia do sprzedaży ilości nie zaspakajające nawet bieżących potrzeb, nie mówiąc o następnych latach. Wysiłek autora i wydawcy nie jest doceniony przez dystrybutora. Liczni obcokrajowcy pragnący zakupić dotychczas wydane tomy, na próżno dopytują się o nie w naszych zagranicznych przedstawicielstwach wydawniczych.

Jadwiga Siemińska

ZMUTOWANE GENY U *AMBYSTOMA MEXICANUM**

Badając zarodki płazie dokonano przełomowych odkryć w dziedzinie biologii rozwoju. W wielu pracowniach embriologicznych i genetycznych zwierzętami laboratoryjnymi są *Rana pipiens*, *Xenopus laevis* lub *Pleurodeles waltlii*. Malaciński i Brothers w obszernym artykule na łamach Science przedstawiają niektóre możliwości, jakie stwarza zastosowanie jako obiektu badań embriologicznych meksykańskiego aksolotla, *Ambystoma mexicanum*. Około 30 lat temu Humphrey zapoczątkował hodowlę czystych linii tego neotenicznego gatunku, pochodzącego z jeziora w pobliżu miasta Meksyku. Obecnie na Uniwersytecie Indiana dysponuje się już ośmioma szczepami wsobnymi. Zwierzęta te łatwo hodować w warunkach laboratoryjnych. Dojrzałe płciowo samice składają jednorazowo po kilkaset jaj, co umożliwia szybkie uzyskiwanie statystycznie ważnych wyników badań. Duże rozmiary jaj i zarodków ułatwiają obserwacje i zastosowanie różnorodnych technik operacyjnych.

U *A. mexicanum* wykryto dotychczas ponad 40 zmutowanych genów, których pełną listę zamieszczono w omawianym artykule. Dla ułatwienia opisu ich działania autorzy arbitralnie podzielili cykl życiowy aksolotla na pięć okresów. Są to: oogeneza, wczesny rozwój, organogeneza, funkcjonowanie tkanek i narządów, osobnik dorosły.

Oogeneza. Odkryto cztery zmutowane geny recesywne (*o*, *cl*, *f*, *v*) ujawniające w rozwoju zarodka tzw. efekt matki. Całe potomstwo osobników heterozygotycznych pod względem któregoś z tych genów rozwija się normalnie, pomimo że 25% zwierząt to homozygoty w stosunku do szkodliwych alleli, natomiast rozwój całego potomstwa takiej homozygotycznej samicy skrzyżowanej z samcem typu dzikiego ulega zahamowaniu we wczesnym etapie embriogenezy. Wiadomo, że podczas oogenezy w cytoplazmie jaja zostaje zgromadzona informacja genetyczna w postaci tzw. determinant morfogenetycznych, kierujących wczesnym rozwojem zarodka. A więc np. nienormalne nabrzmienie blastocelu zarodka *f/f*⁺, pochodzącego ze skrzyżowania samicy *f/f* z samcem *f*⁺/*f*⁺, spowodowane jest uruchomieniem w stadium blastuli produktów alleli *f*, *f*, nagromadzonych jeszcze przed zapłodnieniem jaja.

Wszczepiano jajnik samicy *f/f* do samicy *f*⁺/*f*⁺ z usuniętymi własnymi gonadami. Nienormalny fenotyp potomstwa przetrwał, pomimo że oocyty przechodziły proces witelogenezy w organizmie samicy typu dzikiego. Nasuwa się wniosek, że pierwotnym miejscem ekspresji genu *f* jest sam dojrzewający oocyty.

Rozwój potomstwa samic homozygotycznych pod względem zmutowanego genu *o* ulega zahamowaniu w czasie gastrulacji. Defekt ten udało się usunąć wstrzykując minimalne ilości cytoplazmy normalnego jaja do jaja złożonego przez samicę *o/o*. Po oczyszczeniu okazało się, że aktywnie działająca substancja jest białkiem. Udowodniono również, że jest to drobina o charakterze regulacyjnym, bowiem powoduje trwałą aktywację jąder blastuli: jądro komórkowe przeniesione z normalnej blastuli do jaja samicy *o/o* utrzymuje prawidłowy rozwój zarodka.

* G. M. Malaciński, A. J. Brothers — *Mutant genes in the Mexican aksolotl*, Science, 184, 4142, 1142—1147, 1974.

Wczesny rozwój. Intensywnie bada się obecnie funkcję jąderka we wczesnych stadiach rozwojowych zapłodnionego jaja. Doskonałym materiałem mogą być embriony aksolotla, ponieważ występują u niego cztery zmutowane geny wpływające na rozmiary jąderka. Stosując metodę hybrydyzacji kwasów nukleinowych stwierdzono, że u zwierząt n^4/n^4 zmniejszenie jąderka skorelowane jest ze zmniejszoną ilością rybosomalnego DNA. Z drugiej strony — uwarunkowane genetycznie zróżnicowanie wielkości jąderek może posłużyć jako doskonały marker dla ustalenia pochodzenia komórek w różnego typu doświadczeniach embriologicznych.

Organogeneza. Wykryto u aksolotla osiem recesywnych mutacji wpływających na rozwój narządów i tkanek. Autorzy przytaczają wyniki licznych eksperymentów, w których wykorzystano zmutowane osobniki do badania szlaków indukcyjnych podczas organogenezy. Przytoczę tylko dwa przykłady.

Zarodki homozygotyczne pod względem zmutowanego genu *c* nie rozwijają funkcjonującego serca. Elektronogramy komórek sercowych normalnych i zmutowanych wykazały, że mutanty nie różnicują w komórkach mięśnia sercowego odpowiednio zorganizowanych miofibrylli. Wiadomo było, że indukujący wpływ na różnicowanie się przedniego odcinka mezodermy w serce wywiera endoderma. W celu ustalenia miejsca ekspresji genu *c* wymieniano odpowiednie fragmenty endo- i mezodermy pomiędzy normalnymi i zmutowanymi embrionami. Okazało się, że komórki endodermy *c/c* nie mają zdolności indukowania sąsiadującej mezodermy do formowania prawidłowych struktur mięśnia sercowego.

Embriony homozygotyczne pod względem zmutowanego genu *e* nie formują pęcherzyków ocznych, a dorosłe osobniki *e/e* pozostają sterylne. Wymieniając fragmenty listków zarodkowych odpowiedzialne za tworzenie oka pomiędzy normalnymi i zmutowanymi embrionami wykazano, że gen *e* działa wprost w przedniej części płytki nerwowej, uniemożliwiając reakcję na stymulujący wpływ mezodermy.

Sterylnosć osobników *e/e* jest wynikiem działania zmutowanego genu na podwzgórze. Udowodniono to łącząc tylną część zarodka pozbawionego oczu z przednią częścią osobnika normalnego. Chimery o gonadach *e/e* a mózgu *e/e+* lub *e+/e+* były w pełni płodne.

Funkcjonowanie tkanek i narządów. Opisano 13 recesywnych mutacji powodujących śmierć larw w określonym czasie po opuszczeniu osłonek jajowych. Przeszczepy zawiązków narządów pochodzące od osobników homozygotycznych pod względem zmutowanych alleli tej grupy nie przeżywały u normalnych zarodków. Nie udało się również zlikwidować letalnego wpływu tych genów na drodze parabiozy z normalnymi osobnikami. Należy więc wnioskować, że mutacje tej grupy powodują defekt w metabolizmie komórkowym. Trzeba wytłumaczyć, dlaczego defekt ten ujawnia się dopiero na określonym etapie rozwoju zarodka. Autorzy przytaczają dwie możliwości: 1 — dopiero w danym momencie powinien zacząć pracować normalny allel określonego genu; 2 — dopiero na danym etapie zarodek zużył substancje zgromadzone w jaju podczas oogenezy i nie jest zdolny do samodzielnej syntezy tych materiałów.

Osobnik dorosły. Ubarwienie dorosłych aksolotli zależy od proporcji i rozmieszczenia melanoforów, iridoforów i ksantoforów. W warunkach naturalnych ujawniają się cztery recesywne mutacje: *a* — zahamowanie syntezy melaniny, *ax* — zablokowanie syntezy pterydyny, *d* — ograniczenie liczby melanoforów i ksantoforów oraz *m* — zwiększona liczba melanoforów. Mutanty te mogą stanowić świetny model do badania różnicowania komórek, interakcji międzykomórkowych i biosyntezy barwników. Różne formy ubarwienia są też doskonałym markerem w doświadczeniach embriologicznych.

Istnieje obecnie możliwość wywoływania u *A. mexicanum* nowych mutacji przez zastosowanie środków mutagennych. Ponadto nadal trwają prace nad wyhodowaniem następnych szczepów wsobnych aksolotla. Zdaniem autorów otwiera to nowe możliwości wszechstronnego analizowania procesów zachodzących podczas rozwoju zarodkowego kręgowców.

Barbara Płytycz

RECEPTORY WABIĄCYCH SEKSUALNIE SUBSTANCJI ZAPACHOWYCH U MOTYLI NOCNYCH*

U wielu zwierząt, a szczególnie u owadów, chemiczne sygnały grają główną i często decydującą rolę w międzyosobniczym porozumiewaniu się. Wydzielane przez zwierzę związki chemiczne, które wyzwalają u innych osobników tego samego gatunku specyficzny rodzaj zachowania się nazwano feromonami. Feromony wywierające wpływ przyciągający — to atraktanty; (odpychające nazywamy repelentami). We wzajemnym odnajdywaniu się u owadów osobników przeciwnej płci w wielu przypadkach zasadniczą rolę odgrywają atraktanty płciowe¹. Wiele interesujących danych dotyczących atraktantów płciowych zawiera omawiany artykuł Dietricha Schneidera. Dotyczą one zarówno ich składu chemicznego, budowy chemicznej cząsteczek, jak i wpływu tych substancji na zachowanie się owadów. Jest też mowa o budowie i funkcji receptorów tych wabiących związków wonnych.

W większości bodaj przypadków feromonowe atraktanty płciowe są produkowane i wydzielane przez nie zapłodnioną samicę, która swym specyficznym zapachem — zwykle zresztą niewyczuwalnym dla ludzi — wabi samce. Substancje te wystarczają do wyzwolenia gwałtownej reakcji samca już w minimalnych stężeniach.

Charakterystyczne zachowanie się samców w takim przypadku było opisywane już przez R. A. Ferchaulta de Réaumura, F. Ch. Lessera i A. J. Rösela von Rosehof (XVIII w.), a potem przez A. Forela i J.-H. Fabre'a. W ciągu ostatnich dwudziestu lat XX w. zainteresowanie feromonami rosło systematycznie, wzrastała też liczba zidentyfikowanych feromonów. Feromony owadów były badane szczególnie intensywnie, ponieważ wydawało się, że mogłyby zostać wykorzystane w walce z owadami-szkodnikami. Stosowanie niejednokrotnie bardzo pomysłowych metod ekstrakcji², a także coraz to lepszych metod chemicznych, fizjologicznych i histologicznych pozwoliło na chemiczną identyfikację wielu spośród tych wabiących substancji, a także na udowodnienie lokalizacji receptorów węchu w czułkach (antennach) owadów i na poznanie tych narządów.

Pierwszym zidentyfikowanym chemicznie (przez A. Butenandta) feromonowym atraktantem płciowym była zapachowa wabiąca substancja jedwabnika morwowego (*Bombyx mori*). Związek ten jest nienasyconym alkoholem o nazwie *trans-10-cis-12-heksadekadien-1-ol*, znany szeroko pod nazwą „bombykolu”.

Jedwabniki morwowe są owadami bardzo mało ruchliwymi. Samce nie mogą więc łatwo penetrować terenu w poszukiwaniu samicy. Informacje o jej

* Schneider D. — *The sex-attractant receptor of moths*, Sci. Amer., t. 231 nr 1, s. 28—35, 1974.

¹ Zob. Boczek J. — *Atraktanty płciowe i inne feromony owadów i roztoczy*, Wiad. ekol., r. 1973 nr 3, s. 245—256, 1973.

² Wiele ciekawych informacji na te tematy może znaleźć Czytelnik w książce R. H. Wrighta pt. *Nauka o zapachu*, PWN, Warszawa 1972 (por. Kosmos A, t. 22 nr 3, s. 303—306, 1973).

obecności przekazywane są właśnie za pomocą wydzielanego przez nią bombykolu. Sześciomilimetrowe, piórokształtne anteny samca służą do wykrywania źródła atrakcyjnego zapachu samicy. Natomiast czułki samicy jedwabnika nie reagują na bombykol.

Schneider prowadził badania nad progiem wrażliwości receptorów węchowych, ich specyficznością i mechanizmem adsorpcji cząsteczek substancji wonnej na antenach jedwabnika morwowego (*Bombyx mori*), brudnicy nieparki (*Porthetria s. Lymantria dispar*) i brudnicy mniszki (*P. monacha*).

W swych doświadczeniach nad *Bombyx mori* stosował Schneider metodę otrzymywania elektroolfaktogramów z czułek tego owada. Polega ona na zapisywaniu na specjalnym przyrządzie zwanym oscylografem zmian potencjałów elektrycznych z anten pobudzonych bodźcem węchowym. Peryferyczna część komórki czuciowej (receptora) w czułku reaguje bowiem na adekwatny bodziec — czyli lotną substancję zapachową — zmianą ładunku elektrycznego błony komórkowej, tzw. potencjałem generatorowym receptora. Testowano reakcje elektroolfaktograficzne jedwabnika na różne stężenia bombykolu i izomery tego związku, a także na inne homologiczne alkohole. Wszystkie te związki pobudzały komórki receptorowe czułek, ale żaden z nich nie oddziaływał tak skutecznie jak bombykol. Bardziej szczegółowe doświadczenia z zastosowaniem mikroelektrod, pozwalających na badanie poszczególnych komórek czuciowych, wykazały, że amplituda potencjałów generatorowych komórek receptorowych wzrasta wraz ze wzrostem stężenia związków stymulujących.

Schneider starał się odpowiedzieć na pytanie, ilu potrzeba cząsteczek bombykolu, aby wywołać zmianę potencjału elektrycznego w komórce czuciowej anteny oraz jaka ich najmniejsza liczba może wyzwolić behawioralną reakcję samca, tj. wyrazić się jego zachowaniem (od ang. behaviour = zachowanie się). Badania przeprowadzano z bombykolem znaczonego trytem (tj. z izotopem wodoru o ciężarze atomowym 3). Dostrzegalną reakcję samca — charakterystyczne trzepotanie skrzydłami — zanotowano, gdy w stymulującym prądzie powietrza było ok. 1000 cząsteczek bombykolu na 1 cm³. Okazuje się, że efektywność wabiącej seksualnie substancji zapachowej jest niezmiernie duża, bowiem takie stężenie zostało przygotowane z $3 \cdot 10^{-6}$ mikrograma bombykolu (1 mikrogram, $1 \mu\text{g} = 10^{-6}$ g) i tylko 300 cząsteczek atraktantu zatrzymało się w ciągu 1 sek. na 17 000 włoskach czuciowych anteny. Na podstawie obliczeń statystycznych można stwierdzić, że w czasie tej 1 sek. tylko dwa z włosków czuciowych otrzymują podwójne uderzenie cząsteczkami bombykolu, a wszystkie inne — pojedyncze. Z doświadczenia tego wynika więc, że receptory włosków na czułkach jedwabnika morwowego są skutecznie pobudzane już przez pojedyncze cząsteczki bombykolu. Podobny stopień wrażliwości komórek receptorowych można znaleźć w reagowaniu pręcików siatkówki kręgowców w odpowiedzi na 1 kwant światła.

Dostatecznie silny receptorowy potencjał generatorowy powoduje wysłanie przez komórkę nerwową krótkotrwałego impulsu nerwowego o składowej elektrycznej, zwanej potencjałem iglicowym. Taki impuls przebiega wzdłuż wypustki osiowej neuronu (aksonu, zwanego dawniej neurytem). Badania mikroelektrodowe oddzielnych aksonów komórek receptorowych czułek jedwabnika morwowego wykazują, że pojedynczy impuls nerwowy powstaje wskutek oddziaływania na receptor już jednej cząsteczki bombykolu. Jednakże niektóre komórki nie pobudzone też generują spontaniczne impulsy stanowiąc „szumy” układu receptorowego. W stanie spoczynku wszystkie komórki receptorowe anteny wytwarzają około 1600 takich impulsów na sekundę. Dlatego też mózg owada dopiero wtedy reaguje na informację o zapachu, gdy w okresie 1 sek.

nerwem węchowym otrzyma on nie mniej niż 200 impulsów nerwowych ponad ten statystyczny poziom „szumu” komórkowych potencjałów. Większe stężenie substancji zapachowej powoduje generowanie serii impulsów nerwowych, które wędrują do ośrodków mózgowych. Ich częstotliwość zależy od siły bodźca, bezpośrednio zaś — od amplitudy potencjałów generatorowych. Same potencjały iglicowe natomiast mają zawsze stałą pod względem napięcia amplitudę.

