

WYŻSZA SZKOŁA PEDAGOGICZNA
IM. KOMISJI EDUKACJI NARODOWEJ W KRAKOWIE

PRACE MONOGRAFICZNE NR XXVII

Ryszard Pado

FOTOTAKSJA I FOTOKINEZA
U PARAMECIUM BURSARIA

KRAKÓW 1978

WYDAWNICTWO NAUKOWE WSP

Ryszard Pado

**FOTOTAKSJA I FOTOKINEZA
U *PARAMECIUM BURSARIA***

PRACE MONOGRAFICZNE
WYŻSZEJ SZKOŁY PEDAGOGICZNEJ
W KRAKOWIE

Tom XXVII

ÉTUDES MONOGRAPHIQUES
DE L'ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE
À CRACOVIE

WYDAWNICTWO NAUKOWE
WYŻSZEJ SZKOŁY PEDAGOGICZNEJ

Ryszard Pado

FOTOTAKSJA I FOTOKINEZA
U *PARAMECIUM BURSARIA*

Kraków 1978

WYDAWNICTWO NAUKOWE
WYŻSZEJ SZKOŁY PEDAGOGICZNEJ

RECENZENCI

prof. dr hab. STANISŁAW WIĘCKOWSKI
prof. dr JAN ZURZYCKI

KOMITET REDAKCYJNY

HENRYK LACH
(przewodniczący)

JANINA DŁUGOSZOWA, BOLESŁAW FARON, JERZY JAROWIECKI, JULIUSZ
JASIEŃSKI, ZOFIA KRYGOWSKA, JÓZEF MUSIELAK, EWA SŁAWEŃKA,
JAN SZMYD, TADEUSZ ZIĘTARA
(członkowie)

KAZIMIERZ AUGUSTYNEK
(sekretarz)

JAN BUDA
(sekretarz techniczny)

BARBARA KIEDRZYCKA-SZATKO
(redaktor Wydawnictwa)

WYDAWNICTWO NAUKOWE
WYŻSZEJ SZKOŁY PEDAGOGICZNEJ
W KRAKOWIE, UL. KARMELICKA 41

Wydanie I. Nakład 200 egz. Ark. wyd. 6,8.
Ark. druk. 7. Zam. Wyd. nr 508/78. Zam. Druk. nr 610/78.
E-3(1514). Cena zł 17.—
DRUKARNIA NARODOWA, ZAKŁAD NR 1
KRAKÓW, UL. MANIFESTU LIPCOWEGO 19

WYRAŻAM SERDECZNE PODZIĘKOWANIE PANU PROFESOROWI DR JANOWI ZURZYCKIEMU ZA CENNE RADY UDZIELANE W CZASIE MOJEJ DOTYCHCZASOWEJ PRACY NAUKOWEJ, A PRZEDE WSZYSTKIM ZA DUŻE ZAINTERESOWANIE PROBLEMAMI ZWIĄZANYMI Z SYMBIOZĄ I FOTOTAKSJĄ MIKROORGANIZMÓW

SPIS TREŚCI

WSTĘP	9
I. Ogólna charakterystyka ruchów organizmów jednokomórkowych uzależnionych od światła. Uwagi terminologiczne	9
Fotokineza	12
Fototopotaksja	14
Fotofobotaksja	17
II. <i>Paramecium bursaria</i> — krótka charakterystyka biologiczna	18
III. Wzajemne oddziaływanie partnerów symbiozy	20
IV. Problem pracy	28
MATERIAŁ I METODYKA	30
I. Metodyka hodowli <i>Paramecium bursaria</i>	30
II. Rejestracja ruchu populacji organizmów	32
III. Rejestracja ruchu pojedynczych osobników	34
IV. Ilościowa interpretacja parametrów ruchu indywidualnych komórek	37
WYNIKI	38
I. Efekty światła studiowane na populacji <i>Paramecium bursaria</i>	38
II. Wpływ światła na ruch pojedynczych komórek	43
Działanie światła białego — wpływ czasu naświetlania	43
Działanie światła białego — wpływ intensywności światła	49
Działanie światła barwnego	59
DYSKUSJA	63
STRESZCZENIE	74
SUMMARY	76
LITERATURA	79
OBJAŚNIENIE PLANSZ	87

W S T Ę P

I. OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA RUCHÓW ORGANIZMÓW JEDNOKOMÓRKOWYCH UZALEŻNIONYCH OD ŚWIATŁA UWAGI TERMINOLOGICZNE

Światło jest dla organizmów żywych czynnikiem o podstawowym i wielostronnym znaczeniu. Obok takich procesów jak fotosynteza czy proces widzenia, światło wywiera wpływ na szereg innych zjawisk np. przemieszczanie się w środowisku, ruch organów roślinnych, pigmentacja itp. Porównując efekty wywołane działaniem światła z ilością energii doprowadzonej do organizmu drogą oświetlenia, można podzielić skutki biologiczne oświetlenia na dwie grupy (G ó r s k i 1962).

Do pierwszej należą procesy, w których energia świetlna i końcowy efekt energetyczny procesu są porównywalne. Należą tu głównie syntezy pewnych związków kosztem energii świetlnej, w których ilość wytwarzanego związku pozostaje w proporcji do ilości pochłoniętej energii promieniowania. Do tej grupy procesów zaliczyć należy fotosyntezę, czy też niedawno odkryte zjawisko fotofosforylacji u *Halobacterium* (O e s t e r h e l t 1976, Z u r z y c k i 1977).

Drugą grupę uzależnionych od światła procesów charakteryzuje dysproporcja między ilością energii doprowadzonej w formie promieniowania a ostatecznym efektem energetycznym. Z reguły organizm wydatkuje własną energię metaboliczną a światło jest czynnikiem nie tyle napędzającym, co sterującym procesem. Światło działa jako bodziec wyzwalający w organizmie pewne procesy, których przebieg jest już uzależniony od dopływu energii z metabolizmu. Do tej ostatniej grupy należą między innymi ruchy organizmów jednokomórkowych uzależnione od światła.

Wpływ światła na przemieszczanie się organizmów opisany został po raz pierwszy przez Trevirianusa (1817). Zaobserwował on, że pływki wielu glonów zbierają się na oświetlonych ścianach naczyń szklanych, w których prowadzono hodowle.

Swobodnie poruszające się w środowisku organizmy stały się wdzięcznym obiektem dla licznych obserwacji naukowych. Szczególnie na przełomie XIX i XX w. pojawiło się wiele prac, posiadających do dnia

dzisiejszego znaczne wartości naukowe (Strasburger 1878, Engelmann 1882, 1883, 1888, Stahl 1880, Klebs 1885, Aderhold 1888, Holmes 1903, Molisch 1907, Buder 1917, Oltmans 1917, Bolte 1920).

Badania z tego okresu doprowadziły do wykrycia kilku różniących się wzajemnie typów reagowania organizmów na światło i wprowadziły, jednakże nie zawsze konsekwentną, terminologię omawianych zjawisk. W najstarszym ujęciu wszystkie rodzaje ruchów organizmów jednokomórkowych uzależnione od światła określane były jako fototaksje. Dość wcześnie stwierdzono jednak, że światło może wywierać zarówno działanie przyciągające, tj. ruch w kierunku miejsc oświetlonych (fototaksja dodatnia) jak i ucieczkę od miejsc oświetlonych (fototaksja negatywna).

W roku 1882 Engelmann opisał u bakterii purpurowej *Bacterium photometricum* gwałtowny ruch do tyłu, przy nagłym zmniejszeniu natężenia światła, określając to zjawisko jako reakcję „przestrachu” („Schreckbewegung”). Również stosunkowo wcześnie, bo w 1878 r., Strasburger dostrzegł zwolnienie szybkości ruchu zielonych pływek przy wzrastającym natężeniu światła. Odwrotne zjawisko stwierdził Engelmann (1882, 1883) u bakterii purpurowych, które nieruchome w ciemności natychmiast rozpoczynały intensywny ruch po oświetleniu. Zjawisko to nazwał fotokinezą.

Obydwa wspomniane typy oddziaływania światła na ruch tj. „Schreckbewegung” i fotokineza są nieco różne od najczęściej występujących reakcji płynięcia w kierunku światła, gdyż nie mają charakteru kierunkowego. Dlatego w obrębie szerokiego pojęcia fototaksji zaczęto wyróżniać reakcje ruchowe związane z kierunkiem działania światła i nie związane z nim. Rother (1901) zaproponował pierwsze nazwać „strophic”, drugie „apobatic”. Nagel (1901) ograniczył termin fototaksja tylko do pierwszej grupy tj. ruchów, których kierunek zdeterminowany jest kierunkiem padania światła. Massarat (1902) zaproponował termin „phobism” zamiast „Schreckbewegung”. Próbę uporządkowania terminologii omawianych zjawisk zawdzięczamy Pfefferowi (1904), który nazwą fotopotaksja objął ruchy zorientowane w stosunku do kierunku padającego światła a fotofobotaksja dla reakcji fobicznej wywołanej zmianą natężenia światła. Terminologia Pfeffera była przez dłuższy czas obowiązująca w fotofizjologii, stając się podstawą do sklasyfikowania uzależnionych od światła ruchów wolno poruszających się organizmów na trzy podstawowe typy:

1) fotopotaksja (dodatnia i ujemna) tj. ruch w kierunku działającego światła, lub w kierunku przeciwnym,

2) fotofobotaksja (dodatnia i ujemna) tj. reakcja szokowa

związana z nagłą zmianą kierunku ruchu, przy nagłym wzroście lub zmniejszeniu intensywności oświetlenia,

3) fotokineza (dodatnia i ujemna) tj. przyspieszenie lub opóźnienie szybkości ruchu pod wpływem działania światła. W krańcowym przypadku fotokineza dodatnia może polegać na wprowadzeniu w ruch po oświetleniu organizmu, który w ciemności był nieruchomy; a ujemna na zupełnym zatrzymaniu ruchu po oświetleniu.

W ostatnim dwudziestolecu zaznaczył się szczególnie intensywny rozwój badań nad sterowanymi przez światło reakcjami ruchowymi organizmów jednokomórkowych (Bendix 1960, Checcucci 1973, Checcucci i inni 1974, 1976, Clayton 1959, 1964, Diehn 1969, 1970, Diehn i Tollin 1966, Drews 1957, 1959, Feinleib 1975, Feinleib i Curry 1971 ab, Forward 1970, Forward i Davenport 1968 ab, Halldal 1962, 1964, Haupt 1959, 1965, 1966, Poff i Butler 1974 ab, Mikołajczyk i Diehn 1975, Nultsch 1973 ab, 1974 ab, Nultsch i Wanderoth 1970, Tollin 1969, Wolken i Shin 1958, Wood 1976).

Wykorzystanie nowych możliwości techniczno-aparaturowych, oparcie badań na precyzyjnych pomiarach rodzaju i natężenia stosowanego promieniowania, użycie dobrego sprzętu optycznego oraz elektronicznych układów pomiarowych, prowadzi do wnikliwych analiz, zarówno samych typów ruchów jak i mechanizmów reakcji. Z drugiej strony nierzadkie są próby wprowadzenia modyfikacji terminologicznych. I tak Diehn (1970, 1973) wracając do wcześniejszych propozycji Nagela uważa, że termin „fototaksja” winien być zarezerwowany dla ruchów ukierunkowanych, natomiast termin „fotofobotaksja” — Pfeffera, zastępuje określeniem reakcja fobiczna (phobic response) wyróżniając w jej obrębie bezpośrednią (direct) i odwrotną (inverse) zamiast odpowiednio dodatniej i ujemnej. Dla wszystkich typów działania światła na ruch zaproponowany został termin „photomotion” (Wolken i Shin 1958).

Hand i Davenport (1970) również ograniczają pojęcie „taxis” do ruchów ukierunkowanych, proponując jednocześnie terminy „klinokinesis” dla reakcji fobicznych oraz „orthokinesis” dla kinezy. Wreszcie Uffen i inni (1971) zaproponowali termin „scotophobic” dla pozytywnej reakcji fotofobicznej. Logiczną wydaje się być nomenklatura stosowana przez Nultscha (1970, 1975), który opowiada się za używaniem terminu „taxis” w jego oryginalnym znaczeniu greckim, w wyniku czego „phototaxis” powinno oznaczać uporządkowanie organizmów wywołane działaniem światła, nie ograniczając tego uporządkowania do ruchów ukierunkowanych. Autor ten uważa, że przez dodanie przedrostków „topo” i „phobo” dostarcza się dalszej informacji o tym, jak to uporządkowanie przebiega. Dlatego też wg Nultscha termin „photo-

phobotaxis" nie zawiera w sobie żadnej sprzeczności, jak to sugerują Checcucci (1973) i Diehn (1973).

Nultsch (1975) zdaje sobie sprawę z pewnych niedoskonałości terminologicznych, stosuje raczej terminologię Pfeffera w opisywaniu reakcji ruchowych wywołanych działaniem światła, uznając za bezsporne istnienie trzech zasadniczych typów reakcji. Powyższa klasyfikacja jest stosowana przez licznych badaczy europejskich pracujących nad tym problemem. Została ona również przyjęta w niniejszej pracy.

Przed omówieniem wspomnianych wyżej trzech typów reakcji organizmu na światło należy zwrócić uwagę na szerszą rolę światła na organizm. Wpływ tego czynnika na żywe organizmy jest bardzo złożony i różnorodny. Zależy on np. od tego, jaki organizm będzie pod tym kątem rozpatrywany, w jakich stadiach rozwojowych i jakich warunkach zewnętrznego środowiska; czy jest to zwierzę czy roślina; organizm autotroficzny czy heterotroficzny; forma wolnożyjąca lub kompleks symbiotyczny itp. W niniejszym opracowaniu niemożliwe jest omówienie tych wszystkich problemów — zresztą nie jest to celem autora. Wpływ promieniowania zarówno w zakresie widzialnym jak i niewidzialnym dla oka ludzkiego zaznacza się szczególnie w przypadku czynności fizjologicznych roślin zielonych, opierających swój metabolizm na procesie fotosyntezy. Zarówno brak światła jak i jego nadmiar jest odpowiednio przez takie rośliny odbierany, co ujawnia się między innymi w procesach wzrostowo-rozwojowych, często posiadających charakter adaptacyjny.

FOTOKINEZA

Zjawisko fotokinezy zostało pierwszy raz opisane przez Straubergera (1878). Stwierdził on, że zielone pływki *Ulotrix zonata*, *Botrydium granulatum* i *Haematococcus lacustris* a także bezbarwne pływki takich grzybów jak *Chytridium vorax* poddawane działaniu światła, po krótkim czasie stają się nieruchliwe. W ciemności natomiast ruchliwość utrzymuje się u nich bardzo długo, od kilku dni do dwóch tygodni. Takie zachowanie się pływek wg przyjętej nomenklatury jest przykładem negatywnej fotokinezy.

Fotokineza pozytywna była obserwowana przez Engelmana (1882, 1883, 1888) u kilku gatunków bakterii purpurowych. Organizmy te przestawały się poruszać w ciemności i to tym szybciej im niższy był poziom tlenu w środowisku. Wystarczyła natomiast krótka ekspozycja światłem, rzędu minut lub nawet sekund, aby organizmy te stały się ruchliwe. Autor stwierdził ponadto, że szybkość ruchu wzrasta w miarę wzrostu natężenia światła. Z chwilą wyłączenia światła ruch utrzymuje

się jeszcze przez jakiś czas, po czym bakterie stają się ponownie nieruchome. Na tej podstawie Engelmann (1882) wyciągnął wniosek, że w wyniku naświetlania powstaje jakiś związek (substancja), który jest konieczny dla ruchu, a który zużywa się w ciemności.

Engelmann (1882) stwierdził ponadto, że możliwa jest zmiana fotokinezy z pozytywnej na negatywną. Gdy bakterie purpurowe oświetlone zostały zbyt wysokim natężeniem światła, również stawały się nieruchome (negatywna fotokineza).

Pierwsze bardziej szczegółowe badania nad fotokinezą prowadzone były przez Bolte (1920), która w przeciwieństwie do Strasburgera nie stwierdziła żadnego wpływu światła na ruchliwość bezbarwnych organizmów takich jak *Euglena* sp., *Polytoma* i *Chilomans curvata*. *Euglena proxima* — organizm zielony również wykazywała obojętność fotokinetyczną. Podobnie też Haxo i Glendennig (1953) nie zaobserwowali żadnego efektu kinetycznego u gamet *Ulva lactuca*. Dla większości *Flagellata* światło działa jednak fotokinetycznie w sensie dodatnim. U pewnych gatunków *Phacus*, *Lepocinalis*, *Chlamydomonas* następował w świetle zanik wici, wobec czego stawały się one automatycznie nieruchliwe. Bolte stwierdziła też, że u pewnych badanych organizmów ruchliwość zależała od innych czynników niż światło. Szczególnie wyraźnie zaznaczał się wpływ w tym procesie stężenia CO₂. Autorka wyciągnęła więc wniosek, że istnieje tu korelacja między pozytywną fotokinezą a fotosyntezą. Ona też rozróżniając pozytywną i negatywną fotokinezę podała następującą definicję: „negatywnie fotokinetyczne organizmy stają się nieruchome w świetle, kontynuują natomiast ruch w ciemności, aż do śmierci lub bezruchu z innych powodów. Fotokinetycznie obojętne organizmy nie wykazują żadnej zależności ruchu od światła” (Bolte 1920).

Badania fotokinezy prowadzone przez Luntza (1931 ab, 1932) dla *Volvox*, *Eudorina* i *Chlamydomonas* doprowadziły do określenia progu wrażliwości tzn. najmniejszego natężenia światła jakie konieczne jest do wywołania ruchu. Stwierdzono przy tym, że przy niskich natężeniach światła efekt fotokinetyczny jest funkcją ilości światła ($I \times t$). Jednak w przypadku ciągłego naświetlania efekt fotokinezy zależy jedynie od natężenia światła (I).

Fotokineza sinic stwierdzona została przez Nultscha (1962 ac) u kilku gatunków *Phormidium*, które są również ruchliwe w ciemności, prędkość ruchu wzrasta u nich jednak ze wzrostem natężenia światła osiągając maksimum przy około 2000 lx — (fotokinetyczne optimum), przy dalszym wzroście natężenia światła prędkość ruchu maleje, a powyżej 30 000 lx występuje fotokineza negatywna tzn. prędkość ruchu w świetle jest mniejsza niż w ciemności. Zdziwiająco też przedstawia

się dla tych organizmów próg fotokinetycznej wrażliwości określany przez autora wartościami 0,01 — 0,02 lx.

We wszelkich badaniach dotyczących reakcji ruchowych mikroorganizmów bardzo istotną kwestię stanowi dobór właściwych metod. Ogólnie rzecz biorąc, metody te można podzielić na: populacyjne i indywidualne. Dobór właściwej metody zależy w poważnej mierze od tego, czy są to organizmy wolno, czy szybko poruszające się. Zwykle prędkość ruchu u drobnych wiciowców, glonów itp. jest mierzona mikroskopowo i wówczas łatwiej dokonywać pomiarów dla indywidualnych komórek. W przypadku wolno poruszających się organizmów jak np. sinice, wygodniej jest mierzyć prędkość ruchu dla całej populacji, rozprzestrzeniającej się np. na płycie agarowej (N u l t s c h 1962 a). Dobór odpowiedniej metody zależy też od tego, jaki typ reakcji świetlnej rejestrujemy, dlatego różne metody stosowane są do badań fotokinezy, fototopotaksji czy fotofobotaksji, choć niektóre z nich mogą mieć charakter w miarę uniwersalny.

Warto zaznaczyć, że w często stosowanej metodzie „pułapki świetlnej” („light trap”) skupianie się organizmów w miejscu oświetlenia może być wynikiem pozytywnej fototopotaksji, pozytywnej fotofobotaksji, ale i negatywnej fotokinezy. Efekt ten należy wziąć pod uwagę przy interpretowaniu wyników, bowiem o tym, jaki rodzaj reakcji ruchowej na światło decyduje o utrzymaniu populacji organizmów w plamie świetlnej rozstrzygnąć mogą tylko badania ruchu indywidualnych osobników.

FOTOTOPOTAKSJA

Termin fototopotaksja oznacza reakcję ruchową, w której organizm reaguje na kierunek padającej wiązki światła. Rezultatem fototopotaksji jest ruch w kierunku światła (reakcja pozytywna), lub ucieczka w przeciwnym kierunku (reakcja negatywna). Jako klasyczne przykłady fototopotaksji traktowane są ruchy wrażliwych na światło wiciowców, u których oświetlenie boczne w naczyniu jest czynnikiem porządkującym bezkierunkowe ruchy w kierunkowe, zwrócone w stronę padania światła. Jak wykazały badania B u d e r a (1917) ukierunkowanie następuje nie w stosunku do gradientu natężenia światła w przestrzeni, ponieważ reakcja kierunkowa stwierdzona jest także w stosunku do równoległej wiązki światła, a nie rozbieżnej lub zbieżnej. Rozpoznanie kierunku oświetlenia następuje wskutek wewnątrzkomórkowych mechanizmów recepcyjnych. W przypadku dokładnie zbadanego obiektu: *Euglena*, stwierdzono, że fotoreceptorem jest ciało bazalne stanowiące podstawę witki (V á v r a 1956, D i e h n 1973), które może być w pewnym poło-

zeniu komórki ekranowane przed światłem przez stigmę. Ruch obrotowy komórki powoduje, że tylko wówczas gdy kierunek ruchu zgodny jest z kierunkiem padania światła fotoreceptor nie jest okresowo zasłaniany. Szczegółowe badania zachowania się komórki po rozpoczęciu naswietlania wykazały, że właściwe ustawienie osi komórki składa się z kilku stopni, z których każdy ustawia komórkę w takiej pozycji, w której kąt pomiędzy długą osią a kierunkiem wiązki światła jest bardziej ostry niż poprzednio. Każda mała zmiana kierunku ruchu jest wywołana nieznacznym bocznym uderzeniem witki, które pozostaje w bezpośrednim związku z zaciemnianiem ciała paraflagellarnego. Mechanizm ukierunkowania *Euglena* nie jest na pewno uniwersalny dla wiciowców, z których większość nie posiada stigmaty (Hall 1958). Jak wykazały ostatnie badania Throma (1968) bakterie purpurowe, będące klasycznym przykładem reagowania fobotaktycznego, mogą również wykazywać fototopotaksję.

Reakcje fototopotaktyczne stwierdza się też u organizmów poruszających się po stałym podłożu. Nad organizmami z *Desmidiaceae* takimi jak *Closterium* i *Micrasterias* pracowali: Stahl (1880), Klebs (1885), Aderhold (1888). W nowszych badaniach Bendixa (1960) i Neuschelera (1967 ab), stwierdzono, że komórki *Micrasterias* reagujące pozytywnie fototopotaktycznie orientują swoją długą oś równolegle do kierunku padania wiązki światła. Pionowe usytuowanie komórki świadczy o fototaktycznym zobojętnieniu (niewrażliwości).

Wyrażna też jest orientacja w kierunku światła będąca wynikiem wolnych ruchów u sinic i okrzemek (Drews 1957, 1959, Nultsch 1956, 1961, 1971). Jej mechanizm tłumaczony jest zasadą „prób i błędów”. W rozproszonym świetle nitki *Oscillatoria* wykazują ruch zarówno do przodu jak i do tyłu nie preferując żadnego z tych kierunków. Nultsch (1970) porównuje ten ruch z cyklami pracy maszyny parowej. Rewersja ruchu u tych organizmów następuje autonomicznie, nawet wówczas, gdy jego częstotliwość zależna jest od różnych czynników zewnętrznych. Orientacja ruchów u różnych osobników populacji jest oczywiście przypadkowa. Po zadziałaniu światłem jednokierunkowym nie zachodzi żadna reakcja sterująca tzn. nie obserwuje się żadnej aktywnej zmiany w kierunku ruchu. Światło ma jednak wpływ na zmiany w rytmie rewersji, co wykazali Nultsch (1956) i Drews (1959). W konsekwencji u osobników, które wcześniej już były zorientowane w mniejszym lub większym stopniu równolegle do kierunku padania wiązki światła, drogi ich w kierunku tego źródła są przedłużone, podczas gdy drogi od światła są skrócone. Odwrotnie jest w reakcji negatywnej.

Z nowoczesnych metod stosowanych do badań fototopotaksji populacji komórek na szczególną uwagę zasługują: kiuweta rotacyjna (Fein-

leib i Curry 1967) i jej modyfikacja Marbacha i Mayera (1970), naświetlanie pod kątem 45° (Throm 1968) oraz urządzenie do automatycznego kontrolowania fototaksji (Nultsch, Throm i v. Rimisch 1971, Nultsch i Throm 1975), w którym wyeliminowane zostały niedogodności metod poprzednich. Metoda „pułapki świetlnej” („light trap”) zastosowana po raz pierwszy w roku 1882 (Engelmann), była kolejno modyfikowana przez Budera (1915), oraz Bünninga i Schneiderhöhna (1956). Lindes i inni (1965), Diehn (1969) oraz Stavis i Hirschberg (1973) zmodyfikowali metodę pułapki świetlnej konstruując urządzenie zwane „phototaxigram”, które pozwala rejestrować automatycznie ilościowo fototopotaksję drogą pomiaru zmian gęstości optycznej zawiesiny organizmów w „pułapce”.

Halldal (1958) opracował aparaturę pozwalającą na dokonywanie pomiaru widma czynnego w fototopotaksji, gdzie spektrum jest rzucane (wyświetlane) na prostokątną kiuwetę z zawieszoną komórek. Badając wolno poruszające się organizmy Drews (1959), Stainer i inni (1971), Pringsheim (1968) i Francis (1964) stosowali naświetlanie światłem bocznym jednostronnym w celu zmierzenia aktywności fototopotaktycznej organizmów. Metody takie pozwalają mierzyć odległości pokonywane w określonym czasie zarówno do źródła światła jak i od niego. Podobnie też w przypadku wolno poruszających się organizmów Drews (1959), Nultsch (1961, 1971) mierzyli obszar w jakim rozprzestrzeniały się organizmy względem światła.

Zasadniczą zaletą wszystkich metod populacyjnych jest to, że dają one pojęcie o przeciętnym zachowaniu się dużej liczby komórek. Zachowanie się natomiast pojedynczych osobników odbiegające od normy nie posiada wpływu na wynik. Metody takie nie dostarczają jednak informacji na temat orientacji względnie reorientacji komórek względem działającego światła. Z tego względu badania dotyczące zachowania się pojedynczych komórek są bardzo ważne w studiach nad fototaksją. Jak wykazały badania Throma (1968) bakterie purpurowe będące klasycznym przykładem reagowania fotofobotaktycznego mogą również wykazywać fototopotaksję.

Spśród nowych metod pozwalających na badanie reakcji pojedynczych komórek często stosowane są bezpośrednie obserwacje mikroskopowe najczęściej w połączeniu z kamerą fotograficzną (Fergusson 1957, Dryl 1958, Pado 1975). Davenport i inni (1962) oraz Hand i inni (1965) zastosowali do takich badań urządzenie skanujące pole widzenia mikroskopu. Zmiany natężenia wiązki skanującej przy przechodzeniu przez badany organizm, po wzmocnieniu dają odpowiedni obraz na oscyloskopie. Daje to możliwość zarówno obserwacji wzroko-

wej torów poruszania się organizmów jak też ich rejestracji na materiale fotograficznym. System ten został ulepszony przez Davenporta i innych (1970) przez zastosowanie kamery telewizyjnej czulej na wszystkie długości fali. Ruch organizmów może być w tym wypadku albo obserwowany bezpośrednio albo zarejestrowany na taśmie telerecordingu. W tej metodzie zastosowano szereg innych dodatkowych, złożonych urządzeń elektronicznych pozwalających na bardzo dokładną analizę procesu oraz wysoką jakość techniczną otrzymanej dokumentacji.

FOTOFOTAKSJA

Fotofobotaksją jest zmiana kierunku ruchu spowodowana gwałtownymi zmianami natężenia światła. Bez znaczenia jest przy tym kierunek podania wiązki światła. Reakcje wywołane nagłym spadkiem natężenia światła określa się jako pozytywne, natomiast wzrostem natężenia światła uznawane są jako negatywne. W badaniach nad fotofobotaksją muszą być stworzone organizmom takie warunki, aby bodziec mógł być możliwie szybko percepowany przez wrażliwy organizm. Może to mieć miejsce wówczas, gdy szybko poruszający się osobnik przechodzi przez ostrą granicę „światło — ciemność”, lub też między polami oświetlonymi światłem o różnych natężeniach. Bardzo dogodną do badań fotofobotaksji jest metoda tzw. „pułapki świetlnej” („light trap”) zastosowana po raz pierwszy przez Engelmana a ostatnio przez Hadera (1974). Organizmy reagujące fotofobotaktycznie pozytywnie („+”) gromadzą się w plamie świetlnej, wyodrębnionej z ciemnego pola lub strefy, gdzie natężenie światła jest mniejsze. Istota „pułapki świetlnej” polega na tym, że organizmy, które dostały się do niej, bez przeszkód nie mogą jej opuścić.

Organizmy reagujące fotofobotaktycznie negatywnie („—”) reagują odwrotnie, tzn. opuszczają pole oświetlone bez możliwości powrotu do tego obszaru. Strefa oświetlona staje się więc pusta. W tego typu reakcjach bardzo istotną sprawą jest odpowiednie zróżnicowanie stref o różnym natężeniu światła. Zróżnicowanie to musi osiągnąć pewną wartość, którą Clayton (1959) nazywa progiem dyskryminacji, a którą można scharakteryzować ilościowo. Rozpatrując w czasie przebiegu reakcji stwierdza się, że do zmiany kierunku ruchu konieczny jest pewien okres czasu między momentem zadziałania bodźca a jego ujawnieniem się w formie ruchu. Niepozostawienie takiego czasu, np. wskutek działania kolejnymi powtarzającymi się bodźcami, nie daje widocznych efektów.

W pierwszym przybliżeniu może się wydawać, że fotofobotaksja i fotokineza mają ze sobą wiele wspólnego, gdyż zależą od zmian natę-

zenia światła i nie mają charakteru kierunkowego w stosunku do kierunku padania światła. Fotokineza jest jednak wynikiem długotrwałego działania światła, a zmiana prędkości nie zależy od stosunku natężenia światła do czasu (dI/dt). Nie ulega też zmianie kierunek ruchu w czasie zmiany światła, jeżeli nie wywoła się równocześnie reakcji fotofobotaktycznej. Z drugiej strony reakcja fotofobotaktyczna wywołana jest krótkotrwałą zmianą w natężeniu światła zależną od stosunku dI/dt , w wyniku czego osobniki wykazują zaledwie chwilową zmianę prędkości, ruchu lub zupełne jego wstrzymanie. Zaraz jednak ponownie podejmują ruch w przeciwnym kierunku.

II. *PARAMECIUM BURSARIA* — KRÓTKA CHARAKTERYSTYKA BIOLOGICZNA

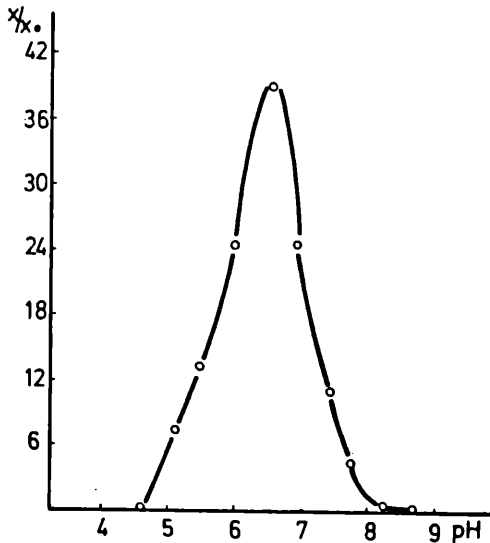
Paramecium bursaria (Focke) będący obiektem badań w niniejszej pracy jest gatunkiem kosmopolitycznym i podobnie jak inne gatunki z rodzaju *Paramecium* (*P. aurelia*, *P. caudatum*) żyje w wodach słodkich stojących lub wolno płynących. Jego środowiskiem są zatem stawy, potoki, kałuże i tym podobne stałe lub okresowe zbiorniki wodne, szczególnie takie, gdzie znaleźć można duże ilości bakterii lub małych wiciowców, stanowiących dla *Paramecium* podstawowy pokarm.

Paramecium bursaria jest gatunkiem rzadkim: odnalezienie go w naturalnych zbiornikach jest trudniejsze niż np. *Paramecium caudatum*, co bez wątplenia należy wiązać z jego dość specyficznymi wymaganiami troficznymi, a zwłaszcza dużą wrażliwością na pH środowiska. Jak wynika z badań L o e f e r a (1937) gatunek ten jest wprawdzie zdolny przez pewien czas przeżyć w środowisku o dość znacznej rozpiętości pH w zakresie 4,5—8,5, jednak możliwość normalnej egzystencji, wzrostu i rozmnażania mieści się dla tego organizmu w bardzo wąskim zakresie kwasowości z optimum przy $pH=6,5$. Poczynając od tej wartości, zarówno w jedną jak i w drugą stronę skali pH intensywność podziałów pierwotniaków gwałtownie maleje (ryc. 1).

L o e f e r stwierdził też, że w skrajnych wartościach pH, w tym głównie przy $pH=4,6$ występują znaczne deformacje morfologiczne orzęsków. Ten ogromny wpływ pH środowiska na organizm świadczyć może z jednej strony o stosunkowo ograniczonych możliwościach adaptacyjnych do zmieniającego się środowiska, z drugiej zaś strony jest to bardzo ważne praktyczne wskazanie przy wykonywaniu eksperymentów, w których warunki hodowli winny być ściśle kontrolowane, gdyż tylko utrzymanie standardowych warunków hodowli prowadzi do otrzymania porównywalnych wyników.