Węchowy włoszek czuciowy anteny — np. *sensillum basiconicum* — ma na swojej powierzchni liczne pory prowadzące do kanalików, które z kolei docierają do jednego z dwóch dendrytów komórek receptorowych włoska. Częsteczki zapachowe są adsorbowane na powierzchni włoska, przedostają się przez pory kanalików i wchodząc w kontakt z błoną dendrytu wywołują w nim zmianę potencjału elektrycznego. Akceptor cząsteczek bombykolu w błonie dendrytu komórki receptorowej może działać jako „urządzenie przepustowe”, które reguluje przepływ jonów przez błonę, a przez to rozprzestrzenianie się ładunków wewnątrz i na zewnątrz komórki — w konsekwencji wyrażające się w potencjale generatorowym i powodujące wystąpienie potencjałów iglicowych. Zjawisko to może być osiągnięte przez zmiany konformacyjne w molekularnej strukturze akceptora podczas adsorpcji cząsteczki bombykolu. Miejsce wiązania na akceptorze — „gniazdko” — i cząsteczka substancji zapachowej są dopełniające. Specyficzność tych „gniazdek” można wywnioskować ze względnej efektywności różnych związków zapachowych. Miejsca wiązań u *Bombyx mori* są bardzo selektywne.

Nie wiadomo jeszcze, w jaki sposób cząsteczka zapachowa jest usuwana z błony dendrytu. Jednym z możliwych mechanizmów, jak twierdzi Schneider, jest proces metaboliczny.

Wydaje się prawdopodobny fakt, że brudnica mniszka i brudnica nieparka wydzielają taki sam atraktant płciowy. Uniemożliwiająca krzyżowanie się tych dwóch gatunków „bariera” musi więc mieć charakter niechemiczny.

Badania nad atraktantami płciowymi owadów nasuwają możliwość ich praktycznego zastosowania do zwalczania szkodników. Po pierwsze stosuje się rozpylanie na dużych obszarach środków wabiących. Prowadzi do nasycania na drodze adsorpcji tymi substancjami receptorów węchowych owadów-szkodników, co może doprowadzić do zakłócenia ich normalnych reakcji seksualnych: uniemożliwia zlokalizowanie i rozpoznanie przez osobniki swych partnerów, a pośrednio — ogranicza ich rozród. Poza tym — działające wybiórczo wabiki seksualne nadają się znakomicie do wczesnego wykrywania nadmiernego rozrodu szkodliwych owadów. Dlatego też badaniami nad zachowaniem się owadów coraz powszechniej interesują się specjaliści od zwalczania szkodników. Wyrazem tego było liczne uczestnictwo na poświęconym temu zagadnieniu sympozjum zorganizowanym dnia 20 lutego br. przez Polskie Towarzystwo Entomologiczne w Warszawie. Można oczekiwać w tym zapowiedzi rozwoju w naszym kraju badań nad etologią owadów i wiązaniu ich z praktyką, w czym znajdujemy się daleko w tyle za innymi krajami, nawet sąsiednimi.

Jerzy Andrzej Chmurzyński, Maria Kieruzel

ZEBRANIA, ZJAZDY I KONFERENCJE NAUKOWE

POSIEDZENIE SEKRETARIATU WYDZIAŁU II PAN

W dniu 11 kwietnia 1975 r. odbyło się posiedzenie Sekretariatu Wydziału Nauk Biologicznych Polskiej Akademii Nauk. Posiedzenie to poświęcone było omówieniu organizacji i aktualnym zagadnieniom Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego.

L. K.

SEKRETARIAT WYDZIAŁU NAUK BIOLOGICZNYCH PAN

Sekretarz Naukowy Polskiej Akademii Nauk powołał następujący skład Sekretariatu Wydziału Nauk Biologicznych PAN na nową kadencję władz Polskiej Akademii Nauk:

Adam Urbanek, członek kor. PAN

przewodniczący

prof. dr Romuald Klekowski

prof. dr Leszek Kuźnicki

Włodzimierz Michajłow, członek rzecz. PAN

Włodzimierz Ostrowski, członek kor. PAN

prof. dr Przemysław Trojan

prof. dr Kazimierz L. Wierchowski

L. K.

KONFERENCJA POŚWIĘCONA ZREKOMBINOWANYM CZĄSTECZKOM DNA

W powiązaniu z apelem 11 biologów amerykańskich ogłoszonym w lipcowym numerze Science o chwilowym zaprzestaniu badań nad łączonymi cząsteczkami DNA odbyła się w dniach od 24 do 27 lutego 1975 r. międzynarodowa konferencja w Asilomar, Pacific Grove w Kalifornii. Organizatorem zarówno apelu, jak i tego zebrania był Komitet do Spraw Rekombinacyjnych Cząsteczek DNA powstały przy Narodowej Akademii Nauk USA. Przewodniczącym i głównym organizatorem był Paul Berg z Uniwersytetu Stanforda w Kalifornii oraz 10 innych wybitnych biologów amerykańskich. Współorganizatorami tej konferencji byli także Seymour Brenner z Anglii i N. K. Jerne ze Szwajcarii.

W konferencji brało udział ok. 70 biologów amerykańskich i ok. 50 biologów z 15 różnych krajów. Poza tym w konferencji brało udział ok. 15 dziennikarzy z różnych czasopism amerykańskich, a także zaproszeni prawnicy i socjologowie. Po zjeździe miała się odbyć konferencja prasowa w San Francisco, aby powiadomić całe społeczeństwo o wynikach tych obrad. Następnego dnia po zakończeniu konferencji szereg największych gazet amerykańskich umieściło dokładne sprawozdania z przebiegu obrad i uchwał konferencji.

Konferencja polegała na przedstawianiu stanu współczesnego i perspektyw nowo powstałej metody łączenia cząsteczek DNA oraz na licznych dyskusjach nad ustaleniem warunków dalszego prowadzenia tych badań. Organizatorzy wybrali trzy kilkusobowe komisje, które miały opracować oddzielnie projekty za-

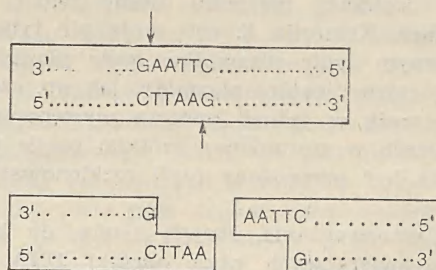
leceń co do przyszłości badań nad rekombinowanym DNA. Jedna dotyczyła badań nad bakteriami ze specjalnym uwzględnieniem plazmidów i fagów bakteryjnych, druga zajmowała się problemem rekombinowanych cząsteczek DNA, pochodzących z wirusów zwierzęcych zwłaszcza wirusów onkogenicznych, wreszcie trzecia komisja opracowała zasady doświadczeń nad klonowaniem DNA eukariotów. Wszystkie te trzy komisje przedstawiły szczegółowe, obszerne projekty organizacji i kontroli przyszłych badań. Były one następnie szczegółowo i często burzliwie dyskutowane w całym zgromadzeniu.

Zebranie zagał David Baltimore, który stwierdził, że apel ogłoszony w lipcu był powszechnie przyjęty i że jemu znany jest tylko jeden przypadek podjęcia tego rodzaju badań już po apelu. Zwrócił uwagę zebrania, że apel miał jedynie na celu wstrzymanie badań do czasu obecnej konferencji, która powinna opracować już bardziej szczegółowe reguły i sposoby zapobieżenia infekcji zarówno samych pracowników laboratoryjnych, jak i ewentualnego zagrożenia ludzkości w wypadku wymknienia się syntetyzowanych cząsteczek DNA do człowieka i środowiska. Niebezpieczeństwo jest tylko potencjalne i obecnie nie do określenia, gdyż w wyniku stosowania nowych metod powstają nowe cząsteczki DNA, jakie nigdy w naturze nie istniały. Z drugiej strony Baltimore podkreślił wielkie znaczenie tych cząsteczek dla szeregu zagadnień teoretycznych takich zwłaszcza, jak poznanie struktury DNA eukariotów, regulacji funkcji genów i procesów różnicowania się komórek wyższych organizmów eukariotycznych. Również znaczenie praktyczne może być olbrzymie zwłaszcza dla medycyny np. w dziedzinie badań nad rakiem a także w rolnictwie i przemyśle w produkcji żywności czy preparatów białkowych. Oczywiście istnieje też możliwość nadużycia tych badań do wykorzystania ich do celów wojennych. Jednym słowem cały problem ma nie tylko stronę naukową, ale także etyczną, społeczną a w pewnym sensie także i polityczną.

Następnie prof. Paul Berg omówił współczesny stan technologii wytwarzania rekombinowanych cząsteczek DNA i bezpośrednie perspektywy tych badań. Proces rekombinacji między DNA bakterii i DNA fagów czy plazmidów znany jest od z górą 20 lat i jest powszechnie wykorzystywany przez genetyków w ich codziennej pracy. Odbywa się on w komórkach bakterii infekowanych fagami czy plazmidami. Nowość obecnej metody polega na tym, że proces ten możemy przeprowadzać poza komórką *in vitro* oraz, że rekombinować można nie tylko cząsteczki DNA pochodzenia bakteryjnego, ale wszelkich rodzajów DNA roślinnego czy zwierzęcego.

Najczęściej obecnie stosowaną metodą jest wykorzystywanie enzymów bakteryjnych, tak zwanych endonukleaz restrykcyjnych. Różne gatunki bakterii a nawet różne genetycznie szczepy tego samego gatunku wytwarzają liczne odrębne enzymy restrykcyjne. W komórkach bakterii enzymy te służą do rozpoznawania i nacinania obcego DNA, które może się dostać do komórki (np. DNA faga). Enzymy te rozpoznają w DNA specyficzne sekwencje nukleotydowe tworzące tak zwane palindromy a więc sekwencje w obu niciach wzajemnie do siebie symetryczne. Na przykład jeden z enzymów restrykcyjnych z *E. coli* nazywany *ecoRI* rozpoznaje w DNA odcinki o sekwencjach pokazanych na rys. 1. Strzałki oznaczają miejsca, które są przecinane przez enzym *ecoRI*. W wyniku takiej działalności enzymu powstają fragmenty dwuniciowego DNA zakończone jednonicowymi „wąsami” czyli lepkimi końcami. Przy pomocy tych jednonicowych końców zawierających komplementarny układ zasad mogą różne cząsteczki DNA łączyć się razem. Powstają więc cząsteczki złożone z licznych odcinków. W procesie łączenia fragmentów nie jest istotne z jakiego organizmu pochodzi DNA byle tylko miały te same komplementarne lepkie końce. Do peł-

nego połączenia fragmentów w nowe złożone cząsteczki DNA konieczny jest jeszcze enzym ligaza, który ponownie powiąże przecięte przez enzym restrykcyjny wiązania fosfodwuestrowe.



Rys. 1.

W jednej cząsteczce DNA może występować atakowana przez dany enzym restrykcyjny specyficzna sekwencja nukleotydów w różnych jej miejscach. Wtedy dany enzym restrykcyjny będzie przecinał cząsteczkę DNA w kilku ściśle określonych miejscach. Na przykład enzym *ecoRI* tnie cząsteczkę faga lambda w 5 miejscach na 6 odcinków różnej długości i zawierających różne geny genomu faga. Z różnych bakterii wyodrębniono już obecnie kilkanaście odrębnych enzymów restrykcyjnych. Na przykład enzym restrykcyjny *ecoRI* (z *E. coli*) wytwarza cząsteczki z lepkimi końcami o składzie nukleotydowym CCAGG i GGTCC, analogiczny enzym z *Hemophilus influenzae* *hinRIII* tworzy cząsteczki z lepkimi końcami o sekwencji AGCT i TCGA, zaś enzym z *H. parainfluezae* (*hpaRII*) wytwarza fragmenty z lepkimi końcami o składzie nukleotydowym GG lub CC.

Jeśli mieszamy odcinki otrzymane z DNA z różnych organizmów, ale przy pomocy tego samego enzymu restrykcyjnego, to dzięki posiadaniu komplementarnych lepkich końców mogą się one z sobą łączyć w cząsteczki złożone z dwóch lub więcej rodzajów DNA. Używanie enzymów restrykcyjnych jest obecnie najczęściej używaną metodą otrzymywania rekombinowanych cząsteczek DNA. Dzięki lepkim końcom można otrzymywać nie tylko cząsteczkę liniową złożoną z DNA pochodzącego z różnych źródeł, ale końcowe cząsteczki z wolnymi końcami mogą powodować cyrkulizację i wytwarzanie kolistych cząsteczek DNA. Dzieje się to w ten sam sposób jak liniowa cząsteczka faga lambda cyrkuluje się po wnikięciu do komórki *E. coli*. Fag lambda, jak wiadomo posiada na dwóch końcach jednoniciowe 12 nukleotydowe wzajemnie komplementarne sekwencje.

Właściwości lepkich końców wykorzystuje także G. Khorana przy syntezie chemicznej genu dla $tRNA^{Tyr}$ *E. coli*.

P. Berg przedstawił także obecnie wprowadzaną inną metodę łączenia cząsteczek DNA. Mianowicie do fragmentów DNA otrzymanych na przykład drogą mechaniczną przyłącza się jednoniciowe lepkie końce poly A lub poly T przy użyciu specyficznych terminalnych transferaz. Obecność już 3—4 nukleotydowych końców typu AAAA i TTTT umożliwia łączenie fragmentów DNA w rekombinowane dłuższe cząsteczki.

Aby nowo powstająca złożona cząsteczka DNA mogła się w komórkach bakterii namnożyć musi mieć zdolność replikacji. Odcinki obcego DNA wprowadza się więc do bakterii przy pomocy albo plazmidów, albo też fagów. Plazmidy posiadające kolistą DNA są odrębnymi replikonami, które zawierają w DNA specyficzny odcinek związany z replikacją ich DNA. Gdy przy pomocy endo-

nukleaz restrykcyjnych DNA plazmidu zostanie pocięte na kilka segmentów, to z odcinka zawierającego informacje o autonomicznej replikacji i obcego DNA można skonstruować ponownie kolistą cząsteczkę DNA zawierającą odrębne np. zwierzęce DNA. Tak zrekombinowany plazmid może wnikać do komórki bakterii, przy czym przy replikacji plazmidu ulegać będzie także replikacji obce DNA w nim występujące. Komórka *E. coli* może nie tylko pobrać i namnożyć plazmid, ale przy pewnym typie plazmidów może plazmidami infekować inne komórki bakterii. Przy czym niektóre plazmidy, jak np. często używany plazmid kolicynogenności colEI może w jednej komórce występować nawet w tysiącach egzemplarzy. W ten sposób w stosunkowo krótkim czasie wprowadzony w plazmidzie obcy DNA może być namnożony czyli rozklonowany w olbrzymich ilościach kopii.

Drugim sposobem wprowadzania obcych genów do komórek bakterii jest konstruowanie fagów zawierających obce odcinki DNA. Enzym restrykcyjny *ecoRI* tnie cząsteczkę faga lambda na 6 odcinków atakując DNA w 5 pozycjach, przy czym jeśli w cząsteczce zrekombinowanej znajdują się dwa skrajne segmenty lewy i prawy to otrzymuje się faga zdolnego do infekcji. W środku tej cząsteczki można wprowadzić każdy dowolny DNA, który fag następnie wprowadza do komórki bakterii. A więc współczesna dostępna technika umożliwia wprowadzenie i namnażanie dowolnego obcego DNA w komórce bakteryjnej.

Ponieważ jednym z możliwych niebezpieczeństw z rekombinowanymi cząsteczkami DNA jest możliwość wymknięcia się *E. coli* z obcym DNA do środowiska i do przewodu pokarmowego ludzi, szereg mówców (S. Falkow z USA i E. Anderson H. William-Smith i M. Richardson z Anglii) omawiało ekologię bakterii przewodu pokarmowego oraz ich plazmidów u człowieka i zwierząt. Dla oszacowania stopnia zagrożenia zrekombinowanymi cząsteczkami DNA namnażanymi w *E. coli* jest bardzo istotne ocenianie jakiego rodzaju szanse miałyby tego rodzaju sztucznie wytworzone bakterie do wywołania np. epidemii wśród zwierząt i ludzi.

Ponieważ *E. coli* jest powszechnym składnikiem flory jelitowej, a jednocześnie głównym obiektem badań laboratoryjnych to poznanie jej ekologii jest bardzo ważnym zagadnieniem. *E. coli* wykazuje dużą zmienność serologiczną i tylko niektóre z serotypów *E. coli* są chorobotwórcze i wywołują krwawą biegunkę. Szczep *E. coli* K12, z którym zwykle pracują genetycy nie jest normalnym składnikiem flory naszego przewodu pokarmowego. Przy sztucznym zakażaniu ludzi szczepem K12 zwykle zanika on już w przewodzie pokarmowym po 5—6 dniach. *E. coli* zawierająca epizom płodności F nie ma dużych szans przekazywania plazmidu F innym komórkom ze względu na wyraźnie obniżoną wartość selektywną w stosunku do szczepów F⁻. Z drugiej jednak strony liczne inne plazmidy przenoszące oporność na antybiotyki i inne leki namnażają się i przekazują epizomy innym komórkom bakterii w przewodzie pokarmowym bardzo szybko. Przy podawaniu ludziom antybiotyków procent komórek *E. coli* z plazmidem R wzrasta szybko z 32 do 83%. 80% ludzi posiada we florze bakteryjnej plazmid R nawet w terenach, gdzie nigdy nie stosowano antybiotyków, jak np. w niektórych obszarach Gwinei. Stwierdzono, że w wodzie Potomacu bakterie dostające się ze ściekami z Waszyngtonu a zwłaszcza *E. coli* w olbrzymiej większości zawiera plazmidy R. Nie ulega wątpliwości, że plazmid R jest dla komórek *E. coli* selektywnie dodatni.

W badaniach nad kurami H. William-Smith wykazał, że *E. coli* z ich przewodu pokarmowego może zawierać liczne plazmidy, które wytwarzają letalne dla kur toksyny. Plazmidy te mogą być przekazywane bakteriom z rodzajów *Salmonella* i *Shigella*. Plazmidy te niosą różne geny endotoksyn (ent), zdolności

do adhezji bakterii do komórek nabłonka jelit (K88) i letalnych egzotoksyn (vir). Bakterie z tymi plazmidami mogą powodować epidemie i masową śmierć kur (do 100%). Niektóre szczepy *E. coli* z pewnymi plazmidami namnażają się bardzo szybko w przewodzie pokarmowym kur i powodują epidemie biegunki i śmierć. Obecność w bakteriach niektórych plazmidów znacznie zwiększa ich przeżywalność. Wykazano także, że DNA różnych plazmidów R i innych może w warunkach naturalnych ulegać rekombinacji w wyniku czego powstają nowe typy plazmidów. S. Falkow podsumowując referaty i dyskusję nad ekologią *E. coli* i plazmidów *Enterobacteriaceae* podkreślił, że zarówno różnorodność bakterii przewodu pokarmowego, jak i ich plazmidów oraz bakteriofagów powoduje możliwość stałej rekombinacji wszystkich trzech elementów między sobą. Stanowią one jakby dwie pule genów chromosomowych i pozachromosomowych. Wprowadzenie nowych wytworzonych przez człowieka typów bakterii, plazmidów czy fagów może spowodować istotne zmiany w populacjach bakterieryjnych człowieka i zwierząt.

Następnie odbyła się dyskusja nad odpowiedzialnością moralną jak i prawną za ewentualne ujemne skutki omawianych doświadczeń. Dyskusję zainicjował prof. H. Green, prawnik z Uniwersytetu Waszyngtona. Kontrola nad działalnością naukową przeprowadzana przez instytucje społeczne czy urzędy państwowe może być często mało skuteczna i zwykle jako reakcja po jakimś zagrożeniu społeczeństwa. Green zwrócił uwagę na zupełnie wyjątkowy charakter tej konferencji, która została zorganizowana z inicjatywy samych naukowców w momencie umożliwiającym jeszcze uniknięcia ewentualnych ujemnych skutków tych badań. Nawet gdyby konferencja ta nie dała żadnego praktycznego wyniku to sam fakt jej zwołania jest już istotnym wydarzeniem. Większość uczestników w dyskusji wyraziła opinię, iż badania te należy prowadzić, ale jednocześnie trzeba zmniejszyć ryzyko przez wprowadzenie szeregu barier fizycznych i biologicznych zmniejszających ryzyko kontaminacji.

Następnie omówiono różne typy plazmidów bakteryjnych i ich zalety i wady w tej dziedzinie badań genetycznych. We wprowadzeniu R. Novick podsumował ważniejsze dane o plazmidach. Plazmidy są to cząsteczki DNA występujące w komórkach bakteryjnych niekonieczne dla istnienia bakterii, zdolne do niezależnej replikacji. Ich DNA jest prawie zawsze koliste w postaci supercoil przy czym sekwencje nukleotydowe DNA plazmidowego są odrębne od sekwencji nukleotydowych DNA chromosomu bakteryjnego. Masa cząsteczkowa waha się od $2,7$ do 67×10^6 daltonów. Im plazmidy są mniejsze, tym większa ilość ich kopii może występować w jednej komórce bakteryjnej (do 7000 kopii na 1 chromosom bakteryjny). Posiadają specjalne obszary związane z inicjacją replikacji DNA o bardzo specyficznych sekwencjach nukleotydowych. Substancje inicjacyjne (białka) są specyficzne dla danego replikonu i zakodowane są w DNA plazmidów, choć czasem niektóre produkty genów bakteryjnych biorą także udział w inicjacji replikacji DNA plazmidowego. Replikacja plazmidów nie jest powiązana z replikacją chromosomu bakteryjnego, zaczyna się zawsze w określonym miejscu DNA danego plazmidu i przebiega w obu kierunkach wzdłuż kolistej cząsteczki DNA. W DNA plazmidów występują oprócz genów istotnych dla replikacji ich DNA także i liczne geny nieistotne dla plazmidów, które wobec tego można usunąć na drodze delecji i ewentualnie zastąpić innym rodzajem DNA. W jednej komórce mogą egzystować różne plazmidy lub też się nawzajem wykluczają. Zależne to jest od jakości genów w samych plazmidach jak i w DNA chromosomowym bakterii. Plazmidy rekombinując ze sobą czy z DNA chromosomu bakterii często posługują się własnym systemem enzymów rekombinacyj-

nych. Rekombinacje między plazmidami można obserwować w szczepie *E. coli* RecA⁻, który niezdolny jest do rekombinacji DNA chromosomalnego.

R. Curtiss omówił proces koniugacji u bakterii i warunki przekazywania plazmidów między komórkami. W procesie koniugacji u bakterii po wytworzeniu par komórek, następuje efektywne tworzenie par prowadzące do mobilizacji DNA chromosomów bądź plazmidów. Następnie zachodzi transfer DNA z komórek dawców do komórek biorców. Wykazano, że dla specyficznego tworzenia par istotne są białka pili występujące w komórkach dawców a powstające w wyniku obecności specyficznych genów plazmidowych. Następnie zachodzi między partnerami wymiana białek zewnętrznych warstw błony. Dla mobilizacji DNA konieczne jest jego połączenie z wewnętrznymi błonami komórki. Curtis wykazuje, że taka mobilizacja może zachodzić jeszcze przed wytworzeniem efektywnych par, tak jakby komórki przeciwnego znaku wyczuwały się na odległość (węchem czy smakiem?). Przechodzenie DNA plazmidowego polega na powiązaniu jednej nici DNA do błony wewnętrznej, podczas gdy druga jest przekazywana liniowo do komórki dawcy, gdzie ulega przekształceniu w podwójną helisę, na skutek dosyntetyzowania drugiej, komplementarnej nici. W ostatnim etapie powstają cząsteczki kolistę nie związane z błoną komórkową. Istnieją liczne czynniki uniemożliwiające transfer plazmidów z komórki do komórki, jak np. ekskluzja przez homologiczne plazmidy komórki biorcy, niezdolność do koniugacji, restrykcja DNA plazmidowego, indukcja zygotyczna profagów czy wreszcie izolacja ekologiczna. W wyniku rekombinacji mogą powstawać nowe plazmidy. Mimo tych ograniczeń zjawisko przekazywania plazmidów nawet do komórek innych gatunków bakterii jest bardzo rozpowszechnione. *E. coli* może wymieniać plazmidy z 25 różnymi gatunkami bakterii.

J. Davies przedstawił główne efekty fenotypowe plazmidów bakteryjnych. Różne plazmidy nadają bakteriom różnorodne właściwości, jak np. płodność czyli zdolność do koniugacji przez wytwarzanie pili, oporność względnie wrażliwość na liczne antybiotyki, bakteriocyny, fagi, jony ciężkich metali, detergenty, napromieniowywanie lub na działanie niektórych chemicznych mutagenów. Najistotniejsze ze względów praktycznych jest poznanie mechanizmów oporności na antybiotyki. Są tu zaangażowane liczne geny kodujące enzymy inaktywujące antybiotyki. Do inaktywacji penicyliny potrzebny jest tylko jeden enzym rozrywający pierścień laktonowy, do inaktywacji streptomycyny i neomycyny potrzebne są po trzy enzymy, a do inaktywacji np. gentamicyny aż 4 różne enzymy, których geny występują w plazmidach. U *Actinomycetes* produkujących te antybiotyki występują geny tych samych enzymów degradujących. Być może plazmidowe geny oporności na antybiotyki występujące w plazmidach R pochodzą właśnie z *Actinomycetes*. Znamy tylko nieliczne antybiotyki jak np. bakteryцина, dla których nie znane są geny oporności. Na drodze rekombinacji i transpozycji można geny oporności z plazmidów przenosić do chromosomów bakteryjnych a także do fagów. Używając odpowiednich szczepów z plazmidami R i lizogenicznymi w stosunku do określonych fagów można przekazywać geny oporności przy pomocy fagów w dowolnych kombinacjach do najróżniejszych typów komórek biorców.

M. Fox omówił następnie mechanizmy pobierania DNA przez bakterie. Wykazano, że np. *E. coli* może pobrać zarówno DNA liniowe 1- lub 2-niciowe jak i DNA kolistę. Fox jest zdania, że właściwie komórki każdego organizmu są zdolne do wprowadzenia do wnętrza komórki obcego DNA.

H. Boyer omówił genetykę i biochemię procesu restrykcji. Enzymy restrykcyjne mogą być bakteryjne, plazmidowe i wirusowe. Jak jest u *Eucaryota* nie wiadomo. Opisał on dokładną procedurę ich otrzymywania i oczyszczania

od innych nukleaz, a także podał dane o ich strukturze, masach cząsteczkowych i sposobach testowania ich aktywności przy użyciu naturalnych i sztucznych specyficznych substratów. Ich masy cząsteczkowe są rzędu od 40 do 60 tys. daltonów i zwykle oprócz funkcji endonukleotycznej posiadają także właściwości metylaz biorących udział w procesie modyfikacji DNA. Mogą się składać z jednej lub z kilku podjednostek.

S. Cohen z Uniwersytetu Stanforda omówił zasady molekularnego klonowania DNA jako narzędzia do badania biologii plazmidów, jak i DNA eukariotów. Przy wprowadzaniu DNA eukariotycznego do plazmidów bakteryjnych najistotniejsze jest, aby fragment plazmidu zawierał obszar replikatora czy inicjatora replikacji DNA. Cohen używając plazmidów R65 i psc 101 z *E. coli* wprowadzał do nich różne geny ze *Staphylococcus*. Na przykład gen oporności na apilicynę ze *Staphylococcus* przejawiał się słabiej w *E. coli* niż we własnym środowisku komórkowym. Łącząc różne fragmenty plazmidów z obcym DNA oraz badając heterodupleksy w mikroskopie elektronowym można dokładnie mapować położenie transponowanego odcinka obcego DNA. Izolując z oocytów *Xenopus laevis* DNA odpowiadające rRNA i następnie wprowadzając je do DNA plazmidów można było wykazać, że DNA żaby replikuje się wraz z DNA plazmidowym w komórkach *E. coli*. Jednak nie wszystkie rodzaje DNA eukariotycznego są równie trwałe w komórkach prokariotów.

Poważnym problemem nie rozwiązany jest, w jakim stopniu DNA eukariotów ulega transkrypcji i translacji w komórkach bakteryjnych. Cohen stwierdził dla niektórych rodzajów DNA jak np. dla DNA dla histonów z jeźowca, że w minikomórkach zawierających plazmidy z DNA jeźowca zachodziła transkrypcja i translacja obcego DNA choć powstające peptydy wydają się być nieidentyczne z naturalnymi histonami.

K. Murray omówił rolę fagów (głównie faga lambda) jako wektora do przenoszenia i klonowania DNA. DNA faga lambda posiada 5 miejsc rozpoznawanych przez enzym restrykcyjny *ecoRI*. Można na drodze licznych delecji otrzymać wirulentnego faga rozcinanego tylko w jednym miejscu przez *ecoRI* mając dwa fragmenty lewy i prawy takiego faga po działaniu *ecoRI* możemy wprowadzić między te dwa fragmenty dowolny odcinek obcego DNA. Zrekombinowany fag jest zdolny do penetracji komórki bakteryjnej. Takie zrekombinowane fagi od niezrekombinowanych można rozdzielić w gradiencie chlorku cezu.

Plazmid psc 101 lub plazmid kolicynogeny *colEI* mają tylko po jednym miejscu rozpoznawanym przez enzym restrykcyjny *ecoRI*. DNA z tych plazmidów można włączyć do faga Ø 80. Takie mieszańcowe fagi (czy plazmidy) są stałe i namnażają się w komórkach *E. coli* do 1200 kopii na komórkę. Ich DNA może stanowić 40% całego DNA komórki. Przy pomocy tego rodzaju plazmidów namnożono, np. DNA operonu tryptofanowego i komórki z takim zrekombinowanym plazmidem wytwarzały ok. 20 razy więcej enzymów biosyntezy tryptofanu niż komórki normalne z operonem tryptofanowym tylko w chromosomie.

Dużo czasu poświęcono na omówienie łączonych cząsteczek DNA plazmidów bakteryjnych z DNA zwierzęcych wirusów onkogenicznych. Małą kolistą cząsteczkę DNA wirusa SV40 (5300 par nukleotydów) enzym restrykcyjnej *ecoRI* nacina w jednym miejscu podobnie enzym *hpaRII*. Oczywiście enzymy te nacinają DNA wirusa w innych miejscach.

Zbadano już działanie kilkunastu enzymów restrykcyjnych na DNA tego wirusa. Otrzymane liczne wirusy z delecjami jak i mutacjami temperaturowrażliwymi (ts) różnych genów. O ile DNA wirusa zawiera odcinek związany z inicjacją replikacji DNA, to wirus może się namnażać podobnie jak w wy-

padku plazmidów. Niektóre delecyjne muntanty wirusów można namnażać przy pomocy wirusa pomocniczego (helpera), który np. ma temperaturowrażliwą mutację w systemie inicjacji replikacji. Wtedy w odpowiednim układzie przez zmianę temperatury można zahamować lub zainicjować replikację DNA wirusa. Następnie wykazano, że plazmidy zawierające różne odcinki DNA tego wirusa namnażają się normalnie w bakteriach, a więc DNA wirusów onkogenicznych może być klonowane w bakteriach.

Również adenowirusy ad2 i ad5 i inne można klonować w bakteriach. Wykazano, że bardzo niewielki odcinek ich DNA zawiera gen czy geny powodujące transformację nowotworową komórek zwierzęcych. Odcinki te zostały przeniesione do plazmidów i innych wirusów.

A. Lewis otrzymał mieszańcowe wirusy zawierające odcinki DNA wirusa SV40 i adenowirusów o różnych proporcjach DNA obu gatunków wirusów. Mogą one być dobrymi wektorami przenoszącymi DNA różnych ssaków. Również wyizolowano tak zwane prowirusy czy też wirogeny wirusa RSV, który jest wirusem onkogenicznym z RNA. Prowirusy są to koliste cząsteczki DNA o sekwencji nukleotydowej odpowiadającej RNA wirusa. Cząsteczki te na drodze rekombinacji z DNA chromosomów zwierzęcia zostają włączone liniowo do chromosomów. Wykazano, że fragment równy 1/100 całości DNA wirogeny ma właściwości transformacji nowotworowej. Podobnie niewielkie fragmenty DNA wirusa herpes mogą również posiadać zdolności transformujące. Istnieje więc możliwość wyizolowania drobnych odcinków DNA wirusów onkogenicznych związanych z funkcją transformacji komórek normalnych w komórki nowotworowe i następnie klonowanie ich w komórkach bakterii po przeniesieniu przez plazmidy bądź fagi. Zwiększa to bardzo szanse poznania natury produktów tych genów i mechanizmu transformacji nowotworowej.

Na konferencji przedstawiono szereg doświadczeń polegających na włączeniu DNA zwierząt do plazmidów bakteryjnych. D. Hogness ze Stanfordu włączył do plazmidu psc 101 przenoszącego gen oporności na tetracyklinę różnej długości fragmenty DNA *Drosophila*. Odcinki te były włączane w różne miejsca DNA plazmidu, długość tych fragmentów była od 8 do 17 tys. par nukleotydów. Obecność ich wykrywano albo metodą autoradiograficzną, albo przez analizę heterodupleksów analizowanych w mikroskopie elektronowym. Do włączenia fragmentów DNA *Drosophila* do DNA plazmidu używano terminalnej transferazy z dATP i dTTP.