Paramecium bursaria jest mniejszy od swego bliskiego krewniaka

Paramecium caudatum i posiada nieco inny kształt: jest bardziej szeroki, rozplaszczony, przeciętna długość komórki wynosi 85—150 μm , ale zarówno kształt jak i wymiary orzęska mogą ulegać pewnym wahaniom w zależności od różnych czynników: jak np. wspomniana już kwasowość środowiska (Bragg 1936, Loefer 1937, Wichterman 1948),



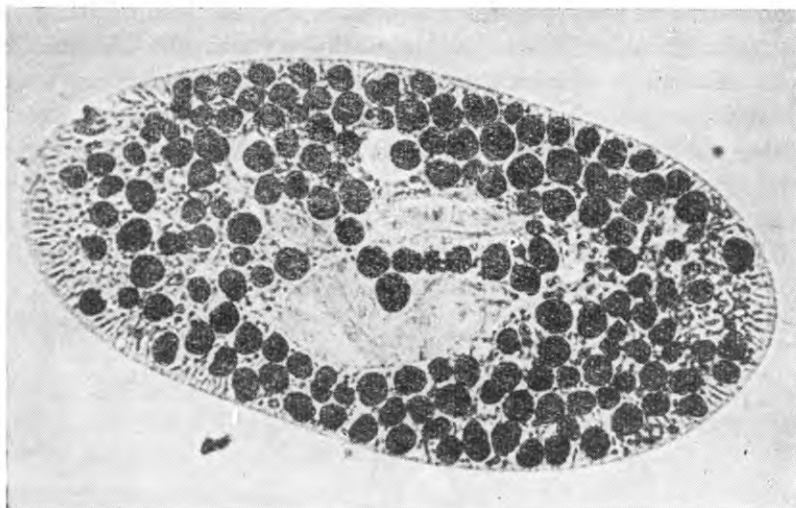
Ryc. 1. Zależność wzrostu kultury *Paramecium bursaria* od kwasowości środowiska, na pożywce mineralnej z dodatkiem 0,75% proteozy peptonu, w temp. 20°C, oś x — pH, oś y — współczynnik podziałów $\%x_0$ (wg Loeffera 1937).

a także temperatury, charakteru pożywki, natężenia światła lub jego braku w trakcie hodowli itp. (Pa d o 1965, 1967, 1969).

Zasadniczą jednak cechą wyróżniającą ten organizm w obrębie całego rodzaju *Paramecium* jest obecność we wnętrzu komórki *P. bursaria* zielonych glonów — zoochlorelli (ryc. 2).

Związek pierwotniaka z glonami jest bardzo trwały, dlatego też stawiany jest często jako przykład endosymbiozy obligatoryjnej. Komórki endosymbiotycznej *Chlorella* są okrągłe lub owalne o średnicy 4—9 μm , posiadają wewnątrz kubkowaty chloroplast zawierający barwniki fotosyntetyczne o składzie podobnym do tego, jaki występuje u roślin wyższych.

Obserwacje przeprowadzone przez Karakashiana, Karakashiana i Rudzińską (1968) przy użyciu mikroskopu elektronowego przyniosły informacje odnośnie struktury endosymbiotycznych glonów *Chlorella* i wzajemnego związku anatomicznego z pierwotniakiem jako partnerem symbiozy. Glony ulokowane są w całej peryferycznej części



Ryc. 2. *Paramecium bursaria* — mikrofotografia z widocznymi endosymbiontami *Chlorella* (pow. ok. 1000 x) fot. autor.

cytoplazmy *Paramecium bursaria*. Pewne obserwacje wskazują także na to, że endosymbionty, zwłaszcza przy dużej ich liczbie w komórce pierwotniaka, mogą też mieścić się w endoplazmie, wykazując zdolność przemieszczania wraz z ruchami endoplazmy.

III. WZAJEMNE ODDZIAŁYWANIE PARTNERÓW SYMBIOZY

Na podstawie dotychczasowych danych z literatury, jak też w oparciu o długoletnie obserwacje i badania własne autora nasuwa się wniosek, że w powyższym kompleksie symbiotycznym *Paramecium bursaria* nie można stwierdzić z całą pewnością, który z dwóch partnerów symbiozy sprawuje funkcję nadrzędną nad pozostałym. Wszystkie dotychczasowe, nieliczne zresztą doniesienia naukowe, dotyczące stosunków troficznych w obrębie kompleksu symbiotycznego *Paramecium bursaria* pozwalają przypuszczać, że symbioza, jaką tu obserwujemy, jest bardzo utrwalona i oparta na prawie równorzędnych, obopólnych korzyściach dla obu partnerów związku. Fakty te przejawiają się w szczególnie wyraźnej formie, gdy chodzi o mechanizm kontroli podziałów symbiotycznego kompleksu, w których to podziałach na równych prawach uczestniczą obydwaj współżyjące organizmy. Okresowa dominacja orzęska nad glonami lub odwrotnie, glonów nad orzęskiem, zależy od aktualnych warunków środowiskowych.

Pringsheim (1928), Karakashian (1963), Pado (1965) stwierdzili, że glony hamują wzrost gospodarza w świetle przy ograniczeniu pożywienia bakteryjnego. I odwrotnie, gdy bakterii w pożywce jest pod dostatkiem, orzęski dostarczają pokarm glonom, przynajmniej w ciemności. Muscatine i inni (1967) zaobserwowali, że symbiotyczne glony wyizolowane z komórki gospodarza, lecz hodowane w jego obecności w pożywce, wydzielają duże ilości produktów fotosyntezy do tego środowiska. Dotyczy to zarówno szczepów zoochlorelli wyizolowanych przez tych badaczy z *Paramecium bursaria*, jak też i innych, znanych organizmów symbiotycznych takich jak *Spongiella* sp. i mutant *Chlorella viridissima*. Wszystkie te symbiotyczne szczepy glonów wydzielają głównie rozpuszczalną maltozę lub glukozę w ilościach od około 6 do około 86% ich całkowitej produkcji fotosyntetycznej. Dla porównania w analogicznych warunkach wszystkie z przebadanych przez tych autorów wolno żyjące szczepy wydzielają tylko 0,4—7,6% swojej całkowitej produkcji fotosyntetycznej, głównie w postaci kwasu glikolowego. Wyzwalanie rozpuszczalnych węglowodanów przez symbiotyczne glony uważa się za przystosowanie do symbiozy. Jeżeli podobne zjawisko zachodzi w przypadku, gdy glony żyją w komórce gospodarza, to wówczas tłumaczy to zdolność glonów do przyspieszania wzrostu współpartnera symbiozy.

Porównując normalne szczepy *Paramecium bursaria* z uzyskanymi eksperymentalnie szczepami pozbawionymi glonów Pringsheim (1928) oraz Siegel i Karakashian (1959) stwierdzili, że w przypadku ograniczonej dostępności pokarmu stałego w środowisku obecność glonów wpływa hamująco na szybkość wzrostu populacji pierwotniaków. Natomiast, w warunkach, gdy w pożywce jest pod dostatkiem bakterii, glony mogą korzystać również z pokarmu udostępnionego im przez gospodarza. Ma to miejsce w warunkach słabego oświetlenia lub w ciemności. Zdaje się nie ulegać wątpliwości, że odwrotna wymiana pokarmowa ma również miejsce. O wykorzystywaniu produktów fotosyntezy będącej udziałem endosymbiotycznej *Chlorella* przez *Paramecium bursaria* świadczą zarówno wyniki zależności kinetyki wzrostu populacji od warunków świetlnych, jak i pomiary gazometryczne.

Zarówno dziedziczenie symbiozy jak i wzajemna pokarmowa zależność tych dwóch organizmów powodują, że istniejący związek strukturalny między obydwoma organizmami ma duże znaczenie — problemom tym poświęcono kilka prac jak np. Bomford (1965), Ehret i Haller (1963), Karakashian i inni (1968), Oehler (1922), Schneider (1964 ab), Schulze (1951), Pado (1965, 1967, 1969), Park i inni (1967), Pietelka (1965).

Powszechnie przyjmuje się, że *Paramecium bursaria* zawiera kilkaset

zielonych glonów z rodzaju *Chlorella*, które zwykle rozmnażają się w takim samym tempie co komórka gospodarza, zapewniając w ten sposób ciągłość związku symbiotycznego i ustabilizowanie liczby endosymbiontów. Dopiero przy zastosowaniu metod eksperymentalnych można rozdzielić trwały związek obu partnerów i hodować je osobno (Karakashian i Karakashian 1965), Karakashian i Siegel (1965), Pado (1965), Siegel (1960), Siegel i Karakashian (1965).

Pringsheim (1928) uważał, że liczba glonów przypadających na jednego orzęska wynosi normalnie około 500, natomiast Wichterman (1953) i Siegel (1960) stwierdzili różnice ilości endosymbiontów, wiążąc je jednak z różnicami rasowymi w obrębie tego gatunku.

Z obserwacji autora wynika, że poszczególne rasy, szczepy czy klonny *Paramecium bursaria* różnią się istotnie „typową” dla nich średnią liczbą endosymbiontów. Okazuje się również, iż w obrębie jednego klonu, który został wyprowadzony z jednego osobnika *Paramecium bursaria* liczba glonów zależy zasadniczo od warunków oświetlenia. Rezultaty otrzymane w wyniku hodowli pierwotniaków w ciemności i na świetle (Pado 1965) wskazują, że nie tylko tempo podziałów, ale i wygląd a nawet sposób zachowania się pierwotniaków wykazują w obu przypadkach zasadnicze różnice. Światło w wyraźny sposób przyspiesza tempo podziałów orzęsków. *Paramecium bursaria* wyhodowane w świetle odznaczają się „żywozielonym” zabarwieniem, spowodowanym, jak wykazują obserwacje mikroskopowe, obecnością bardzo licznych roślinnych endosymbiontów. Orzęski wyhodowane w świetle są znacznie mniej ruchliwe niż organizmy z kultury ciemniowej, pływają bardzo niechętnie, z wyraźną tendencją do osiadania na dnie naczyń hodowlanych lub resztkach waty bądź ligniny obecnych w pożywce i wyraźnie przy wyborze miejsca kierują się w stronę światła.

Natomiast pierwotniaki hodowane przez dłuższy czas w ciemności są bardzo blade, prawie bezbarwne i całymi godzinami aktywnie pływają w pożywce. Obserwacje mikroskopowe wskazują, że nie są one jednak zupełnie pozbawione glonów (plansza I i II), jednak ich endosymbionty są znacznie mniej liczne i wykazują objawy uwstecznienia przejawiające się w wyraźnym zmniejszeniu wymiarów komórek, często ich nieregularnym kształcie i blado brązowo-zielonym zabarwieniem.

Opisane zmiany wywołane światłem i ciemnością są w obu przypadkach odwracalne. Pierwotniaki przeniesione ze światła do ciemności zyskują po około dwóch tygodniach typowe cechy kultury z ciemności i na odwrót — przeniesienie orzęsków z ciemności do światła powoduje „odradzanie” się glonów, zmiany ich kształtów, zabarwienia i liczby w komórce pierwotniaka, co w konsekwencji prowadzi do „zazieleniania” się orzęsków.

Wyniki dotyczące szybkości wzrostu kultur *Paramecium bursaria* oraz liczby glonów przypadających na jedną komórkę pierwotniaka przedstawiono na ryc. 3 i 4 oraz w tabelach I i II. Wartość X/X_0 oznacza liczbę komórek w czasie „t” w stosunku do liczby komórek inokulum. Współczynnik szybkości wzrostu „K”, podany przez Meyera (1953), wynosi:

$$K = \ln \frac{X(24 \text{ godz.})}{X_0}$$

Tabela I

Szybkość wzrostu kultury i liczba glonów w orzęskach *Paramecium bursaria* w zależności od warunków świetlnych

Orzęski odżywiane bakteriami (wg Pado 1965)

Natężenie światła w luksach	X/X_0 po 3 dniach	K	Średnia liczba glonów w komórce orzęska
2700	150	1.697	1035
900	78	1.444	421
500	56	1.342	284
160	53	1.323	—
0	33	1.165	111

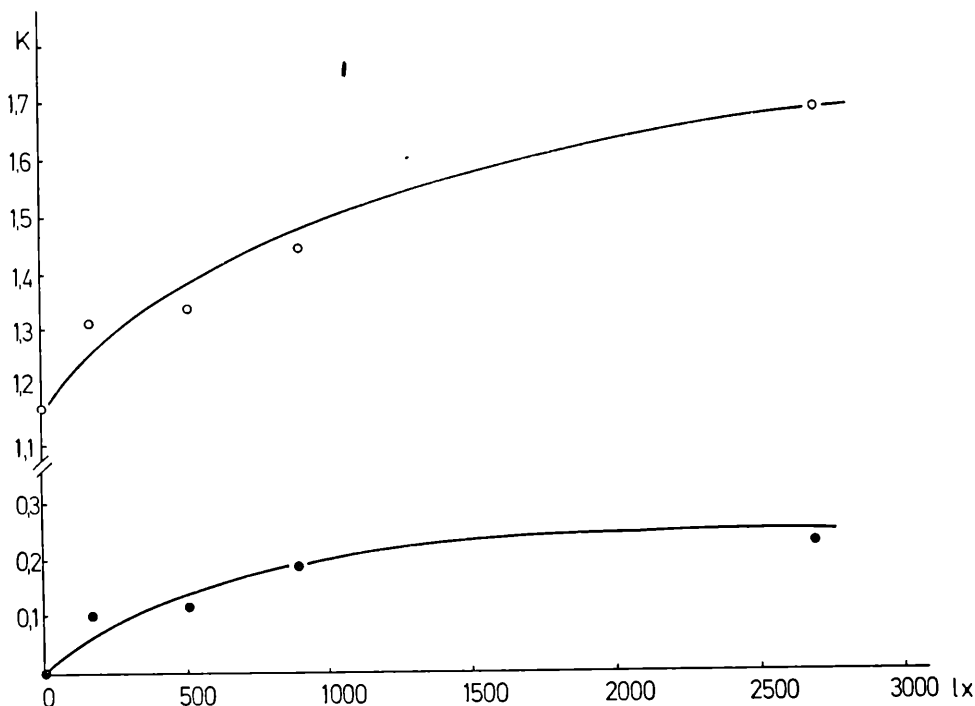
Tabela II

Szybkość wzrostu kultury i średnia liczba glonów u *Paramecium bursaria* w zależności od warunków świetlnych

Kultura bezbakteryjna (wg Pado 1965)

Natężenie światła w luksach	X/X_0 po 3 dniach	K	Średnia liczba glonów w komórce orzęska
2700	6.20	0.2282	783
900	4.30	0.1824	743
500	2.64	0.1213	—
160	2.30	0.1041	—
0	1.00	0.0000	816

Powyższe wyniki wskazują, że nawet jeżeli orzęski mają do dyspozycji dostateczną ilość pokarmu bakteryjnego, tempo ich podziałów jest jednak wyraźnie uzależnione od natężenia oświetlenia. Zmniejszenie intensywności światła łączy się ze zmniejszeniem szybkości podziałów. Kultury przetrzymywane w ciemności wykazują najwolniejszy wzrost.

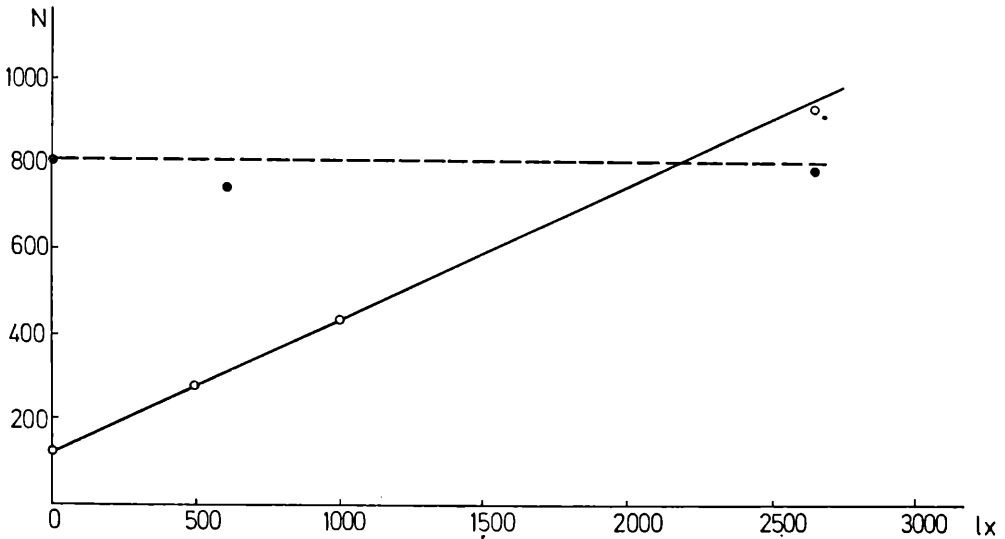


Ryc. 3. Szybkość wzrostu *Paramecium bursaria* w zależności od natężenia światła: oś x — natężenie światła w lx. Oś y — współczynnik szybkości wzrostu (K). ○ — ○ kultury niesterylne, ● — ● kultury sterylne (wg Pado 1965)

Ilościowe określenie średniej liczby glonów obecnych w jednej komórce pierwotniaka wykazało, że liczba ta jest szczególnie zależna od natężenia oświetlenia, w jakim odbywała się hodowla. Pierwotniaki rosące w najwyższym ze stosowanych natężeń światła białego (2700 lx) odznaczają się intensywnie zielonym zabarwieniem i zawierają często ponad 1000 komórek glonów. W ciemności liczba glonów spada do ok. 100 (plansze I i II, tabela I, ryc. 4).

W środowisku bezbakteryjnym (pożywka Loeffera) orzęski rozmnażają się znacznie wolniej niż w przypadku odżywiania bakteriami, ale i w tych warunkach szybkość wzrostu kultury jest wyraźnie uzależniona od światła. Natomiast w przeciwieństwie do poprzedniej serii hodowlanej liczba glonów nie wykazuje tu wyraźnej zależności od natężenia światła i utrzymuje się we wszystkich przypadkach na stosunkowo wysokim poziomie (tabela II, ryc. 4).

Badania przeprowadzone wcześniej w naszym laboratorium na *Paramecium bursaria* koncentrowały się głównie wokół zagadnień fotobiologicznych tego gatunku. Orzęsek ten stał się dla autora interesujący,

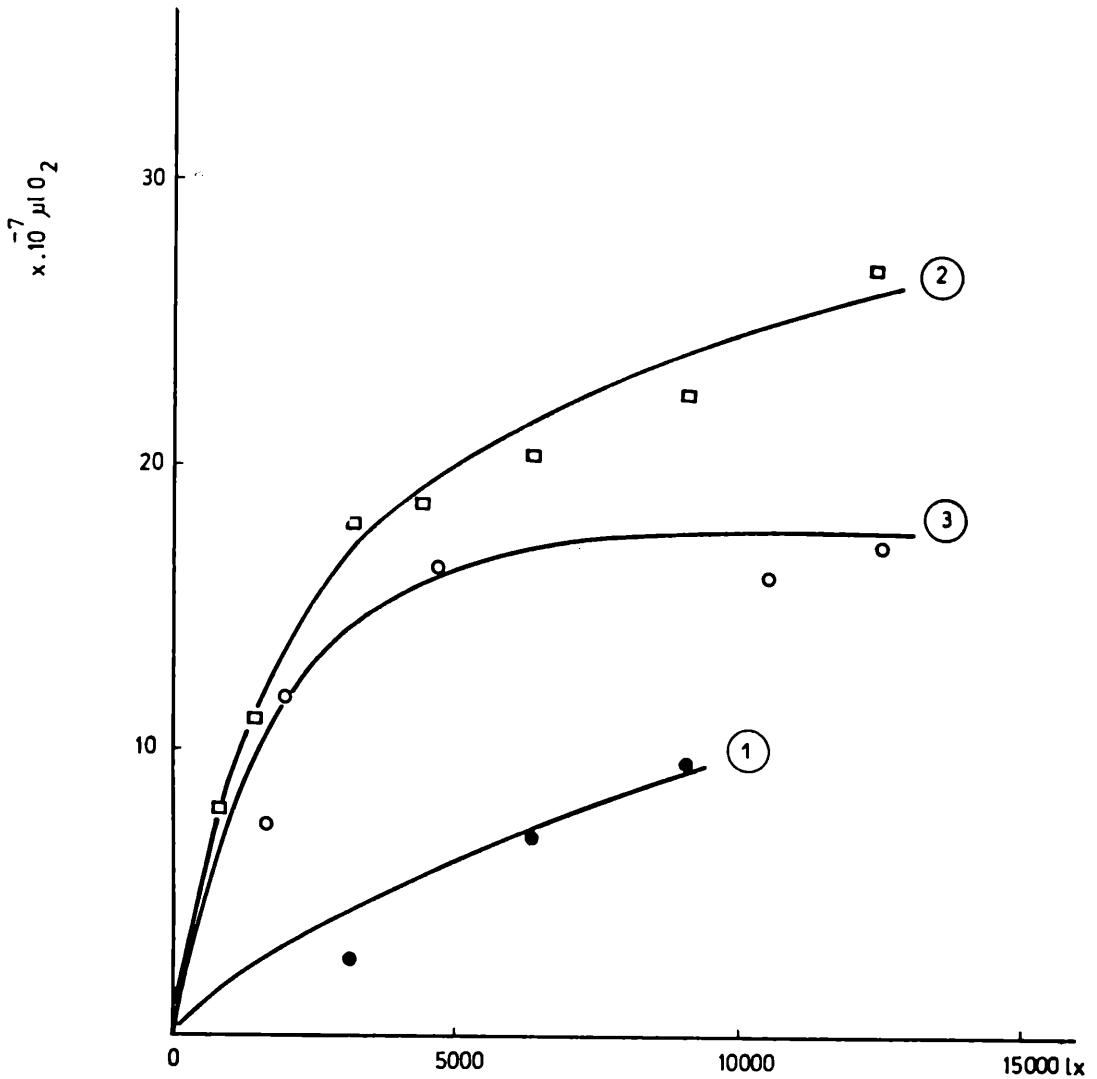


Ryc. 4. Zależność średniej liczby glonów występujących w jednej komórce pierwotniaka *Paramecium bursaria* od natężenia oświetlenia kultury: oś x — intensywność światła w lx, oś y — średnia liczba glonów (N). ● —● pierwotniaki sterylne, ○ —○ pierwotniaki w kulturze niesterylnej. (wg Pado 1965)

głównie z tego powodu, że uwzględniając charakter i trwałość symbiozy, funkcję zielonych glonów można porównywać z fizjologiczną rolą chloroplastów w komórkach roślinnych. Wspomniany obiekt stanowić może interesujący układ modelowy wygodny dla studiowania szeregu podstawowych procesów fizjologicznych. Jest to tym cenniejsze, że orzęski typu *Ciliata* są stosunkowo łatwe do hodowli i obserwacji i charakteryzują się dużą wrażliwością na różne czynniki środowiska.

Pomimo tego, że metodyka hodowli laboratoryjnej wymienionego organizmu została już dość wcześnie opisana (Pringsheim 1915, Parker 1926, Loefer 1934, 1936 abc, 1937, Sonneborn 1950), w praktyce okazało się konieczne wprowadzenie szeregu modyfikacji i udoskonaleń, jak również pokonanie szeregu trudności w uzyskaniu kultur bezbakteryjnych (Pado 1965).

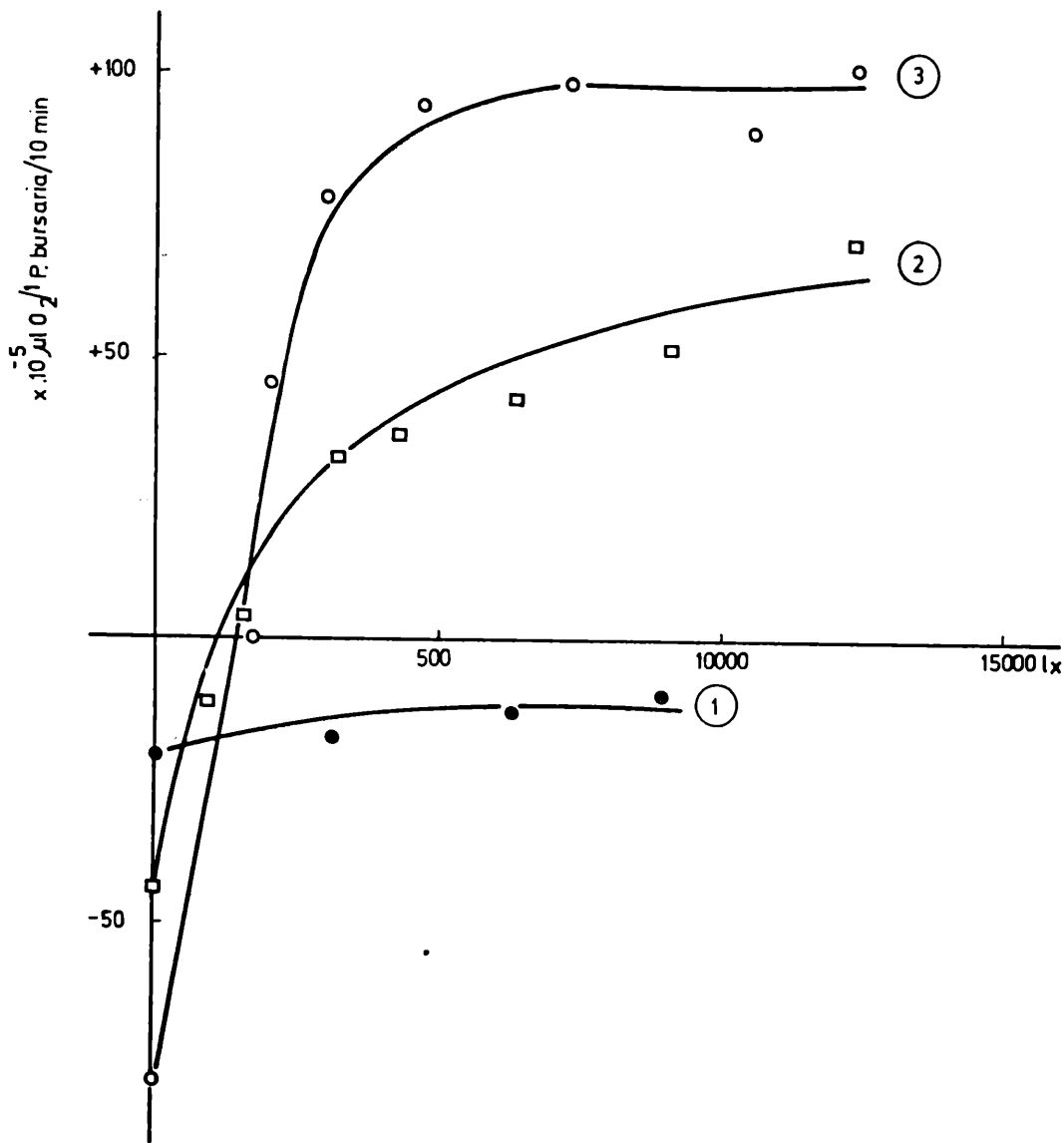
Poza opisaną po raz pierwszy w literaturze zależnością tempa wzrostu i liczby endosymbiontów od warunków świetlnych hodowli scharakteryzowano też kinetykę i mechanizmy regulacji liczby glonów przez orzęska, w szczególności zaś procesy adaptacyjne polegające na redukcji liczby glonów podczas hodowli w ciemności i na odwrót — szybkim powiększaniu liczby glonów po przeniesieniu z ciemności do światła.



Ryc. 5. Krzywe świetlne fotosyntezy endosymbiontów *Chlorella* z orzęsków hodowanych w różnych warunkach oświetlenia (0 lx — krzywa 1, 900 lx — krzywa 2, 2700 lx — krzywa 3).

Oś x — intensywność światła w lx podczas pomiarów fotosyntezy. Oś y — fotosyntetyczna aktywność komórek endosymbiotycznej *Chlorella* wyrażona w $10^{-7} \mu\text{l O}_2$ /komórkę *Chlorella* i 10 min. (wg Pado 1967).

Stosunki troficzne w omawianym kompleksie symbiotycznym oparto na badaniach wymiany gazowej przy zastosowaniu metody mikrorespirometrycznej (Zurzycki 1955). Stwierdzono przy tym, że organizmy *Paramecium bursaria*, zawierające dostateczną liczbę glonów, tj. pocho-



Ryc. 6. Krzywe świetlne fotosyntezy dla *Paramecium bursaria* hodowanych w różnych warunkach oświetlenia i ciemności. 1 — pierwotniaki z ciemności (0 lx), 2 — pierwotniaki ze średniego światła (900 lx), 3 — pierwotniaki z silnego światła (2700 lx).

Oś x — intensywność światła w lx podczas pomiarów fotosyntezy, oś y — fotosynteza i oddychanie wyrażone w $10^{-5} \mu\text{l O}_2$ (1 komórkę *Paramecium bursaria* i 10 minut. (wg Pado 1967).

dzące z hodowli, na świetle mogą odżywiać się w sposób autotroficzny. Było to jedno z pierwszych stwierdzeń wskazujących na autotrofizm organizmów zwierzęcych współżyjących z roślinnymi endosymbiontami (Pado 1967). Krzywe świetlne fotosyntezy dla endosymbiotycznej *Chlorella*, jak i dla całego kompleksu symbiotycznego *Paramecium bursaria* przedstawiono na ryc. 5 i 6.

Następnym etapem w określeniu wzajemnych relacji między komórką zwierzęcą a roślinnymi endosymbiontami było wyizolowanie endosymbiontów — *Chlorella* i zbadanie ich wymagań pożywkowych. Niespodziewanie stwierdzono, że wyizolowany z pierwotniaka glon nie rośnie na pożywce mineralnej, co pozornie przeczyłoby stwierdzonej poprzednio autotrofii kompleksu symbiotycznego. Bliższe badania nad wymaganiami pożywkowymi doprowadziły jednak do stwierdzenia, że endosymbiotyczny szczep jest auktotrofem, naturalnym mutantem wymagającym dodania z zewnątrz witaminy B₁ — tiaminy, dla osiągnięcia wzrostu, rozwoju i pełnienia funkcji życiowych.

Tego typu auktotroficzne zielone glony są znane, natomiast nie znano dotychczas podobnych przypadków u organizmów roślinnych wchodzących w symbiozę z komórkami zwierzęcymi. Okazało się, że badany szczep *Chlorella* syntetyzuje część witaminy B₁, a mianowicie pierścień pirymidynowy, natomiast nie posiada zdolności do syntezy drugiej części tej witaminy — tiazolu (Pado 1969). Rezultaty te sugerują, iż na drodze kontrolowanej przez pierwotniaka syntezy witaminy B₁ należy doszukiwać się mechanizmów regulujących liczbę glonów.

IV. PROBLEM PRACY

Jak wynika z przeglądu przedstawionego w poprzednim rozdziale, *Paramecium bursaria* jest interesującym modelem układu symbiotycznego: komórka zwierzęca — glony. W tym kompleksie symbiotycznym istnieje ścisła współzależność obu partnerów symbiozy a produkcja fotosyntetyczna ma dla jego odżywiania istotne znaczenie. Jak z kolei wynika z wielu prac nad fototaksją glonów, fotoreceptorami światła w reakcjach ruchowych są barwniki fotosyntetyczne zlokalizowane w chloroplastach. W przypadku *Paramecium bursaria* fizjologiczną rolę chloroplastów spełniają symbiotyczne glony. Zachodzi pytanie, czy zmiany w fotosyntezie glonów mogą wpływać na reakcje ruchowe, jeżeli glony te są jednak odrębnymi organizmami. Wydaje się, że bliższe poznanie uzależnionych od światła reakcji ruchowych *Paramecium bursaria* może rzucić nowe światło zarówno na mechanizm symbiozy jak i ewolucję procesów fototaktycznych.

Podjęcie badań nad fototaksją *Paramecium bursaria* było uzasadnione kilkoma względami.

1. Organizm ten jest dość dobrze poznanym układem symbiotycznym, w którym związki fizjologiczne obu partnerów zostały opisane lepiej niż w jakimkolwiek innym układzie: komórka zwierzęca — glon.

2. Dotychczasowe informacje o reakcji na światło *Paramecium bursaria* są znikome. Autorowi nie udało się znaleźć w literaturze prac dotyczących zjawiska fototaksji u tego organizmu, poza krótką notatką Wichtermanna (1948), który stwierdził, że organizm ten jest fototaktycznie dodatnio wrażliwy na światło widzialne, podczas gdy inne gatunki *Paramecium* takiej wrażliwości nie wykazują.

3. *Paramecium bursaria* daje się hodować w ustabilizowanych kulturach na dużą skalę, a jego wymiary i charakter ruchu umożliwiają zastosowanie metod badania fototaksji, zarówno dla populacji komórek jak i indywidualnych organizmów.

4. Wieloletnia hodowla w naszym laboratorium czystych linii *Paramecium bursaria* pozwoliła na zaobserwowanie pewnych różnic w zachowaniu się tych organizmów w zależności od natężenia światła białego i kierunku jego padania. Między innymi stwierdzono, że pierwotniaki w naczynku szklanym, zaciemnionym maską z ciemnego papieru fotograficznego z wyciętymi otworami, gromadzą się w miejscach naświetlonych ścian naczynka — wykazując tym samym dodatnią reakcję na światło.