Obecnie nierozwiązany problem stanowi wybranie określonego odcinka DNA zwierzęcego do klonowania w bakteriach. Normalnie przy fragmentowaniu DNA zwierzęcego czy roślinnego wyłowienie z całej masy fragmentów fragmentu zawierającego gen, który chcielibyśmy rozmnożyć, jest praktycznie niewykonalne. Obecnie selekcjonowanie genów *Eucaryota* jest jedynie na drodze izolowania odpowiedniego RNA (rRNA, tRNA czy mRNA) i następnie przeprowadzenie go w DNA przy użyciu odwrotnej transkryptazy. Za pomocą tej metody otrzymano DNA dla rRNA z żaby *Xenopus laevis*, a także izolując mRNA dla na przykład histonów, hemoglobiny, czy gammaglobulin przeprowadzono je w DNA za pomocą odwrotnej transkryptazy. Takie DNA zostało następnie włączone do plazmidu psc101 i rozklonowane w komórkach *E. coli*. Używając tej metody dla DNA kodującego 18S i 28S rRNA z *Xenopus laevis* można było wykazać, że z jednostki 40S zawierającej geny struktury dla 18S i 28S rRNA enzym restrykcyjny *ecoRI* wytwarza kilka fragmentów.

Stwierdzono, że w przerywniku dzielącym dwa geny, który podlega transkrypcji

bardzo często występują liczne delecje, bądź insercje dzięki czemu długość tego odcinka może być zmienna. Stwierdza się to przy pomocy otrzymanych heterodupleksów oglądanych w mikroskopie elektronowym. W przerywnikach występują krótkie sekwencje ok. 15 nukleotydów wielokrotnie powtórzone, mogą one być wycinane lub dołączane dzięki czemu przerywniki są różnej długości. Te repetytywne sekwencje występują zawsze przy końcu 3' genów struktury. Podobne badania przeprowadzono dla genów 5S rRNA z *Xenopus laevis*. Geny te są umieszczone na końcach chromosomów w ilości ok. 10 000 kopii.

Tu również przerywniki leżące przy końcu 3' genu zawierają liczne repetytywne sekwencje złożone z ok. 15 nukleotydów głównie A i T. Przerywniki w pokrewnym gatunku *Xenopus Muelleri* są dłuższe niż u *X. laevis* o zupełnie innym składzie nukleotydowym. Przypuszcza się, że zmiany w sekwencji i ilości nukleotydów w tych przerywnikach nie podlegają ścisłej selekcji i stąd znaczne różnice nawet w pokrewnych gatunkach, podczas gdy geny struktury mają identyczną sekwencję nukleotydową. W jaki jednak sposób sekwencje te są powielane w 10 tys. kopii genów nie wiadomo. Albo pojedyncze mutacje w jednym miejscu zostały następnie 10 tys. razy zamplifikowane lub też powstawały stopniowo na drodze niewzajemnego crosing-over i rekombinacji. Badając w mikroskopie elektronowym rozmieszczenie przerywników między poszczególnymi genami przez częściową denaturację przerywników bogatych w A i T można wykazać, iż są one różnej długości co raczej przemawia za długim stopniowym stwarzaniem.

Wreszcie na zakończenie konferencji Seymour Brenner omówił możliwości wykorzystania zrekombinowanych cząsteczek DNA do dalszych badań teoretycznych, jak i możliwości praktycznego zastosowania tej metody. Uważa on, że w ciągu 10—20 lat następujące problemy będą mogły być rozwiązane. Przede wszystkim jaka jest struktura chromosomów *Eucaryota*? Jaki jest realizowany program genetyczny w złożonym organizmie wielokomórkowym na poziomie molekularnym?

Trzeba będzie jeszcze opracować w przyszłości metody izolowania pojedynczych genów, a następnie klonowania ich nie tylko w komórkach *Procaryota*, ale na przykład w prostych *Eucaryota*, jak np. drożdże czy *Aspergillus* przy użyciu odpowiednich wektorów jak np. wirusów roślinnych czy zwierzęcych lub np. plazmidów, które ostatnio zostały wykryte u drożdży. Klonowanie pojedynczych genów w układzie umożliwiającym ich wierną transkrypcję i translację umożliwi badania produktów białkowych poszczególnych genów np. o właściwościach regulacyjnych. Namnażając różne geny z DNA człowieka w *E. coli* *rec+* można będzie badać rekombinacje między mutantami i sporządzać mapy ludzkich genów. W wypadku genów dla łańcuchów białkowych gammaglobulin będzie można na drodze rekombinacji otrzymywać nowe typy przeciwciał. Brenner podkreślił także olbrzymie możliwości wykorzystania tych badań do celów praktycznych. Na przykład można by rozklonować gen kodujący insulinę i produkować insulinę poza organizmem zwierzęcym (podobno firmy amerykańskie już rozpoczęły finansowanie badań w tym kierunku). Można by także zsyntetyzować chemicznie gen dla insuliny i następnie rozklonować go w bakteriach. Badania nad klonowaniem pojedynczych genów wirusów rakotwórczych mogą szybko doprowadzić do poznania białka czy białek kodowanych przez te geny i poznanie mechanizmu transformacji komórki normalnej w nowotworową.

Uzupełnieniem do referatu Brennera było doniesienie P. Day'a o próbach zastosowania nowej techniki w hodowli roślin. Z bakterii *Klebsiella* wiążącej wolny azot atmosferyczny cały operon złożony z kilku cistronów (*nif*) został przeniesiony do *E. coli* przy pomocy zrekombinowanego wirusa P. Otrzymano

szczep *E. coli* wiążący wolny azot. Następnie otrzymano mutanty *E. coli* o zde-represjonowanym operonie *nif* wytwarzające znaczne ilości amoniaku. Obecnie pracują oni nad przeniesieniem operonu *nif* do hodowanych *in vitro* protoplastów komórek roślinnych. Gdyby taki transfer udało się to z pojedynczych protoplastów można by wyhodować całe rośliny, które wiązałyby azot atmosferyczny. Ewentualnie operon *nif* można by próbować włączyć do DNA chloroplastów roślin, które ewentualnie nawet poza rośliną mogłyby z wykorzystaniem tylko energii słonecznej produkować aminokwasy czy białka. Brzmi to trochę jak science fiction, ale jest już obecnie w sferze teoretycznych możliwości. Ostatnio przy pomocy faga lambda przeniesiono do komórek roślinnych operon laktozowy z *E. coli*, jednak nie jest jeszcze całkiem pewne czy będzie on dziedicznie przekazywany.

Zarówno w czasie obrad jak przez cały ostatni dzień konferencji trwały bardzo burzliwe narady nad końcowymi konkluzjami dotyczącymi przyszłości tych badań i konieczności zastosowania specjalnych środków ostrożności. Najpierw zostały przedyskutowane trzy raporty opracowane przez odrębne grupy specjalistów, dotyczące badań nad rekombinowanym DNA pochodzącym z bakterii i bakteryjnych plazmidów i fagów, dotyczące badań nad rekombinowanym DNA wirusów onkogenicznych i wreszcie nad klonowaniem DNA eukariotów.

Trudno byłoby tutaj dyskutować te raporty jak i długą i zażartą dyskusję nad nimi. W dyskusji brali udział nie tylko biologowie, ale także i zaproszeni na konferencję prawnicy i socjologowie. Ogólnie biorąc przeważał pogląd (choć było kilku przeciwników), że badań tych nie można powstrzymać i należy je kontynuować chociażby ze względu na ich wielkie znaczenie poznawcze, a także praktyczne w medycynie czy hodowli. Niektórych badań jednak ze względu na bardzo znaczne obciążenie ryzykiem szkodliwości i niebezpieczeństw dla człowieka postanowiono w ogóle nie prowadzić, jak na przykład przenoszenie genów warunkujących wytwarzanie toksyn z takich bakterii jak *Clostridium botulinum* czy *C. tetani* do komórek *E. coli* przy pomocy fagów czy plazmidów. Pozostałe typy doświadczeń postanowiono ostatecznie kontynuować dzieląc je jednak na trzy kategorie w zależności od stopnia potencjalnego ich ryzyka dla człowieka są to I kategoria o małym ryzyku, II — o średnim ryzyku i III — o dużym ryzyku. Przykładowo do I kategorii można zaliczyć przenoszenie genów z jednych bakterii niepatogennych do drugih, o ile przenoszone geny nie dotyczą produkcji toksyn. Jeśli doświadczenia dotyczą właściwości patogenicznych należy je zaliczyć do II, a nawet w pewnych wypadkach do III kategorii. Doświadczenia z wirusami wysoce patogenicznymi w ogóle nie powinny być prowadzone. Przy klonowaniu DNA eukariotycznego do I kategorii można zaliczyć większość doświadczeń z fuzją do prokariotycznych wektorów tylko DNA wysoce oczyszczonego z niższych eukariotów: roślin, bezkręgowców i zimnokrwistych kręgowców namnażanych w komórkach bakterii. Do II kategorii łączenia DNA ciepłokrwistych kręgowców z prokariotycznymi wektorami, zaś do III kategorii doświadczenia z DNA wirusów onkogenicznych i przenoszenia niezdefiniowanych fragmentów DNA ciepłokrwistych kręgowców do prokariotycznych wektorów i komórek bakteryjnych bioreaktorów.

Ponieważ większość potencjalnego biologicznego ryzyka, wynikającego z tych badań, jest jeszcze zupełnie nie znana i trudna obecnie do oszacowania, należy koniecznie dążyć do jak najszybszego poznania stopnia biologicznego zagrożenia, które przedstawiają różne typy nowo wytwarzanych łączonych cząsteczek DNA. W miarę postępu prac i wiedzy o tych cząsteczkach należy okresowo ustalać stopień ryzyka i warunki zabezpieczające przed ewentualnymi szkodliwymi skutkami.

Wszyscy się zgodzili, że przede wszystkim należy przystąpić natychmiast do skonstruowania możliwie bezpiecznych komórek biorców jak i wektorów przenoszących obce DNA. Na przykład dla *E. coli* można skonstruować szczepy o takich właściwościach, że poza laboratorium w wypadku ich przeniknięcia do środowiska nie będą miały żadnych szans przeżycia. Na przykład niezdolne do syntezy puryn (*pur*—) czy niezdolne do syntezy kwasu dwuaminopimelikowego koniecznego do syntezy błon komórkowych (*dap*—), albo na przykład zdolne do replikacji DNA w warunkach obniżonej temperatury etc. Także plazmidy czy fagi służące jako wektory mają być tak skonstruowane, aby były stosunkowo „bezpieczne”. Na przykład mutanty faga lambda niezdolne do replikacji, ale posiadające zdolność infekcji komórek. Jako wektory należy używać plazmidów, które nie są przekazywane do innych komórek lub też w przyszłości plazmidy nieinfekcyjne pochodzenia eukariotycznego.

Oprócz obecnie dostępnych zabezpieczeń natury biologicznej uznano za konieczne dla trzech kategorii badań o różnym stopniu biologicznego ryzyka wymagać od placówek naukowych różnych stopni zabezpieczenia typu barier fizycznych. Zastosowano tu trochę zaadaptowaną skalę wymagań przyjętą przez Narodowy Instytut Raka (NIC) obowiązującą w USA. W klasie I stosuje się normalne zabezpieczenia jak w każdej pracowni lekarsko-mikrobiologicznej (noszenie ubrania laboratoryjnego, zakaz jedzenia w zakładzie i prowadzenie wszelkich doświadczeń, w których mikroorganizmy tworzą aerosole w specjalnych zamkniętych pomieszczeniach). W klasie II wszystkie doświadczenia przeprowadza się w izolowanych specjalnych pomieszczeniach, prace wykonuje się w rękawiczkach, cała cyrkulacja powietrza poprzez filtry bakteryjne, w pracowniach specjalnych konieczne podciśnienie). Wreszcie w III kategorii przy dużym ryzyku biologicznym wykonywanych badań muszą być prowadzone w izolowanych laboratoriach, w specjalnych ubraniach, w pokojach z natryskami i z urządzeniami do natychmiastowego niszczenia czynników biologicznych w wydalonym powietrzu, płynach czy ciałach stałych. Praca z niebezpiecznym materiałem w specjalnych zabezpieczonych kabinach z koniecznością każdorazowego przebierania się, natrysku przy każdym wyjściu z pomieszczenia itp. Wszystko to oczywiście przy użyciu komórek i wektorów, których żywotność poza laboratorium jest wybitnie obniżona.

W każdym kraju muszą powstać specjalne komisje, które będą wydawały opinie jakiego rodzaju badania można będzie prowadzić przy posiadanych zabezpieczeniach. Będzie to np. w USA podstawowy warunek przy ubieganiu się o granty na badania z tej dziedziny. Postanowiono poza tym wydawać biuletyn informacyjny, komunikujący o postępach badań w tej dziedzinie. Postanowiono jak najszybciej skonstruować „bezpieczne” typy komórek biorców jak i wektory i szeroko je rozprowadzić wszędzie, gdzie będą podjęte tego rodzaju badania. W miarę postępu badań i ustalenia stopnia rzeczywistego zagrożenia przez wytwarzane nowe rodzaje cząsteczek DNA należy stopniowo adaptować i zmieniać stopnie zabezpieczeń ustalone dla poszczególnych typów doświadczeń. Postanowiono także zorganizować w najbliższym czasie szereg kursów, szkół letnich w celu kształcenia badaczy w rozwijających się szybko metodach i nowych obiektach badań.

Pełniejsze ustalenie rzeczywistych zagrożeń dla ludzi wynikających z tego rodzaju doświadczeń będzie wtedy możliwe, gdy można będzie już odpowiedzieć na szereg istotnych pytań:

Czy eukariotyczne geny lub wirusy ulegają ekspresji w komórkach prokariotycznych, a jeśli tak to jakie to stwarza zagrożenie?

Czy cząsteczki DNA mogą infekować rośliny i zwierzęta?

Czy cząsteczki zawierające jednocześnie DNA prokariotyczne i eukariotyczne wolne czy wmontowane do fagów mogą infekować komórki zwierzęce bądź roślinne i ulegać w nich ekspresji?

Czy mieszańcowe wirusy bądź plazmidy zawierające DNA wirusów onkogenicznych mogą indukować raka u zwierząt?

Niewątpliwie na te pytania i inne już w najbliższym czasie uzyska się odpowiedź. Wtedy można będzie bardziej precyzyjnie ustalić stopień zagrożenia wynikający z poszczególnych typów badań. Obecnie należy być raczej nadmiernie ostrożnym, gdyż większość właściwości nowo tworzonych cząsteczek DNA nie jest jeszcze znana.

Ostateczne sformułowanie konkluzji tej konferencji będzie ogłoszone za kilka tygodni, gdyż przedstawiony przez Komitet organizacyjny konferencji projekt końcowych rezolucji w wyniku dyskusji uległ tak dużym zmianom, że jego ostateczne sformułowanie zostało powierzone specjalnej komisji.

Wacław Gajewski

PIERWSZY MIĘDZYNARODOWY KONGRES EKOLOGICZNY

W dniach 8 — 14 września 1974 r. odbył się w Hadze pierwszy światowy zjazd ekologów, zorganizowany przez Międzynarodowe Towarzystwo Ekologiczne, znane pod skrótową nazwą Intecol. Kongres ten odbywał się pod auspicjami i za poparciem finansowym Międzynarodowej Unii Nauk Biologicznych (IUBS). Organizacja Kongresu w znacznej mierze spoczywała w rękach miejscowego komitetu organizacyjnego, kierowanego przez wybitnego biologa holenderskiego W. H. van Dobbena. Prace i obrady Kongresu odbywały się w nowoczesnym Holenderskim Centrum Kongresowym, którego błękitny sześcian wzniesiony został niedawno w północnej części Hagi na placu im. W. Churchilla.

Kongres w Hadze podsumował dotychczasowy siedmioletni dorobek organizacyjny Międzynarodowego Towarzystwa Ekologicznego, wytyczył dalsze kierunki i sprecyzował cele jego działalności oraz wybrał nowe władze Intecolu. Stworzył przy tym platformę do dyskusji między ekologami różnych specjalności, botanikami, zoologami, limnologami, oceanobiologami, mikrobiologami, antropologami i innymi. Celem głównym tych dyskusji było omówienie podstawowych koncepcji ekologicznych o charakterze uniwersalnym, które wiążą ze sobą różne dyscypliny, odległe zarówno pod względem badanych obiektów, jak i stosowanych metod, a zrzeszone w obrębie ekologii dzięki specyficznemu ukierunkowaniu problematyki. Wyrazem tendencji do poszukiwania wspólnego mianownika w postaci ogólnych teorii ekologicznych, obejmujących prawidłowości zachodzące we wszystkich układach ekologicznych, była decyzja wydania materiałów kongresowych pod wspólnym tytułem „Unifying concepts in ecology”.