Celem podjętych badań było zgromadzenie możliwie wszechstronnych informacji o reakcjach ruchowych *Paramecium bursaria*, wywołanych działaniem światła. W szczególności chodzi o odpowiedzi na pytania:

a) czy stwierdzone w obserwacjach wstępnych zjawisko gromadzenia się osobników w pułapce świetlnej jest powtarzalne, jak przebiega w czasie, jaka jest jego zależność od natężenia światła i jego składu spektralnego;

b) czy w działaniu światła na ruch *Paramecium bursaria* występuje typowa fotopotaksja, fotofobotaksja czy fotokineza, względnie jaki jest udział poszczególnych typów reakcji w ogólnym zachowaniu się organizmu;

c) czy w reakcjach fototaktycznych ujawnia się udział symbiotycznych glonów.

W dalszym rozwoju badań dane przynoszące odpowiedzi na powyższe pytania posłużyć powinny do poznania mechanizmów reakcji ruchowych *Paramecium bursaria* sterowanych działaniem światła.

MATERIAŁ I METODYKA

Symbiotyczny pierwotniak *Paramecium bursaria* (Focke) stanowiący przedmiot niniejszych badań, zebrany został w warunkach naturalnych w roku 1967 w Miejskim Parku w Lesznie Wlkp. i od tej pory jest hodowany w naszym laboratorium. Celem uniknięcia wszelkich ewentualnych różnic genetycznych klon doświadczalny wyprowadzono na początku z jednego osobnika. Kultura ta od tego czasu utrzymywana jest do dziś w laboratorium, wykazując normalny cykl rozwojowy.

I. METODYKA HODOWLI *PARAMECIUM BURSARIA*

Orzęski hodowane są w termostatach świetlnych w świetle sztucznym, białym jarzeniowym o natężeniu około 1000 lx, w temp. 20—22°C. Zarówno kultura podstawowa jak i kultury doświadczalne prowadzone były na pożywce z sałaty *Lactuca sativa* o składzie podanym przez Sonneborna (1950) — 1,5 g suszonych w temp. 80°C liści sałaty gotowano przez 5 minut w 1 litrze wody destylowanej z niewielką ilością CaCO₃. Dla doświadczeń nad fototaksją pomijano dodatek CaCO₃ do pożywki. Po odsączeniu na filtrach szklanych Schotta i bibułowych ustalano pH pożywki w granicach 6,5—6,7 przy użyciu 1N NaOH.

W ciągu wieloletniej hodowli *Paramecium bursaria* występowały okresy, w których obserwowano się wyraźne „załamanie” kultury. Drogą żmudnych zabiegów i prób uchwycono jedną z podstawowych, jak się wydaje, przyczyn tego zjawiska. Okazało się bowiem, że sałata do sporządzania pożywek, pochodząca z upraw wzbogacanych nawozami mineralnymi, prawie zawsze była nieodpowiednia, gdyż orzęski wcześniej czy później ginęły. Natomiast stosowanie sałaty hodowanej wyłącznie przy użyciu nawozów naturalnych dawało bardzo dobre rezultaty.

Do szybkiego namnażania kultur pierwotniaków używano pożywki sporządzonej w sposób podany powyżej, często ją jednak zmieniając w trakcie hodowli. Konieczność wymiany pożywki zużytej na nową określano na podstawie zmian pH. Wartość tę kontrolowano dwukrotnie w ciągu doby przy pomocy pH-metru LBS-63A produkcji „Eureka” Warszawa, z elektrodą szklaną S-60 i kalomelową K-60. Jeżeli wartości pH spadały poniżej 6,1 lub wzrastały powyżej 7,0, zmieniano pożywkę na nową po uprzednim zagęszczeniu pierwotniaków. Do zagęszczania orzęsków wykorzystano ich właściwości geotaktycznego gromadzenia się na dnie naczyń hodowlanych, jak również fototaktycznie pozytywną reakcję na światło. W tym celu naczynia hodowlane przenoszono do ciem-

nego termostatu i ustawiano na specjalnej podstawie — podświetlonej od dołu. Zawartość naczynia hodowlanego była dokładnie wymieszana, a po upływie 3—4 godzin pierwotniaki gromadziły się niemal w 100% na dnie takiego naczynia. Następnie delikatnie usuwano starą pożywkę, odlewając górną jej warstwę i pozostawiano tylko niewielką jej część na dnie naczynia, która wraz z orzęskami stanowiła zwykle 1/10—1/12 część dodawanej nowej pożywki. W początkowej fazie eksperymentów próbowano zagęszczać kultury pierwotniaków metodą wirowania, powszechnie stosowaną przy tego typu czynnościach. Metoda ta w praktyce jednak okazała się nieprzydatna do tego celu. Wirowanie z małymi prędkościami obrotowymi było nieskuteczne, natomiast zastosowanie zbyt szybkich obrotów powodowało pewne deformacje komórek *Paramecium bursaria* wywołane wewnętrznymi przemieszczeniami endosymbiontów *Chlorella* w wyniku działania siły odśrodkowej, co w pewnych przypadkach prowadziło nawet do nieodwracalnych uszkodzeń komórki pierwotniaka. Dodatkowo orientacyjnym wskaźnikiem sugerującym konieczność wymiany starej pożywki na nową było zachowanie się samych pierwotniaków. Całkowite niemal ich opadnięcie na dno naczyń hodowlanych stanowiło sygnał do odnowienia pożywki. Przed zalaniem nową pożywką kultury *Paramecium bursaria* namnażano w niej bakterie, stanowiące pokarm dla pierwotniaków. W tym celu po ustaleniu pH pożywki na żądanym poziomie szczepiono ją zawiesiną bakterii (*Aerobacter*) i pozostawiano na 24 godziny w temp. 37°C w termostacie ciemnym, stwarzając w ten sposób odpowiednie warunki do rozwoju bakterii. Następnie usuwano górną warstwę pożywki i jeszcze raz korygowano pH. Dopiero tak przygotowaną pożywkę stosowano do odżywiania kultur *Paramecium bursaria*. Ta szczególna dbałość o odczyn środowiska, konieczna zwłaszcza w początkowym okresie hodowli pierwotniaków, była podyktowana tym, że jak wynika zarówno z badań Loeffera (1937) jak i obserwacji autora, dla *Paramecium bursaria* istnieje bardzo wąski zakres optymalnego pH (ryc. 1).

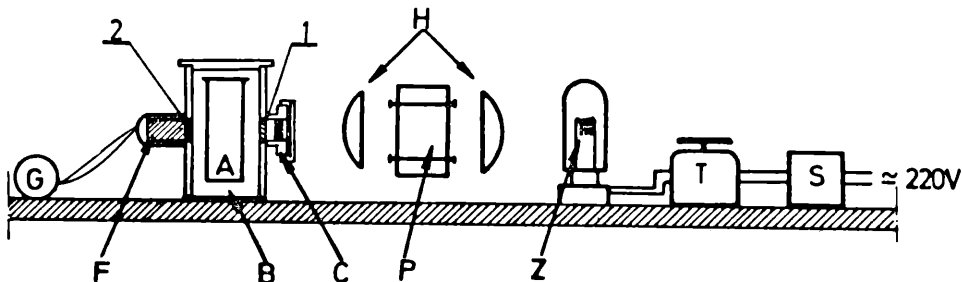
Masowe namnażanie orzęsków przeprowadzano w prostopadłościennych naczyniach szklanych wysokich na 240 mm, o pojemności 600 ml wystawionych na ciągłe działanie światła białego jarzeniowego o natężeniu 1700 lx w temp. 20—22°C. Zawartość naczyń hodowlanych mieszano kilkakrotnie w ciągu doby.

Dla każdej serii doświadczalnej stosowano nowo przygotowany materiał, przy czym dla pierwotniaków przed ich zagęszczeniem i przeniesieniem na nową uboższą pożywkę sprawdzano czas podwajania (doubling time), ponadto kontrolowano dla każdej serii średnią zawartość glonów endosymbiotycznej *Chlorella* przypadających na jedną komórkę pierwotniaka.

II. REJESTRACJA RUCHU POPULACJI ORGANIZMÓW

Podstawową aparaturę użytą w niniejszych badaniach dla określenia reakcji na światło populacji pierwotniaków *Paramecium bursaria* przedstawia ryc. 7.

Komorę dla zawiesziny pierwotniaków stanowi prostopadłościenna przezroczysta kiuweta szklana (A) o wymiarach 120 mm×70 mm×40 mm i pojemności 250 ml. Kiuwetę do doświadczeń napełniano zawiesziną pierwotniaków o objętości 200 ml i zamykano od góry płaskim szkiełkiem. Następnie kiuwetę z pierwotniakami umieszczano w światłoszczelnej osłonie (B) dokładnie wyczernionej od wewnątrz, w której znajdowały się okrągłe otwory (1 i 2) leżące na tej samej osi.



Ryc. 7. Schemat aparatury użytej do naświetlania i pomiarów dla populacji komórek *Paramecium bursaria*: A — kiuweta szklana o pojemności 250 ml, B — światłoszczelna osłona, F — fotoogniwo selenowe, G — galwanometr skalowy, C — uchwyt do filtrów interferencyjnych i neutralnych (siatkowych), Z — 1000 W-owa żarówka projekcyjna, T — autotransformator z kontrolą napięcia, S — stabilizator prądu, P — filtr płyny absorbujący podczerwień, H — soczewki szklane, 1 i 2 okrągłe otwory

Kiuwetę umieszczano w pozycji pionowej. W jednym z otworów (2) na tylnej ścianie osłony światłoszczelnej (B) tkwiło ogniwo selenowe (F) o dobranej odpowiednio czułości. Fotoogniwo połączone jest z galwanometrem skalowym (G) prod. Carl Zeiss Jena.

Na przedniej ścianie osłony przed otworem (1) zastosowano uchwyt (C) do zamocowywania i zmiany filtrów interferencyjnych oraz neutralnych filtrów siatkowych. Strumień światła przechodzi przez ścianę kiuwety z zawiesziną pierwotniaków i pada na fotoogniwo pod kątem prostym. Źródłem światła zarówno do celów testowych jak i pomiarowych jest ta sama żarówka włóknowa projekcyjna (Z), Narva 110 Volt, 1000 Wat ustawiona w pozycji pionowej z regulatorem napięcia (T) stabilizowanym przy użyciu stabilizatora (S) dużej mocy.

Wiązka światła jest kierowana przy pomocy zestawu soczewek (H) i pada równolegle do osi otworów w obudowie. Przy doświadczeniach w świetle białym używana była ta sama aparatura z tą zmianą, że między soczewki wprowadzono filtr wodny do podczerwieni (P) wypełniony czystą wodą destylowaną bez dodatku CuSO_4 . Średnica fotoogniwa selenowego wynosiła 22 mm, co odpowiada średnicy otworów w obudowie.

Rejestracja gęstości optycznej kiuwety w miejscu przechodzenia przez nią wiązki światła może się odbywać w sposób ciągły po podłączeniu aparatury do samopisu lub też drogą okresowych odczytów wskazań galwanometru. Bardziej uniwersalne okazało się odnotowywanie zmian optycznych w pewnych odstępach czasu np: co 5, 10 lub 15 minut. W eksperymentach ze światłem barwnym stosowano w tym celu krótkotrwałe oświetlenie na okres pomiaru światłem białym o stosunkowo słabym natężeniu. Wiązkę pomiarową uzyskuje się z tej samej żarówki (Ż) po odpowiednim zmniejszeniu jej napięcia do pożądanej wartości wg wskazań woltomierza. Na czas pomiaru usuwany jest uchwyt (C) wraz z całym kompletem filtrów interferencyjnych i neutralnych.

W czasie naświetlania materiału doświadczalnego wiązką testową, fotoogniwo selenowe było zasłonięte specjalną przesłoną, usuwaną tylko na czas pomiaru. Kiuweta w czasie doświadczenia pozostawała w pozycji pionowej. Szczególną uwagę zwracano na zabezpieczenie jej przed minimalnymi nawet wstrząsami.

Dla uzyskania barwnego światła testowego używane były filtry interferencyjne, prod. Carl Zeiss Jena (szerokość połówkowa 6—10 nm), które mocowano w uchwycie (C) na przedniej ścianie światłoszczelnej osłony. Energia światła stosowana w doświadczeniach określona została w kwantach a pomiarów jej dokonywano przy zastosowaniu termostosu Kipp i Zonen.

Dla światła barwnego zbadano zakres od 375 nm do 750 nm. Potrzebną gęstość kwantową światła testowego uzyskiwano przez regulację napięcia żarzenia zastosowanej żarówki przy użyciu autotransformatora.

Pozytywna reakcja odnotowywana jest wówczas, gdy pierwotniaki zbierają się w części oświetlonej, bądź osiadają na ścianach kiuwety lub też pływają w strefie oświetlenia. Prawdopodobnie pierwotniaki dostają się w strefę oświetlenia reagując na gradient światła rozproszonego, ale też trudno wykluczyć, że część z nich wpływa w tę strefę przez przypadek i zostaje w niej zatrzymana.

W miarę upływu czasu w trakcie działania światła na tak przygotowaną kulturę pierwotniaków w miejscu oświetlonym zaczyna się pojawiać „plama” koloru zielonego, której intensywność stopniowo wzrasta, aż do momentu, kiedy proces ten ulegnie stabilizacji.

Obraz tworzących się „plam” przedstawiono na planszy III, gdzie

widoczne są wyraźne zmiany gęstości „tła” w stosunku do strefy, w której gromadzą się orzęski.

W eksperymentach tych pomiary fototaksji dokonywane były na specjalnie przygotowanym materiale. W tym celu świeżo zagęszczone pierwotniaki *Paramecium bursaria* z hodowli masowej przenoszono przed doświadczeniem do nowej, „ubogiej” pożywki z sałaty uzyskanej przez zmieszanie pożywki podstawowej z wodą przegotowaną (nie destylowaną) w stosunku 1 : 3. Każda seria doświadczalna była doprowadzana do odpowiedniej gęstości optycznej. Uzyskiwana w taki sposób zawiesina pierwotniaków zawiera \pm jednakową liczbę osobników w 1 ml objętości, co uprzednio sprawdzano metodą liczenia pierwotniaków pod mikroskopem stereoskopowym. 200 ml tak przygotowanej zawiesiny w płaskościennym kiuwecie umieszczano następnie na 24 godziny w ciemnym termostacie o temp. 22°C. Jak wykazały wcześniejsze badania takie traktowanie zapewnia niezbędną adaptację, wyrównanie warunków w pożywce a ponadto wzmacnia ruchliwość i fototaktyczną wrażliwość organizmów.

Stosunkowo duże rozcieńczenie pożywki wodą powodowało, że w takich warunkach znacznie słabiej rozwijały się bakterie będące naturalnym stałym pokarmem pierwotniaków, co stwarzało dla tych ostatnich stan pewnego deficytu pokarmowego. Po odczekaniu 1—2 godzin dokonywano pomiaru gęstości optycznej, wynik stanowił tzw. „tło” i był wskaźnikiem aktualnego stanu rozproszenia pierwotniaków w ciemności dla danej serii. Pomiar powtarzano kilkakrotnie w odstępach 10-minutowych do czasu, gdy w trzech kolejnych pomiarach uzyskiwano takie same wartości. Wartość „tła” stanowiła następnie punkt odniesienia dla wyników uzyskiwanych dla danej serii doświadczalnej.

III. REJESTRACJA RUCHU POJEDYNCZYCH OSOBNIKÓW

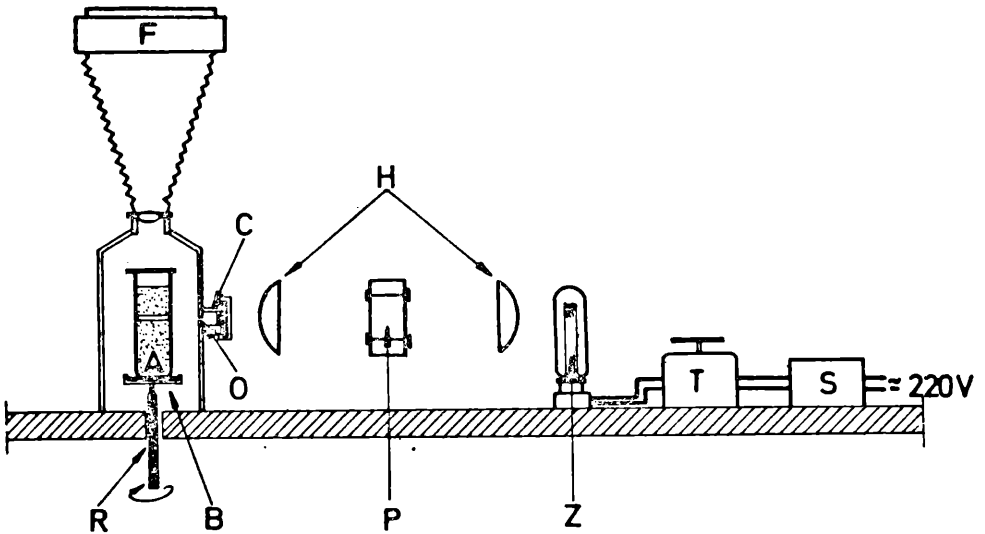
Na podstawie metody przedstawionej powyżej nie można uzyskać odpowiedzi odnośnie zachowania się pojedynczych komórek w trakcie trwania eksperymentu. Celem, jaki sobie postawiono w następnej części pracy było prześledzenie i zarejestrowanie ruchu pojedynczych osobników *Paramecium bursaria* w kolejnych etapach reakcji świetlnej. W realizacji tego celu posłużono się sposobem pozwalającym na fotograficzną rejestrację torów pojedynczych komórek mikroorganizmów w zawieszynie. Odpowiednią do tego celu okazała się metoda Fergussona (1957) w modyfikacji Dryla (1958) z tym jednak, iż stosowano tu kiuwetę cylindryczną wysoką na 60 mm. Podstawową zaletą tej metody jest równoczesne zapisanie znacznej liczby torów, którymi poruszają się badane organizmy.

W powyższych eksperymentach dla każdej serii doświadczalnej używano niezbyt gęstej zawiesiny, gdzie średnia liczba osobników osiągała wartości 2200—2500/1 ml pożywki (wartość tę nastawiono przy pomocy kontrolnego układu fotometrycznego i mikroskopu stereoskopowego). Zbyt duża liczba osobników w takich eksperymentach powoduje, że uzyskany w końcowym etapie zapis torów jest mało czytelny ze względu na ich wzajemne nakładanie się.

Nieco inaczej (niż na str. 30) zagęszczano pierwotniaki do doświadczeń. Były one uzyskiwane z kultur masowych przez zagęszczenie materiału w 100 mililitrowych kolbach miarowych za pomocą 1 mM buforu „Tris” o $\text{pH}=7,1$. Pierwotniaki zawieszono w tym buforze mają tendencję do gromadzenia się w szyjce kolby, skąd przenoszone były pipetą do odpowiednich kiuwet pomiarowych na świeżą pożywkę zmieszaną z buforem „Tris” 1 mM w stosunku 3 : 1. Kiuwetę następnie zamykano od góry szkiełkiem szlifowanym i pozostawiano w słabym świetle (ok. 300 lx) przez okres 18—24 godz. celem zaadaptowania materiału do nowych warunków środowiska. Pozostawienie takiego okresu adaptacji wpływało korzystnie na pierwotniaki, zwiększając w pożądanym sposób ich wrażliwość na światło.

Podstawową aparaturą stosowaną w tych eksperymentach był rejestrator, przedstawiony na ryc. 8. Składa się on z obrotowej kiuwety pomiarowej, którą w tym przypadku stanowiła odpowiednio zaadaptowana cylindryczna kiuweta o średnicy wewnętrznej = 25 mm i wysokości 60 mm. Kiuweta pomiarowa (A) z zawiesiną pierwotniaków osłonięta jest szczelnie przylegającą do niej maską z czarnego papieru fotograficznego, w której, na całym obwodzie, znajduje się szczelina o szerokości 1,5 mm, na wysokości 41 mm, licząc od podstawy kiuwety, wstawiona dokładnie w bieg światła. Dodatkowo kiuweta pomiarowa wraz z podstawą obrotową (R) znajduje się w większej osłonie światłoszczelnej (B) wykonanej z rury winidurowej o średnicy 100 mm, dokładnie od środka zaczerpniętej sadzą. Osłona ta w swej górnej części posiada miękkie gumowe złącze, które obejmuje obiektyw kamery fotograficznej (F), w ten sposób cały układ zabezpieczony jest przed wnikaniem światła rozproszonego z zewnątrz. W przedniej części osłony (B) w osi padającego światła znajduje się okrągły otwór (O) o średnicy 10 mm. W tym samym miejscu na osłonie zamocowano również uchwyt (C) do umieszczania i zmiany filtrów.

Wiązka światła, kierowana przez system soczewek (H), wnika przez otwór (O) i oświetla kiuwetę pomiarową w miejscu szczeliny — w ten sposób uzyskuje się strefę oświetlenia określonej grubości 1,5 mm. Źródłem światła zarówno dla celów testowych jak i pomiarowych była ta sama żarówka włóknowa (Z) „Narva” 110V 750 W ustawiona w pozycji



Ryc. 8. Schemat aparatury używanej do naświetleń i wykonywania pomiarów fotokinezy u pierwotniaków *Paramecium bursaria* wg Pado (1975). A — cylindryczna kiuweta pomiarowa osłonięta maską, B — osłona światłoszczelna, C — uchwyt filtrów, F — kamera fotograficzna, H — system soczewek, P — wodny filtr do podczerwieni, R — podstawa obrotowa, S — stabilizator prądu, T — transformator, Z — żarówka 750 W, O — okrągły otwór w światłoszczelnej osłonie

pionowej i połączona z regulatorem napięcia (T) stabilizowanym przy użyciu stabilizatora dużej mocy (S). W bieg światła między soczewkami ustawiono filtr wodny do podczerwieni (P) wypełniony czystą wodą destylowaną bez dodatku CuSO_4 . W powyższym układzie stosowano natężenia światła białego w zakresie od 0 do 50 000 lx.

Kamera fotograficzna (F) znajdowała się na specjalnym statywie, ponad kiuwetą pomiarową. Obraz fotografowany obejmował cały przekrój kiuwety pomiarowej. Jako materiału fotograficznego użyto filmu wysokiej czułości (ORWO — NP 27). Czas ekspozycji wynosił 5 sekund. Pierwotniaki, znajdujące się w strefie oświetlonej, rozpraszają światło i z góry wyglądają jak jasne punkty na ciemnym tle. Podczas ruchu w trakcie eksponowania orzęski pozostawiają na kliszy fotograficznej obraz śladu swej drogi. Przy 5-sekundowym czasie ekspozycji większość torów znalazła się na całej swej długości w polu fotografowanym.

Pomiary reakcji na światło pojedynczych komórek *Paramecium bursaria* przeprowadzano w następujący sposób. Kiuwetę ze standardową liczbą orzęsków po 24-godzinnej adaptacji w słabym świetle umieszczano w aparacie pomiarowym na obrotowej podstawie (R). Następnie wprowadzono ją w ruch obrotowy z prędkością 24 obroty/minutę przez okres

3 min. dla dokładnego wymieszania zawartości w kiuwecie. Po wyłączeniu silnika kiuweta pozostawała w spoczynku przez kolejne 5 minut, w tym czasie pierwotniaki ulegały segregacji na takie, które osiadły na ścianach i dnie naczynia oraz te, które pływały w pożywce. Tory ruchu orzęsków swobodnie pływających w pożywce były następnie rejestrowane fotograficznie. Czynności związane z mieszaniem orzęsków jak i okres spoczynku przeprowadzano w zupełnej ciemności. Powtórne serie eksponowano na tej samej zawieszynie po dokładnym wymieszaniu.

Promieniowaniem działającym było światło białe o różnej intensywności (0—50 000 lx), względnie światło monochromatyczne uzyskiwane przy użyciu filtrów interferencyjnych. Natomiast rejestracja fotograficzna odbywała się okresowo zawsze przy oświetleniu światłem białym o stałej intensywności 1500 lx, przechodzącym przez filtr fotograficzny — średni GG-6.

IV. ILOŚCIOWA INTERPRETACJA PARAMETRÓW RUCHU INDYWIDUALNYCH KOMÓREK

Uzyskane przy pomocy opisanej powyżej metody negatywy wyświetlano następnie za pomocą czytnika pisma (prod. Carl Zeiss Jena) i rysowano na kalce technicznej na dużym ekranie, interpretując na tej podstawie parametry ruchu. Zazwyczaj brano pod uwagę te tory pierwotniaków, które co najmniej w $\frac{3}{4}$ swej długości znalazły się w centralnej części kiuwety (plansze X—XVI). Analiza zdjęć pozwoliła określić następujące wielkości:

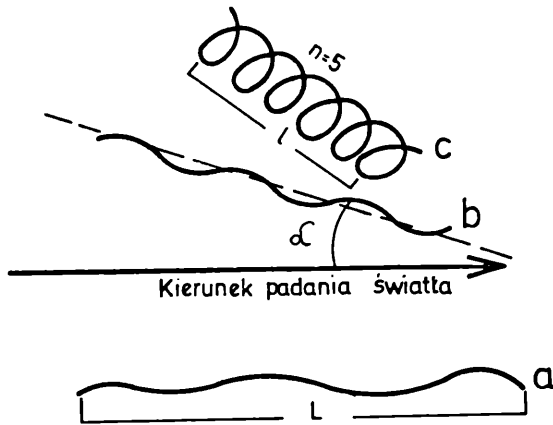
1. Dystans pokonany przez komórkę w trakcie jej ruchu w środowisku (1); wielkość tę oznaczano empirycznie przy pomocy krzywomierza lub linijki w przypadku prostej drogi. Znając czas ekspozycji i wielkość powiększenia można określić średnią szybkość poruszania się pojedynczych komórek w środowisku.

2. Charakter toru. Analiza zdjęć wykazała, że tory mogą być różne, od rozwiniętej bardzo wydłużonej helisy do helisy zwartej (ryc. 9 i 10).

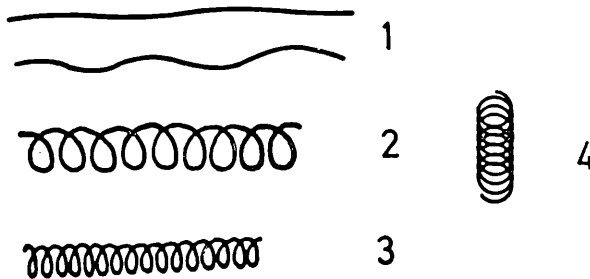
3. Długość całkowitej drogi ruchu (L) obliczona jest z wymiarów toru, traktując drogę ruchu jako helisę o określonej liczbie zwojów i średnicy. Im większy jest stopień skręcenia helisy tym większa dysproporcja między drogą ruchu komórki a dystansem pokonanym w środowisku (1).

4. Kąt płynięcia w stosunku do kierunku padania światła. Statystycznie wielkość tę przedstawiano jako udział procentowy kierunku ruchu poszczególnych organizmów w określonych sektorach kątowych (ryc. 18).

Rejestrację ruchu *Paramecium bursaria* przeprowadzano w następujących intensywnościach światła białego: 150, 300, 1500, 2600, 3500, 7000, 10 000, 14 000, 35 000 i 50 000 lx oraz 0 lx (ciemność).



Ryc. 9. Charakterystyka ruchu pojedynczych komórek *Paramecium bursaria* w ujęciu graficznym. L — całkowita długość toru, l — przebyta droga (dystans), n — liczba zwojów helisy, α — kąt, jaki tworzy tor w stosunku do kierunku padania światła. Kierunek padania światła pokazuje strzałka

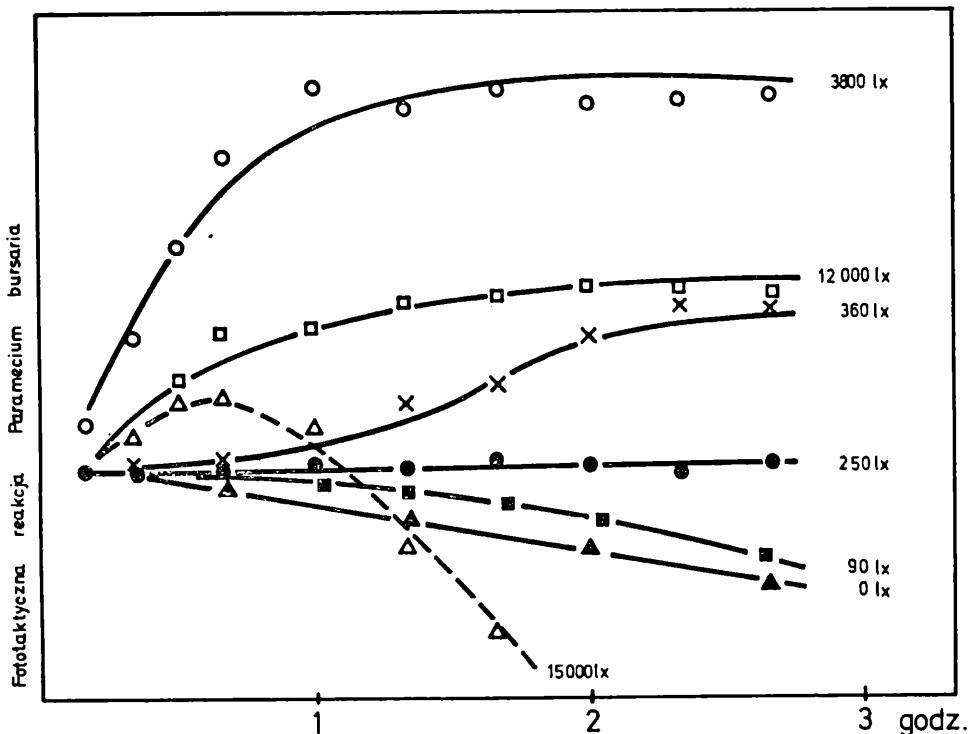


Ryc. 10. Różne typy torów, po których poruszają się orzęski *Paramecium bursaria* w zawieszynie: 1 — tor rozwinięty, 2 — helisa luźno skręcona, 3 — helisa mocno skręcona o małym skoku, 4 — tor obrazujący ruch wertykalny względem strefy oświetlenia

W Y N I K I

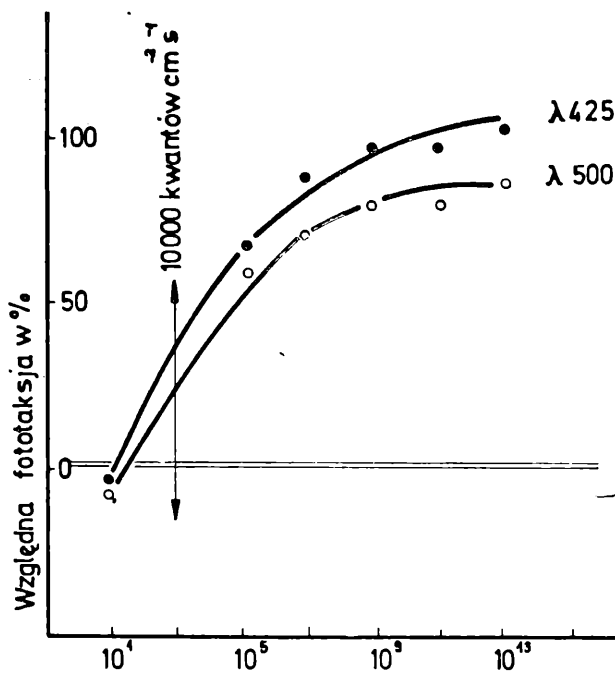
I. EFEKTY ŚWIATŁA STUDIOWANE NA POPULACJI *PARAMECIUM BURSARIA*

W celu uzyskania wstępnych danych o zachowaniu się populacji *Paramecium bursaria* w kiuwecie częściowo oświetlonej przeprowadzono rejestrację zmian gęstości optycznej „plamy fototaktycznej” w czasie i przy zastosowaniu różnych intensywności światła białego.



Ryc. 11. Wpływ różnych intensywności światła białego na akumulację orzęsków *Paramecium bursaria*: oś x — czas w godzinach, oś y — fototaktyczna reakcja mierzona przez zmianę gęstości optycznej, jaka zachodzi w „plamie fototaktycznej” — cyfry przy odpowiednich wykresach oznaczają odpowiednie intensywności światła w lx.

Wyniki przedstawione na ryc. 11, jak również opis metody (na str. 32—34), pozwalają stwierdzić, że w ciemności (0 lx) gęstość optyczna zawiesiny powoli ale stopniowo ulega zmniejszeniu. Jest to wyrazem tendencji pierwotniaków do opadania na dno kiuwety, wskutek czego ich liczba w objętości mierzonej wiązką światła pomiarowego się zmniejsza. Wystarcza już bardzo słabe natężenie stale działającego światła białego (90 lx), aby zmniejszyć tempo rejestrowanych zmian, to znaczy, aby przynajmniej część pierwotniaków, które w ciemności przesunęły się bliżej dna kiuwety utrzymać w polu oświetlonym. Tak więc próg czułości *Paramecium bursaria* na światło białe leży w granicach 0—90 lx. Dla utrzymania stałej gęstości optycznej konieczne jest oświetlenie ciągle wyższą intensywnością około 250 lx. W tych warunkach tendencja do opadania orzęsków jest równoważona tendencją do ich gromadzenia się w polu oświetlonym. Im wyższe natężenie światła, tym wyraźniejszy jest wzrost gęstości optycznej, spowodowanej gromadzeniem się orzę-



Ryc. 12. Wpływ intensywności naświetlania przy długościach fali 425 i 500 nm na fototaktyczny efekt u *Paramecium bursaria* (powyżej poziomej linii podwójnej reakcja jest pozytywna — poniżej negatywna). Oś x — gęstość kwantowa w kwantach $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, oś y — efekt fototaksji po 3 min.

sków w „plamie fototaktycznej”. Np. dla około 4000 lx proces ten jest bardzo wyraźny, przy czym przebieg zmian w czasie wskazuje, że po $1/2$ —1 godzinie uzyskuje się już trwale zgrupowanie pierwotniaków nie wzrastające w miarę przedłużania oświetlenia. Natomiast przekroczenie optymalnych natężeń światła prowadzi najpierw do osłabienia reakcji pozytywnej a następnie do reakcji negatywnej. Np. dla 15 000 lx po krótkotrwałej (ok. 30 minutowej) i słabej tendencji do skupiania się w plamie świetlnej następuje bardzo szybki spadek gęstości optycznej, znacznie przewyższający odpowiedni spadek dla ciemności. Świadczy to o czynnym uciekaniu pierwotniaków od miejsc oświetlonych — a więc o fototaksji negatywnej.