Program Kongresu objął dziewięć pracowitych dni. Otwarcia obrad dokonali wieczorem 8 września W. H. van Dobben, przewodniczący miejscowego komitetu organizacyjnego oraz A. D. Hasler, przewodniczący Kongresu i Intecolu. Organizacja obrad przedstawiała się następująco. Obrady przedpołudniowe (9—12³⁰) poświęcone były sesjom plenarnym i odbywały się w największej sali budynku Centrum Kongresowego, brali w nich udział wszyscy uczestnicy Kongresu w liczbie ok. 900 osób. Obrady popołudniowe (14—17³⁰) i wieczorne (19³⁰—22) poświęcone były kwestiom specjalnym i odbywały się w sekcjach, gromadzących specjalistów z danej dziedziny oraz osoby zainteresowane wynikami badań.

Obrady sekcji toczyły się w mniejszych salach budynku Centrum i miały w znacznej mierze charakter spotkań swobodnych prowadzonych w małym zespole, co umożliwiało prowadzenie wymiany zdań niemal na gorąco, bez zachowania rygorów dyskusji, obowiązujących na zebraniach plenarnych. Równolegle toczyły się obrady trzech lub czterech sekcji, co pojedynczym uczestnikom nie dawało możliwości zapoznania się z całością materiałów naukowych przedłożonych na Kongresie.

Odbyło się sześć sesji plenarnych, których tematyka została podzielona następująco:

1. Przepływ energii i materii między poziomami troficznymi (przewodniczący E. P. Odum, USA).
2. Produktynność porównawcza ekosystemów (przewodniczący F. E. Wielgolaski, Norwegia).
3. Zróżnicowanie, stabilność i dojrzałość ekosystemów naturalnych (przewodniczący V. Westhoff, Holandia).
4. Różnorodność, stabilność i dojrzałość ekosystemów znajdujących się pod wpływem działalności człowieka (przewodniczący G. E. Likens, USA).
5. Strategia kierowania ekosystemami naturalnymi i stworzonymi przez człowieka (przewodniczący W. B. Banage, Zambia).
6. Znaczenie społeczne zasad ekologicznych (przewodniczący D. J. Kuenen).

Program popołudniowy odbywał się w trzech sekcjach. Pierwsza z nich objęła doniesienia naukowe (A); w poszczególnych dniach prezentowano następującą tematykę:

1. Przepływ energii i materii między poziomami troficznymi. Sekcja ta podjęła kontynuację obrad sesji plenarnej a przedstawiane referaty omawiały kwestie podstaw fizycznych procesów ekologicznych, problematykę modelowania przepływu energii w ekosystemach oraz omówienie tych zjawisk w wybranych ekosystemach lądowych, ślaskowodnych i morskich.

2. Porównawcza produktywność ekosystemów. Tematyka objęła wybrane zagadnienia dotyczące wydajności ekosystemów sztucznych, głównie agrocenoz, w porównaniu z ekosystemami naturalnymi tej samej strefy geograficznej.

3. Zróżnicowanie, stabilność i dojrzałość ekosystemów naturalnych. Przedstawione materiały objęły niewielki wycinek problematyki. Rozważano w toku obrad przykładowo zagadnienie analizy strukturalnej, poprawność hipotezy o związku stabilności ze zróżnicowaniem w obrębie ekosystemu itp. Podjęto również kwestie związku poziomu stabilności układów ekologicznych ze zjawiskami strukturalnymi oraz systemem funkcjonowania układów w obrębie ekosystemów. Przegląd problematyki objął również zagadnienia stabilności ekosystemów lądowych i morskich w różnych strefach klimatycznych.

4. Strategia kierowania ekosystemami naturalnymi i stworzonymi przez człowieka. Zaprezentowane doniesienia objęły kwestie dotyczące agroekosystemów w krajobrazach tropikalnych, sawannowych, lasów strefy umiarkowanej oraz estuariowych.

Druga sekcja (B) stanowiła sympozjum Międzynarodowego Programu Biologicznego (IBP) i objęła następującą problematykę:

1. Ekosystemy ślaskowodne, słonawiskowe i morskie, podobieństwa i różnice zachodzące na wszystkich piętrach troficznych.
2. Geografia produktywności biologicznej kuli ziemskiej.
3. Ewolucja ekosystemów i jej znaczenie dla geografii i teorii ewolucji.
4. Stałe i niestałe ekosystemy różnych stref klimatycznych, z człowiekiem jako składnikiem integralnym.
5. Prognozowanie reakcji ekosystemów na ingerencję człowieka.

Trzecią sekcję (C) stanowiły sympozja specjalne, poświęcone aspektom metodycznym badań ekologicznych. W referatach zaprezentowano tematykę następującą:

1. Krytyczna ocena analizy systemowej i modelowej zarówno w badaniach jak i kierowaniu ekosystemami, szczególnie zaś aspekty procedury gromadzenia informacji i tryb postępowania przy badaniach prognostycznych.

2. Metody eksperymentowania w ekosystemach stosowane w badaniach terenowych i laboratoryjnych. Przenoszenie wyników badań laboratoryjnych w warunki terenowe.

3. Interpretacja ekologiczna danych zbieranych z dużej odległości.

4. Wkład badań nad układami pasożytniczymi do ekologii ogólnej. Zagadnienia walki biologicznej. Epidemiologia botaniczna.

5. Konsekwencje ekologiczne wylesienia obszarów dla roślinności, gleby i układów wodnych, głównie w obszarach tropikalnych.

Programy sesji wieczornych (E) objęły zróżnicowaną problematykę pokrywającą duże pole badań ekologicznych. Przedmiotem prezentacji i obrad były krótkie doniesienia, których zgłoszono ok. 70. Poszczególne grupy tematyczne objęły następujące kwestie: ekosystemy trawy morskiej, ekologię człowieka, modelowanie i dynamika populacji, zjawiska zachodzące w ekosystemach wodnych, optymalizacja ekosystemów, aerobiologia, wytyczne i kryteria badań związanych z planami rozwoju regionalnego, produktywność układów, wpływ człowieka na ekosystemy i zagadnienia kierowania.

Piątego dnia Konferencji odbyło się Zgromadzenie Ogólne Międzynarodowego Towarzystwa Ekologicznego, na którym przedstawiono wyniki wyborów do władz Intecol, dokonanych korespondencyjnie przez wielotysięczną społeczność ekologów z całego świata.

Program obejmował również kilka spotkań z filmem przyrodniczym, które odbyły się w dniu otwarcia oraz w późnych godzinach wieczornych czwartego dnia obrad. W trakcie trwania Kongresu otwarto wystawę książki ekologicznej, na której wystawy zaprezentowali szeroki wachlarz publikacji. Duży udział miały w nim opracowania dotyczące ekologicznych podstaw ochrony środowiska modelowania ekosystemów oraz ich produktywności w różnych strefach krajobrazowych. Znalazły tu miejsce również wydawnictwa polskie: „Secondary productivity of terrestrial ecosystems”, „Energy flow through small mammal populations” oraz „Polish ecological bibliography”.

Wieczorem drugiego dnia obrad uczestnicy Kongresu zostali przyjęci w zamku królewskim w Hadze w sali rycerskiej przez Prezydenta miasta Hagi.

Wyniki naukowe Kongresu trudno jest ocenić nawet kilka miesięcy po jego zakończeniu. Ponad 400-stronicowy tom materiałów zatytułowany „Proceedings of the First International Congress of Ecology” został doręczony uczestnikom w dniu otwarcia obrad, nie zawiera on jednak pełnych materiałów przedstawionych uczestnikom podczas obrad. Ponadto niektóre zawarte w nim opracowania potraktowano skrótowo, bez niezbędnej dokumentacji lub wymienione są tylko z tytułu. Krótkie przerwy w wypełnionym od rana do nocy programie, wykorzystywali uczestnicy na dyskusje kularowe i spotkania w małych grupach. Nie był również możliwy wgląd w całość przedstawianej problematyki ze względu na równoległość obrad popołudniowych i wieczornych, prowadzonych w sekcjach. Pełna ocena wyników możliwa będzie po ukazaniu się drukiem kompletnych materiałów konferencji, co ma nastąpić w niedługim czasie. Należy jednak zwrócić uwagę na dwa nurty, występujące zarówno w referatach jak i w wypowiedziach dyskusyjnych, szczególnie na sesjach plenarnych.

Pierwszy z nich obejmuje zagadnienia teorii ekologicznej i aparatu pojęciowego nauk ekologicznych. Kwestie szczególnie istotne dla ekologii dni dzisiejszych, związanej mocno z zagadnieniami kierowania ekosystemami i pochodnymi kwestiami oceny stanu układów, ich modelowania oraz prognozowania kierunków zmian przy planowanych działaniach gospodarczych. Kwestie te są równie palące na silnie uprzemysłowionych obszarach Ameryki Północnej i Europy, jak w rozwijających się krajach trzeciego świata. Ekspertyzy ekologiczne stanowią tam ważny element przy planowaniu rozwojowym poszczególnych obszarów.

Tymczasem na polu ogólnych koncepcji ekologicznych daje się odczuć kryzys, związany z brakiem metod i podstaw teoretycznych dla szybkiej, ale dokładnej, wskaźnikowej oceny stanu ekosystemów, ich równowagi oraz tendencji rozwojowych. Eltonowska koncepcja struktury ekosystemów, znana pod nazwą piramidy liczb, rozwinięta dla celów analizy produktywności przez Lindemanna pod postacią poziomów troficznych, służyła przez okres jednego pokolenia jako podstawa badawcza dla wszelkich analiz strukturalnych, funkcjonalnych, wydajności ekologicznej oraz badań porównawczych. Dziś ujęcie struktury ekosystemu poprzez określenie poziomu troficznego i odniesienie do niego badanych zjawisk nie jest już wystarczające i zostało poddane zasadniczej krytyce (Rigler), jednak badanie obiegów materii i energii w układach, bez ich odniesienia do wyraźnie zdefiniowanych układów strukturalnych budzi wątpliwości u większości ekologów. Propozycje wiązania stabilności ekosystemów ze stopniem ich zróżnicowania wewnętrznego, wyrażone przez E. P. Oduma w tezie „diversity makes stability” spotkały się z większym uznaniem. Trzeba podkreślić jednak, że metody określenia współczynnika zróżnicowania są bardzo niedoskonałe i pozwalają jedynie na powierzchowną ocenę sytuacji, jakie zachodzą w ekosystemach. Przeprowadzone analizy porównawcze nad stosowaniem tego współczynnika w agrocenozach prowadzą do pesymistycznych wniosków ze względu jego stosowalności do ocen stanu ekologicznej struktury ekosystemów. Inny typ propozycji prezentowali F. Golley i D. E. Reichle, wskazali oni na uwarunkowanie strukturalne zjawisk związanych ze stabilnością układów. Chodzi tu o struktury typu funkcjonalnego, decydujące o procesach gospodarki materią i energią. Zakłada się, że zarówno struktura, jak i funkcjonowanie ekosystemów podlegają regułom strategii ekologicznej, które decydują o wyborze drogi i sposobu reakcji ekologicznych, jakie zachodzą w jego obrębie. Należy podkreślić, że propozycje ujmowania zjawisk zachodzących w ekosystemach od strony zależności struktura-funkcja, charakterystyczne dla warszawskiej szkoły ekologicznej, przedstawione były przez uczonych, których związki naukowe z Instytutem Ekologii PAN są utrwalone od lat, zaś dorobek ekologii polskiej jest im dobrze znany i często stanowi inspirację ich poczyniń naukowych.

Trudno przewidzieć dziś dalszy ciąg i zakończenie dyskusji nad koncepcjami uniwersalnymi w ekologii. Nagły wzrost zainteresowania ekologią lub tylko ekologicznym sposobem podejścia do zjawisk przyrodniczych spowodował gwałtowny wzrost liczby uczonych o specjalności „ekologia”, co jak słusznie stwierdza A. Hillbrycht-Ilkowska, może stanowić groźbę rozpadnięcia się ekologii na szereg dyscyplin, z których żadna nie będzie w stanie ująć całokształtu zjawisk zachodzących w obrębie ekosystemów. Niebezpieczeństwo takie jest dostrzegane przez ekologów, którzy widzą wspólny mianownik dla wszystkich badań o charakterze ekologicznym w teorii ekosystemu a szczególnie w opracowaniu ogólnej teorii homeostazy, która objęłaby zarówno kwestie struktury, funkcji, dostosowania, dojrzałości układów, a szczególnie kwestie związane z ich stabilnością.

Ostatnie lata wskazują na coraz silniejsze powiązania ekologii z planowaniem gospodarczym, ochroną środowiska i produkcją zasobów pokarmowych. Nacisk na kierunek badań ekologicznych jest ogromny. Duże przedsięwzięcia hydrotechniczne, realizowane w Afryce, zmieniły w sposób zasadniczy układ stosunków ekologicznych na olbrzymich obszarach. Wojna prowadzona nie tylko przeciw człowiekowi, ale również przeciw przyrodzie Wietnamu w sposób trwały zniszczyła olbrzymie połacie lasów tropikalnych stanowiących do niedawna wartość nie tylko przyrodniczą, ale i gospodarczą. Programy przebudowy i odbudowy opierają się przede wszystkim na opiniach i opracowaniach o charakterze ekologicznym. Wpływ człowieka na zjawiska zachodzące w ekosystemach stanowił drugi ważny nurt obrad Kongresu. Na czwartej sesji plenarnej przedstawiono w tym zakresie szereg poważnych opracowań. Referat J. Jacobsa zawierał zarówno bogaty materiał, jak też podawał metody pozwalające na kompleksowe oceny wpływu czynników antropogenicznych na strukturę i procesy ekologiczne zachodzące w ekosystemach znajdujących się pod presją czynników antropogenicznych.

Sprawy organizacyjne rozpatrywane na Pierwszym Międzynarodowym Kongresie Ekologii obejmowały kwestie związane ze statutem Towarzystwa, wybory władz, działalność sprawozdawczą ustępującego zarządu oraz przygotowanie rezolucji.

Sprawozdanie z działalności Towarzystwa za okres 1967—1974 przedłożył jego prezes A. D. Hasler (USA). Zawarto w nim cele Towarzystwa, które dąży do współuczestnictwa w rozwoju nauk ekologicznych na świecie poprzez wymianę informacji oraz stymulowanie badań naukowych. Rozwinięto również idee Międzynarodowego Instytutu Ekologicznego, którą przedłożono na Konferencji ONZ poświęconej środowisku człowieka (czerwiec 1972).

Podjęto prace organizacyjne zmierzające do inkorporacji w skład Intecolu różnych instytucji, komitetów i towarzystw naukowych działających na polu ekologii w różnych krajach. Zrealizowano również program wydawniczy obejmujący informacyjne oraz organizacyjne aspekty działalności zarówno w obrębie nauk ekologicznych, jak i samego Towarzystwa. Zorganizowano również szereg sympozjów specjalistycznych poświęconych różnym aspektom zjawisk ekologicznych. Należy tu wymienić: Intecol Bulletin, Agro-ecosystems i Oecologia. „Urban ecology” jest nowym i jedynym jak dotąd czasopismem obejmującym ekologiczną problematykę miast. Sześć sympozjów międzynarodowych, jakie zorganizowano przy pomocy Intecolu, objęło następującą tematykę:

1. Ekologia tropikalna ukierunkowana na aspekty produkcji organicznej, New Delhi — 1971.
2. Zależność między ekosystemami lądowymi i wodnymi, Leningrad — 1971.
3. Fizjologia roślin i zwierząt w środowiskach ekstremalnych, Dubrownik — 1972.
4. Zgromadzenie ekologii statystycznej, Pennsylvania — 1972.
5. Ekologia tropików, Caracas — 1973.
6. Rytm biologiczne w środowisku morskim, Columbia — 1974.

W trakcie swych prac zarząd Intecol przyjął jako najkorzystniejszą formę działania poprzez robocze komitety i komisje powoływane bądź jako komisje stałe, bądź okresowe. Celem ich było najczęściej zorganizowanie kontaktów między uczonymi pracującymi nad określoną problematyką oraz sympozjów naukowych. W siedmioletnim okresie działalności zarządu powołano 14 takich komisji.

Działalność organizacyjna Intecolu oparta jest w głównej mierze o dotacje przyznawane przez różne instytucje popierające naukę, przy czym większe kwoty uzyskiwane są w zasadzie na cele organizacji sympozjów naukowych.

Na Konferencji przedyskutowano również statut Międzynarodowego Towarzystwa Ekologicznego, jak również przepisy pomocnicze, obejmujące obowiązki poszczególnych członków Zarządu Towarzystwa i jego jednostek organizacji wewnętrznej. Statut ten określa Intecol jako organizację afiliowaną przez ICSU jako sekcję ekologii ogólnej Międzynarodowej Unii Nauk Biologicznych, precyzuje cele i zadania oraz prawa i obowiązki towarzystwa w zakresie nauk ekologicznych.