Eksperymenty ze światłem barwnym, których ostatecznym celem było określenie widma działania promieniowania na opisany powyżej proces, rozpoczęto od określenia wpływu natężenia promieniowania na proces akumulacji pierwotniaków dla dwóch długości fali 425 i 500 nm. Zastosowano gęstości kwantowe promieniowania od 6000 do 95 000 kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$. Wyniki przedstawiono na ryc. 12. Otrzymane rezultaty zgodne

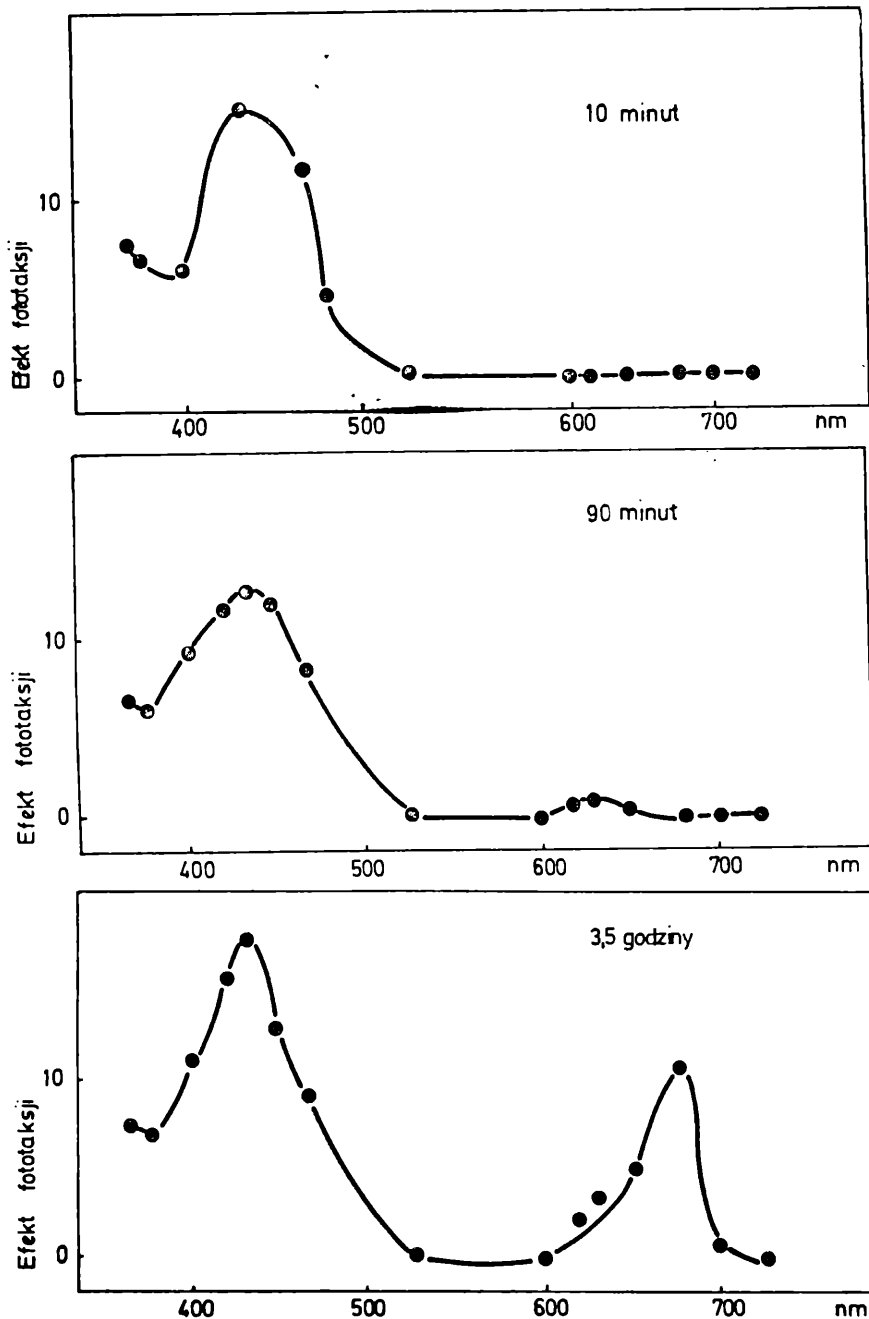
są ze stwierdzonym poprzednio charakterem działania światła białego. Po przekroczeniu intensywności krytycznej utrzymany jest stan równowagi w ilości pierwotniaków w plamie świetlnej (stan zaznaczony na ryc. 12 podwójną linią poziomą), widoczny jest narastający wraz z intensywnością efekt fototaksji pozytywnej, której wielkość stopniowo maleje po przekroczeniu natężeń optymalnych. W obu przypadkach zastosowane natężenia światła barwnego nie wystarczały do wywołania fototaksji negatywnej. Dla dalszych eksperymentów wybrano naświetlenie przy zastosowaniu gęstości kwantowej $10\,000$ kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, z kilku względów. W tym zakresie krzywe wykazują bardzo wyraźną zależność reakcji od natężenia promieniowania (ryc. 12). Możliwości techniczne pozwalały przy tym uzyskać wybrane gęstości kwantowe dla wszystkich stosowanych filtrów interferencyjnych.

Zarejestrowane efekty światła barwnego okazały się wybitnie uzależnione od czasu trwania naświetlania oraz długości fali działającego światła. Pozwoliło to wyróżnić w reakcji pierwotniaków *Paramecium bursaria* dwa etapy fototaksji.

„A” — „fototaksja krótkoterminowa”. Zachodzi bardzo szybko w czasie i całkowity okres kumulacji komórek do osiągnięcia stanu stacjonarnego wynosi około 10 minut. Dla określenia widma działania tego typu reakcji pomiary były dokonywane po 10 minutach naświetlania.

„B” — „fototaksja długotrwała”, w której całkowity czas przegrupowania i osiągnięcie stanu stacjonarnego następuje po około 3,5 godzinie. Pomiary widma działania tego procesu były dokonywane po 3,5 godzinnym naświetlaniu.

Okazuje się, że „fototaksja krótkoterminowa” ujawnia się bardzo szybko w czasie, niemal natychmiast po włączeniu oświetlenia, ale obserwować ją można tylko przy promieniowaniu krótkofalowym w zakresie między 375 nm a 475 nm. Dla tych długości fali pierwsze mierzalne efekty uzyskuje się zwykle już po dwóch pierwszych minutach działania światła, przy czym maksimum reakcji przypada na czas między 7 a 10 minutą. Długościami fali najbardziej aktywnymi w pierwszej fazie procesu okazały się 436 nm i 450 nm. Pewną aktywność stwierdzono także w ultrafiolecie. Efekt wywołany działaniem światła niebieskiego utrzymuje się przez dłuższy czas. W okresie pierwszych 45 minut naświetlania widoczne jest jedynie działanie światła niebieskiego, natomiast inne długości fali w tym czasie nie ujawniają swego działania (ryc. 13). Dopiero po 90 minutach obserwujemy pierwsze oznaki działania światła czerwonego. Obok utrzymującej się aktywności fototaktycznej promieniowania krótkofalowego występuje wyraźnie drugie maksimum aktywności w zakresie czerwonym. Jeżeli reakcję fototaktyczną orzęsków badamy po dłuższym okresie czasu (3,5 godziny), wówczas wi-



Ryc. 13. Widmo działania światła w akumulacji pierwotniaków *Paramecium bursaria*: oś x — długość fali w nm, oś y — gęstość „plamy fototaktycznej” a) wykres przedstawiający stan po 10 min. działania światła, b) po 90 minutach, c) po 3,5 godzinie

dmo działania światła dla tego procesu przedstawia się odmiennie. Obok ciągle utrzymującego się efektu światła niebieskiego wzrasta udział promieniowania czerwonego z maksimum przy 680 nm.

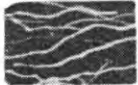




II. WPŁYW ŚWIATŁA NA RUCH POJEDYNCZYCH KOMÓREK

DZIAŁANIE ŚWIATŁA BIAŁEGO WPŁYW CZASU NAŚWIETLANIA

W omawianej serii eksperymentów celem badań było określenie zmian charakteru ruchu, jakie występują w trakcie naświetlania. Zastosowano stałą intensywność światła białego 2600 lx, która, jak wynika z poprzednich badań (por. ryc. 11), wywołuje typową i silną fototaksję dodatnią w całej populacji organizmów. Analiza zdjęć obrazu-

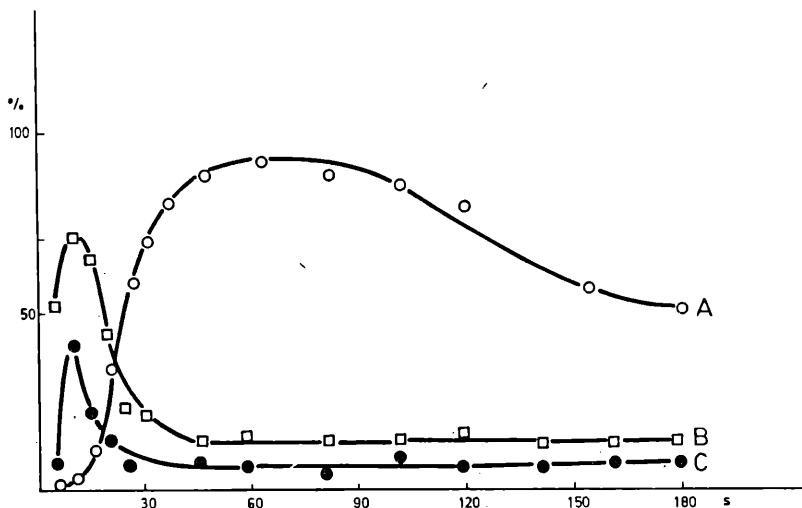
Tabela III

Liczbowy udział poszczególnych typów torów *Paramecium bursaria* w zależności od czasu trwania naświetlania

Czas trwania reakcji świetlnej	Poszczególne rodzaje pływania				
	1	2	3	4	5
					
5 s	27	0	0	2	0
10 s	49	3	0	19	0
15 s	36	5	0	5	0
20 s	19	4	0	1	12
30 s	8	0	0	3	31
40 s	3	1	0	2	35
50 s	3	21	1	3	14
1 min	4	47	0	5	4
2 min	5	51	1	9	6
5 min	9	38	4	5	5
10 min	7	42	8	2	2
15 min	3	8	15	2	3
20 min	1	1	20	1	1
30 min	6	2	16	1	2

Objaśnienia do tabeli III:

1. Helisa rozwinięta, długa, niekierunkowa.
2. Helisa luźno zwinięta o dużym skoku.
3. Helisa zwarta o bardzo małym skoku lub szeroka linia prosta.
4. Helisa typu 2 lub 3 — wertykalnie.
5. Helisa rozwinięta z wyraźną orientacją kierunkową względem światła.



Ryc. 14. Liczbowy udział poszczególnych typów pływania (torów) podczas reakcji świetlnej, zależnie od czasu działania światłem białym: oś x — czas reakcji świetlnej w sekundach, oś y — liczba w % A — torzy, helisy krótkie zorientowane kierunkowo w stosunku do źródła światła, B — torzy długie rozwinięte w płaszczyźnie światła, C — pierwotniaki pływające po helisie prostopadłe do góry / do dołu w kierunku „strefy oświetlenia” — wertykalnie. Wykres A — odpowiada typom 2 i 3, B — typowi 5, C — typowi 4.

jących ruch pojedynczych komórek wykonanych w czasie od 5 sekund do 30 minut trwania naświetlania (plansze IV—VII), pozwala na sprecyzowanie pewnych prawidłowości.

a) Typ torów w ruchu. Przykład analizy typowej serii doświadczalnej przedstawia tabela III i ryc. 14.

W kolejnych kolumnach pionowych tabeli III wyodrębniono pięć typów ruchu (torów), które wyraźnie różnią się między sobą oraz liczbowy udział poszczególnych rodzajów torów w różnych okresach czasowych tej reakcji. Z zestawienia tego widać, że w pierwszej fazie eksperymentu (0 do ok. 20 s.) pierwotniaki bardzo szybko pływają, poruszając się torami wydłużonymi. Płynąc zakreślają torzy w postaci długich helis luźno rozwiniętych lub linii prawie prostej. Taki sposób pływania, charakterystyczny dla ciemności, daje pierwotniakom możliwość szybkiego pokonywania dystansu (ryc. 14 i plansze IV ab, V a).

Omówione powyżej torzy układają się w polu widzenia w początkowej fazie reakcji pod różnymi kątami w stosunku do kierunku padania światła. Wraz z upływem czasu i narastaniem tendencji do ruchu ukierunkowanego występuje zmiana spiralizacji toru. Torzy, po których poruszają się teraz orzęski przybierają postać bardzo krótkich i zarazem mocno

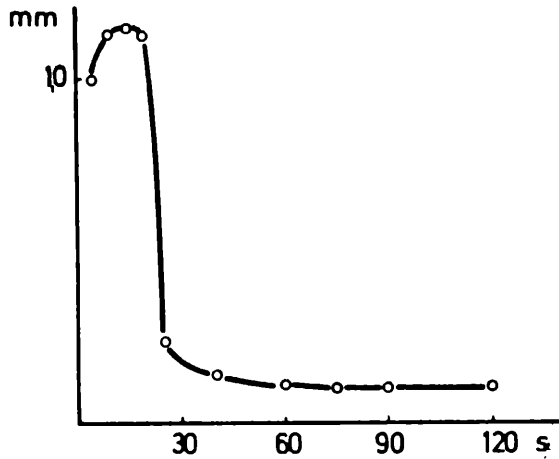
zwinionych helis. Niekiedy kolejne zwoje takiej helisy leżą tak blisko, że wzajemnie na siebie zachodzą, co na fotografii uwidacznia się w formie pogrubionego odcinka linii prostej (3 typ ruchu). Na planszy IX starano się przedstawić kolejne fazy przejściowe, prowadzące do wspomnianego typu ruchu. Pływanie wg przytoczonego typu ruchu (tabela III, 3), jest być może swoiste dla gat. *Paramecium bursaria*, choć należy brać pod uwagę i taką możliwość, że ruch orzęska odbywa się skośnie w stosunku do pionu. W rezultacie na kliszy fotograficznej są w tym przypadku rejestrowane nie rzeczywiste tory, lecz ich rzuty na płaszczyznę poziomą, to zaś obarcza pomiar pewnym błędem.

Porównując ze sobą tory orzęsków, które z chwilą zadziałania światła znalazły się w ciemnym polu z tymi, które w tym samym czasie były w strefie oświetlenia, obserwuje się dość istotne różnice. Pierwotniaki, będące w momencie włączenia światła w ciemności, starają się przedostać do miejsc oświetlenia możliwie jak najszybciej, z tych też powodów pływanie ich odbywa się torami rozwiniętymi, a więc najbardziej ekonomicznymi z punktu widzenia długości pokonywania dystansu. Nasuwa się pytanie, co decyduje o tym, że organizm bezbłędnie odróżnia strefę jasną od miejsc ciemnych. Widocznie mimo pozornie ostrego ograniczenia strefy oświetlenia występuje w tej strefie rozproszenie światła powodujące jego gradient na granicy. Można założyć, że w tej sytuacji pierwotniaki pływające bezładnie zupełnie przypadkowo docierają do miejsc, gdzie światło jest dla nich wyczuwalne. Znikoma nawet ilość światła wystarcza, aby organizm zaczął na ten czynnik reagować. Dalszą konsekwencją jest płynięcie w kierunku wzrastającego gradientu światła, co w końcu doprowadza go do strefy oświetlenia.

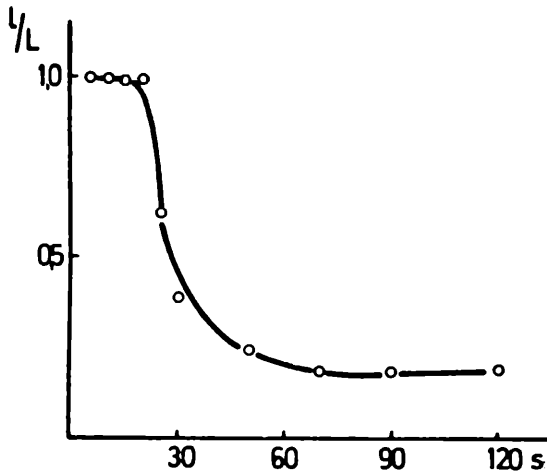
Na planszach V b, VI ab, VII ab, VIII ab przedstawiono zachowanie się pierwotniaków *Paramecium bursaria* poddanych działaniu światła białego 2600 lx w czasie dłuższym niż 40 sekund. Obok istniejących wciąż jeszcze torów długich (plansza V b), które odnoszą się do organizmów sukcesywnie wpływających w strefę oświetlenia, zaczynają się pojawiać w znacznej liczbie tory krótkie, proste. Ułożenie ich na zdjęciach jest równoległe do kierunku padania wiązki testowej światła białego. Powyższa tendencja jest jeszcze wyraźniej uwidoczniiona na następujących ilustracjach (plansze VI ab, VII ab), gdzie wzrasta udział torów krótkich zorientowanych kierunkowo.

b) **S z y b k o ść r u c h u.** Szybkość z jaką poruszają się orzęski w pierwszej fazie reakcji jest większa niż w późniejszym okresie (ryc. 15 i 16).

W pierwszej fazie (0—20 sekund) organizm ten zdolny jest płynąć z szybkością ok. 1 mm s^{-1} , pokonując tym samym dystans ponad 10-krotnie większy w stosunku do swej własnej długości. W wielu seriach re-



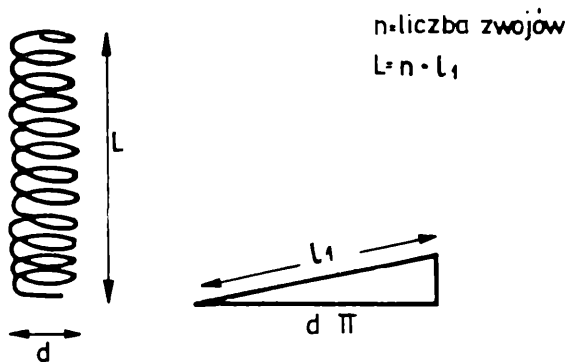
Ryc. 15. Sprawność w pokonywaniu odległości w mm/1 sek. przez pojedynczą komórkę *Paramecium bursaria* zależnie od łącznego czasu reakcji świetlnej. Oś x — czas reakcji świetlnej w sekundach, oś y — mm pokonanego dystansu (odległości) w ciągu 1 sekundy.



Ryc. 16. Pływanie orzęsków *Paramecium bursaria* w świetle białym (2600 lx) wyrażone stosunkiem przebytej drogi do pokonanego w tym samym czasie dystansu. L — pokonany dystans, l — przebyta droga, oś x — czas reakcji w s; oś y — stosunek l/L.

jestrowano przypadki jeszcze większych szybkości pływania, dochodzące do 2 mm s^{-1} .

W późniejszej fazie obserwuje się zmianę spiralizacji, w efekcie czego coraz więcej pierwotniaków zaczyna płynąć torami po spirali o ma-

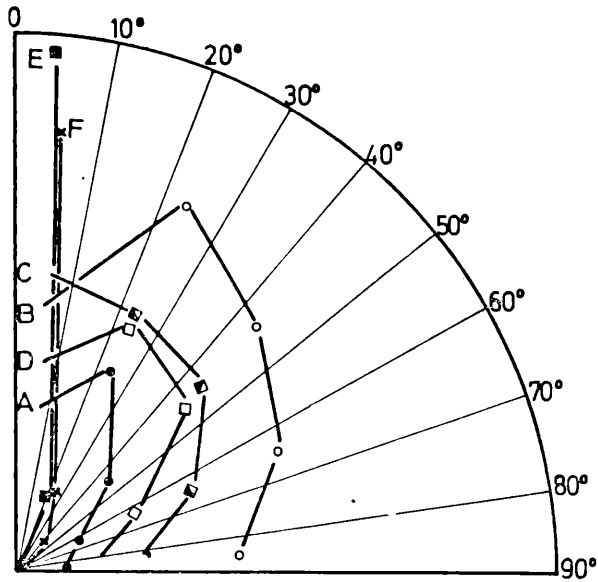


Ryc. 17. Schemat drogi spiralnej o łącznej długości „L”. Rozwinięcie jednego zwoju helisy o średnicy „d” daje rzeczywistą drogę organizmu w stosunku do środowiska „L”.

łym skoku. U pierwotniaków, które od włączenia światła znajdowały się w strefie oświetlonej następuje to wcześniej, u tych, które wpływają do strefy oświetlenia z warstw graniczących, z pewnym opóźnieniem. Komórki *Paramecium bursaria*, które znalazły się już w strefie oświetlenia, zwalniają tempo ruchu. Reakcja ta nabiera w tym czasie cech typowej ortokinezy tj. zmniejszenia szybkości ruchu pod wpływem bodźca. Osiągane szybkości przy takim sposobie pływania leżą w granicach od 0,2 do 0,3 mm s⁻¹.

Jak wynika z wykresu (ryc. 15) przedstawiającego średnią szybkość ruchu w środowisku tj. wielkości pokonywanego dystansu w mm s⁻¹ w porównaniu ze zmianą typu torów (ryc. 14) gwałtowny spadek średniej szybkości wiąże się z pojawieniem się i ilościowym dominowaniem torów typu helisy. Ten typowy dla *Paramecium bursaria* ruch stwarza pewne trudności w sposobie jego interpretacji, a ściślej, szybkości ruchu. O ile przy prostoliniowym lub prawie prostoliniowym torze (rozwinięta helisa), szybkość ruchu komórki w stosunku do ośrodka jest równoznaczna z wielkością pokonywanego dystansu w środowisku, o tyle w typie skręconej helisy te dwie wielkości mogą być bardzo różne. Analiza obu wartości jest możliwa drogą pomiarów dla indywidualnych komórek dystansu pokonanego w jednostce czasu, liczby zwojów helisy i jej średnicy (ryc. 17).

Na ryc. 16 przedstawiono wykres odpowiednich obliczeń wskazujących, że w czasie 0—20 s, tj. w okresie, kiedy dominują tory typu linii prostych lub bardzo rozwiniętych spiral stosunek 1/L jest praktycznie równy 1. Natomiast w późniejszym czasie stosunek ten spada ostatecznie do około 0,2, co oznacza, że przemieszczanie się komórki w środowisku (L) jest 5-krotnie mniejsze niż wynosi szybkość ruchu komórki w sto-



Ryc. 18. Liczbowy udział orzęsków w populacji *Paramecium bursaria*, płynących w określonym kierunku w stosunku do kierunku z jakiego pada światło, po różnym czasie działania światła. Na rysunku kąty płynięcia w stosunku do kierunku padania światła oznaczono od 0° — 90° , A — czas 0 s, B — czas 5 s, C — czas 20 s, D — czas 40 s, E — czas 1 min., F — czas 2 min.

sunku do otaczającego ją bezpośrednio ośrodka (I). Jak wynika z poprzednio przedstawionych danych (ryc. 15) średnia sprawność w pokonywaniu dystansu (L) maleje w trakcie oświetlenia ok. 10-krotnie.

Zestawiając powyższe dane stwierdzić można, iż w badanej intensywności światła następuje w pierwszej fazie jego działania nie tylko zmiana typu toru, ale i (ok. 2-krotne) zmniejszenie szybkości ruchu pojedynczych komórek w stosunku do ośrodka.

c) **Kierunek ruchu.** Kierunkowość ruchu oznaczono ilościowo obliczając łączną liczbę komórek, których torzy mieszczą się w określonych sektorach kątowych w stosunku do kierunku padania światła (0°). Uzyskane tą drogą dane przedstawione zostały graficznie na ryc. 18.

Z wykresu (ryc. 18) można stwierdzić, że w pierwszej fazie procesu (czas 0—20 s), orzęski płyną pod różnymi kątami w stosunku do kierunku padania światła. Poczynając od około 40 sekundy obserwuje się u nich wyraźną tendencję do płynięcia w kierunku padania światła. To uporządkowanie torów nasila się w czasie i jest wyraźnie widoczne po jednej i dwóch minutach działania światła (ryc. 18). W tym czasie ok. 80% komórek płynie pod kątem w granicach 0° do $\pm 5^\circ$ w stosunku do kierunku padania światła. Dalsze przedłużanie czasu reakcji świetlnej

ponad 30 minut nie zmienia jej charakteru. Wraz ze wzrostem ogólnego czasu ekspozycji w materiale doświadczalnym utrwala się ostatecznie kierunkowość w pływaniu.

W niektórych seriach doświadczalnych, gdzie celowo do kiuwet pomiarowych brano większe niż normalnie ilości pierwotniaków *Paramecium bursaria*, kierunkowość pływania poszczególnych komórek w stronę źródła światła jest tak dalece regularna, że do złudzenia przypomina efekty uzyskane przez Dryla (1963) w procesie normalnej galwanotaksji katodowej dla *Paramecium caudatum* (plansza VIII).

W stosowanym układzie pomiarowym analizie podlegają zarówno te komórki *Paramecium bursaria*, które od początku znajdowały się w strefie oświetlenia, jak i te, które w różnych okresach czasu napłynęły do tej strefy z zaciemnionych części kiuwety, stwarzało to pewną niejednorodność czasu działania światła na poszczególne komórki, jednakże z przeprowadzonej analizy wynikają wyraźnie pewne cechy ogólne reagowania na światło oparte na zachowaniu się pojedynczych komórek. Wydaje się, że reakcja na stosowane oświetlenie jest 2-fazowa. W fazie pierwszej (0—20 s) typ ruchu nosi w sobie jeszcze cechy ruchu w ciemności tj. dominuje ruch szybki bez przewagi jakiegokolwiek kierunku o torach typu rozwiniętej helisy. W okresie przejściowym (20—40 s) znaczna część pierwotniaków wykazuje już ruch ukierunkowany w stronę światła torem rozwiniętej helisy (tabela III). Również zaczyna narastać liczba komórek poruszających się zwiniętą i coraz bardziej zwartą helisą. W drugiej fazie reakcji (powyżej 1 min. naświetlania) typowym sposobem pływania jest ruch ściśle ukierunkowany w stronę światła, o zwiniętych torach i mniejszej szybkości, zarówno komórek w stosunku do bezpośrednio z nimi się stykającego ośrodka (I), jak i szczególnie przemieszczanie się w środowisku (L).

DZIAŁANIE ŚWIATŁA BIAŁEGO — WPŁYW INTENSYWNOŚCI

Mając obraz reakcji ruchowej indywidualnych komórek *Paramecium bursaria* w jednym natężeniu światła białego (2600 lx), interesującą kwestią logicznie z tego wypływającą było zbadanie, czy występują jakieś zmiany w charakterze ruchu pojedynczych komórek, jeżeli te poddane zostaną działaniu światła białego o różnej intensywności.

Szczególnie ważnym problemem na tym etapie badań było określenie charakteru reakcji ruchowej w tym sensie, czy niezależnie od natężenia światła jest ona zawsze pozytywna, czy też organizm ten reaguje na światło ucieczką, jeżeli jego natężenie jest odpowiednio duże. Również przy tej okazji podobnie jak w rozdziale poprzednim starano się określić

takie parametry ruchu pojedynczych komórek *Paramecium bursaria* jak: szybkość pływnięcia, rodzaj spiralizacji, kąt określanego toru w stosunku do kierunku padania wiązki testowej, co daje pojęcie o orientacji kierunkowej komórki w procesie fototaksji.

W celu możliwie dokładnego prześledzenia reakcji *Paramecium bursaria* w różnych warunkach oświetlenia światłem białym zastosowano 11 różnych intensywności światła w zakresie od 0 do 50 000 lx oraz kontrolę ciemniową (0 lx). Natężenia światła zostały tak dobrane, aby nawiązywały do rezultatów jakie wcześniej otrzymano dla fototaksji całej populacji orzęsków. W tym celu obok kontroli ciemniowej 0 lx, użyto następujących natężeń światła białego: 150, 300, 900, 1500, 2600, 3500, 7000, 10 000, 14 000, 35 000 i 50 000 lx. We wszystkich tych wartościach fototaksja rejestrowana była w ciągu 5 sekund (czas otwarcia migawki kamery fotograficznej), po 30 sek. działania światła testowego o określonej intensywności — tj. między 30 a 35 sekundą reakcji fototaktycznej.

Na podstawie bezpośrednich obserwacji fototaksji jak i w oparciu o analizę bardzo szerokiej dokumentacji fotograficznej (co najmniej 20 serii dla każdej intensywności), stwierdzić można, że w całym przebadanym zakresie intensywności światła białego 0—50 000 lx, obraz reakcji *Paramecium bursaria* na światło zmienia się bardzo wyraźnie, przy czym można zauważyć pewne „zwrotne” natężenia światła, gdzie obraz reakcji zmienia się w zasadniczy sposób. Zjawisko to przedstawiono na ryc. 19 i 20 oraz na planszach X—XVI, które starano się tak dobrać, aby były możliwie najbardziej reprezentatywne dla określonych intensywności światła białego.

W niniejszych eksperymentach starano się stwierdzić, czy istnieje jakaś zależność między sumaryczną długością torów wszystkich analizowanych osobników a określonym zakresem kątowym. W tym celu ustalono 9 klas kątowych w zakresie 0° — 90° przeliczając sumaryczną wartość drogi (L) dla każdej klasy kątowej. Końcowe wartości graficznie ilustrują rysunki (20 a—k).

Z rycin tych widać, że w wyższych intensywnościach światła białego (powyżej 2600 lx) najdłuższa łączna droga wykonana została przez te komórki, które płyną prawie równoległe do kierunku padającej wiązki światła. Dotyczy to osobników reagujących fototopotaktycznie, zarówno pozytywnie jak i negatywnie. Natomiast wraz ze wzrostem kąta pływnięcia maleje sumaryczna wartość odpowiadająca pokonanej drodze (odległości).

Z poprzedniego rozdziału pracy wynika, że pierwotniak, który znalazł się w strefie oświetlenia reaguje prawie natychmiast kierunkowo, natomiast w charakterze jego ruchu można wyróżnić dwie fazy:

a) pierwszą, trwającą średnio około 20 sekund, w której charakter ruchu (pod wieloma względami) jest taki sam jak w ciemności.

b) drugą, w której następuje mniej lub bardziej gęsta spiralizacja toru, z czym wiąże się narastająca stopniowo w czasie kierunkowość w płynięciu do źródła światła.

Istnienie takiej dwufazowości jest bardzo korzystne w związku ze stosowaną w powyższych eksperymentach metodą rejestracji ruchu. Dotyczy zwłaszcza możliwości fotograficznej rejestracji kontroli ciemniowej (0 lx) przy zastosowaniu słabego światła białego, gdzie 5-sekundowy czas ekspozycji materiału fotograficznego nie wywiera wpływu na charakter ruchu. .

Stwierdzono też na podstawie innych eksperymentów (które w przyszłości staną się przedmiotem odrębnych badań), że najprawdopodobniej w działaniu światła na orzęska *Paramecium bursaria* występuje pewien i to dość długi zresztą okres latencji, jaki upływa od momentu zadziałania światła do określonego behawiorystycznego objawu reakcji. Okres latencji jest szczególnie wyraźnie zauważalny w niskich intensywnościach światła.

W niniejszych eksperymentach obserwowano i rejestrowano cechy ruchu *Paramecium bursaria* w drugiej fazie „b”, tzn. po 30 sekundach działania światła, na zawieszoną w kiuwecie, uznając ten okres za najbardziej interesujący, gdyż w tym czasie efekt światła jest wyraźnie widoczny.

Obserwując zachowanie się orzęsków w kontroli ciemniowej (0 lx) — plansza Xa, stwierdzamy, że ruch orzęsków odbywa się torami, w postaci bardzo długich rozwiniętych helis (typ 1 wg tabeli III), ruchy te są bardzo szybkie i efektywność w pokonywaniu dystansu jest bardzo duża. Tory w polu widzenia układają się różnokierunkowo, co jest zupełnie oczywiste i dodatkowo potwierdza wcześniej wprowadzoną uwagę, że na tym etapie reakcji nie działa na orzęski słabe światło stosowane do fotografii. W kontroli ciemniowej (0 lx) występuje niemal jednorodny typ toru „1” — tzn. helisa rozwinięta długa. Jedynie w minimalnym procencie (1—2%) dostrzega się tu tory wg typu 2, tj. helisa luźno zwinięta o dużym skoku. Ten typ charakterystyczny dla ciemności występuje także przez cały czas oświetlania światłem o długościach fali, które są nieaktywne.

Natomiast zastosowanie bardzo słabego światła białego rzędu 150 lx (plansza Xb) wydaje się na pierwszy rzut oka być bez wpływu na ruch. W obrazie reakcji można znaleźć wiele podobieństw do omówionej kontroli ciemniowej (0 lx), obserwuje się wyraźną dominację torów wg typu 1. Widać jednak, że obraz reakcji nie jest już tak jednolity jak to ma miejsce w przypadku kontroli ciemniowej. Po pierwsze, daje się tu

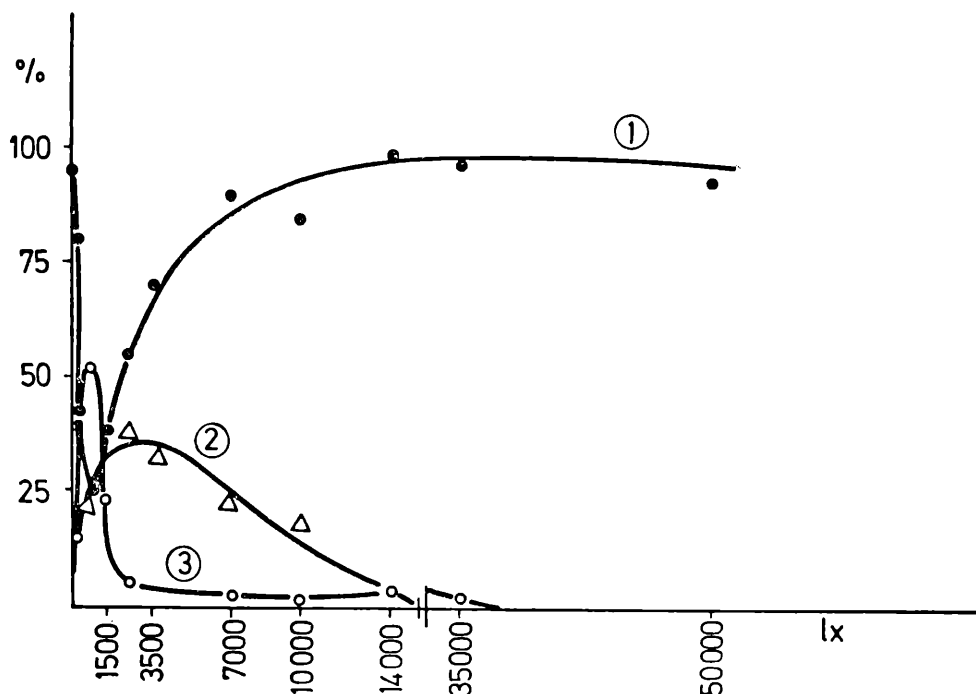
zauważyć pewną, choć słabą jeszcze tendencję do „zwijania toru”, po drugie, zaczynają się pojawiać tu i ówdzie helisy wg typu 4, co świadczy o ruchu wertykalnym w stosunku do istniejącej strefy oświetlenia w kiuwecie. Takie zachowanie się orzęsków *Paramecium bursaria* wskazywać może, iż zastosowane tu intensywności światła białego (150 lx) leżą na granicy ich fototaktycznej wrażliwości. Pozostaje to w zgodności z rezultatami, jakie otrzymano w badaniach nad tworzeniem się „plam fototaktycznych” dla całych populacji *Paramecium bursaria* (ryc. 11). Tak więc próg czułości *Paramecium bursaria* na światło białe określony poprzednio na ok. 90 lx wydaje się być bardzo prawdopodobny.

Interesującym problemem stało się więc uchwycenie kinetyki ruchu pojedynczych komórek *Paramecium bursaria* i powiązanie otrzymanych tą drogą informacji z wcześniej przeprowadzonymi eksperymentami dla populacji orzęsków. Badania jakie przeprowadzono dla jednej intensywności światła białego — 2600 lx na przestrzeni dłuższego czasu pozwalały przypuszczać, że orzęski *Paramecium bursaria* reagują w pierwszej chwili na „strefę oświetlenia” — starając się do niej dopłynąć jak najszybciej, na następnym zaś etapie odnajdują dopiero kierunek, z jakiego pada światło i w tym kierunku płyną. Stwierdzenie to nie dawało podstaw do wyciągania wniosków na temat zachowania się orzęsków w innych a zwłaszcza wyższych intensywnościach światła białego.

Przedstawione rezultaty wydają się wyjaśniać ten problem lub przynajmniej w jakimś stopniu wypełniają lukę, porządkując wcześniejsze informacje, jakie w tym przedmiocie zostały zgromadzone.

Na tym tle również interesująco prezentują się rezultaty otrzymane dla niskich intensywności światła: 300, 900 i 1500 lx. Są to wartości światła, w których zanikają prawie zupełnie tory typu 1, natomiast pojawiają się w dużym procencie tory typu 2, 3, 4, a więc takie, gdzie helisa ulega „zacieśnieniu”. Potwierdzona tu została wcześniej dokonana obserwacja, że reagowaniu orzęska na światło towarzyszy „wzmożenie” spiralizacji — przynajmniej w słabym świetle. Na szczególną jednak uwagę przy tych intensywnościach światła zasługują, zdaniem autora, tory typu 4, tj. helisa skręcona, widoczna poniżej lub powyżej strefy oświetlenia, świadcząca o wertykalnym ruchu orzęska w stosunku do tej strefy. Taki obraz reakcji (ryc. 19 i plansze XI ab XII a) można więc tłumaczyć tym, iż stosowane tu wartości światła białego w zakresie 300—1500 lx są już na tyle silne, że orzęski wyraźnie na ten czynnik reagują, starając się aktywnie dotrzeć do miejsca oświetlenia.

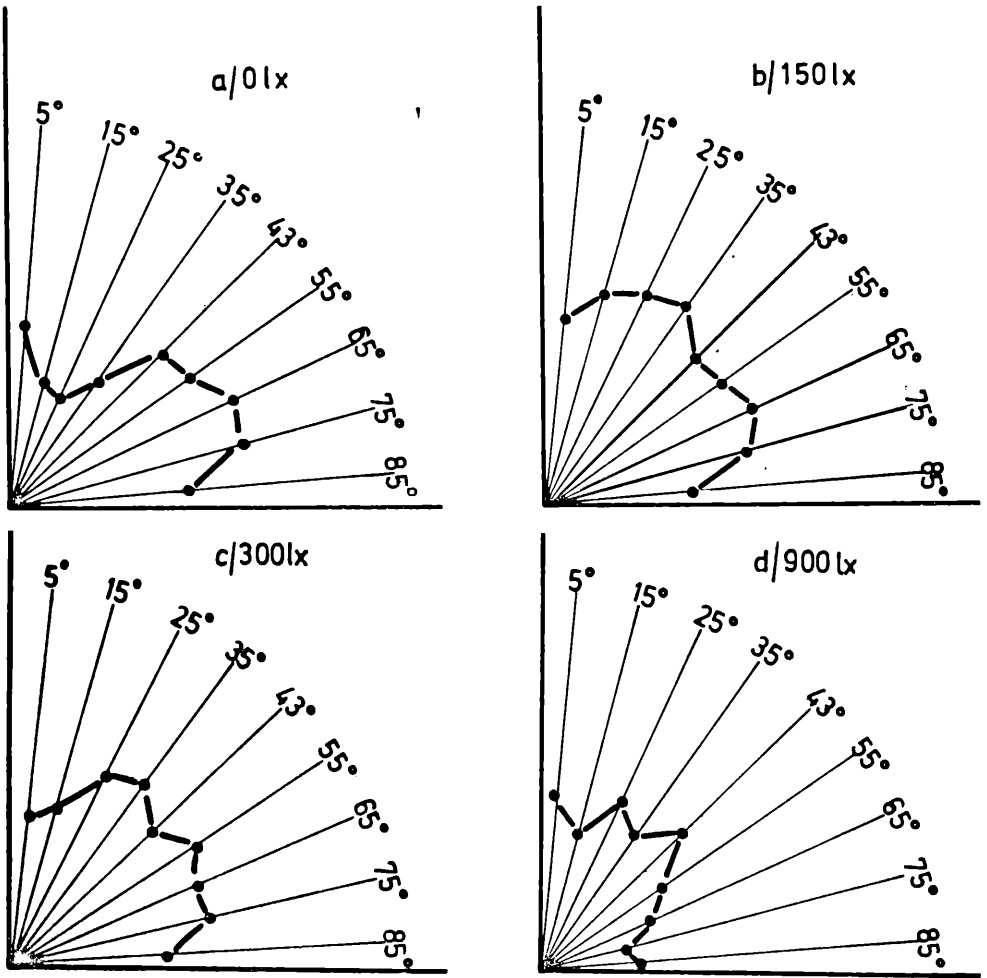
Ciekawie też wypada porównanie między sobą trzech kolejnych intensywności światła 300, 900, 1500 lx (pl. XI ab i XII a).



Ryc. 19. Procentowy udział różnych typów pływania *Paramecium bursaria* w świetle białym o różnych intensywnościach, po 30-sekundowej ekspozycji światłem. Oś — x — natężenie światła w lx, oś y — % torów pływania, 1 — wykres dla typu 1, 2 — wykres dla typu 2, 3 — wykres dla typu 4.

Wszystko wskazuje na to, iż uwidacznia się tu wyraźnie wpływ „poziomego gradientu” światła jaki wytworzony być musi w tym typie kiuwety pomiarowej jaką zastosowano w niniejszych eksperymentach. Jest to zupełnie oczywiste, że występują pewne różnice w natężeniu światła na stronie zbliżonej do źródła światła w porównaniu ze ścianą przeciwną. Analizując obrazy reakcji ze światła 300 lx stwierdzić można, że tory poruszania się orzęsków są rozmieszczone równomiernie (w sensie ilościowym) w obrębie przyjętego do analizy sektora (prostokąt na zdjęciu) patrz pl. XI a. W miarę wzrostu natężenia światła 900 lx — pl. XI b i 1500 lx — pl. XII a, stwierdzić można, że większość torów grupuje się jednak bliżej ściany kiuwety zwróconej do źródła światła. Wpływ tego poziomego gradientu światła uwidacznia się zresztą jeszcze wyraźniej w wyższych intensywnościach światła, a zwłaszcza wtedy, gdy reakcja nabiera negatywnego charakteru.

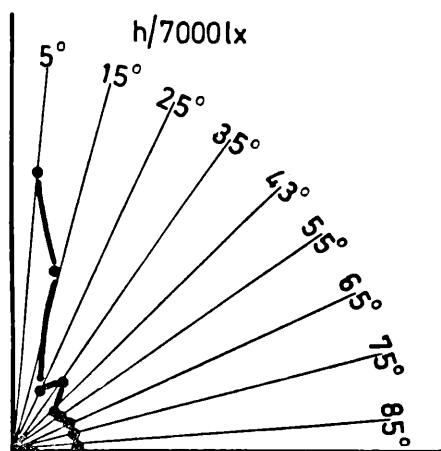
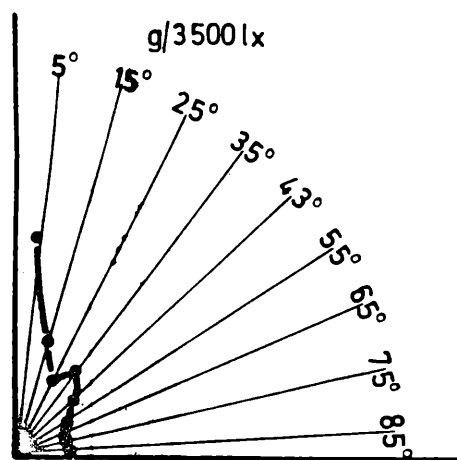
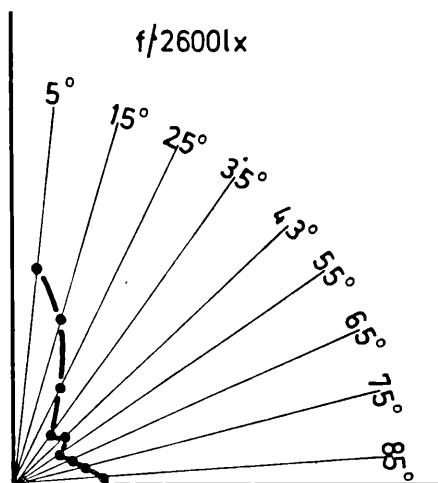
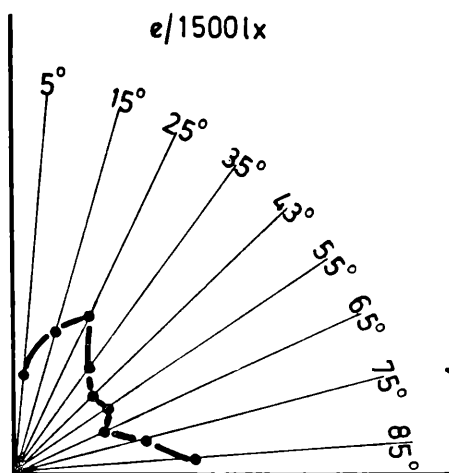
Kolejną, jak gdyby wyodrębniającą się wyraźnie grupę intensywności stanowią: 2600, 3500 i 7000 lx, gdzie w zasadzie reakcja przebiega w bar-



Ryc. 20. Graficzna ilustracja zależności pomiędzy sumaryczną długością toru (L) a określoną klasą kątową w pływaniu orzęska *Paramecium bursaria*, dla różnych intensywności światła białego (bliższe objaśnienia w tekście).

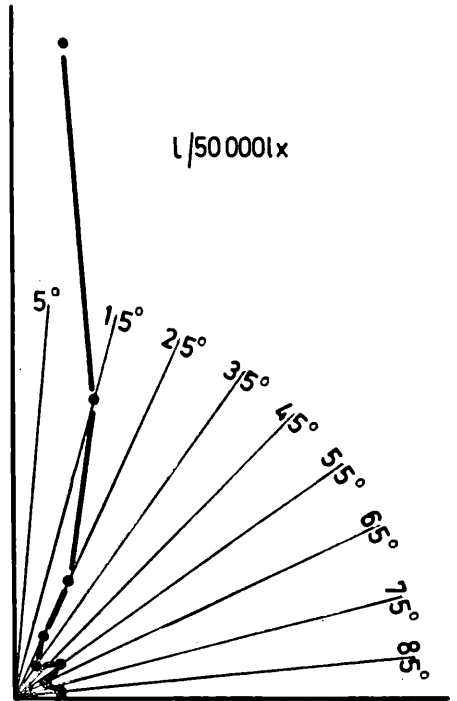
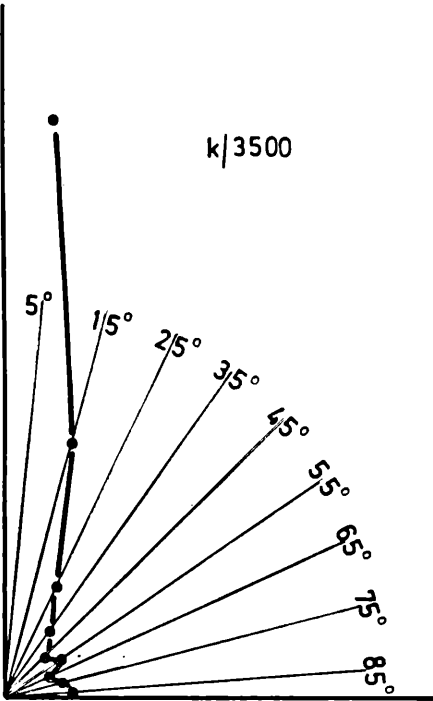
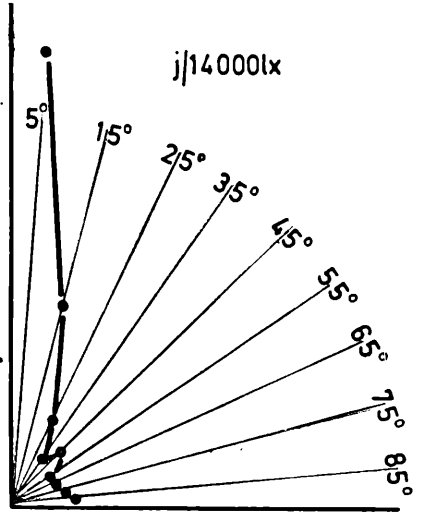
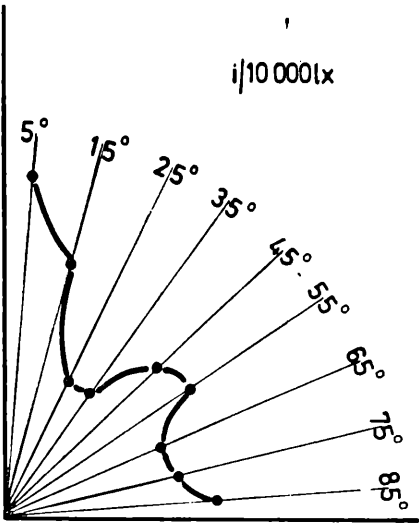
Ryc. 20 a — 0 lx (kontrola), 20 b — 150 lx, 20 c — 300 lx, 20 d — 900 lx, 20 e — 1500 lx, 20 f — 2600 lx, 20 g — 3500 lx, 20 h — 7000 lx, 20 i — 10 000 lx, 20 j — 14 000 lx, 20 k — 35 000 lx, 20 l — 50 000 lx.

dzo podobny sposób. We wszystkich tych intensywnościach daje się zauważyć niemal identyczne w swej formie toru — są to helisy zwinięte. Jeżeli przy tym uwzględnimy kierunkowość w pływaniu, która jest tu bardzo wyraźnie zaznaczona, to niemal w 100% są to toru typu 5, tj. helisa wg typu 2 lub 3 (zwinięta) z orientacją kierunkową (patrz tabela III, 5). Porównując te trzy intensywności światła z kontrolą (0 lx),

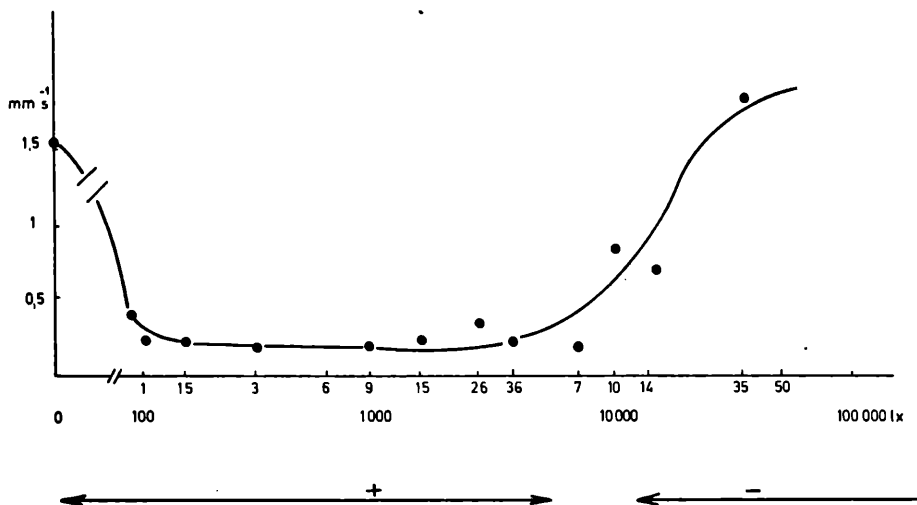


stwierdzić można, że orzęski w tych warunkach oświetlenia poruszają się znacznie wolniej niż w ciemności i jest to wyraźnie widoczne zarówno dla wartości „l” jak i „L”. Podczas gdy w ciemności (ryc. 21) orzęski pływają uzyskując średnią wartość pokonanego dystansu (l) ok. 1,6 mm s⁻¹, a w wielu przypadkach nawet ponad 2,0 mm s⁻¹, to w świetle 2600—7000 lx efektywność w pokonywaniu dystansu jest średnio 3—4 razy mniejsza i wynosi 0,3 — 0,5 mm s⁻¹, niemal wszystkie komórki płyną zgodnie z kierunkiem padającego światła. Taki sposób reagowania nosi w sobie oznaki typowej ortokinezy — tj. zwolnienie szybkości ruchu pod wpływem działającego bodźca.

Interpretacja tego typu reakcji nie jest łatwa i często nie jest jednoznaczna, w wielu przypadkach mogą się na siebie nakładać różne składniki, zarówno taksji jak i kinezy. Biorąc za punkt odniesienia kontrolę



c.d. Ryc. 20



Ryc. 21. Średnia szybkość poruszania się orzęska *Paramecium bursaria* w mm s⁻¹ zależnie od natężenia światła wyrażona wartością przebytej odległości (l). Oś x — natężenie światła w lx, w skali logarytmicznej, oś y — mm s⁻¹ przebytej drogi

ciemniową (0 lx) lub słabe natężenie 150 lx — zwolnienie szybkości ruchu w wyższych intensywnościach światła rzędu 300—7000 lx może być uznawane jako negatywna fotokineza.

W badanym zakresie natężeń światła białego 0—10 000 lx występuje pozytywna fototopaksja, o czym świadczą badania nad zachowaniem się populacji *Paramecium bursaria* jak też bezpośrednie obserwacje w niniejszych eksperymentach oraz załączone plansze, na których wszędzie w końcowym etapie orzęski grupują się bliżej ściany w przedniej części kiuwety pomiarowej.

Odrębnego potraktowania i omówienia w tych eksperymentach wymaga intensywność 10 000 lx (patrz pl. XIV ab i XVI ab). Wprawdzie po 30 sekundach działania światła o tym natężeniu obserwuje się pozytywną fototaksję, w wyniku czego orzęski grupują się w przedniej części kiuwety (od strony źródła światła) i częściowo na niej osiadają, tworząc fragment zielonego pierścienia, jednak, jak udało się stwierdzić po upływie czasu rzędu kilku minut, miejsce to opuszczają, przenosząc się zarówno na ściany boczne jak i na ścianę przeciwną (na stronę odświeżoną). Przeprowadzane przy tym natężeniu światła bardziej wnikliwe obserwacje orzęsków pozwalają wnioskować, że oszacowana intensywność bliska jest natężeniu rewersji (problem ten zostanie dokładniej omówiony w „Dyskusji”).

Obserwacje zachowania się orzęsków *Paramecium bursaria* w intensywnościach światła białego 10 000 lx trwające dłużej niż przyjęte 30

sekund, pozwoliły na zaobserwowanie pewnego dość interesującego zjawiska zilustrowanego na planszach XIV a i XVI ab. Zarejestrowany na pl. XVIa obraz ukazuje reakcję fototaktyczną po upływie 3 minut działania światła 10 000 lx. W obrazie tej reakcji uderza bardzo duża liczba orzęsków znajdujących się w strefie oświetlenia. Pływają one głównie torami typu 1 (rozwinęta długa helisa); na pierwszy rzut oka upodabnia się je do tych, jakie obserwowano w kontroli ciemniowej (0 lx), jednak przy dokładnym porównaniu dostrzec można nieco inną spiralizację (jest to znacznie lepiej widoczne na pl. XIV a), ponadto tory te są na ogół nieco krótsze.

W miarę przedłużania się czasu działania światła na zawieszoną pierwotniaków — dostrzega się jak gdyby przesuwanie się strefy reakcji w kierunku malejącego gradientu światła w poziomie. Na planszy XVI b zarejestrowany został obraz reakcji po upływie 5 minut. Orzęski grupują się teraz po stronie przeciwległej od źródła światła. Tory, po jakich poruszają się komórki, nie są wprawdzie równoległe do kierunku padania światła, jednak położenie, jakie zajmują na przekroju kiuwety pozwala im na zajęcie miejsca na stronie odświetlonej.

Eksperyment ten nawiązuje wyraźnie do badań przeprowadzonych dla populacji *Paramecium bursaria* (str. 38) w procesie akumulacji orzęsków w „plamie fototaktycznej”, wówczas podobne zachowanie orzęsków rejestrowano w świetle rzędu 14 000—15 000 lx (ryc. 11), rozbieżność ta nie jest jednak zbyt duża i tłumaczyć ją można zarówno czułością samych metod, jak też i możliwością wpływu wielu czynników zarówno natury zewnętrznej jak i wewnętrznej. Było to podkreślane przez różnych autorów w trakcie wykonywania podobnych doświadczeń z innymi organizmami.

Porównując wpływ światła 10 000 lx z innymi natężeniami (2600, 3500, 7000 lx) stwierdzić należy, że w tych warunkach obserwujemy przyśpieszenie szybkości ruchu (pozytywna fotokineza), tory ulegają „rozprostowaniu — rozwinięciu” jednak w stosunku do tych niższych intensywności pewnemu „pogorszeniu” ulega kierunkowość pływnięcia. Być może jest to wynik specyficznego, swoistego działania światła właśnie na granicy natężenia rewersji, co wiąże się być może z pewnym stanem zubożenia komórki. Pływanie natomiast torami typu 1 i to bardzo rozciągniętymi, utrzymuje się w wyższych intensywnościach, tam gdzie reakcja jest już bardzo wyraźnie negatywna. Wydaje się, że ten typ toru jest charakterystyczny zarówno dla ciemności jak i dla reakcji negatywnych, wywołanych silnym światłem.

Informacje, jakich dostarcza nam działanie światła ok. 10 000 lx, mogą mieć również jeszcze inną dodatkową wartość. Interesującym bowiem zagadnieniem jest to, czy światło może działać na orzęski *Para-*

mecium bursaria na zasadzie „pułapki świetlnej” („light trap”). Problem ten może być rozstrzygnięty za pomocą innych metod stosowanych w badaniach fotofobotaksji. Jeżeli światło działa pułapkowo, wówczas osobniki, które przedostały się w pole oświetlone, nie mogą go opuścić. Przeprowadzone te oraz inne obserwacje wskazują, że orzęski *Paramecium bursaria*, które weszły w pole oświetlone mogą je opuszczać bez przeszkód, wobec czego należy przypuszczać, że światło takie nie działa na nie pułapkowo. Można przy tej okazji wziąć pod uwagę inną możliwość, którą stwierdzono u wielu organizmów wykazujących negatywną fotokinezę — u takich form ruch może ustać w jasnym polu światła symulując pozytywną fotofobotaksję.

Stosowanie światła białego o wysokich intensywnościach rzędu 14 000—50 000 lx daje w każdym przypadku reakcję negatywną. Analizując obraz fototaksji *Paramecium bursaria* w kolejnych intensywnościach światła białego: 14 000, 35 000, 50 000 lx, stwierdzamy wszędzie ucieczkę od światła. Ruch orzęsków we wszystkich tych intensywnościach a zwłaszcza 35 000 i 50 000 lx odbywa się torami typu 1, tj. rozwiniętych długich helis, z tym jednak, że stopień rozwinięcia helisy jest znaczniejszy niż to ma miejsce w kontroli ciemniowej, tor zakreślany przez orzęski w tych warunkach jest w wielu przypadkach zbliżony do linii prostej. Pokonywany dystans przez pojedyncze komórki *Paramecium bursaria* jest też na ogół mniejszy niż przez osobniki w kontroli ciemniowej. Obok wyraźnie zaznaczonej kierunkowości w płynięciu (większość torów mieści się w granicach kątowych 0° — 15° , ryc. 20), na uwagę zasługuje fakt, iż szybkość ruchu orzęsków jest różna zależnie od położenia na przekroju kiuwety. Można to zauważyć na poszczególnych zdjęciach (pl. XIV b, XV ab), wskazujących, że dłuższe tory zakreślane są przez te komórki, które znajdują się w strefie oświetlenia bliżej źródła światła, natomiast orzęski znajdujące się po stronie przeciwnej poruszają się torami krótszymi, tzn. pływają wolniej.

DZIAŁANIE ŚWIATŁA BARWNEGO

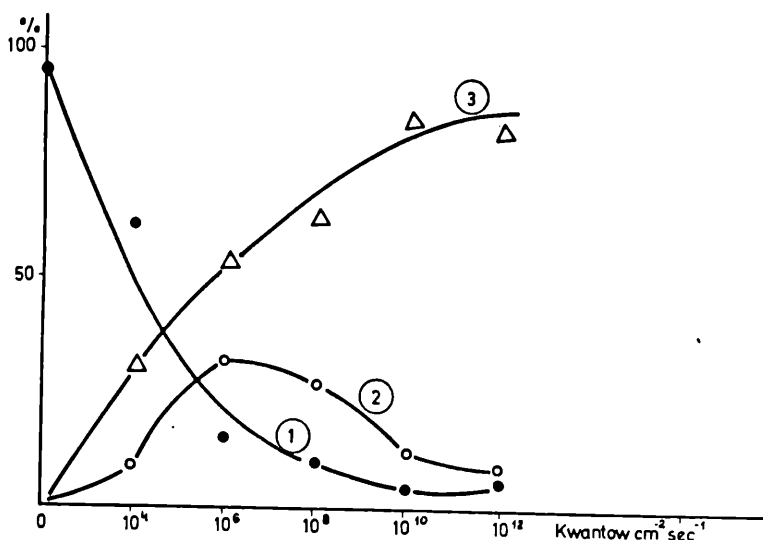
W kolejnym etapie badań zajęto się wpływem światła barwnego na ruch pojedynczych komórek *Paramecium bursaria*. Do tych celów użyta została ta sama aparatura (ryc. 8), jaką stosowano w poprzednich eksperymentach, z możliwością mocowania filtrów interferencyjnych.

We wstępnej fazie przebadano szereg długości fal stosując filtry interferencyjne, a do końcowej interpretacji wybrano tylko filtry o następującej maksymalnej przepuszczalności: 450, 550, 675 i 750 nm. Energię świetlną stosowaną w doświadczeniach wyrażono w kwantach $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Reakcje rejestrowano w 5 wartościach kwantowych: 10^4 , 10^6 , 10^8 , 10^{10} i 10^{12} po upływie 60 sekund działania światła barwnego tj. między 60 a 65 sekundą. Dwukrotnie wydłużony czas w stosunku do eksperymentów ze światłem białym podyktowany był tym, że reakcja taka jest wówczas lepiej uchwytna i bardziej czytelna, zwłaszcza w niższych wartościach kwantowych. Stosowanie wyższych wartości kwantowych światła jak 10^{12} kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ było utrudnione ze względów technicznych, zresztą na obecnym etapie badań uznano to za niekonieczne, zwłaszcza, że badania przeprowadzone w niniejszym rozdziale uważać należy za sondażowe.

Zestawiając otrzymane wyniki stwierdzić należy, iż długością fali aktywną w tym procesie okazała się jedynie 450 nm. Natomiast w pozostałych długościach fali 550, 675 i 750 nm, obraz reakcji nie odbiega od tego, jaki został zarejestrowany w kontroli (0 lx). Rezultaty tych obserwacji zostały przedstawione na ryc. 22 oraz kolejnych planszach XVII—XXIII, uznanych za najbardziej reprezentatywne dla danej grupy eksperymentalnej.

Obserwując wpływ światła niebieskiego 450 nm na kinezę orzęsków *Paramecium bursaria* w odniesieniu do kontroli ciemniowej, stwierdzamy,



Ryc. 22. Procentowy udział różnych typów pływania orzęsków *Paramecium bursaria* w świetle niebieskim 450 nm o różnych gęstościach kwantowych. Oś x — natężenie światła w kwantach $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, oś y — % poszczególnych typów torów. 1. wykres odpowiadający typowi 1, tj. helisa rozwinięta długa, 2. wykres odpowiadający typom 2 i 3 łącznie, tj. helisa skrócona kierunkowa i bezkierunkowa. 3. wykres odpowiadający typowi 4, tj. ruch wertykalny orzęska względem strefy oświetlenia

że wpływ ten jest wyraźnie zaznaczony. W przypadku kontroli (pl. XVIIa) obserwujemy typowe dla ciemności poruszanie się orzęsków wzdłuż torów długich, rozwiniętych (typ 1) i pokonywanie bardzo dużych odległości dochodzących do 2 mm s^{-1} .

Światło niebieskie 10^4 kwantów $\text{cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ wywołuje reakcję orzęsków, która przejawia się w tym, że tory ulegają wyraźnemu skróceniu a większość z nich przybiera postać typu 2 i 3, tj. helisy zwartej. Pojawiają się też tory typu 4, co świadczy o wertykalnym ruchu orzęska względem strefy oświetlenia. Rozmieszczenie torów w polu widzenia jest dość równomierne na całym przekroju kiuwety. Wydaje się też, że orzęski, które wykazują kierunek zgodny z kierunkiem padającego światła, płyną torami bardziej skróconymi niż te komórki, które poruszają się niezgodnie z kierunkiem przebiegu światła. Jest to zgodne z ogólną tendencją kierunkowego ruchu u *Paramecium bursaria* w świetle białym o niezbyt wysokiej intensywności, gdzie kierunkowemu płynięciu towarzyszy zacieśnianie helisy. W tej gęstości kwantowej obserwuje się jeszcze dość dużo (ok. 62%) torów rozwiniętych, prostych (ryc. 22), co może świadczyć, że natężenie światła leży blisko granicy fototaktycznej czułości orzęska *Paramecium bursaria* na tę długość fali.

W wyższych intensywnościach światła niebieskiego 450 nm przy gęstościach kwantowych 10^6 i 10^8 kwantów $\text{cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ reakcja przebiega bardzo podobnie. W obydwu tych zakresach obserwujemy przewagę torów typu 4, tj. helisy skróconej, obrazującej ruch orzęska wertykalnie w stosunku do strefy oświetlenia, lub też tory w postaci bardzo krótkich, mocno zwiniętych helis zorientowanych kierunkowo (typ 5). Obok tych organizmów znalazły się w płaszczyźnie światła takie komórki, które płyną torem typu 1, charakterystycznym dla ciemności, prawdopodobnie są to te, które w chwili wykonywania zdjęcia odbywały już ruch w ciemności i przypadkowo wpłynęły bądź „przepływały” strefę oświetlenia: ten typ toru jest też widoczny w minimalnym procencie również w innych gęstościach kwantowych.