Rezolucja uchwalona na zebraniu plenarnym Towarzystwa w dniu 13 września w Hadze zawiera następujące sformułowania:

1. Dorobek ekologii powinien być szerzej wykorzystywany w pracach nad planowaniem i przy realizacji planów gospodarczo-rozwojowych poszczególnych krajów, niż to miało miejsce dotychczas. Postulowana jest szersza współpraca odpowiedzialnych władz z ekologami na wszystkich etapach takich działań.

2. Badania ekologiczne powinny być prowadzone w szerokim aspekcie przy zastosowaniu ujęcia ekosystemowego. Do ich realizacji niezbędne jest stosowanie odpowiednich standardów, ponadto powinny być prowadzone one na odpowiednim poziomie.

3. Należy zapewnić wysoki prestiż ekspertów ekologów oraz wprowadzić zasadę niezbędności ekspertyzy ekologicznej, przedkładanej wszystkim czynnikom podejmującym decyzje i odpowiedzialnym za realizację działań gospodarczych i socjalnych.

4. Ekolodzy powinni się czuć zobowiązani do działania na rzecz porozumień międzyrządowych obejmujących kwestie zakazu użycia wszelkich środków fizycznych, chemicznych i biologicznych stosowanych w celach wojennych i prowadzących do totalnych, nieodwracalnych zmian zachodzących w środowisku. Badania nad takimi środkami powinny być zakazane.

5. Należy dążyć do ograniczenia wprowadzania związków fosforu do środowiska oraz ograniczać ich spływ ze zlewni do zbiorników wodnych. Podobne środki należy przedsięwziąć również dla związków azotowych w tych miejscach, gdzie wywołują one procesy eutrofizacji wód.

6. Należy dążyć do szybkiego zbadania skutków wzrostu i rozprzestrzeniania się skażeń emitowanych do atmosfery, szczególnie zaś skalę wielkości tego zjawiska oraz jego konsekwencje ekologiczne dla opracowania środków zaradczych.

W trakcie prac Kongresu ustalono i powołano następujące grupy robocze, które będą działać na ważnych odcinkach dla rozwoju ekologii: 1) Agroekosystemów, 2) Ekologii Tropikalnej, 3) Ekologii Środowisk Miejskich oraz 4) Ekologii Drobnych Gryzoni. Postulowano też utworzenie następnej grupy, która objęłaby swym działaniem problematykę ekologii krajobrazu.

Wybory do władz Intecolu wyłoniły zarząd Towarzystwa, który będzie sprawował władzę do 1978 roku. W jego skład weszli: A. Macfadyen (W. Br.) — prezydent, G. A. Knox (N. Zel.) — sekretarz generalny, L. Tonolli (Włochy) — skarbnik, oraz członkowie: A. D. Hasler (USA), A. E. Aboul Nasr (Egipt), W. B. Banage (Zambia), M. Evenari (Izrael), J. Kvet (CSRS), J. Morello (Argentyna), M. Numata (Japonia), K. Petruszewicz (Polska) i F. H. Regier (Kanada).

W obradach i pracach kongresu wzięło udział blisko 900 ekologów z 70 krajów. Delegacja polska pod przewodnictwem prof. dr. K. Petruszewicza liczyła 11 osób, reprezentujących główne ośrodki badań ekologicznych w naszym kraju. Delegacja nasza wzięła udział zarówno w pracach organizacyjnych kongre-

su, jak i w obradach naukowych. Wyrazem tego są dobrze przyjęte referaty wygłoszone zarówno na sesji plenarnej, jak i na posiedzeniach sekcji oraz aktywny udział w dyskusjach naukowych. Dobra opinia o poziomie ekologii w Polsce oraz naszych umiejętnościach organizacyjnych znalazła swój wyraz w wyborze przewodniczącego delegacji polskiej prof. dr. K. Petrusewicza do zarządu Towarzystwa, należał on do popularniejszych postaci przez cały czas trwania konferencji. Dwie z czterech powołanych na kongresie sekcji rozpoczynają swą działalność pod kierownictwem Polaków, są to grupa robocza agroekosystemów — przewodniczący doc. dr L. Ryszkowski oraz grupa robocza drobnych gryzoni — przewodniczący prof. dr K. Petrusewicz. Dane te dają dobre świadectwo dorobkowi i poziomowi naukowemu osiągniętemu przez ekologię w Polsce.

Przemysław Trojan

XIX MIĘDZYNARODOWY KONGRES LIMNOLOGICZNY (Winnipeg, 22—29.VIII.1974 r.)

Kolejny kongres „Societas Internationalis Limnologiae” (SIL) odbył się w Winnipeg (Kanada, prowincja Manitoba).

Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego dr J. R. Vallentyne (Kanada) dokonał otwarcia pierwszego, generalnego zebrania kongresu. Przemówienia powitalne wygłosili kolejno: prezydent uniwersytetu Manitoba, minister górnictwa, gubernator prowincji Manitoba oraz prezydent SIL-u prof. dr W. Rodhe (Szwecja). Główny sekretarz i skarbnik SIL-u dr R. G. Wetzel (USA) zdał raport z finansów i działalności Towarzystwa za miniony okres.

Prof. Rodhe został odznaczony medalem Einara Naumanna za wybitne osiągnięcia w hydrobiologii. Ustąpił z zajmowanego stanowiska prezydenta SIL-u, a na jego miejsce wybrano dr. Vallentyne'a. Zastępcami prezydenta SIL-u zostali dr K. Wuhrmann (Szwajcaria) i dr H. J. Elster (RFN). Dotychczas stanowisko to zajmowali dr T. T. Macan (Anglia) i prof. dr W. Ohle (RFN). W Zarządzie Prezydialnym na następny okres pozostali: dr Wetzel w charakterze głównego sekretarza i skarbnika, dr V. Sládeček (Czechosłowacja), jako redaktor *Verhandlungen*.

Zgodnie z tradycją, na międzynarodowych kongresach limnologicznych jest zawsze wygłaszany ogólny referat w „Baldi memorial lecture”. Na obecnym kongresie powierzono go dr H. B. N. Hynesowi (Kanada), który mówił na temat „Potok i jego dolina”.

Sesje kongresowe, poświęcone różnym zagadnieniom, starano się omówić w pewnej kolejności, celem lepszego zaznajomienia zainteresowanych z całością przedstawiionych opracowań.

Należy podkreślić, że niektóre sesje były podwójne, jak: „Limnologia fizyczna”, „Zbiorowiska potokowe”, „Osady i chemizm osadów”, „Eutrofizacja”, „Ekologia populacji ryb”, co świadczyło o ważności tych problemów i zainteresowaniu nimi w świecie.

W sesji „Ogólne badania bakterii wodnych” na uwagę zasługiwały dwa referaty. Pierwszy o charakterze opisowym (H. Pearl, R. Thomson, C. Goldman — USA) dotyczył współdziałania bakterii w tworzeniu się detritusu ze skorupki okrzemki *Cyclotella stelligera*, podczas jej zakwitów w jeziorze Tahoe (Kalifornia — Nowada). Rola bakterii sprowadzała się do zużywania drobnocząsteczkowej substancji organicznej, złożonej z okrzemek o stosunkowo niewielkiej jednostkowej, lecz dużej globalnej powierzchni. Drugi referat (J. Overbeck,

RFN) raczej metodyczny podkreślał konieczność stosowania badań biochemicznych, ważnych dla oceny aktywności bakterii, odsuwał natomiast na drugi plan oznaczanie ich biomasy i rozmieszczenie.

Dwie sesje dotyczyły fizjologii i eksperymentów testowych z mikroorganizmami, prowadzonych tylko w laboratorium lub też odnoszonych do warunków terenowych. Wśród referentów S. W. Chisholm, P. Nobbs i R. G. Stross (USA) przedstawili wyniki badań nad ciągłą kulturą, przy naświetlaniu cyklicznym i dozowaniu fosforanu, jako czynnika limitującego rozwój. Z uwagi na to, że fosfor był pobierany w większych ilościach w czasie naświetlania, autorzy zakładali, że dzienny rytm pobierania fosforu mógłby pełnić rolę mechanizmu, sterującego konkurencją pokarmową w zbiorowiskach fitoplanktonu. W innym referacie (K. Morgan, Kanada) poruszono bardzo ważny problem z punktu widzenia klimatu tego kraju. Powyższy autor omówił reakcje i możliwości przeżycia kultury *Cryptomonas ovata*, wyizolowanej z jeziora Quebec, poddawanej wpływowi bakterii, zmianom temperatury i adaptacji do warunków świetlnych. Temat ten wyjaśnił wiele szczegółów w zakresie wpływu procesów heterotroficznych na przeżywalność fitoplanktonu, w pokrytych śniegiem jeziorach w klimacie umiarkowanym i polarnym. W tej sesji ciekawym ujęciem odznaczała się praca S. G. Lawrence'a (Kanada), dotycząca toksyczności glonu *Chlamydomonas*, jako pokarmu dla orzęska *Tetrahymena*, w przypadku, gdy azot jest czynnikiem ograniczającym. Rozważano również zagadnienie, czy sposób przyswajania pokarmu przez orzęski (polykanie lub absorpcja) zależy od zwiększenia toksyczności pokarmu. W. Reichard (RFN) na przykładzie eutroficznego jeziora Mindel badał zagadnienie rozkładu wielocukrów pod wpływem bakterii, jako kluczową reakcję prowadzącą do odnowy składników pokarmowych. Autor nie znalazł jednolitej korelacji pomiędzy koncentracją węglowodanów w profilach pionowych w jeziorze a ilością bakterii zdolnych do rozkładu wielocukrów, pochodzenia autochtonicznego. Odpowiedź dały eksperymenty z czystymi kulturami, które wykazały, że chitynaza aktywuje działalność bakterii w podłożu przy rozkładzie wielocukrów. T. G. Dunstall i C. Nalewajko (Kanada) podkreślali wpływ ekstracelularnej wydzieliny glonów na bakterie, zwracając uwagę na szybsze pobieranie przez kulturę bakteryjną związków o niskim ciężarze cząsteczkowym, wydzielanych przez glony, a wolniejsze w przypadku związków o dużym ciężarze. Wśród referatów wygłoszonych na tej sesji znalazło się też opracowanie z Z. B. W. PAN, Kraków (M. Bombówna, H. Bucka, J. Zygmuntowa i G. Jaworski), w którym na podstawie zarówno terenowych, jak też testowych oraz biochemicznych badań wyjaśniono pewne szczegóły, dotyczące zależności w sukcesji glonów w środowiskach wodnych.

Przedmiotem obrad dwóch sesji o podobnej tematyce była klasyfikacja i ekologia glonów oraz ekologia zbiorowiska. Prezentowano różne prace, m.in. podającą charakterystykę flory okrzemek (R. Martinez-Silvestre, Hiszpania) małego, alpejskiego jeziora w Sierra Nevada, w oparciu o dane spod mikroskopu zwykłego i elektronowego. Referat J. Kristiansena z Danii zawierał interesujące informacje, uzyskane z przebadania przeszło 100 duńskich jezior, w aspekcie występowania kilkunastu gatunków *Synura*, które według autora, mimo różnic cytologicznych i morfologicznych, są często niesłusznie określane wspólnym mianem *Synura uvella* Ehr.

E. A. Stull z USA mówiła na temat głównych parametrów regulujących rozwój populacji fitoplanktonu, jak intensywność fotosyntezy, tempo opadania, wyjadanie przez zooplankton, w zależności od wielkości i kształtu komórki. Badania C. Bergera z Holandii poruszały zagadnienie ciągłego i obfitego występowania sinicy *Oscillatoria* Agardhi na płytkich wodach (jeziora polderów zasila-

ne odpadami z zakładów mleczarskich), zawierających martwą materię organiczną, służącą prawdopodobnie jako źródło węgla. Nagłe zniknięcie tej sinicy wiązał autor z powstaniem oczyszczalni. Referat T. H. Sibley'a, P. L. Herrgesella i A. W. Knighta z USA dotyczył dynamiki populacji i rozmieszczenia *Peridinium penardii* podczas wiosennego zakwitu, w izolowanych kanionach jednego ze zbiorników kalifornijskich, gdzie w wyniku fotosyntezy tego gatunku stwierdzono wysokie wartości pH (>10) oraz rozpuszczonego tlenu (>20 mg/l). H. Rai (RFN) przedstawił w swoim doniesieniu rozmieszczenie barwników fotosyntetycznych i rozpad ich produktów w północnym jeziorze niemieckim. Zwracał uwagę na maksima chlorofilu notowane zazwyczaj w strefie eufotycznej oraz na procentowy wzrost jego rozkładu wraz z głębokością.

Na sesji „Tropikalne i subtropikalne badania fitoplanktonu” dużo miejsca poświęcono tematyce związanej z pomiarami fotosyntezy (metodą C^{14}) i wydzielaniem ekstracelularnym w ciągu doby, w trzech zbiornikach wodnych w Indiach (G. W. Saunders, W. P. Coffman, R. C. Michael i S. Krishnaswamy, USA). W zbiornikach z obfitym pojawem sinic (*Microcystis* i *Anabaena*) stwierdzono nagromadzanie się węgla z wydzielania pozakomórkowego w ciągu dnia w ilości od 2,8 do 5% produkcji netto, w przeciwieństwie do zbiornika z dużą ilością bakterii, w którym wydzielanie było bardzo małe, a wydzielone substancje były szybko zużywane przez bakterie. Inny referat (Z. M. Gliwicz, Polska) dotyczył badań czynników biotycznych i abiotycznych, rządzących fotosyntetyczną aktywnością planktonu w jeziorze Gatun w Panamie. Zdaniem autora te pierwsze odgrywały decydującą rolę i były łatwiejsze do zanotowania w strefie tropikalnej niż umiarkowanej, ponieważ nie wchodzi tam w grę ostre zmiany klimatyczne.

Z sesji poświęconej glonom bentosowym należy wspomnieć o dwóch referatach. W pierwszym (J. H. Lyford i S. V. Gregory, USA) zwracano uwagę na dynamikę i budowę zbiorowisk peryfitonu w trzech różnych kaskadowych potokach górskich w stanie Oregon. Stwierdzono, że zarówno tempo zasiedlania peryfitonu na naturalnych podłożach, jak i jego biomasa zwiększały się ze wzrostem intensywności światła i wielkości potoku. W drugim (R. Bohr i M. Luścińska, Polska) omówiono produkcję pierwotną zbiorowiska peryfitonu litoralnego, w oparciu o badania prowadzone w politroficznym jeziorze Jeziorak i eutroficznym jeziorze Tynwałd, przyjmując za podstawową jednostkę przy pomiarach produkcji i biomasy zbiorowisko peryfitonu *Oedogonio-Epithemietum*.

Na sesji „Wodne makrofity” (R. A. Hough i R. G. Wetzel) poruszono problem uwalniania rozpuszczonego węgla organicznego przez zanurzone makrofity (*Najas flexilis*), przy zastosowaniu metody C^{14} w terenie i laboratorium. Stwierdzono, że uwalnianie węgla organicznego w kulturze tego gatunku było większe w obecności epifitycznych okrzemek niż w aksenicznej hodowli kontrolnej, a z bakteriami podobne do kontrolnej; w terenie natomiast dla tego samego gatunku niskie w lecie, a wzrastające w jesieni.

Trzy sesje dotyczyły ekologii, dynamiki i odżywiania się zooplanktonu. Wśród wygłoszonych referatów ciekawe było opracowanie K. Patalasa, który dokonał porównania zbiorowisk skorupiaków planktonowych kilkunastu jezior kanadyjskich, zwracając uwagę na ich wahania ilościowe zależnie od głębokości i temperatury epilimnionu oraz na zmniejszanie się roli kalanoidów, w relacji do cyclopideów i wioślarek, w miarę posuwania się od północy na południe. D. C. Mc Naught (USA) przedstawił sukcesyjną kolejność dominacji widłonogów (*Diaptomus sicilis*) w jeziorze Superior i wioślarek (*Bosmina longirostris*) w jeziorze Ontario, odnosząc swoje wyniki do danych sprzed 35 lat. Zmiany w

dominacji gatunków tłumaczył dostępnością pożywienia oraz dążnością pewnych osobników do specjalizacji zarówno odnośnie selekcji, jak też przypadkowego pobierania pokarmu o szerokim zakresie wielkości cząsteczek, zależnie od względnej zdolności filtracyjnej danych gatunków. A. Ruttner-Kolisko omówiła pionowe rozmieszczenie wrotków planktonowych w jeziorze alpejskim (Luntzersee), cechującym się deficytem tlenu poniżej 10 m i silną stratyfikacją nanoplanktonu. Interesujący był fakt, że *Keratella cochlearis* zasiedlająca warstwę pozbawioną tlenu w ilości 2000 osobników, jako nowy składnik planktonu tego jeziora okazała się gatunkiem bardzo odpornym wśród dotychczasowych wrotków. C. Davis z Kanady usiłował wyjaśnić sezonowe zmiany biomasy skorupiaków planktonowych w dwóch jeziorach na terenie Kanady. Wyróżnił dla obu wspólne gatunki, a na przykładzie *Diaptomus minutus* omówił stadia rozwojowe od form młodocianych do dorosłych w ciągu roku. J. F. Haney z USA zaprezentował uproszczony, empiryczny model filtracyjnego odżywiania się wioślarek (*Daphnia*, *Holopedium*), uwzględniający wzajemne oddziaływanie różnych czynników na regulację tempa filtrowania w przyrodzie (metoda radioizotopowa).