W wyższych natężeniach światła niebieskiego tj. przy 10^{10} i 10^{12} kwantów $\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ zasadniczo charakter reakcji nie ulega zmianie, wszędzie pływanie komórek odbywa się wg tego samego typu 4, natomiast obserwuje się ilościowy wzrost reakcji, przejawiający się w tym, że więcej komórek przedostało się w tym samym czasie do strefy oświetlenia. Pokazują to przykładowo kolejne zdjęcia na planszach XIX ab. Zarówno w przypadku działania światła białego jak i niebieskiego na ruch *Paramecium bursaria* obserwuje się wiele podobieństw w poruszaniu się pojedynczych komórek, ale też i uderzają pewne różnice. Wydaje się, że światło niebieskie „naprowadza” jak gdyby orzęska w strefę oświetlenia, ale też jednocześnie ułatwia odnalezienie kierunku źródła światła

w rezultacie czego orzęski płynące z miejsc ciemnych kierują się najprawdopodobniej od początku w tę stronę kiuwety, która jest zwrócona w stronę światła i tu ostatecznie osiadają. Taką interpretację ruchu potwierdzają dwa dostrzegalne momenty. Po pierwsze, obszar, gdzie widoczna jest wyraźnie dodatnia fototopotaksja znajduje się w przedniej części kiuwety. Po drugie, orzęski, które płyną po torach innych niż typ 4 wykazują zorientowanie niezgodne z kierunkiem padania światła.

Działanie światła niebieskiego uznać należy za bardzo efektywne w procesie pozytywnej fototopotaksji, co zresztą pozostaje w pełnej zgodności z rezultatami otrzymanymi w badaniach nad tworzeniem się „plam fototaktycznych” oraz wykreślonym widmem działania (ryc. 13), z którego wynika silne działanie światła niebieskiego w procesie akumulacji orzęsków w miejscu oświetlenia.

Do poprzednich badań nawiązują również rezultaty, jakie otrzymano dla innych długości fali (550, 675, 750 nm); wszystkie w badanym okresie i stosowanych intensywnościach okazały się bez wpływu na ruch pojedynczych komórek *Paramecium bursaria*. W całym badanym zakresie ruch orzęsków jest porównywalny z kontrolą (0 lx), wszędzie w tych długościach fali orzęski poruszają się torami typu 1, charakterystycznymi dla ciemności.

W przeprowadzonej analizie ruchu *Paramecium bursaria* w świetle barwnym zrezygnowano z ograniczenia analiz do środkowego pola kiuwety, jakie stosowano przy opisywaniu reakcji w świetle białym, ponieważ reakcja ma w tym przypadku nieco inny obraz przestrzenny, najbardziej interesujące zjawiska przebiegają w pobliżu przedniej części kiuwety tzn. zwróconej w stronę światła.

Niejako na marginesie omawianego problemu, autora zainteresował bliżej ruch typu 4, odnoszący się do wertykalnego pływania orzęska w stosunku do strefy oświetlenia. Stosowana w tej metodzie kiuweta pomiarowa, praktycznie rzecz biorąc, daje orzęskom duże możliwości ruchów właśnie wg tego typu 4, w przeciwieństwie do kiuwet płaskich, które z powodzeniem mogą być stosowane w badaniach innych taksji, gdzie wertykalne ruchy organizmów są bardzo ograniczone. Autor postawił więc sobie pytanie, do jakiego stopnia na ten typ ruchu ma wpływ stosowany rodzaj światła, a o ile zależy on od kształtu samej kiuwety. W tym celu wykonano dodatkowe eksperymenty, których wyniki starano się zilustrować na planszy XXIII. Zawieszony orzęsków w kiuwecie poddano działaniu światła niebieskiego 450 nm 10^{12} kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ w ciągu 10 minut. W rezultacie takiego naświetlenia na przedniej ścianie kiuwety utworzył się fragment „zielonego pierścienia” wielkości zastosowanej szczeliny. Następnie odwrócono o 180° kierunek padania światła niebieskiego, pozwalając orzęskom na wtórne zareagowanie na nowy

kierunek padania światła. W efekcie tego, po upływie ok. 12 minut, orzęski „przewędrowały” na nowe miejsce, tj. na ścianę kiuwety, która teraz zwrócona była w stronę światła. Obraz ruchu, jaki udało się w tych warunkach zarejestrować był wręcz zaskakujący, a jednocześnie zgodny z obrazem przedstawionym na planszy XIX b. Po jednej minucie działania światła niebieskiego, padającego z nowego kierunku, stwierdzono już przepływanie orzęsków reagujących na ten czynnik, na przeciwległą ścianę, zwróconą teraz bliżej źródła światła (plansza XXIII a). Ruch komórek niemal w 100% odbywa się bardzo regularnymi, zacieśnionymi helisami typu 5. Eksperyment wydaje się potwierdzać specyficzną rolę światła niebieskiego w kinezie *Paramecium bursaria*.

Jednocześnie też jako kontrolę przeprowadzono analogiczny eksperyment, zmieniając nie tylko kierunek padania światła, ale też i jego jakość. W tym celu, po 10 minutach działania światła niebieskiego 10^{12} kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, na wytworzony fragment „zielonego pierścienia”, w którym skupione były pierwotniaki, podziałano ze strony przeciwnej światłem białym 3500 lx. Po pewnym czasie stwierdzono sukcesywne przepływanie orzęsków w stronę źródła światła — plansza XXIII b. Ruch komórek wykazujący bardzo dużą zgodność z kierunkiem padania światła odbywał się wprawdzie po helisach, jednak zupełnie inaczej skręconych niż to miało miejsce w przypadku działania światła niebieskiego. Kształt i wielkość torów w tym przypadku są porównywalne z rezultatami, jakie uzyskano dla ruchów komórek *Paramecium bursaria* w świetle białym 3500 lx (pl. XIII a).

DYSKUSJA

Endosymbiotyczny pierwotniak *Paramecium bursaria*, stanowiący obiekt badań niniejszej pracy nie może być porównywany pod względem fototaktycznych właściwości z innymi organizmami wrażliwymi na światło, takimi np. jak bakterie purpurowe, sinice czy zielone glony. Złożony mechanizm ruchu u *Paramecium bursaria* trudny jest nawet do porównania z tak wyjątkowym organizmem, jakim jest *Euglena*.

Głównie za odrębnością pierwotniaka przemawia fakt, że jest to układ złożony z dwóch zasadniczo różnych komponentów tj: organizmu zwierzęcego i roślinnych endosymbiontów — glonów z rodzaju *Chlorella*. W świetle takich faktów należy, być może, oczekiwać, że obraz reakcji na bodźce zewnętrzne, w tym również i na światło, będzie sumą lub też

wypadkową reakcji poszczególnych partnerów związku symbiotycznego na dany czynnik.

Badania przeprowadzone nad *Paramecium bursaria* dotyczące wzajemnej zależności pokarmowej współpartnerów symbiozy wskazują na bardzo istotne znaczenie związku pomiędzy tymi partnerami (Ehret i Haller 1963, Pietelka 1965, Schneider 1964 ab, Park i inni 1967, Karakashian i inni 1968, Pado 1965, 1967, 1969). Na podstawie tych badań, biorąc pod uwagę charakter i trwałość symbiozy, rolę *Chlorella* u tego gatunku można porównywać z fizjologiczną rolą chloroplastów w komórkach roślinnych. W takim więc ujęciu kompleks symbiotyczny „*Paramecium bursaria* — glony” stanowi ciągle jeszcze mało poznany a jednocześnie bardzo interesujący układ modelowy, wygodny dla studiowania szeregu podstawowych procesów fizjologicznych, tym cenniejszy, że stosunkowo łatwy w hodowli i obdarzony jak wszystkie orzęski typu *Ciliata* dużą wrażliwością na różne czynniki środowiska.

Ruch organizmów fotosyntetyzujących może zależeć od światła w różny sposób. Różnorodność ta i związane z nią problemy terminologiczne przedstawiono we wstępie pracy.

Ostatnio podejmowane są konkretne przedsięwzięcia mające na celu uporządkowanie stosowanej terminologii, zwłaszcza że z każdym rokiem przybywa coraz więcej nowych pojęć i terminów w opisywaniu reakcji ruchowych. W końcowej fazie redagowania niniejszej pracy, autor otrzymał maszynopisy prac z tego zakresu (Diehn i inni 1977, Diehn 1978), które niebawem zostaną opublikowane. Z otrzymanych tą drogą informacji wynika, że powstał „Ad Hoc Committee on Behavioral Terminology”, który opracował zalecenia i wytyczne odnośnie nazewnictwa, bardzo przydatne w badaniach nad reakcjami ruchowymi mikroorganizmów.

Stosowana w niniejszych badaniach terminologia oparta została w zasadzie na podziale sugerowanym przez Bünninga i Nultscha a stosowanym powszechnie przez wielu badaczy europejskich.

Przedstawione w niniejszej pracy badania dotyczące fototaksji u *Paramecium bursaria* mają charakter behawiorystyczny. Do tej pory zagadnienia fototaksji u *Paramecium bursaria* były prawie nieznanne. Wichterman (1948) stwierdził jedynie, że organizm ten jest wrażliwy na światło w sensie pozytywnym. Następne badania Pado (1972) były pierwszymi tego rodzaju próbami określenia wpływu światła białego i monochromatycznego na ruch tych organizmów w sensie ilościowym. Saji i Oosawa (1974), studiowali reakcje osiadłych orzęsków wywołane zmianami w natężeniu światła oraz płynących w gradiencie oświetlenia.

Badania niniejsze są więc pierwszą próbą określenia reakcji zarówno populacji komórek jak i ruchów pojedynczych organizmów *Paramecium bursaria* na kierunek, natężenie i długość fali promieniowania. Dopiero porównanie danych dla całej populacji i pojedynczych osobników pozwala na określenie sposobu reagowania na światło.

Fotokineza. *Paramecium bursaria* jest, jak się okazuje, organizmem szybko pływającym. Szybkość poruszania się organizmów jednokomórkowych a zwłaszcza wiciowców i orzęsków jest bardzo duża, przy założeniu, że rozpatrujemy względną prędkość ruchu wyrażającą się wielokrotnością długości ciała na jednostkę czasu i tak np. *Amoeba* sp. porusza się z szybkością $0,5\text{--}5,5 \mu\text{m s}^{-1}$, co daje współczynnik wielokrotności długości ciała zaledwie 0,02. *Euglena* płynie z szybkością $115\text{--}235 \mu\text{m s}^{-1}$ — wsp. 3—5, inny wiciowiec *Peridinium thorianum* ok. $0,2 \text{ mm s}^{-1}$ — wsp. ok. 3, pływki śluzowca *Fuligo varians* nawet 1 mm s^{-1} — współczynnik wielokrotności ciała ponad 100. *Paramecium caudatum* $1,3 \text{ mm s}^{-1}$ — wsp. 6,0, natomiast *Paramecium bursaria* będący obiektem badań, zależnie od warunków oświetlenia pływa z szybkością $0,2\text{--}2,0 \text{ mm s}^{-1}$, co daje w przeliczeniu na współczynnik wielokrotności ciała odpowiednio 0,2—20,0. Wpływ oświetlenia na szybkość poruszania się orzęska nie ulega wątpliwości. Z danych eksperymentalnych przedstawionych w niniejszej pracy (por. ryc. 21) wynika, że szybkość poruszania się w ciemności, stosunkowo duża, bo wynosząca średnio $1,6 \text{ mm s}^{-1}$, jest bardzo silnie zredukowana w zakresie słabych i średnich natężeń światła (300—7000 lx). Prędkość ruchu zmniejsza się od 3—10-krotnie i pomimo występującej równocześnie ciasnej spiralizacji torów, również i szybkość komórki w stosunku do środowiska maleje (por. str. 47). W zakresie wysokich intensywności oświetlenia (35 000—50 000 lx) następuje odwrotne przyspieszenie szybkości ruchu w stosunku do ciemności. Ponieważ torry ruchu są w tych warunkach niemal proste, podobne do bardzo rozwiniętych helis typowych dla ciemności — stwierdzić można, że przyspieszenie dotyczy zarówno wielkości pokonywanego przez komórkę dystansu w jednostce czasu jak i prędkości w stosunku do ośrodka.

Termin „fotokineza” jak stwierdził Haupt (1959) używany jest przez licznych badaczy w różnym znaczeniu. Wbrew definicji pierwotnej (Bolte 1920) większość z nich określa pozytywną fotokinezę jako wzrost prędkości liniowej w świetle, natomiast negatywną fotokinezę jako spadek prędkości wywołany przez światło. Nultsch (1962 a) stwierdził natomiast, że określenia „przyspieszenie” i „opóźnienie” zależą od punktu odniesienia. W stosunku np. do „fotokinetycznego optimum”, gdzie osiągnięta jest prędkość maksymalna, wpływ jakiegokolwiek wyższego lub niższego natężenia światła byłby „negatywny”, dlatego też

Nultsch stosował prędkość w ciemności jako wartość odniesienia. Analogiczne wartości odniesienia przyjęto w niniejszej pracy, uznając, że zwolnienie szybkości ruchu w świetle w stosunku do szybkości odnotowanej dla kontroli z ciemności (0 lx) będzie fotokinezą negatywną, natomiast przyspieszenie ruchu w stosunku do ciemności uznane być musi jako fotokineza pozytywna. W takim rozumieniu światło działa na orzęski *Paramecium bursaria* dając efekt zarówno negatywnej jak i pozytywnej fotokinezy w zależności od swego natężenia.

Fototopotaksja. Pierwszą wskazówką sugerującą występowanie pozytywnej fototopotaksji były rezultaty badań populacji komórek wskazujące na wytwarzanie „plam fototaktycznych”. Grupowanie się organizmów w plamie świetlnej nie jest jednak bezspornym dowodem istnienia fototopotaksji, ponieważ podobne efekty wynikać mogą nie tylko z wpływu światła na kierunek ruchu, ale również z wpływu na szybkość (negatywna fotokineza), względnie z reakcji szokowej (fotofobotaksja i efekt pułapki świetlnej). Bezspornym dowodem na istnienie u *Paramecium* fototopotaksji jest analiza kierunków ruchu pojedynczych komórek (por. ryc. 20), i jak wykazano w zależności od intensywności oświetlenia występuje zarówno fototopotaksja dodatnia (2600—7000 lx) jak i ujemna (14 000—50 000 lx).

Fotofobotaksja. Rodzaj przeprowadzonych eksperymentów nie pozwala na szczegółową analizę tego ostatniego procesu. Na podstawie obserwacji, że orzęski mogą bez przeszkód opuszczać pole oświetlone, wydaje się, że istnienie fotofobotaksji jest mało prawdopodobne i wpływ „pułapkowania” w wytwarzaniu „plamy fototaktycznej” jest znikomy. Zagadnienie fotofobotaksji wymaga jednak dalszych badań w innym układzie doświadczalnym.

Zależność wymienionych typów reagowania na światło od natężenia tego czynnika można zestawić w sposób następujący:

Tworzenie „plamy fototaktycznej” (ryc. 11)	— intensywność progowa	90 lx
	— optimum reakcji pozytywnej	3000 lx
	— reakcja negatywna więcej niż	15 000 lx
Typy torów (ryc. 19)	— pojawienie się spiralizacji	300—500 lx
	— zanik spiralizacji	10 000—14 000 lx
Kierunkowość ruchu (ryc. 20)	— dotyczy kierunku „+”	2600—7000 lx
	— dotyczy kierunku „-”	14 000—50 000 lx
Szybkość (ryc. 21)	— próg zmniejszenia szybkości	100 lx
	— próg zwiększenia szybkości	10 000 lx

Poszczególne serie eksperymentów wykonywane były w ciągu szeregu lat, w różnych porach roku. Nawet przy użyciu jednakowego materiału stwarza to możliwość występowania pewnych różnic ilościowych między poszczególnymi seriami. Biorąc powyższe pod uwagę można jednak ogólnie oszacować, że progowe natężenia światła wywołujące pozytywne efekty leżą w granicach 100—300 lx, optimum fototaksji dodatniej mieści się w zakresie 3000—6000 lx, zmiana charakteru działania światła na negatywną rozpoczyna się przy ok. 10 000 lx.

Oszacowana intensywność progowa jest wyższa od podawanej dla innych organizmów. I tak Nultsch (1962 ab) określa ją dla kilku sinic z rodzaju *Phormidium* na 0,01—0,02 luksa. Podobny rząd wielkości podawany jest dla bakterii purpurowych i wynosi 0,03—0,05 lx, dla innych gatunków *Phormidium* Drews (1959) i Nultsch (1956, 1962 c, 1971) określają tę wartość na poziomie 1—30 lx, podobnie Heindingsfeld (1943) dla okrzemki *Navicula radiosa* określa tę wartość na 50 lx, podczas gdy Nultsch dla podobnych form *Navicula*, *Nitschia* i *Amphora* tylko 3—5 lx, Feinleib i Curry (1971 b) — 1 erg cm⁻² s⁻¹, Neuscheler (1967 b) dla *Micrasterias* — 10⁻⁴ do 10⁻⁵ luksa.

Z przedstawionego powyżej zestawienia widać, że wartości progów zerowego fototaksji mają charakter indywidualny właściwy dla badanego gatunku, a być może i szczepu. Nie bez znaczenia jednak wydaje się budowa samych ścian komórkowych danego organizmu. Znacznie większe ilości światła potrzebne do wywołania reakcji fototaktycznej u okrzemek *Navicula* są przypuszczalnie związane z małą przepuszczalnością światła przez krzemionkowy panczyk tego organizmu. Stosunkowo niskie wartości progowe podawane dla bakterii i sinic (0,01—0,05 lx) być może wiążą się ze specyficzną strukturą komórek prokariotycznych.

Stosunkowo wysoką wartość „progów zerowych” będącą u *Paramecium bursaria* w granicach ok. 150—250 lx być może da się wytłumaczyć choć częściowo tym, że bodziec świetlny zanim dotrze do fotoreceptora musi pokonać dość grubą i gęsto orzęsioną pelikulę pierwotniaka, a być może musi on nawet wniknąć do komórki glonu *Chlorella*. Wiąże się to z trzykrotną zmianą ośrodka o różnej gęstości i przepuszczalności optycznej.

Wraz ze wzrostem natężenia światła, wzrasta reaktywność fototaktyczna wyrażona ilością pozytywnie reagujących komórek albo przez kierunkowość pływania, albo też obu tych wartości jednocześnie. W takich przypadkach wykres, wyrażający stosunek pomiędzy natężeniem bodźca a reakcją jest zwykle wykładniczy. Jak wykazali Feinleib i Curry (1971 a) dla *Chlamydomonas* oraz Diehn i Tollin (1966) dla *Euglena*, reakcje fototaktyczne w pewnym zakresie natężeń przebiegają zgodnie z prawem Weber-Fechnera.

Fototopaktyczne optimum a jednocześnie punkt wysycenia dla *Para-*

mecium bursaria w świetle białym są osiągane również w dość wysokim zakresie intensywności (między 3500 a 7000 lx), powyżej tych wartości obserwuje się już częściowo hamujące działanie światła na proces wytwarzania „plam fototaktycznych”, a przy natężeniu rzędu 14 000 lx i wyższych reakcja nabiera ujemnego charakteru.

Dla różnych organizmów podane zostały natężenia wywołujące rewersję, co jest równoznaczne ze zmianą reakcji fototopotaktycznej z pozytywnej na negatywną. Natężenie rewersji, zwane inaczej natężeniem zwrotnym, wyznaczone dla sinic przez Nultscha (1961, 1962 c) wynosi 1000—10 000 lx, dla *Rhodospirillum rubrum* — 18 000 lx (Throm 1968) a dla *Micrasterias* — 4000 lx (Neuscheler 1967 b).

Na podstawie badań przeprowadzonych w różnych intensywnościach światła białego udało się stwierdzić zjawisko fototopotaksji ujemnej, nie znane dotychczas u *Paramecium bursaria*. Dane z tego zakresu były w ogóle bardzo skromne i jak już wspomniano z uwag Wichtermana (1953) wynika jedynie, że organizm ten jest fototaktycznie wrażliwy w sensie pozytywnym. Ograniczenie tej informacji jedynie do pozytywnego charakteru reakcji jest obecnie o tyle zrozumiałe, iż zjawisko rewersji u tego organizmu występuje przy stosunkowo wysokich natężeniach światła ok. 10 000 lx.

Kilku autorów stwierdziło (Buder 1917, Clayton 1959, Feinleib i Curry 1971 b), że niektóre organizmy reagują pozytywnie w świetle słabym a negatywnie w świetle silnym. Zwykle tak przeciwstawne reakcje są od siebie oddzielone węższymi lub szerszymi zakresami natężeń, w których komórki nie reagują w ogóle. Jest to zwłaszcza dobrze widoczne w badaniach populacji organizmów, gdzie takie stadium obojętności jest wyraźnie wyodrębnione.

W przypadku *Paramecium bursaria* wyznaczenie natężenia rewersji przy ok. 10 000 lx pozostaje w zgodności z przytoczonymi rezultatami dla innych organizmów. Również przejściu z pozytywnej do negatywnej fototopotaksji towarzyszy stadium zubożenia, które można też w jakimś stopniu rozumieć jako okresową niewrażliwość komórki. Pośrednio ten stan potwierdzają zarejestrowane torę w 10 000 lx (pl. XIV a); są one bardzo podobne do rejestrowanych w kontroli ciemniowej.

Jednakże dla wielu organizmów, nawet przy stosowaniu bardzo wysokich natężeń światła, nie udało się uzyskać reakcji negatywnej. Jak wynika z badań Nultscha (1956) Nultsch i inni (1971) i Feinleib i Curry (1971 b) u niektórych okrzemek jak i u *Chlamydomonas reinhardtii* nie uzyskano negatywnej topotaksji nawet powyżej 10^4 erg cm^{-2} s^{-1} . Zagadnienia związane z rewersją u organizmów fototaktycznie wrażliwych są jednak bardzo skomplikowane i wyznaczone dla

niej granice są dość labilne, gdyż wiąże się to z wpływem wielu czynników zarówno wewnętrznej jak i zewnętrznej natury. Złożoność tego problemu została wykazana w pracy Feinleib i Curry (1967).

Efekty działania światła na ruch *Paramecium bursaria* nie są natychmiastowe i w zbadanych reakcjach potrzebny jest co najmniej czas 10 s., aby uzyskać właściwe zauważalne efekty. Ogólnie sposób reagowania w czasie można podzielić na dwa rodzaje procesów:

a) procesy s z y b k i e, do których należą:

Zmiana typu toru (ryc. 14) 30 s.

Zmiana szybkości (ryc. 15 i 16) 30 s.

Ukierunkowanie torów (ryc. 18) 1 min.

Początki pojawiania się „plamy fototaktycznej” w świetle niebieskim (ryc. 11) 10 min.

b) procesy p o w o l n e:

Początek pojawiania się „plamy fototaktycznej” w zakresie długofalowym (ryc. 13) >90 min.

Jest rzeczą charakterystyczną, że obie grupy procesów wykazują inną wrażliwość spektralną. Widmo działania efektów szybkich leży w granicach 375—475 nm, z maksimum aktywności przy 450 nm, natomiast procesy powolne posiadają dwa maksima aktywności, w zakresie krótkofalowym i przy 680 nm.

Taka reakcja pierwotniaków *Paramecium bursaria* na światło o różnych długościach fali wydaje się wskazywać na istnienie dwóch wyraźnie wyodrębniających się systemów sterujących fototaksją.

I — system krótkofalowy. Fotoreceptorem w tym systemie może być ryboflawina lub karotenoidy. System ten jest szybko działający i bardzo czuły. Można oczekiwać, że służy do szybkiego naprowadzania orzęska w strefę oświetloną tzn. tam, gdzie zielone endosymbionty roślinne mogą uruchomić swoją produkcję fotosyntetyczną. Zostało to również potwierdzone w badaniach nad fotokinezą tych organizmów poddanych działaniu światła o różnej barwie.

II — system długofalowy. Ujawnia się znacznie później w czasie a jego widmo działania pokrywa się z widmem absorpcji chlorofilu (ryc. 13), ten system może być określany jako f o t o s y n t e t y c z n y.

Wzajemne działanie tych dwóch systemów wydaje się być zupełnie logiczne, zważywszy specyficzny charakter badanego obiektu, jakim jest endosymbiotyczny pierwotniak *Paramecium bursaria*.

System flawinowy, regulujący reakcjami ruchowymi, stwierdzony został w przypadku fototropizmu roślin a także jako system sterujący przemieszczeniami chloroplastów (Haupt i Schoenfeld 1962, Zurzycki 1962 ab, 1967). Wyjątkowo u niektórych obiektów (*Elodea*

i *Vallisneria*) daje się zauważyć dodatkowy, lecz drugorzędny, udział komponenty długofalowej w sterowaniu fotodinezą i przemieszczeniami chloroplastów (Seitz 1964, 1967).

Współdziałanie systemu krótkofalowego i fotosyntetycznego występuje także u bardzo wyspecjalizowanego pod względem reakcji fototaktycznych organizmu, jakim jest *Euglena* (Wolfen i Shin 1958), a także zostało stwierdzone dla fototaktycznych ruchów glonów przez Nultscha (1970).

W celu stwierdzenia natury chemicznej fotoreceptora czynnego w zakresie krótkofalowym zbadano widmo działania dla różnych organizmów. Pomimo występowania pewnych rozbieżności większość widm działania posiada jedną wspólną cechę — jedynie światło widzialne w krótszych długościach fali (aż do 550 nm), a u niektórych gatunków nawet bliski UV są aktywne.

Maksimum aktywności u form *Flagellata* jest zwykle pomiędzy 470 a 500 nm. Efektywność krótszych długości fali doprowadziła do tego, że ostatnio zaczęto uważać żółte pigmenty (karotenoidy oraz flawiny) jako potencjalne fotoreceptory. Maksymalna aktywność długości fali ok. 500 nm u większości *Flagellata* potwierdza pogląd, że karotenoidy lub karotenoproteidy są barwnikami fotoreceptorowymi (Bünning i Schneiderhöhn 1956, Halldal 1961, 1963, Forward 1973). Jednakże w widmie działania *Nitschia communis* Nultsch (1971) stwierdza silną aktywność promieniowania pomiędzy 370 a 380 nm, ponieważ maksimum pomiędzy 370 a 380 nm zbiegają się z maksimum absorpcji ryboflawiny. Diehn (1969) zaproponował flawiny lub flawoproteiny jako pigmenty fotoreceptorowe, przy czym karotenoidy mogą pełnić funkcję pigmentu oceniającego.

Interesującą kwestię stanowią też badania nad bezbarwnymi pseudo-plazmodiami *Dictyostelium discoideum* (Francis 1964, Poffi inni 1973). Wychodząc z założenia, że karotenoidy lub flawiny są jedynymi pigmentami fotoreceptorowymi, wyniki jakie otrzymali ci autorzy trudne są do zinterpretowania. Być może, reakcje fototaktyczne *Dictyostelium* kontrolowane są przez złożony system składający się z pigmentu fotoreceptorowego, być może flawiny, która absorbuje maksymalnie przy 465 nm oraz dodatkowego pigmentu „dopełniającego”, być może cytochromu „b”, który odpowiedzialny jest za zmiany absorpcyjne wykryte przy 428 i 445 nm (Poffi i Butler 1974).

W niniejszych eksperymentach stwierdzono też bardzo wyraźny wpływ światła niebieskiego na fototaksję *Paramecium bursaria* i to zarówno w badaniach dla całej populacji jak i dla indywidualnych komórek. Okazuje się, że w początkowym okresie reakcji działa tylko światło niebieskie z maksimum przy 450 nm, powodując przemieszczanie się

organizmów z miejsc ciemnych do strefy oświetlenia. Badania wykonane dla indywidualnych komórek pozwalają stwierdzić, że tory orzęsków są głównie typu 4, świadczące o wertykalnym ruchu w stosunku do strefy oświetlonej światłem niebieskim (plansze XVII b, XVIII ab, XIX ab). Reaktywność komórek, wyrażająca się procentem orzęsków wpływających w strefę działania światła niebieskiego jest tym wyższa im większa jest intensywność stosowanego światła. Taki sposób reagowania *Paramecium bursaria* umacnia pogląd, że fotoreceptorem czynnym w przemieszczaniu się komórek względem światła jest ryboflawina lub karotenoidy uczestniczące w systemie krótkofalowym (str. 69), jak również i to, że system ten jest bardzo czuły i szybko działający a ułatwia „naprowadzanie” orzęska w strefę oświetlenia. W tej początkowej fazie reakcji na światło, inne długości fali są nieaktywne. Dopiero w znacznie późniejszym okresie daje się zauważyć aktywność systemu fotosyntetycznego. Aktywność barwników fotosyntetycznych w sterowaniu procesami ruchowymi ujawnia się przede wszystkim u prokariotów. Wykazane to zostało przez Nultscha (1962 b) dla *Phormidium uncinatum* oraz przez Throma (1968) dla bakterii fotosyntetyzujących oraz dla szeregu innych organizmów. Nultsch (1970) podaje widmo działania fotokinezy dla *Phormidium uncinatum*, które zawierają fikoerytrynę, jak też dla gatunków *Phormidium sp.* zawierających tylko fikocyjaninę. Obydwie formy tych sinic reagują podobnie w zakresie światła widzialnego, wykazując bardzo wąskie maksima wrażliwości, wyższe w świetle niebieskim między 430 a 440 nm oraz w świetle czerwonym, przy długościach fali 670 i 680 nm.

Przytoczone powyżej maksima pokrywają się maksimum absorpcji chlorofilu „a” wewnątrz żywych komórek. W oparciu o takie rezultaty Nultsch (1970) wyciągnął wniosek, że u badanych organizmów w zakresie widzialnym głównym fotoreceptorem w fotokinezie jest chlorofil „a”. Ponieważ jednak ultrafiolet jest również fotokinetycznie czynny — aktywność ta wg Nultscha musi być spowodowana jakimś innym fotoreceptorem o nieznanym składzie chemicznym.

Podobnie przedstawia się widmo działania fotokinezy wyznaczone przez Nultscha dla okrzemek, wskazując również chlorofil „a” jako główny fotoreceptor. Również Throm (1968) wyznaczając widmo działania fotokinezy u bakterii purpurowych stwierdza, że obserwowane przez niego wyższe maksimum przy 510 nm i spadek przy 550 nm wskazują większy udział spirylloksantyny w fotokinezie niż w fotosyntezie.

Na podstawie rezultatów otrzymanych w niniejszej pracy można stwierdzić podobieństwo uzyskanego widma działania w fototaksji *Paramecium bursaria* do omawianych powyżej rezultatów Wolkena i Shina (1958), Nultscha (1962 ab) jak też Throma (1968).

W przypadku innych wolno żyjących bezbarwnych orzęsków z rodzaju *Paramecium*, światło nie wywiera żadnego wpływu na ich ruch. Pływanie u tych organizmów odbywa się z reguły po torach długich, wyprostowanych. U *Paramecium caudatum* w normalnych warunkach spiralizacja jest lewoskrętna. Przy pomocy wielu czynników można wywołać u tego organizmu rewersję rzęsek w różnej postaci, co prowadzi do zmian w charakterze ruchu (Brutkowska 1967, Dryl 1961, 1963 ab, 1970, Dryl i Bujwid-Ćwik 1972 ab, Dryl i Grębecki 1966; Dryl i Mehr 1976, Grębecki i inni 1967 b, Kuźnicki 1963, 1968). Podobnie różne zmiany torów otrzymano w procesie inwersji u tego organizmu (Grębecki i inni 1967 a).

W dostępnej literaturze dotyczącej mechanizmów ruchu wrażliwych na światło organizmów, autor nie spotkał się z podobną zmianą charakteru ruchu, jakie zaobserwowano u *Paramecium bursaria*. Orzęski te w ciemności pływają najczęściej torami długimi w postaci bardzo rozwiniętych helis, prawie linii prostych, natomiast w świetle w zasadniczy sposób zmieniają typ toru. Pływanie orzęsków, zwłaszcza w słabym świetle po torach w postaci helis o małym skoku jest chyba swoiste dla tego gatunku i być może, ma to jakiś związek z obecnością endosymbiotycznych glonów w komórce orzęska lub też może to być związane z odpowiednią lokalizacją fotoreceptora lub fotoreceptorów czynnych w procesie fototaksji i fotokinezy. Następną interesującą kwestię, która wpływa z niniejszych spostrzeżeń stanowią przyczyny powodujące stosunkowo szybką zmianę charakteru ruchu u *Paramecium bursaria* poddanego działaniu światła białego o niezbyt wysokich natężeniach. Przypuszczalnie może to mieć związek z mechanizmem przewodzenia samego bodźca wywołującego reakcję ruchową.

Zaobserwowano, że w ciągu kilkunastu sekund może dokonać się zmiana w sposobie poruszania się orzęska w świetle, podczas gdy w ciemności i pierwszych sekundach po włączeniu światła pierwotniaki płyną torami wydłużonymi, ale już po następnych sekundach ruch jest wolniejszy, natomiast wyraźnie wzrasta spiralizacja. Przypuszczać można, że ma to związek z powstawaniem potencjałów czynnościowych, co było obserwowane u *Paramecium caudatum* przez Kinoshita, Dryl i Naitoch (1964 abc).

Działanie światłem może polegać na lokalnej i narastającej depolaryzacji błony pierwotniaków *Paramecium bursaria*, co objawia się w zwolnieniu ruchu postępowego i prowadzi do zwiększonej spiralizacji. Za taką możliwością działania światła na błonę komórkową przemawiają badania Okumury (1964), który wykazał, że oporność błony komórkowej jak i rewersja ruchu rzęskowego pojawiły się pod wpływem drażnienia bodźcem świetlnym bezbarwnego orzęska *P. caudatum*.

Zagadnienie, gdzie zlokalizowany jest krótkofalowy fotoreceptor i jak następuje przekazanie z niego informacji do efektorów ruchowych, pozostaje problemem otwartym.

Lokalizacja systemu fotosyntetycznego w procesach powolnych nie jest dyskusyjna. Jest to system mieszczący się w endosymbiontach. Natomiast sposób przekazywania informacji nie jest jasny. Mało prawdopodobne wydaje się, aby mechanizm ten polegał na wzmożeniu produkcji ATP, czy zmianach w transporcie elektronów w łańcuchu fotosyntetycznym, jak to ma miejsce u prokariontów. Nie można natomiast wykluczyć działania fotosyntezy glonów na środowisko wewnętrzne i zewnętrzne *Paramecium bursaria* polegającego np. na produkcji węglowodanów czy tlenu.

Eksperymentując na organizmach symbiotycznych, takich jak *Paramecium bursaria*, należy również poważnie liczyć się z możliwością dużej aktywności fotosyntetycznej, zwłaszcza przy stosowaniu wysokich natężeń światła, na granicy punktu wysycenia fotosyntezy. W takich warunkach fotosyntetyczna aktywność będzie znacznie wyższa w polu oświetlonym niż na zewnątrz. W wyniku wzmożonej fotosyntezy bardzo szybko może rosnąć koncentracja (przynajmniej lokalnie) tlenu O_2 , a jednocześnie zmniejsza się koncentracja CO_2 , co prowadzi do powstawania chemicznych gradientów w układzie zamkniętym, to zaś może dawać migrację organizmów do, lub od światła, jako wynik pozytywnej lub negatywnej chemotaksji. Ewentualny wpływ chemotaksji jest tym bardziej prawdopodobny, gdy czas ekspozycji światłem jest odpowiednio długi. Natomiast w przypadku reakcji zamykającej się w kilkadziesiąt sekund udział chemotaksji wydaje się być bardzo mało prawdopodobny. Na przemieszczanie się orzęska *Paramecium bursaria* pod wpływem światła wpływają zmiany zachodzące w kinezie. Należy się liczyć z tym, iż mogą się na to nakładać pewne składniki taksji, a wówczas każdy z tych składników może mieć różne mechanizmy komórkowe. Podobne wnioski zostały wysunięte w badaniach nad przemieszczaniem się otwornic (*Foraminifera*) z rodzaju *Amphistegina* pod wpływem działania takich czynników jak światło i temperatura (Zmiri i inni 1974).

Niniejsza praca nad fototaksją *Paramecium bursaria* jest pierwszą próbą określenia reakcji fototaktycznych w szerszym zakresie z uwzględnieniem ilościowych danych reakcji. Otrzymanych rezultatów nie da się, niestety, wprost porównywać z rezultatami badań nad fototaksją innych organizmów zwierzęcych współżyjących z endosymbiotycznymi glonami, ze względu na brak danych tego rodzaju w literaturze. Przypisywać to należy bez wątpienia trudnościom, jakie wyłaniają się już w trakcie laboratoryjnej hodowli takich organizmów, jak też i ze względu na złożoność budowy symbiotycznych organizmów.

Ciągle jeszcze istnieje bardzo wiele pytań bez odpowiedzi w dziedzinie ruchów związanych ze światłem, a szeregi proponowanych mechanizmów stanowi jedynie hipotezy robocze. Przekaz pobudzenia od receptora do efektoru pozostaje problemem nie rozwiązany niemalże we wszystkich dotychczas badanych systemach. Ponieważ jest wiele różnych mechanizmów uczestniczących w ruchu i fototaksji, nie można oczekiwać uniwersalnego modelu przekazu pobudzenia (Creutz i Diehn 1976, Diehn 1978, Hildebrandt i Dancher 1975, Nultsch 1975).

Prowadzone badania na tych samych organizmach pod różnym kątem jak i przy zastosowaniu coraz to nowszych metod oraz stosowanie do badań organizmów, które nie były dotychczas opracowywane, prowadzą do znacznego postępu i dają możliwości zaproponowania wielu obiecujących modeli, które na ten postęp wpływają.

Ciągle aktualne hipotezy o symbiotycznym pochodzeniu chloroplastów drogą ewolucyjnych przekształceń endosymbiotycznych sinic, którą to hipotezę po raz pierwszy wysunął Mereszkowsky (1905), pozwalają przypuszczać, że z zachowania się pierwotniaków zawierających endosymbiotyczne glony można będzie wyciągnąć wartościowe dane o fototaksji, zarówno glonów jak i chloroplastów.

STRESZCZENIE

Badania podjęte w niniejszej pracy dotyczyły fototaksji i fotokinezy u orzęska *Paramecium bursaria*. Organizm ten przytaczany jest często jako przykład endosymbiozy obligatoryjnej, gdzie współzycie przebiega między orzęskiem a zielonymi glonami z rodzaju *Chlorella*. W ramach bardzo ścisłej współzależności obu partnerów symbiozy orzęska i glonów, produkcja fotosyntetyczna tych ostatnich ma istotne znaczenie w bilansie pokarmowym całego kompleksu symbiotycznego.

Jak wynika z licznych prac nad fototaksją glonów, fotoreceptorami światła w reakcjach ruchowych są barwniki fotosyntetyczne zlokalizowane w chloroplastach. W przypadku *Paramecium bursaria* fizjologiczną rolę chloroplastów spełniają endosymbiotyczne glony. Stąd też powstało pytanie, czy zmiany w fotosyntezie glonów mogą wpływać na reakcje ruchowe, jeżeli glony te są jednak odrębnymi organizmami.

Studiowane były efekty światła, zarówno na populację komórek jak też i na pojedyncze organizmy. Stosowano światło białe oraz monochromatyczne. Stwierdzono, że orzęsek ten może reagować fototaktycznie pozytywnie i negatywnie zależnie od zastosowanego natężenia światła.

Eksperymenty ze światłem barwnym, których ostatecznym celem by-

ło określenie widma działania promieniowania w procesie tworzenia się „plam fototaktycznych” doprowadziły do wyodrębnienia w reakcji pierwotniaków *Paramecium bursaria* dwóch etapów fototaksji.

A — „fototaksja krótkoterminowa” — zachodzi bardzo szybko w czasie i całkowity okres akumulacji komórek do osiągnięcia stanu stacjonarnego wynosi około 10 min.

B — „fototaksja długotrwała” — w której całkowity czas przegrupowania i osiągnięcie stanu stacjonarnego następuje po około 3,5 godz.

Okazuje się, że „fototaksja krótkoterminowa” ujawnia się bardzo szybko w czasie, ale obserwować ją można tylko w promieniowaniu krótkofalowym w zakresie 375 do 475 nm. Pewną aktywność stwierdzono też w UV. Dopiero po 90 min. występują pierwsze oznaki działania światła czerwonego z maksimum około 680 nm.

Taka reakcja pierwotniaków *Paramecium bursaria* na światło o różnych długościach fali wydaje się wskazywać na istnienie u nich dwóch wyraźnie wyodrębniających się systemów sterujących fototaksją.

I — system krótkofalowy. Fotoreceptorem w tym systemie może być ryboflawina lub karotenoidy. System ten jest bardzo czuły i szybko działający, można oczekiwać, że służy on do szybkiego naprowadzania orzęska w strefę oświetlenia tzn. tam, gdzie roślinne endosymbionty mogą uruchomić swoją produkcję fotosyntetyczną.

II — system długofalowy. Ujawnia się znacznie później w czasie a jego widmo działania pokrywa się z widmem absorpcji chlorofilu, ten system może być określony jako f o t o s y n t e t y c z n y.

Działanie tych dwóch systemów wydaje się być zupełnie logiczne, zważywszy specyficzny charakter badanego obiektu, jakim jest endosymbiotyczny pierwotniak *Paramecium bursaria*.

Sledząc ruch pojedynczych komórek *Paramecium bursaria* w stosunkowo słabym świetle białym (2600 lx), stwierdzić można, że orzęski w pierwszej chwili reagują na strefę oświetlenia starając się możliwie szybko do niej dopłynąć. Dopiero w drugiej fazie następuje ukierunkowanie ruchu względem światła. Kierunkowemu płynięciu orzęsków towarzyszy wzmoczenie spiralizacji z jednoczesnym zwolnieniem szybkości ruchu.

Stwierdzono też, że charakter ruchu zależy od natężenia światła białego. W ciemności (0 lx) jak i w bardzo słabym świetle (150 lx) orzęski pływają torami wg typu 1, tj. długiej rozwiniętej helisy i te tory w zasadniczy sposób dominują w obrazie reakcji. Bliższa analiza światła 150 lx wskazuje jednak, że w tym natężeniu zaczyna się już zaznaczać pewna tendencja do „zwijania” toru, co jest już zupełnie wyraźnie widoczne w wyższych intensywnościach światła, ponadto tu i ówdzie zaczynają się pojawiać tory typu 4, świadczące o wertykalnych ruchach orzęsków

względem strefy oświetlenia. W tych więc granicach ok. 150 lx leży najprawdopodobniej próg fototaktycznej wrażliwości orzęsków *Paramecium bursaria*. W intensywnościach światła białego 300 — 1500 lx znikają prawie zupełnie tory typu 1. W miarę wzrostu natężenia światła aż do 10 000 lx obserwuje się pływanie torami w postaci mniej lub bardziej zwiniętych spiral, a w świetle 2600 — 7000 lx obserwuje się negatywną fotokinezę.

Obserwacje zachowania się orzęsków *Paramecium bursaria* w świetle 10 000 lx wskazują, że w tej wartości mieści się natężenie rewersji. Po przekroczeniu tego natężenia światła reakcja zmienia się z pozytywnej na negatywną.

Stosując światło barwne o różnych długościach fali: 450, 550, 675 i 750 nm, reakcję rejestrowano w 5 wartościach kwantowych: 10^4 , 10^6 , 10^8 , 10^{10} , 10^{12} kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$. Stwierdzono, że jedynie światło niebieskie (450 nm) wywiera wpływ na kinezę orzęsków *Paramecium bursaria*. Pozostałe długości fali w tych eksperymentach okazały się bez wpływu. Tak więc działanie światła niebieskiego uznać należy za bardzo efektywne w procesie pozytywnej fototopotaksji, co pozostaje w pełnej zgodności z rezultatami otrzymanymi w eksperymentach nad tworzeniem się „plam fototaktycznych” oraz wykreślonym widmem działania, z którego wynika silne działanie światła niebieskiego w procesie akumulacji orzęsków w miejscu oświetlenia.

SUMMARY

The investigations presented in this paper deal with phototaxis and photokinesis in the ciliate *Paramecium bursaria*. This organism has often been cited as an example of obligatory endosymbiosis, where there is co-existence between the ciliate and the green algae of the order *Chlorella*. Within a very close correlation of the two partners of symbiosis — the protozoan and the algae, the photosynthetic production of the latter is of great significance in the balance of food of the whole symbiotic complex.

As it results from numerous papers on phototaxis in algae, photosynthetic pigments placed in chloroplasts function as the photoreceptors of light in locomotive reactions. In case of *Paramecium bursaria*, endosymbiotic algae play the physiological role of the chloroplasts. Hence a question has arisen if the changes in the photosymbiosis of algae, can effect the locomotive reactions, since these algae are separate organisms after all.

The effects of light on the population of cells as well as on single organisms were examined. White light, as well as monochromatic, was applied. It has been found out that *Paramecium bursaria* can react phototactically in a positive or negative way, depending on the applied intensity of light.

The experiments with colour light, whose final aim was to define the "action spectrum" of radiation in the process of the appearance of "phototactic spots", have brought to distinguish two phases of phototaxis in the reaction of *Paramecium bursaria*:

A — "short-time" phototaxis — occurring very quickly; the whole period of the accumulation of cells to attain the stationary state is ca. 10 min.

B — "long-time" phototaxis — in which alle the regrouping and attaining the stationary state come after ca. 3 hrs 30 min.

It becomes evident that the "short-time" phototaxis manifests itself very soon, but it can be observed only in the short-wave-length radiation of 375 — 475 nm. Some activity has also been found in u. v. light. The first symptoms of the acting of red light with a maximum of 680 nm come after 90 min.

This kind of response of *Paramecium bursaria* to the light of different wavelengths seems to suggest the existence of two clearly distinguishable systems steering the phototaxis:

(1) — a short-wave system. Riboflavin or carotenoids may function here as a photoreceptor. This system is very sensitive and it works fast; we may expect that it serves to conduct the ciliate quickly to the illuminated zone where the plant endosymbionts can start their photosynthetic production.

(2) — a long-wave system. It occurs much later in time and its action spectrum can be identified with the chlorophyll absorption spectrum; this system may be called p h o t o s y n t h e t i c.

The action of these two systems seems to be quite logical in view of the specific character of the examined object, as the endosymbiotic protozoan *Paramecium bursaria* appears to be.

Watching the movement of single cells of *Paramecium bursaria* in a relatively weak white light (2600 lux), we may state that the ciliates are affected at first by the illuminated zone, which they try to reach as quickly as possible; the orientation of the movement towards the light comes only in the second phase. The directionally oriented „swimming" of the ciliates is accompanied by intensified spiralling with a reduction in the speed of the movement at the same time.

It has also been found out that the character of the movement depends on the intensity of white light. In darkness (0 lux), as well as in

very weak light (150 lux), the ciliates follow the paths according to type I (i. e. a long uncoiled helix) and these paths dominate mostly in the picture of the reaction. A closer analysis of the light (150 lux) shows, however, that there begins a certain tendency to "coil" the path, which is clearly visible in higher light intensities. Moreover, testifying to the vertical movements of the ciliates towards the illuminated zone, the paths of type 4 begin to appear here and there. Most probably then, within the range of about 150 lux lies the phototactic threshold of sensitivity in *Paramecium bursaria*. The paths of type I disappear almost completely in the white light intensities of 300 — 1500 lux. As the intensity of light increases up to 10 000 lux, we can observe the movements of the protozoans following the paths in the form of more or less coiled spirals, whereas in the light of 2600 — 7000 lux a negative photokinesis can be observed.

Observations of the behaviour of *Paramecium bursaria* in the light of 10 000 lux show that in this value the intensity of reversion is enclosed; after exceeding this intensity of light the reaction changes from positive to negative.

Applying colour light of different wave-lengths: 450, 550, 675, 750 nm, the reaction has been recorded in the five quantum values: 10^4 , 10^6 , 10^8 , 10^{10} , 10^{12} quantum $\text{cm}^{-2} \text{sec}^{-1}$. It has been found out that only blue light (450 nm) effects the kinesis of *Paramecium bursaria*. We can accept then the action of blue light as very effective in the process of positive phototaxis. This remains in accordance with the results obtained from the experiments on the formation of „phototactic spots”, as well as with the defined action spectrum from which arises a strong influence of blue light in the accumulation process of the ciliates in the illuminated place.

LITERATURA

- Aderhold R., 1888. Beitrag zur Kenntnis richtender Kräfte bei der Bewegung niederer Organismen. Jena. Z. Naturw. 22: (N. F. 15) 310—342.
- Bendix S., 1960. Pigments in Phototaxis. M. B. Allen (red.). W: Comparative Biochemistry of Photoreactive Systems, Academic Press, New York, London 107—127.
- Bolte E., 1920. Über die Wirkung von Licht und Kohlensäure auf die Beweglichkeit grüner und farbloser Schwärmer. Jb. wiss. Bot. 59: 287—324.
- Bomford R., 1965. Infection of alga-free *Paramecium bursaria* with strain of *Chlorella*, *Scenedesmus*, and a yeast. J. Protozool. 12: 221—224.
- Bragg A. N., 1936. Some morphological variations in *Paramecium bursaria* (Ehrenberg). Arch. Protistenk. 88: 69—75.
- Brutkowska M., 1967. The effect of certain salt solutions and osmotic stimuli on ciliary movement and food intake in *Paramecium caudatum*. Acta Protozool. 4: 353—364.
- Buder J., 1915. Zur Kenntnis des *Thiospirillum jenense* und seiner Reaction auf Lichtreise. Jb. wiss. Bot. 56: 529—584.
- Buder J., 1917. Zur Biologie des Bakteriopurpurins und der Purpurbakterien. Jb. wiss. Bot. 58: 525—628.
- Bünning E., Schneiderhöhn G., 1956. Über das Aktionspektrum der phototaktischen Reactionen von *Euglena*. Arch. Microbiol. 24: 80—90.
- Checucci A., 1973. Photomovement Methodology. W: Primary Molecular Events in Photobiology. (A. Checucci i R. A. Weale red.). Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam 217—244.
- Checucci A., Colombetti G., Del Carratore G., Ferrara R., Lenzi F., 1974. Red light-induced accumulation of *Euglena gracilis*. Photochem. Photobiol. 19: 223—226.
- Checucci A., Colombetti G., Ferrara R., Lenzi F., 1976. Action spectra for photoaccumulation of green and colorless *Euglena*: Evidence for identification of receptor pigments. Photochem. Photobiol. 23: 51—54.
- Clayton R. K. 1959. Phototaxis in purple bacteria. W: Handbuch der Pflanzenphysiologie, (W. Ruhland red.). Vol. 17/1. 371—387. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Clayton R. K., 1964. Phototaxis in microorganisms. W: Photophysiology. (A. C. Giese red.), Vol. II. Academic Press New York, London 51—77.
- Creutz C., Diehn B., 1976. Motor responses to polarized light and gravity sensing in *Euglena gracilis*. J. Protozool. 23: 552—556.

- Davenport D., Wirght C. A., Causley D., 1962. Technique for the study of the behavior of motile microorganisms. *Science* 135: 1059—1060.
- Davenport D., Culler G. J., Greaves J. O. B., Forward R., Hand W. G., 1970. The investigation of the behavior of microorganisms by computerized television. *Trans. Biomed. Eng. IEEE BME-17*: 230—237.
- Diehn B., 1969. Action spectra of the phototactic responses in *Euglena*. *Biochim. Biophys. Acta* 177: 136—143.
- Diehn B., 1970. Mechanism and computer simulation of the phototactic accumulation of *Euglena* in a beam of light. *Photochem. Photobiol.* 11: 407—418.
- Diehn B., 1973. Phototaxis and Sensory transduction in *Euglena*. *Science* 181: 1009—1015.
- Diehn B., 1978. Photic responses and photosensory transduction in motile Protists. W: *Handbook of Sensory Physiology VII/6* (H. Autrum red.). Springer-Verlag, Berlin — Heidelberg — New York (w druku).
- Diehn B., Tollin G., 1966. Phototaxis in *Euglena*. II. Physical factors determining the rate of phototactic response. *Photochem. Photobiol.* 5: 523—535.
- Diehn B., Feinleib M., Haupt W., Hildebrand E., Lenci F., Nultsch W., 1977. Terminology of behavioral responses in motile microorganisms. *Photochem. Photobiol.* (w druku).
- Drews G., 1957. Die phototaktischen Reactionen einiger *Cyanophyceen*. *Ber. dt. bot. Ges.* 70: 259—262.
- Drews G., 1959. Beiträge zur Kenntnis der phototaktischen Reactionen der *Cyanophyceen*. *Arch. Protistenk.* 104: 389—430.
- Dryl S., 1958. Photographic registration of movement of *Protozoa*. *Bull. Acad. Pol. Sc. Cl. II. Sér sc. biol.* 6: 429—430.
- Dryl S., 1961. Chemotaxis in *Paramecium caudatum* as adaptative response of organisms to its environment. *Acta Biol. Exp.* 21: 75—83.
- Dryl S., 1963a. Oblique orientation of *Paramecium caudatum* in electric field. *Acta Protozool.* 1: 193—199.
- Dryl S., 1963 b. Contributions to mechanisms of chemotactic response in *Paramecium caudatum*. *Animal Behavior.* 11: 393—396.
- Dryl S., Bujwid-Ćwik K., 1972 a. Effects of detergent cetyl trimetyl ammonium bromide on motor reactions of *Paramecium* to the potassium/calcium factor in external medium. *Bull. Acad. Pol. Sc. Cl. II* 20: 551—555.
- Dryl S., Bujwid-Ćwik K., 1972 b. Effects of detergents on excitability and motor response in protozoa. *Acta Protozool.* 11: 367—372.
- Dryl S., Grębecki A., 1966. Progress in the study of excitation and response in ciliates. *Protoplasma.* 62: 255—284.
- Dryl S., Mehr K., 1976. Physiological and toxic effects of detergents on *Paramecium caudatum*. *Acta Protozool.* 15: 501—513.
- Ehret C. F., de Haller G., 1963. Origin development and maturation of organelles and organelle systems of the cell surface in *Paramecium*. *J. Ultrastr. Res. Suppl.* 6: 3—42.
- Engelmann Th. W., 1882. Über Licht-und Farbenperception niederster Organismen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 29: 387—400.
- Engelmann Th. W., 1883. *Bacterium photometricum*. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 30: 95—124.
- Engelmann Th. W., 1888. Die Purpurbakterien und ihre Beziehungen zum Licht. *Bot. Ztg.* 46: 661—669.

- Feinleib M. E., 1975. Phototactic response of *Chlamydomonas* to flashes of light I. Response of cell populations. Photochem. Photobiol. 21: 351—354.
- Feinleib M. E. H., Curry G. M. 1967. Methods for measuring phototaxis of cell populations and individual cells. Physiol. Plant. 20: 1083—1095.
- Feinleib M. E. H., Curry G. M. 1971 a. The nature of the photoreceptor in phototaxis. W: Handbook of Sensory Physiology. (W. R. Lowenstein red.). Vol. I. Springer, Berlin, Heidelberg, New York. 366—395.
- Feinleib M. E. H., Curry G. M. 1971 b. The relationship between stimulus intensity and orientated phototactic response (topotaxis) in *Chlamydomonas*. Physiol. Plant. 25: 346—352.
- Fergusson M. L., 1957. Photographic technique for quantitative studies of paramecia and other motile cells. Physiol. Zool. 30: 208—215.
- Forward R. B. Jr., 1970. Change in the photoresponse action spectrum of the *Dinoflagellate Gyrodinium dorsum* Kofoid by red and far-red light. Planta (Berl). 92: 248—258.
- Forward R. B. Jr., 1973. Phototaxis in *Dinoflagellate* action spectra as evidence for two pigments system. Planta (Berl.). 111: 167—178.
- Forward R. B., Davenport D. 1968 a. Short-term photic regulation of a receptor mechanism in a dinoflagellate. Biol. Bull. 133: 150—165.
- Forward R. B., Davenport D. 1968 b. Red and far-red light effects on a short — term behavioral response of a dinoflagellate. Science 161: 1028—1029.
- Francis D. W., 1964. Some studies on phototaxis of *Dictyostelium*. J. Cell Comp. Physiol. 64: 131—138.
- Górski F., 1962. Fizjologia roślin, tom. I. Warszawa. PWN.
- Grębecki A., Kuźnicki L., Mikołajczyk E., 1967 a. Some observations on the inversion of spiralling in *Paramecium caudatum*. Acta Protozool. 4: 383—388.
- Grębecki A., Kuźnicki L., Mikołajczyk E., 1967 b. Right spiralling induced in *Paramecium* by Ni ions and the hydrodynamics of the spiral movement. Acta Protozool. 4: 389—408.
- Haeder D. -P., 1974. Participation of two photosystems in the photo-phobotaxis of *Phormidium uncinatum*. Arch. Microbiol. 96: 255—266.
- Halldal P., 1958. Action spectra of phototaxis and related problems in *Volvocales*, *Ulva-Gametes* and *Dinophyceae*, Physiol. Plant. 11: 118—153.
- Halldal P., 1961. Ultraviolet action spectra of positive and negative phototaxis in *Platymonas subcordiphormis*. Physiol. Plant. 14. 133—139.
- Halldal P., 1962. Taxes. W: Physiology and Biochemistry of Algae. (R. A. Lewin red.). Academic Press, New York, London. 583—593.
- Halldal P., 1963. Zur frage des photoreceptors bei der Topophototaxis der Flagellaten. Ber. dtsh. bot. Ges. 76: 323—327.
- Halldal P., 1964. Phototaxis in *Protozoa*. W: Biochem. and Physiol. of Protozoa. (S. H. Hutner red.). Vol. 3. Academic Press, New York, London 277—297.
- Hand W. G., Davenport D., 1970. The experimental analysis of phototaxis and photokinesis in flagellates. W: Photobiology of Microorganisms. (P. Halldal red.) Wiley London 253—282.
- Hand W. G., Collard P. A., Davenport D., 1965. The effects of temperature and salinity changes on swimming rate in the dinoflagellates *Gonyaulax* and *Gyrodinium*. Biol. Bull. 128: 90—101.
- Haupt W., 1959. Die phototaxis der Algen. W: Handbuch der Pflanzenphysiologie. (W. Ruhland red.). Vol. 17/1. Springer, Heidelberg 318—370.

- Haupt W., 1965. Perception of environmental stimuli orientating growth and movement in lower plants. *Ann. Rev. Pl. Physiol.* 16: 267—290.
- Haupt W., 1966. Phototaxis in plants. *Int. Rev. of Cytol.* 19: 267—299.
- Haupt W., Schoenfeld J., 1962. Über das Wirkungsspektrum der „negativen Phototaxis“ der *Vaucheria* Chloroplasten. *Ber. dtsh. bot. Ges.* 75: 14—23.
- Haxo F. T., Glendenning K. A., 1953. Photosynthesis and phototaxis in *Ulva lactuca* gametes. *Biol. Bull.* 105: 103—114.
- Heidingsfeld J., 1943. Phototaktische Untersuchungen an *Navicula radiosa*. Diss. Breslau.
- Hildebrand E., Dancher N., 1975. Two systems controlling behavioural responses of *Halobacterium halobium*. *Nature* 257: 46—48.
- Holmes S. J. 1903. Phototaxis in *Volvox*. *Biol. Bull.* 4: 319—326.
- Karakashian S. J. 1963. Growth of *Paramecium bursaria* as influenced by the presence of algal symbionts. *Physiol. Zool.* 36: 52—67.
- Karakashian S. J. Karakashian M. W., 1965. Evolution and symbiosis in the genus *Chlorella* and related algae. *Evolution* 19: 368—377.
- Karakashian S. J., Karakashian M. W., Rudzińska M. A., 1968. Electron observations on the symbiosis of *Paramecium bursaria* and its intracellular algae. *J. Protozool.* 15 (1): 113—128.
- Karakashian S. J., Siegel R. W., 1965. An genetic approach to endocellular symbiosis. *Exp. Parasit.* 17: 103—122.
- Kinosita H., Dryl S., Naitoch Y., 1964 a. Changes in the membrane potential and the responses to stimuli in *Paramecium*. *J. Fac. Sc. Univ. Tokyo.* Sec. IV. 10: 291—301.
- Kinosita H., Dryl S., Naitoch Y., 1964 b. Relation between the magnitude of membrane potential and ciliary activity in *Paramecium*. *J. Fac. Sc. Univ. Tokyo,* Sec. IV, 10: 303—309.
- Kinosita H., Dryl S., Naitoch Y., 1964 c. Spontaneous change in membrane potential of *Paramecium caudatum* induced by barium and calcium ions. *Bull. Acad. Pol. Sc. Cl. II,* 12: 459—461.
- Klebs G., 1885. Über die Bewegung und Schleimbildung der Desmidiaceen. *Biol. zbl.* 5: 353—367.
- Kuźnicki L., 1963. Reversible immobilization of *Paramecium caudatum* evoked by nickel ions. *Acta Protozool.* 1: 301—312.
- Kuźnicki L., 1968. Behaviour of *Paramecium* in gravity fields. I. Sinking of immobilized specimens. *Acta Protozool.* 6: 109—117.
- Lindes D. A., Diehn B., Tollin G., 1965. Phototaxigraph: recording instrument for determination of the rate of response of phototactic microorganisms to light of controlled intensity and wavelength. *Rev. Scient. Instrum.* 36: 1721—1725.
- Loefer J. B., 1934. Bacteria-free culture of *Paramecium*. *Science* 80: 206—207.
- Loefer J. B., 1936 a. Bacteria-free culture of *Paramecium bursaria* and concentration of the medium as a factor in growth. *J. Exp. Zool.* 72: 387—407.
- Loefer J. B., 1936 b. Isolation and growth characteristics of the „Zoochlorella“ of *Paramecium bursaria*. *Amer. Naturalist.* 70: 184—188.
- Loefer J. B., 1936 c. Effect of certain „peptone“ media and carbohydrates on the growth of *Paramecium bursaria*. *Arch. Protist.* 87: 142—150.
- Loefer J. B., 1937. Effect of hydrogen-ion concentration on the growth and morphology of *Paramecium bursaria*. *Arch. Protistenk.* 90: 185—193.
- Luntz A., 1931 a. Untersuchungen über die Phototaxis. I. Die absoluten Schwel-

- lerwerte und die relative Wirksamkeit von Spektralfarben bei grünen und farblosen Einzelligen. Z. vergl. Physiol. 14: 68—92.
- Luntz A., 1931 b. II. Lichtintensität und Schwimmggeschwindigkeit bei *Eudorina elegans*. Z. vergl. 15: 652—678.
- Luntz A., 1932. III. Die Umkehr der Reactionsrichtung bei starken Lichtintensitäten und ihre Bedeutung für eine allgemeine Theorie der photischen Reizwirkung. Z. vergl. Physiol. 16: 204—217.
- Marbach I., Mayer A. M., 1970. Direction of phototaxis in *Chlamydomonas reinhardi* and its relation to cell metabolism. Phycologia 9: 255—260.
- Massart J., 1902. Versuch einer Einteilung der nicht-nervösen Reflexe. Biol. Zbl. 22: 9—23, 41—52, 65—79.
- Mereszkowsky C., 1905. Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. Biol. Zbl. 25: 593—604.
- Meyers J. 1953. Growth characteristic of algae in relation to the problem of mass culture. In Algal culture from laboratory to pilot. plant. Carnegie Inst. Washington. Publ. 600: 37—54.
- Mikołajczak E., Diehn B., 1975. The effect of potassium iodide on photophobic responses in *Euglena*: Evidence for two photoreceptor pigments. Photochem. Photobiol. 22: 269—271.
- Molisch H., 1907. Die Purpurbakterien nach neuen Untersuchungen. Gustav Fischer. Jena.
- Muscatine L., Karakashian S. J., Karakashian M. W., 1967. Soluble extracellular products of algae symbiotic with a ciliate, a sponge and a mutant hydra. Comp. Biochem. Physiol. 20: 1—12.
- Nagel W. A., 1901. Phototaxis, Photokinesis und Unterschiedsempfindlichkeit. Bot. Ztg. 59: 287—299.
- Neuscheler W., 1967 a. Bewegung und Orientierung bei *Micrasterias denticulata* Bréb im Licht. I. Zur Bewegungs- und Orientierungsweise. Z. Pflanzenphysiol. 57: 46—59.
- Neuscheler W., 1967 b. Bewegung und Orientierung bei *Micrasterias denticulata* Bréb. im Licht. II. Photokinesis und Phototaxis. Z. Pflanzenphysiol. 57: 151—171.
- Nultsch W., 1956. Studien über die Phototaxis der Diatomeen. Arch. Protistenk. 101: 1—68.
- Nultsch W., 1961. Der Einfluss des Lichtes auf die Bewegung der Cyanophyceen. I. Photo-topotaxis von *Phormidium autumnale*. Planta 56: 632—647.
- Nultsch W., 1962 a. Der Einfluss des Lichtes auf die Bewegung des Cyanophyceen. II. Photokinesis bei *Phormidium autumnale*. Planta 57: 613—623.
- Nultsch W., 1962 b. Der Einfluss des Lichtes auf die Bewegung der Cyanophyceen. III. Photophobotaxis von *Phormidium uncinatum*. Planta 58: 647—663.
- Nultsch W., 1962 c. Phototaktische Aktionspektren von Cyanophyceen. Ber. dtsh. bot. Ges. 75: 443—453.
- Nultsch W., 1970. Photomotion of microorganisms and its interactions with photosynthesis. W: Photobiology of Microorganisms (P. Halldal red.). Wiley-Interscience, London, New York, Sydney, Toronto 213—249.
- Nultsch W., 1971. Phototactic and photokinetic action spectra of the diatom *Nitzschia communis*. Photochem. Photobiol. 14: 705—712.
- Nultsch W., 1973 a. Relations between photomotion and photosynthesis. W: Primary Molecular Events in Photobiology. (A. Checcucci i R. A. Weale red.). Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam 245—273.

- rubrum* obtained after long-term anaerobic, dark growth. J. Bacteriol. 108: 1348—1356.
- Vávra J., 1956. Ist der Photoreceptor eine unabhängige Organelle der Eugleniden? Arch. Microbiol. 25: 223—225.
- Wichterman R., 1948. The biological effects of x-rays on mating types and conjugation of *Paramecium bursaria*. Biol. Bull. 94: 113—127.
- Wichterman R., 1953. The Biology of *Paramecium*. The Blakiston Company, New York.
- Wolken J. J., Shin E., 1958. Photomotion in *Euglena gracilis*. I. Photokinesis. II. Phototaxis. J. Protozool. 5: 39—46.
- Wood D. C., 1976. Action spectrum and electrophysiological responses correlated with the photophobic response of *Stentor coeruleus*, Photochem. Photobiol. 24: 261—266.
- Zmiri A., Kahan D., Hochstein S., Reiss Z., 1974. Phototaxis and thymotaxis in some species of *Amphistegina* (*Foraminifera*). J. Protozool. 21: 133—138.
- Zurzycki J., 1955. Chloroplast arrangement as a factor in photosynthesis. Acta Soc. Bot. Pol. 24: 27—63.
- Zurzycki J., 1962 a. The action spectrum for the light dependent movements of chloroplasts in *Lemna trisulca* L. Acta Soc. Bot. Pol. 31: 489—538.
- Zurzycki J., 1962 b. The mechanism of the movements of plastids. W: Handbuch der Pflanzenphysiologie. Vol. 17/2. (W. Ruhland red.). Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 940—978.
- Zurzycki J., 1967. Properties and localization of the photoreceptor active in displacements of chloroplasts in *Funaria hygrometrica*. I. Action spectrum. Acta Soc. Bot. Pol. 36: 133—142.
- Zurzycki J., 1977. Błony purpurowe i nowy rodzaj fotofosforylacji. Zesz. nauk. UJ. (Prace z Biologii Molekularnej) 4: 143—156.