Na sesji „Zbiorowiska potokowe” interesujący był referat J. D. Allana z USA, dotyczący rozmieszczenia *Ephemeroptera*, *Plecoptera* i *Trichoptera* oraz metabolizmu zbiorowiska faunistycznego, złożonego z kilkudziesięciu gatunków w oparciu o trzy modele, rozpatrujące ograniczenia odnośnie do zakresu gatunków pod kątem ekotonu, konkurencji czy zmian gradientu.

W dwóch sesjach o zbliżonej tematyce „Zbiorniki — ekologia ogólna, plankton i bentos” referowano prace związane z biomasą i produkcją populacji cyclopideów kilku zbiorników w dolinie Tamizy (M. J. Burgis, Anglia), bądź też tłumaczące sezonowe zmiany w dziennych stosunkach P/B w świetle terenowych warunków temperatury, dostępności pożywienia, konsumpcji i drapieżności (A. Duncan, Anglia), względnie obejmujące typologię 100 hiszpańskich zbiorników wodnych (R. Margalef, Hiszpania). Według ostatniego autora większość kluczowych czynników jest związana z ogólną zawartością składników mineralnych. W wodach z większą ich ilością, gdy stosunek N/P jest wysoki, dominują latem okrzemki i bruzdnice, a w przypadku mniejszej zawartości składników mineralnych i mniejszym stosunku N/P, w lecie mogą również wystąpić sinice.

Z referatów wygłoszonych na sesji „Sezonowe zmiany produkcji pierwotnej i biomasy” warto wymienić H. L. Allena z USA, który przeprowadził ocenę produkcji w oligotroficznym jeziorze Ohryda (płd. Jugosławia) przy użyciu metody C^{14} do testów biologicznych. Badania wykazały, że obecność odpowiednich chelatów organicznych oraz pewnych roślinnych hormonów wzrostu odgrywa ważną rolę w regulacji tempa fotosyntezy fitoplanktonu.

Na sesji „Fizjologia i żywienie ryb” zreferowała swoją pracę Z. Marciak (Polska) na temat wpływu mineralnego nawożenia na wzrost ryb w eutroficznym i słabo eutroficznym jeziorze. Badania zmierzały do poznania mechanizmu przyspieszającego eutrofizację w różnych warunkach fizyko-chemicznych i skorelowania zmian we wzroście ryb z różną produkcją pierwotną i wtórną badanych ekosystemów w stosunku do nawożenia.

Na dwóch sesjach na temat eutrofizacji z uwzględnieniem niedoboru pokarmowego, w jednej z nich, przedstawili swoje wyniki m.in. L. Bengtsson, S. Fleischer, G. Lindmark i W. Ripl (Szwecja), dotyczące zarówno badań terenowych, jak i laboratoryjnych. W pierwszych chodziło o zastosowanie ssącej pogłębiarki w celu odnowienia zanieczyszczonego jeziora Trummen, drugie miały wyjaśnić, w jakim stopniu uwalnianie fosforu zależy od osadu i chemizmu wody interstycjalnej. R. A. Soltero, A. F. Gasperino i W. G. Graham (USA) w swoim

referacie przedstawili zagadnienie eutrofizacji cywilizacyjnej jeziora Washington, którą ocenili na podstawie produkcji pierwotnej, koncentracji chlorofilu *a*, azotu i fosforu, jak też wyczerpania tlenu w hypolimnionie. Ten sam problem poruszyli w swojej pracy C. R. Goldman i E. de Amezaga (USA) odnośnie do pionowych i czasowych zmian w produkcji pierwotnej jeziora Tahoe, jako następstwo awansującej się eutrofizacji cywilizacyjnej. Badania wykazały wzrost produkcji pierwotnej o 26% w ciągu ostatnich trzech lat, co w odniesieniu do wcześniejszych danych stanowiło 51% oraz jej maksima na 50—75 m, przy strefie eufotycznej często przekraczającej 100 m. Referat H. J. Gonsa i L. R. Mura (Holandia) dotyczył zagadnienia równowagi energii dla wzrostu populacji glonów, w ograniczonych warunkach świetlnych, na przykładzie ciągłej kultury *Scenedesmus protuberans*. W wyniku badań powstał model, uwzględniający produkcję całkowitą, jako sumę energii związanej z materiałem komórkowym i energii wymaganej do utrzymania rozwoju glonów. A. L. Hamilton (Kanada) zreferował pracę na temat kopalnych chironomidów, jako wskaźników eutrofizacji jeziora Erie, opierając się na wglębnych próbach osadu, które wykazywały znaczną zmianę w składzie gatunkowym w ostatnich latach, jako wpływ gęstości zaludnienia przyległych terenów.

Na sesji „Odnowienie jeziora” ciekawy był referat R. Pechlanera z Austrii. Przedstawił on możliwość zahamowania eutrofizacji w jeziorach tyrolskich (Piburger, Reiter i Hecht), obciążonych dopływem ścieków, przez zastosowanie sztucznego odpływu wody z hypolimnionu (sonda Olszewskiego) oraz przez traktowanie całego jeziora chlorkiem żelaza. W. Ohle (RFN) omówił eutroficzne północne jezioro niemieckie, w którym wprowadzono sztuczne napowietrzanie hypolimnionu. Badania wykazały powstanie typowego minimum tlenu w metalimnionie, głównie dzięki dopływowi wody z przybrzeżnych osadów, bogatych w składniki pokarmowe. Postęp rekultywacji jeziora wyraził się w silnie wzrastającym tempie rozkładu materii organicznej oraz spadku produkcji pierwotnej.

Bardzo interesujące były referaty na dwóch podobnych sesjach „Wpływ metali ciężkich, radionuklidów i ropy naftowej na zbiorowiska wodne”. P. Stokes (Kanada) zwrócił uwagę na gatunki *Scenedesmus*, wyizolowane z jeziora okolic Ontario, zanieczyszczonego metalami ciężkimi (miedź i nikiel). Stwierdził, że ich pobieranie przez te glony wzrasta, gdy oba metale występują w wysokich koncentracjach. C. Eriksson i D. C. Mortimer (Kanada) zreferowali pracę na temat pobierania rtęci z gleby, osadów rzecznych i wody, przez korzenie roślin wodnych (*Sagittaria latifolia* i *Scripus cyperinus*). Największe koncentracje stwierdzili w częściach zanurzonych i bulwach, bardzo małe w korzeniach, przy czym w tych pierwszych więcej na wiosnę (70%) niż w lecie (30%). Według autorów wynikało to z większej zawartości rtęci w osadzie rzeczonym niż w wodzie. R. Jackson i I. Nichol (Kanada) badali czynniki wpływające na rozmieszczenie pierwiastków śladowych w osadach jezior na obszarze tarczy kanadyjskiej oraz związek między ich składem w osadzie a ilością w wodzie. Stwierdzili, że związek ten jest zarówno modyfikowany przez procesy fizyko-chemiczne zachodzące w wodzie, jak też działanie fal, sortujących osady w epilimnionie. D. M. Rosenberg i N. B. Snow (Kanada) przedstawili swoje badania, dotyczące wpływu ropy naftowej na zasiedlanie sztucznych podłoży (koszyczki druciane wypełnione kamieniami) przez zoobentos w subarktycznych ekosystemach wodnych. Autorzy stwierdzili różnice w zasiedlaniu i zagęszczaniu, w zależności od czasu ekspozycji, szerokości geograficznej, fizycznych i chemicznych cech wody. P. B. Kaus i T. C. Hutchinson (Kanada) referowali swoje wyniki, uzyskane z badań laboratoryjnych nad wrażliwością gatunków rodzaju *Anki-*

strodesmus na składniki ropy naftowej, uznając te zielenice za wskaźnikowe dla wód zanieczyszczonych ropą.

O. M. Skulberg (Norwegia) w swoim referacie na sesji „Produkcja pierwotna w zanieczyszczonych i podgrzanych jeziorach” zwrócił uwagę na stosowanie testów glonowych w badaniach nad zanieczyszczeniem wody i kontroli źródeł jakości wody, które według autora należałoby rozciągnąć na wybrane obszary, różnej szerokości geograficznej.

Na sesji „Osady i chemizm osadów”, obradującej dwukrotnie, prezentowali swoje prace, m.in. W. S. White i R. G. Wetzel (USA) oraz H. L. Golterman (Holandia). Dwaj pierwsi poddali analizom chemicznym osadzający się seston w jeziorze Michigan, pod kątem zawartości fosforu, azotu i węgla cząsteczkowego. Analizy wykazały znaczne zmiany przestrzenne i czasowe, tylko w odniesieniu do fosforu i azotu. Golterman w swoim referacie wyszedł z założenia, że w płytkich jeziorach osad stanowi główne źródło fosforu dla rozwoju glonów, a dostępność składników, wymaganych przez glony zależy od składu mechanicznego osadów. Poddanie badanego osadu frakcjonowaniu chemicznemu w obecności związku chelatowego potwierdziło, że najbardziej dostępne są fosforan żelaza i wapnia, a fosforan glinu pozostaje nie wykorzystany.

Z sesji „Metabolizm osadów” należałoby wymienić dwa interesujące referaty. G. E. Glass i J. E. Poldoski (USA) przedstawili wyniki badań składu chemicznego i zawartości tlenu rozpuszczonego w wodzie interstycjalnej osadu i w wodzie tuż ponad osadem w jeziorze Superior, z częścią dna pokrytą warstwą odpadowego kopalnianego żelaza. Porównanie składu chemicznego wody interstycjalnej wykazało większą koncentrację składników rozpuszczonych pod warstwą odpadów żelaza. D. R. Sasseville, S. A. Norton i R. B. Davis (USA) porównywali skład chemiczny wody interstycjalnej w odniesieniu do osadów w oligotroficznym i mezotroficznym jeziorach. Stwierdzili, że w powierzchniowej warstwie jeziora oligotroficznego odkłada się większa ilość składników mineralnych oraz organicznych niż w mezotroficznym, podczas gdy w wodzie interstycjalnej tej warstwy osadu (1–5 cm) relacja jest odwrotna. Jedynie krzemionka wykazuje systematyczne zwiększenie ilości wraz z głębokością osadu.

W sesji „Regionalna i ogólna limnologia” ciekawy był referat J. Shapiro, J. B. Lundquista i R. E. Carisona (USA) na temat zainteresowania społeczeństwa limnologią. W związku z tym, w 1973 r. Ośrodek Badań Limnologicznych na uniwersytecie w Minnesota rozpoczął akcję organizującą ochotnicze i płatne zespoły, gromadzące dane, dotyczące jakości wody kilkudziesięciu jezior. Akcję tę kontynuowano w 1974 r., obejmując nią 2000 jezior, z uwagi na to, że nadesłane dane przez ochotnicze zespoły były dokładniejsze i można je było wykorzystać do oceny zbiorników wodnych.

Na sesji „Paleolimnologia” przedstawili swoje wyniki m.in. R. R. Petersen i W. T. Edmondson (USA). Pierwszy zastosował metodę paleolimnologiczną w badaniach nad eutrofizacją jeziora Erie, dokonując analizy wgłębnych prób osadów pod kątem koncentracji materii organicznej i okrzemek. Referat Edmondsona dotyczył mikrostratyfikacji osadów w jeziorze Washington, w oparciu o zdjęcia rentgenowskie, pobranych osadów i ich analizy pod mikroskopem elektronowym. Dzięki porównaniu pionowego rozmieszczenia materiału (głównie okrzemkowego) w osadzie, z obserwacjami w jeziorze, dało się uchwycić okres czasu, w którym zaszły te zmiany.

Z dużym zainteresowaniem spotkały się dwa plenarne sympozja, którym przeznaczono dwie sesje. Pierwszej pt. „Eksperymentalne badania dynamiki pokarmu” przewodniczył W. Stumm ze Szwajcarii. Wśród referatów znalazła się praca J. E. Schindlera i J. Albertsa (Kanada), poruszająca problem nawożenia

jezior fosforem, azotem i węglem w różnych kombinacjach. Przy zastosowaniu wszystkich trzech rodzajów nawozów obserwowano zakwit glonów, natomiast niewielkie ich ilości przy nawożeniu tylko węglem i azotem. Ciekawy był też referat, dotyczący masowych kultur glonów, jako fitoplanktonowych modeli (E. Stengel i C. J. Soeder, (RFN). Autorzy dokonali pomiarów fotosyntetycznej produkcji tlenu w otwartych masowych kulturach glonów (*Scenedesmus*, *Spirulina*), stosując abiotyczny, eksperymentalny model, oparty na katalitycznym uwalnianiu tlenu z nadtlenu wodoru.

Drugiemu plenarnemu sympozjum, poświęconemu skutkom działalności ludzkiej, dotyczącej wód północnej części obszaru tarczy kanadyjskiej, przewodniczył W. S. Broecker z USA. Jeden z referentów (R. A. Vollenweider, Kanada) w swoim opracowaniu nawiązał do klasycznej literatury limnologicznej, sugerując zastąpienie starej koncepcji nową, według której jeziora należałoby rozpatrywać, jako otwarte systemy na tle działających nań czynników otoczenia (np. dopływ składników pokarmowych, retencja, szybkość przepływu czy wzajemne oddziaływanie ekosystemów na siebie).

W zakończeniu obrad kongresowych podkreślono ogromną rolę fosforu w eutrofizacji jezior oraz potrzebę ograniczenia jego dopływu do ekosystemów wodnych. Zwrócono również uwagę na znaczenie zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego w zakwaszeniu wód jezior. Ponadto dyskutowano nad rozszerzeniem użycia metod z radioaktywnym węglem oraz zastosowanie chromatografii gazowej do mierzenia produkcji fitoplanktonu i peryfitonu w zbiornikach wodnych, jak też uwzględnienie hodowli glonów.

Warto wspomnieć o długofalowym, dwudziestoletnim planie badań obszaru ELA (Experimental Lakes Area), przygotowanym przez Instytut Limnologiczny (The Freshwater Institute) przy współudziale sześciu innych instytutów w Kanadzie i USA i zapewniającym poparcie finansowe jego realizatorom. Celem ich jest:

a) prowadzenie obserwacji krótko i długotrwałych, odnośnie do skutków doprowadzenia fosforu i azotu do badanych jezior, z krańcowo niskimi koncentracjami,

b) określenie czy związki węgla i azotu limitują rozwój glonów,

c) stwierdzenie czy zakwity glonów mogą się rozwijać przy dodawaniu samego fosforu.

Postanowiono w najbliższych trzech latach zorganizować następujące sympozja na temat:

1) paleolimnologia,

2) wzajemne oddziaływanie osadu i wody w strefie kontaktowej,

3) zastosowanie kultur glonów w limnologii,

4) Rotatoria,

5) Ephemeroptera,

6) wielkie jeziora Afryki.

Utworzono też siedem specjalnych grup roboczych, odpowiadających na pytania z limnologii teoretycznej i stosowanej.

Uchwalono, że następny XX Międzynarodowy Kongres Limnologiczny odbędzie się w Danii (1977 r.), a po nim XXI w Japonii (1980 r.).

W podsumowaniu należałoby nadmienić, że w większości referowanych prac, w różnych sesjach podkreślano znaczenie testów biologicznych zarówno w pracach ekologicznych, jak też przy ocenie produkcji. Dużo miejsca poświęcono badaniom paleolimnologicznym rdzennych osadów jeziorowych, w których na podstawie rozmieszczenia materiału dałoby się uchwycić okres czasu wykształcenia się zachodzących zmian. Referowano przeważnie prace zespołowe. Duża

ilość prac omawiała podstawowe problemy ekologii wód słodkich, 1/3 dotyczyła zanieczyszczeń oraz wpływu zbiorników wodnych na rzeki. Mniej pozycji niż na poprzednim kongresie w Leningradzie obejmowało prace opisowe. Interesujące było również poruszenie zagadnienia pożaru lasów w aspekcie limnologicznym. Podkreślano wielką potrzebę publikacji prac popularnonaukowych, dostępnych dla szerokiego kręgu społeczeństwa. Podobnie jak na kongresie w Leningradzie nadal kontynuowano badania modelowe, jako uzupełnienie testowych, mające wyjaśnić zmiany w warunkach terenowych. Badania modelowe w hydrobiologii są mimo wszystko w fazie początkowej, dlatego nie można się na nich opierać, gdy przystępuje się do pełnej charakterystyki środowiska. Z uwagi na to, że kongres odbywał się w Kanadzie, mniej miejsca poświęcono np. stawom, a zajęto się raczej jeziorami arktycznymi i subarktycznymi, co wiązało się z charakterem wód tego kraju.

Z porównania obu kongresów wynika, że tematyka bardzo różnorodna i szeroka, nie tyle się zmieniła, ile raczej wzbogaciła o badania bardziej szczegółowe. Obecnie widoczne są usiłowania, zmierzające do poznania większej ilości szczegółów odnośnie do różnych zagadnień. Zostało to nawet zaakcentowane w ułożeniu programu kongresu, który wyodrębnił aż 53 sesje o bardzo ścisłej specjalizacji, co w porównaniu z 12 sekcjami na kongresie w Leningradzie stanowiło wcale niebagatelną liczbę. W czasie XIX kongresu wygłoszono ok. 480 referatów na 53 sesjach (przeciętnie 8 w 1 sesji) i dwóch plenarnych sympozjach. Warto dodać, że na kongresie w Leningradzie przedstawiono 300 prac, z tego 13 na sesji plenarnej i 287 na 12 sekcjach i 4 sympozjach. W Kanadzie Polacy wygłosili 5 referatów, a jednej sesji „Odżywianie się zooplanktonu” przewodniczył dr Gliwicz, podczas gdy w Leningradzie zaprezentowali 17 prac, z tego jedną na sesji plenarnej i przewodniczyli 5 sekcjom. Kongres liczył przeszło 1000 uczestników z 35 krajów. Najliczniej uczestniczyli Kanadyjczycy i Amerykanie. Poprzedni kongres w Leningradzie w 1971 r. zgromadził 800 osób z 34 krajów, w tym większość stanowili radzieccy hydrobiolodzy. Polskę reprezentowało 5 osób na kongresie w Kanadzie, w tym jeden oficjalny przedstawiciel, pozostali uczestniczyli prywatnie lub za poparciem stypendialnym.

Jakkolwiek udział Polaków był niewielki w porównaniu z kongresem w Leningradzie, pozwolił on na wystarczające zorientowanie się, że realizowana w Polsce tematyka hydrobiologiczna niezbyt ustępuje w tym względzie swoim poziomem badaniom prowadzonym w innych krajach.

Halina Bucka

MIĘDZYNARODOWE SYMPOZJUM „UDZIAŁ NOŚNIKÓW W TRANSPORCIE PRZEZ MEMBRANY KOMÓRKOWE”

W dniach 20—24.I.1975 r. w Rheinsbergu w NRD, odbyło się międzynarodowe sympozjum na temat „Udział nośników w transporcie przez membrany komórkowe”.

Sympozjum było zorganizowane przez Sekcję Biologii Uniwersytetu Humboldta (prof. H. Göring i dr R. Ehwald) oraz przez Instytut Chemii Fizjologicznej Uniwersytetu Karola Marksa w Lipsku (prof. dr F. Müller).

W sympozjum wzięło udział ok. 50 osób z Krajów Socjalistycznych, reprezentujących różne dyscypliny naukowe: prof. A. Kotyk wraz z współpracownikami z Laboratorium Transportu przez Membrany z Pragi, prof. A. M. Ugolew z Instytutu Fizjologii I. P. Pawłowa z Leningradu, prof. F. Müller z Instytutu Chemii Fizjologicznej z Lipska, prof. Goring z Sekcji Biologii z Berlina, prof. Jakob z Sekcji Nauk Biologicznych z Halle, dr E. K. Novak i dr T. Deak z Ka-

tedry Mykologii i Katedry Mikrobiologii z Budapesztu, prof. G. Kudriew z Instytutu Fizjologii Roślin Akademii Nauk z Sofii, dr M. W. Turkina i W. P. Chołodowa z Instytutu Fizjologii Roślin w Moskwie i in.

W czasie sympozjum wygłoszono ok. 40 referatów i krótkich doniesień. Tematyka referatów dotyczyła różnych aspektów mechanizmu transportu głównie substancji organicznych zarówno w mięśniach, jelitach, czerwonych ciałkach krwi, w komórkach roślin wyższych, glonach, drożdżach, jak i innych obiektach. Główną uwagę zwrócono na udział nośników zarówno w tzw. ułatwionej dyfuzji, jak i w aktywnym transporcie (m.in. referaty prof. Kotyka i prof. Ugolewa). Kilka referatów i doniesień dotyczyło zagadnienia energetyki transportu i udziału ATP-azy oraz pompy sodowo-potasowej; stwierdzono, że inhibitory typu dwunitrofenolu, azydki i inne zwiększają przepuszczalność membran i obniżają poziom ATP, co powoduje zmiany w strukturze membran. Wysoki poziom ATP w komórce stabilizuje membrany (W. Ross, Sekcja Farmacji, Halle). J. Horak (Laboratorium Transportu przez membrany komórkowe, Praga) przedstawił wyniki badań przeprowadzonych na membranach komórek drożdży, w wyniku których wyizolowano lipoproteidowy nośnik biorący udział w transporcie glukozy i arabinozy. Kilku mówców podkreślało znaczenie przestrzennej konfiguracji przenoszonych cząsteczek cukrów przy tworzeniu połączeń nośnik-cukier.

Prof. Ugolew (Leningrad) przedstawił hipotezy mechanizmu aktywnego transportu w jelitach. Podkreślił ścisłą współzależność funkcyjną pomiędzy białkami enzymatycznymi i nośnikami białkowymi, stanowiącymi elementy struktury membran. W wyniku specyficznej orientacji przestrzennej tych białek a szczególnie ich aktywnych centrów, produkty reakcji enzymatycznych są bezpośrednio kierowane na specyficzny nośnik uczestniczący w przenoszeniu danej substancji na drugą stronę membrany. Takie bezpośrednie przekazywanie poszczególnych metabolitów (powstających w samej membranie lub na jej powierzchni) na układy przenośnikowe, w bardzo dużym stopniu obniża konkurencję o nośniki substancji przenikających do komórki.

W wielu doniesieniach omówiono wpływ szeregu jonów (Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++}) na aktywność ATP-azy i nośników oraz wpływ szeregu substancji: DNP, azydków, florydyny oraz insuliny, adrenaliny a w komórkach roślinnych IAA i CCC na absorpcję i akumulację różnych substancji organicznych.

Mechanizmowi transportu w roślinach wyższych poświęcono mniej uwagi. Przeglądowy referat, dotyczący badań prowadzonych pod kierunkiem prof. Kursanowa w Laboratorium Przemieszczania w Instytucie Fizjologii Roślin w Moskwie wygłosiła dr W. P. Chołodowa przedstawiając wyniki uzyskane na buraku cukrowym. Wykazano, że bardzo duże stężenie sacharozy w tkankach przewodzących, w ogonkach liściowych buraka cukrowego, uwarunkowane jest w dużym stopniu brakiem aktywnej inwertazy w rurekach siwowych. Sacharoza w buraku cukrowym przenika przez membrany na zasadzie aktywnego transportu bez uprzedniej hydrolizy, przy udziale specyficznego nośnika.

Dr Ehwald (Berlin) w doniesieniu dotyczącym badań nad mechanizmem aktywnego transportu monosacharydów w komórkach korzeni kukurydzy przedstawił hipotezę sugerującą sprzężenie transportu cukrów z transportem protonów powodującym powstawanie gradientu pH po obu stronach membrany.

W podsumowaniu obrad stwierdzono konieczność prowadzenia dalszych badań nad izolacją poszczególnych nośników z różnych obiektów badawczych oraz nad energetyką aktywnego transportu.

Następne sympozjum dotyczące transportu przez membrany ma się odbyć na Węgrzech w 1976 r. Termin i dokładne miejsce obrad nie zostały jeszcze ustalone.

BIOLOGOWIE, ROLNICY I MEDYCY — CZŁONKOWIE PREZYDIUM PAN

Zgromadzenie Ogólne Polskiej Akademii Nauk na XLI sesji w dniu 19 grudnia 1974 r. wybrało Prezydium PAN na nową kadencję 1975—1977.

Spśród członków wydziałów: Nauk Biologicznych, Nauk Rolniczych i Leśnych oraz Nauk Medycznych do Prezydium PAN zostali powołani: członek rzeczywisty PAN Bohdan Dobrzański, członek rzeczywisty PAN Kornel Gibiński, członek rzeczywisty PAN Zofia Kielan-Jaworowska, członek korespondent PAN Jan K. Kostrzewski, członek korespondent PAN Tadeusz Krzymowski, członek rzeczywisty PAN Ryszard Manteuffel, członek rzeczywisty PAN Włodzimierz Michajłow, członek korespondent PAN Mirosław Mossakowski, członek korespondent PAN Stanisław Nawrocki, członek rzeczywisty PAN Tadeusz Orłowski, członek korespondent PAN Włodzimierz Ostrowski, członek rzeczywisty PAN Szczepan Pieniążek, członek rzeczywisty PAN Stefan Słopek, członek korespondent PAN Adam Urbanek.

L. K.

PRZEWODNICZĄCY KOMITETÓW NAUKOWYCH WYDZIAŁU NAUK BIOLOGICZNYCH PAN

Sekretarz Naukowy Polskiej Akademii Nauk powołał przewodniczących Komitetów Naukowych Wydziału Nauk Biologicznych PAN na nową kadencję władz Polskiej Akademii Nauk (1975—1977):

prof. dr Zbigniew Drozdowski
Włodzimierz Ostrowski, członek kor. PAN
Adam Urbanek, członek kor. PAN

prof. dr. Stefan Białobok
Lech Wojtczak, członek kor. PAN
Kazimierz Petruszewicz, członek rzecz. PAN
prof. dr Zbigniew Lorkiewicz
prof. dr Jerzy Fabijanowski

prof. dr Bogdan Czapliński
Henryk Szarski, członek rzecz. PAN

Komitet Antropologii
Komitet Biochemii i Biofizyki
Komitet Biologii Ewolucyjnej
i Teoretycznej
Komitet Botaniki
Komitet Cytobiologii
Komitet Ekologii
Komitet Mikrobiologii
Komitet Ochrony Przyrody
i Jej Zasobów
Komitet Parazytologii
Komitet Zoologii

L. K.

PRZEWODNICZĄCY RAD NAUKOWYCH PLACÓWEK NAUKOWO-BADAWCZYCH WYDZIAŁU NAUK BIOLOGICZNYCH PAN

Sekretarz Naukowy Polskiej Akademii Nauk powołał przewodniczących Rad Naukowych placówek naukowo-badawczych Wydziału Nauk Biologicznych PAN na nową kadencję władz Polskiej Akademii Nauk (1975—1977):

Józef Heller, członek rzecz. PAN
Włodzimierz Niemierko, członek rzecz. PAN

Instytut Biochemii i Biofizyki
Instytut Biologii Doświadczalnej

Franciszek Górski, członek rzecz. PAN	Instytut Botaniki
prof. dr Jan Walas	Instytut Dendrologii
Włodzimierz Michajłow, członek rzecz. PAN	Instytut Ekologii
prof. dr Romuald Klekowski	Instytut Zoologii
prof. dr Halina Milicerowa	Zakład Antropologii
prof. dr Kazimierz Krysiak	Zakład Badania Ssaków
prof. dr Stanisław Wróbel	Zakład Biologii Wód
prof. dr Tadeusz Sulma	Zakład Ochrony Przyrody
Roman Kozłowski, członek rzecz. PAN	Zakład Paleozoologii
prof. dr Eugeniusz Grabda	Zakład Parazytologii
Henryk Szarski, członek rzecz. PAN	Zakład Zoologii Systematycznej i Doświadczalnej
Szczepan A. Pieniążek, członek rzecz. PAN	Ogród Botaniczny

L. K.

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Збигнев Лоркевич</i> — Производство биомаса при применении микробиологических процессов на разных субстратах	321
<i>Валенты Москва</i> — Галлы — естественный пример генетической инженерии	335
<i>Катажина Невядомска</i> — Идлинный онтогенез или перемена поколений? (О размножении дигенетических трематод)	349
<i>Людмира Талая</i> — Органы обоняния рыб	365
<i>Витолд Томасси, Алиша Солик</i> — Исследование крови методом порошковых электродов	375
<i>Станислав Мушинский</i> — Замечания о законах Менделя	383

РЕЦЕНЗИИ НАУЧНАЯ ХРОНИКА СОБРАНИЯ, СЪЕЗДЫ И НАУЧНЫЕ КОНФЕРЕНЦИИ

CONTENTS

<i>Zbigniew Lorkiewicz</i> — Microbial biomass production on various substrates	321
<i>Walenty Moskwa</i> — Galls — a natural egzample of genetic engineering	335
<i>Katarzyna Niewiadomska</i> — Whether it is elongation of ontogeny or alternation of generations? (On the reproduction in Digenea)	349
<i>Lubomira Halama</i> — Olfactory organs in fishes	365
<i>Witold Tomassi i Alicja Solik</i> — Powder electrodes method for blood investigation	375
<i>Stanisław Muszyński</i> — Remarks on Mendel's laws of heredity	383

BOOK REVIEW SCIENTIFIC CHRONICLE SESSIONS, MEETINGS AND SCIENTIFIC CONFERENCES MISCELLANEA

SPIS TREŚCI

Zbigniew Lorkiewicz — Produkcja biomasy przy zastosowaniu procesów mikrobiologicznych na różnych substratach	321
Walenty Moskwa — Wyrośla (cecidia) — naturalny przykład inżynierii genetycznej	335
Katarzyna Niewiadomska — Wydłużona ontogeneza czy przemiana pokoleń	349
Lubomira Halama — Narządy węchu ryb	365
Witold Tomassi i Alicja Solik — Badanie krwi metodą elektrod próżkowych	375
Stanisław Muszyński — Uwagi o prawach Mendla	383

RECENZJE

Jadwiga Siemińska — Karol Starmach: Cryptophyceae — Kryptofity, Dinophyceae — Dinofity, Raphidophyceae — Rafidofity	387
---	-----

KRONIKA NAUKOWA

Barbara Płytycz — Zmutowane geny u <i>Ambystoma mexicanum</i>	389
Jerzy Andrzej Chmurzyński, Maria Kieruzel — Receptory wabiących seksualnie substancji zapachowych u motyli nocnych	391

ZEBRANIA, ZJAZDY I KONFERENCJE NAUKOWE

L. K. — Posiedzenie Sekretariatu Wydziału II PAN	395
L. K. — Sekretariat Wydziału Nauk Biologicznych PAN	395
Wacław Gajewski — Konferencja poświęcona zrekombinowanym cząstkom DNA	395
Przemysław Trojan — Pierwszy międzynarodowy kongres ekologiczny	406
Halina Bucka — XIX Międzynarodowy Kongres Limnologiczny	412
Zofia Starck — Międzynarodowe Sympozjum „Udział nośników w transporcie przez membrany komórkowe”	419

MISCELLANEA

L. K. — Biologowie, rolnicy i medycy — członkowie Prezydium PAN	421
L. K. — Przewodniczący komitetów naukowych Wydziału Nauk Biologicznych PAN	421
L. K. — Przewodniczący Rad Narodowych placówek naukowo-badawczych Wydziału Nauk Biologicznych PAN	422

Tylko prenumerata zapewni
regularne otrzymywanie
dwumiesięcznika

K O S M O S A

Prenumerata krajowa

Cena prenumeraty krajowej:

półrocznie zł 45,—

rocznie zł 90,—

Instytucje państwowe, społeczne, zakłady pracy, szkoły itp. mogą zamawiać prenumeratę wyłącznie w miejscowych Oddziałach i Delegaturach „Ruch”.

Prenumeratory indywidualni mogą opłacać prenumeratę w urzędach pocztowych i u listonoszy, lub dokonywać wpłat na konto PKO Nr 1-6-100020 — Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw „Ruch”, Warszawa, ul. Towarowa 28 (w terminie do 10 dnia miesiąca poprzedzającego okres prenumeraty).

Prenumerata zagraniczna

Prenumeratę ze zleceniem wysyłki za granicę, która jest o 40% droższa od prenumeraty krajowej, przyjmuje Biuro Kolportażu Wydawnictw Zagranicznych „Ruch” Warszawa, ul. Wronia 23, konto PKO Nr 1-6-100024.

Bieżące i archiwalne numery można nabywać lub zamawiać we Wzorcowni Wydawnictw Naukowych PAN — Ossolineum — PWN, 00-901 Warszawa, Pałac Kultury i Nauki (wysoki parter) oraz w księgarniach naukowych „Domu Książki”.

Sprzedaż egzemplarzy numerów zdezaktualizowanych, na uprzednie pisemne zamówienia, prowadzi Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw „Ruch” 00-938 Warszawa, skr. poczt. 12.

Subscription orders can be sent directly to:

„Ars Polona—Ruch”

Warszawa 1

P.O. Box 154

sending remittance of \$ 10.80 through
the Bank Handlowy — Warszawa, Traugutta 7

Kosmos A., XXIV, 4, 319—424, wrzesień Warszawa 1975.

Indeks 36417