OBJAŚNIENIE PLANSZ I—XXIII

PLANSZA I. Mikrofotografie orzęsków *Paramecium bursaria* hodowanych na wyciągu z liści sałaty (*Lactuca sativa*) w różnych warunkach oświetlenia światłem białym, ciągłym. Ia — orzęsek ze światła 2700 lx, Ib — orzęsek ze światła 900 lx, Ic — orzęsek hodowany w ciemności (0 lx), pow.×1000

PLANSZA II. Komórki endosymbiotycznej *Chlorella* uwolnione z jednego osobnika *Paramecium bursaria*. Ia — orzęsek hodowany w ciągłym świetle białym 2700 lx, Ib — orzęsek ze światła 900 lx, Ic — orzęsek z kultury ciemniowej (0 lx), pow.×600

PLANSZA III. „Plamy fototaktyczne” wytworzone w miejscu naświetlania przez komórki *Paramecium bursaria*. Ia — obraz całkowitej „plamy fototaktycznej” pow.×3, Ib — fragment „plamy fototaktycznej” z zaznaczoną wyraźnie granicą tła (części nieoświetlonej) i miejscem gromadzenia się orzęsków w części oświetlonej, pow.×30

PLANSZE IV—VIII. Obraz reakcji na światło białe u *Paramecium bursaria* w różnych okresach czasowych, rejestracja techniką fotograficzną, (strzałka na zdjęciu pokazuje kierunek padania wiązki stymulującej reakcją). Pl. IVa — 0 s., Pl. IVb — 5 s., Pl. Va — 20 s., Pl. Vb — 40 s., Pl. VIa — 1 min., Pl. VIb — 2 min., Pl. VIIa — 5 min., Pl. VIIb — 10 min., Pl. VIIa — 10 min., Pl. VIIb — 10 min.

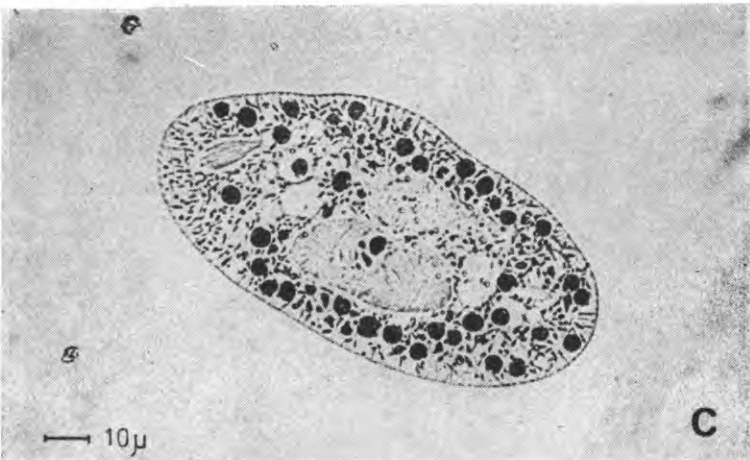
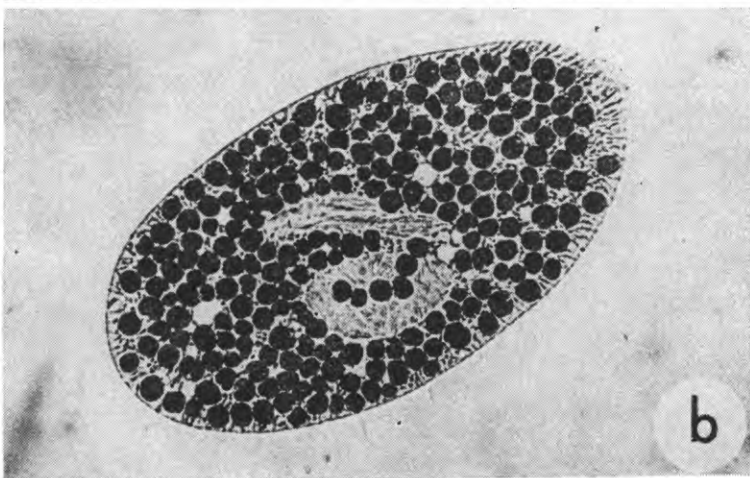
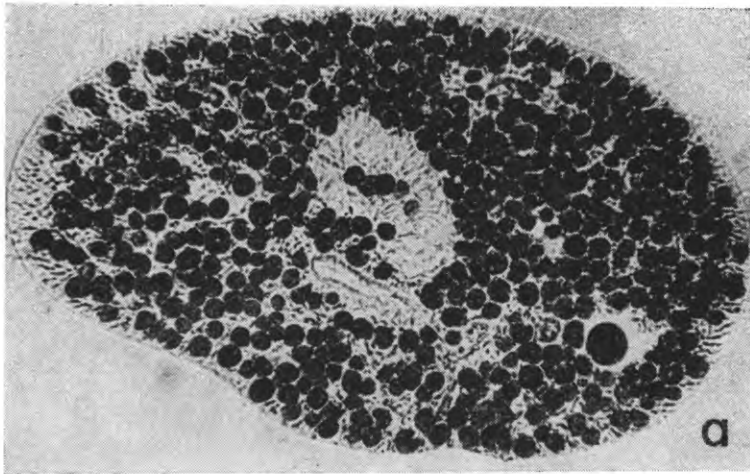
PLANSZA IX. Kolejne fazy przejściowe prowadzące do powstawania toru krótkiego zwartego o orientacji kierunkowej, pow.×60

PLANSZE X—XV. Obraz reakcji orzęska *Paramecium bursaria* na światło białe o różnej intensywności, po 30 sekundach jego działania na zawieszinę pierwotniaków. Pl. Xa — kontrola (0 lx), Pl. Xb — 150 lx., Pl. XIa — 300 lx., Pl. XIb — 900 lx., Pl. XII — 1500 lx., Pl. XIIb — 2600 lx., Pl. XIIIa — 3500 lx., Pl. XIIIb — 7000 lx., Pl. XIVa — 10 000 lx., Pl. XIVb — 14 000 lx., Pl. XVa — 35 000 lx., Pl. XVb — 50 000 lx

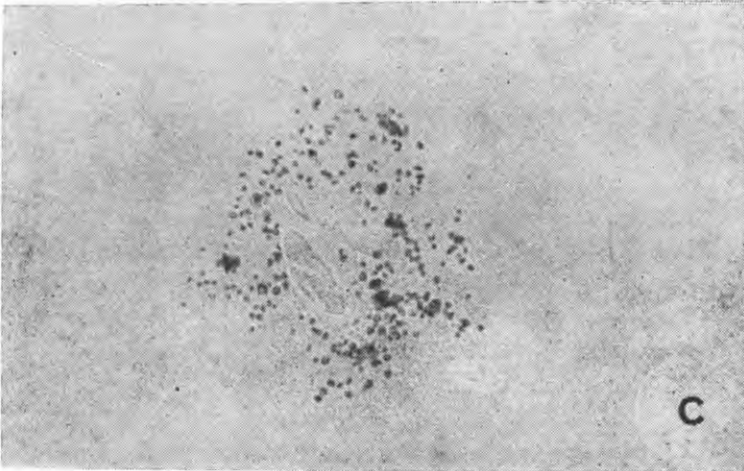
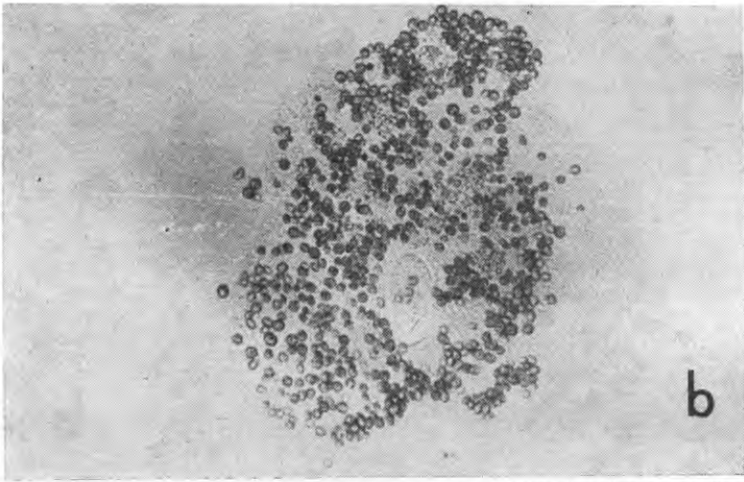
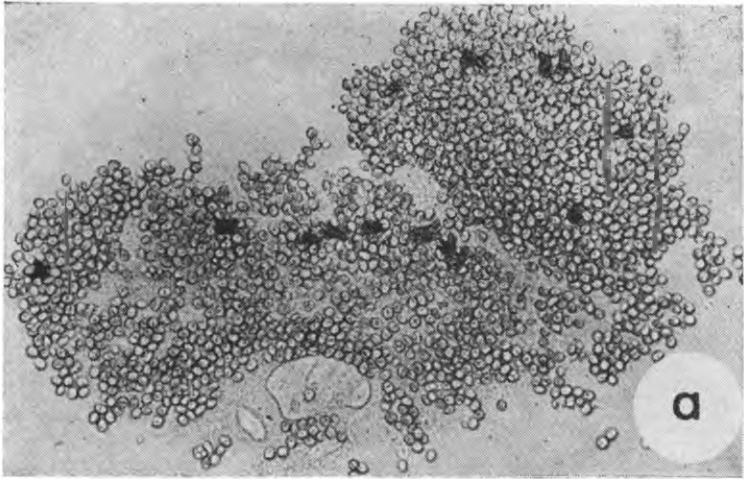
PLANSZA XVIa. 10 000 lx po 3 min. działania światła na zawieszinę orzęsków. Pl. XVIb. 10 000 lx po 5 min. naświetlania

PLANSZE XVII—XXII. Obraz reakcji orzęska *Paramecium bursaria* na światło barwne o określonych gęstościach kwantowych po 1 minucie jego działania na zawieszinę pierwotniaków. Pl. XVIIa — kontrola (0 lx), Pl. XVIIb — 450 nm 10^4 kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, Pl. XVIIIa — 450 nm 10^6 kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ Pl. XVIIIb — 450 nm 10^8 kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, Pl. XIXa — 450 nm 10^{10} kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, Pl. XIXb — 450 nm 10^{12} kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, Pl. XXa — 550 nm 10^6 kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, Pl. XXb — 550 nm 10^{12} kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, Pl. XXIa — 675 nm 10^6 kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, Pl. XXIb — 675 nm 10^{12} kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, Pl. XXIIa — 750 nm 10^6 kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, Pl. XXIIb — 750 nm 10^{12} kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$

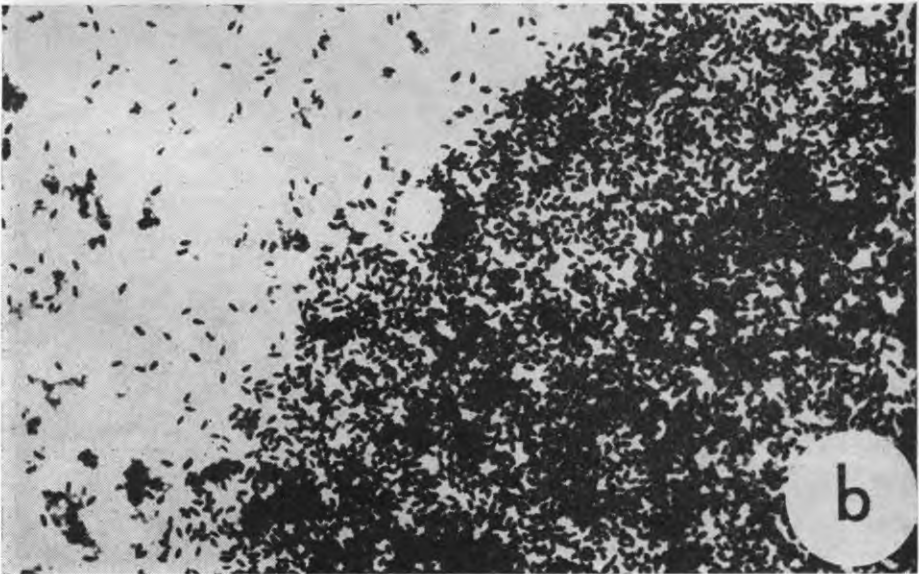
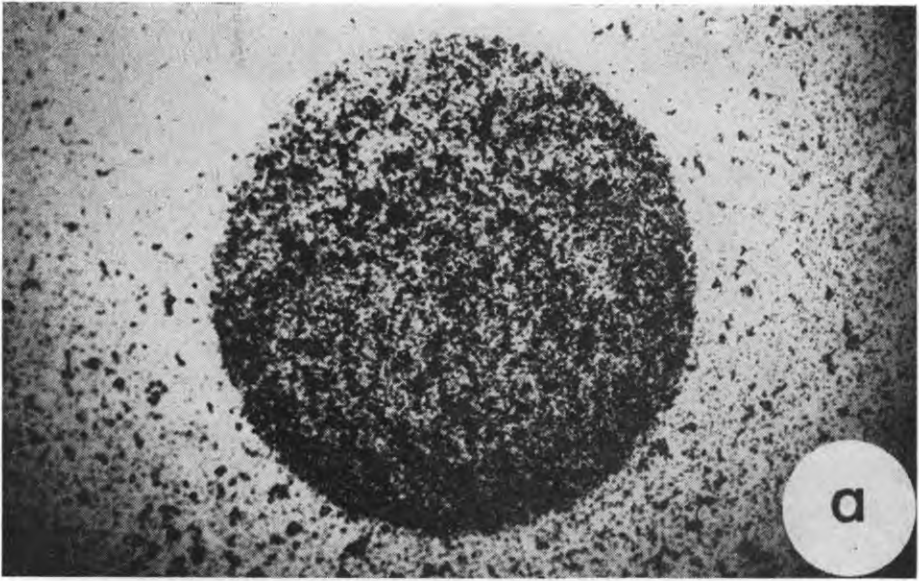
PLANSZA XXIIIa. Światło 450 nm 10^{12} kwantów $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$. Pl. XXIIIb. Światło białe 3500 lx. Blizsze objaśnienia planszy XXIII w tekście na str. 80—81



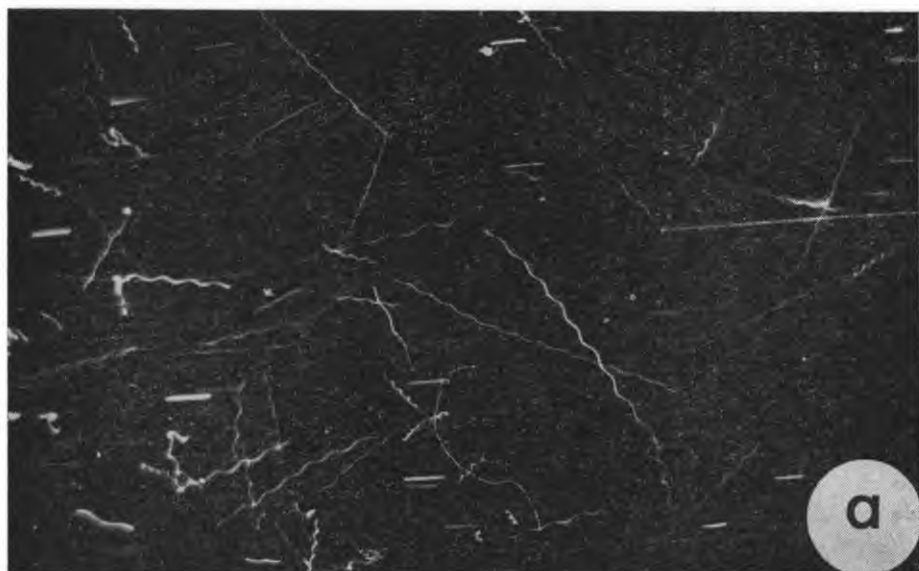
PLANSZA I



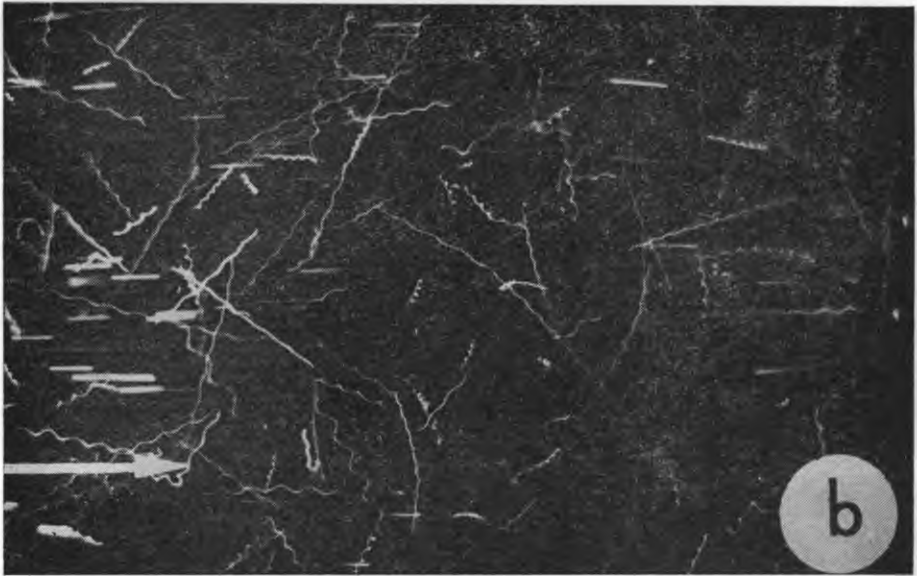
PLANSZA II



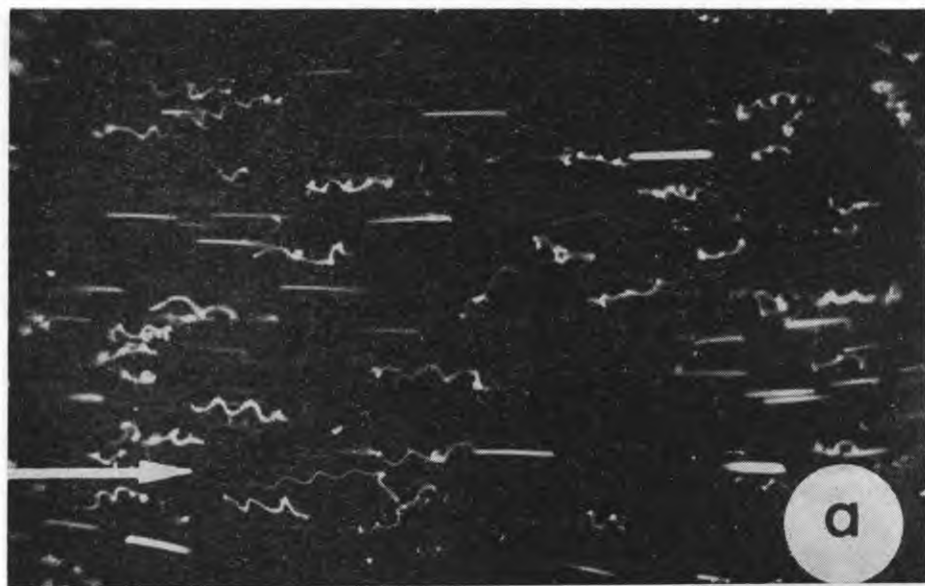
PLANSZA III



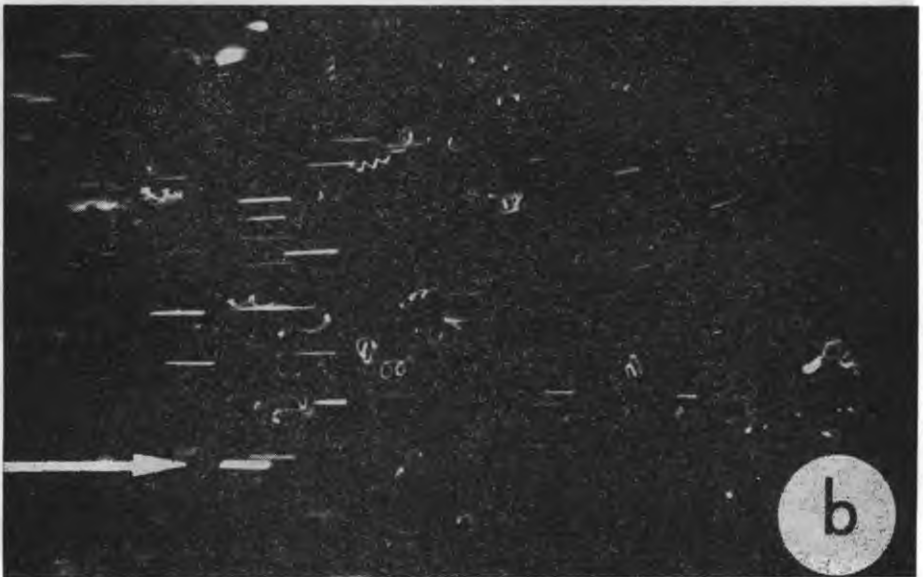
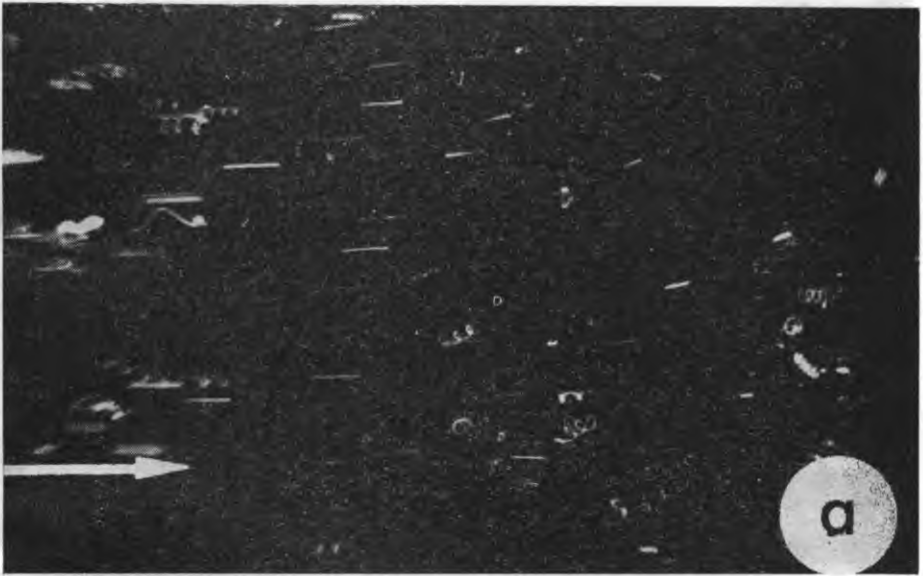
PLANSZA IV



PLANSZA V



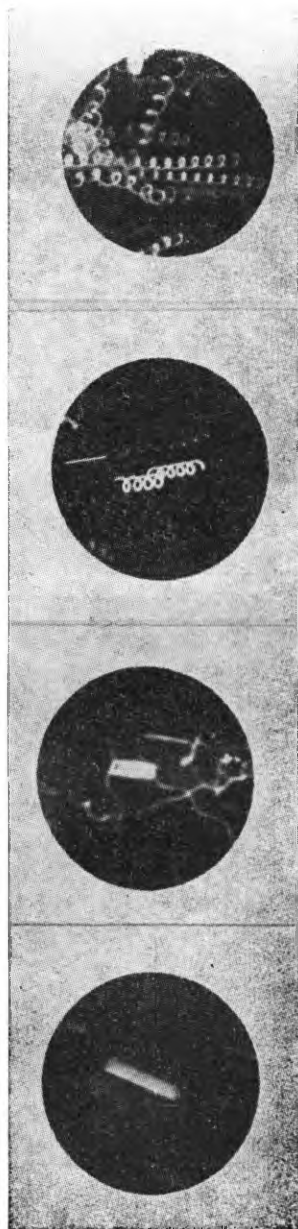
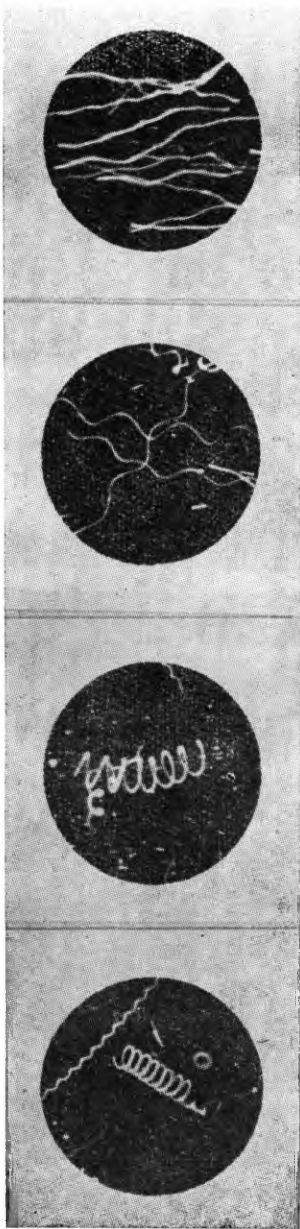
PLANSZA VI



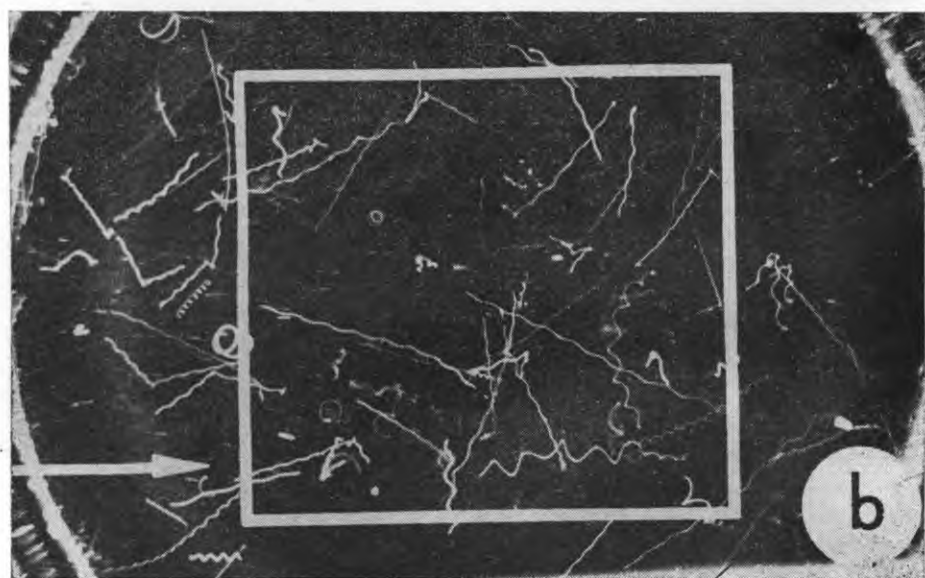
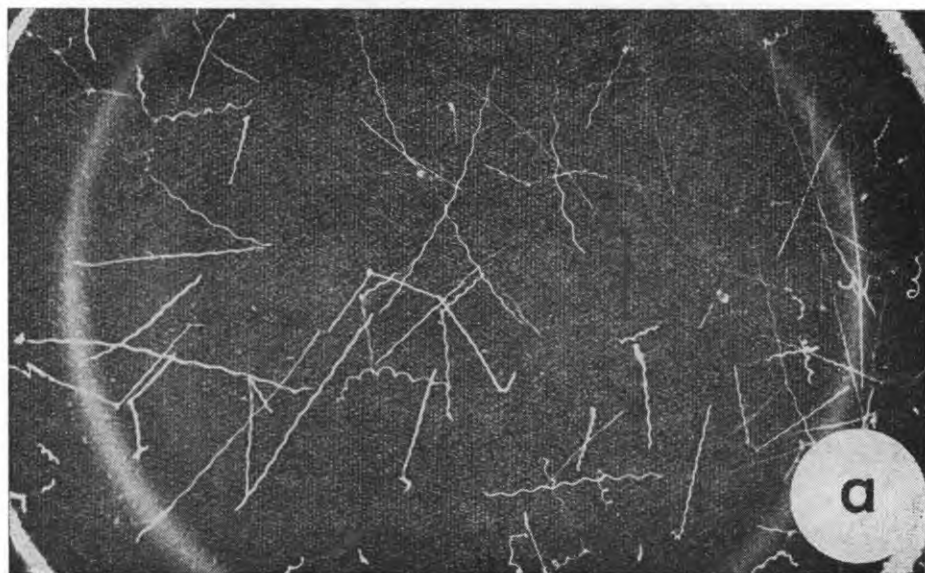
PLANSZA VII



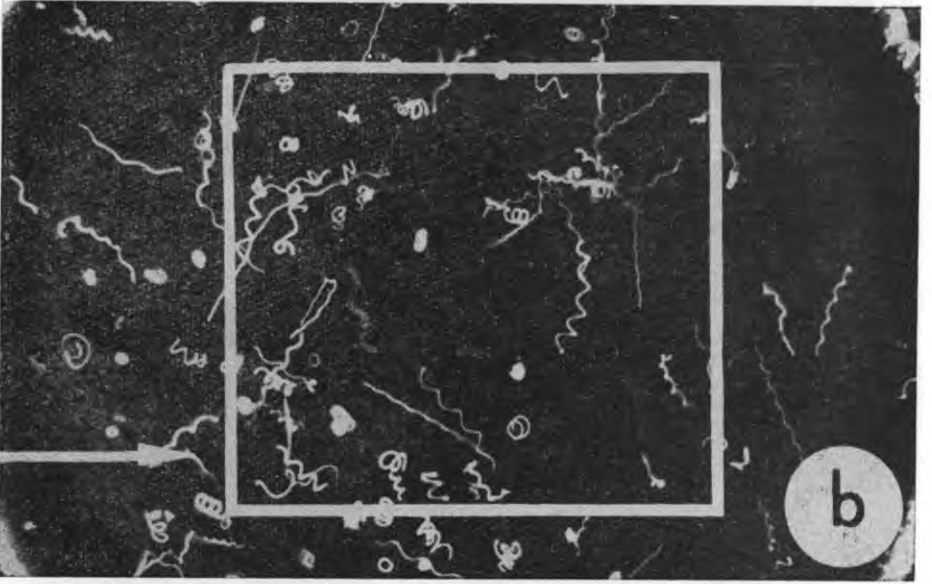
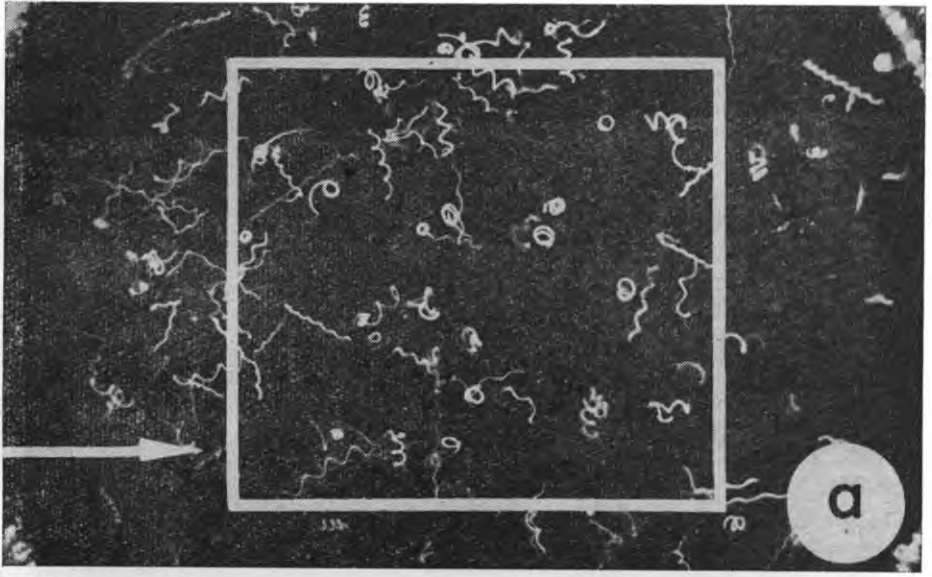
PLANSZA VIII



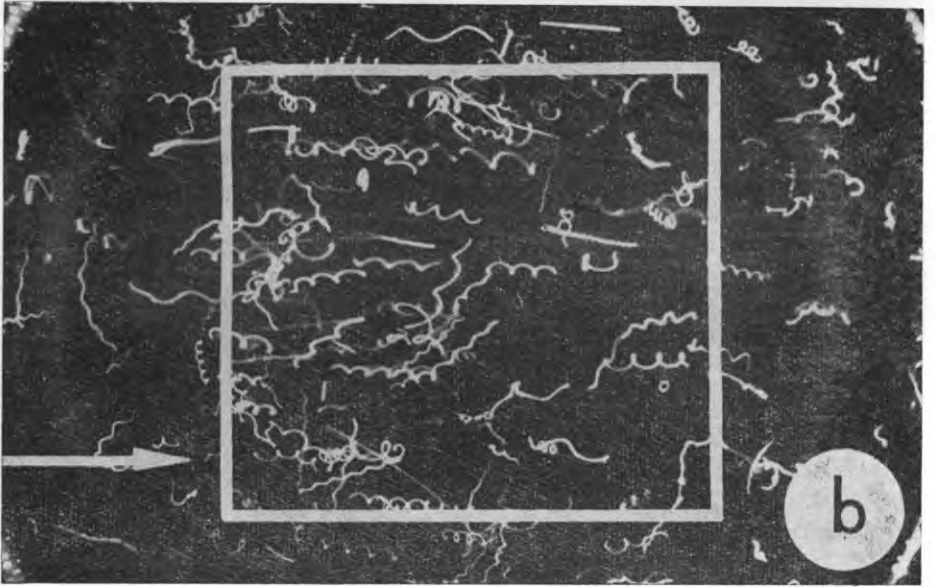
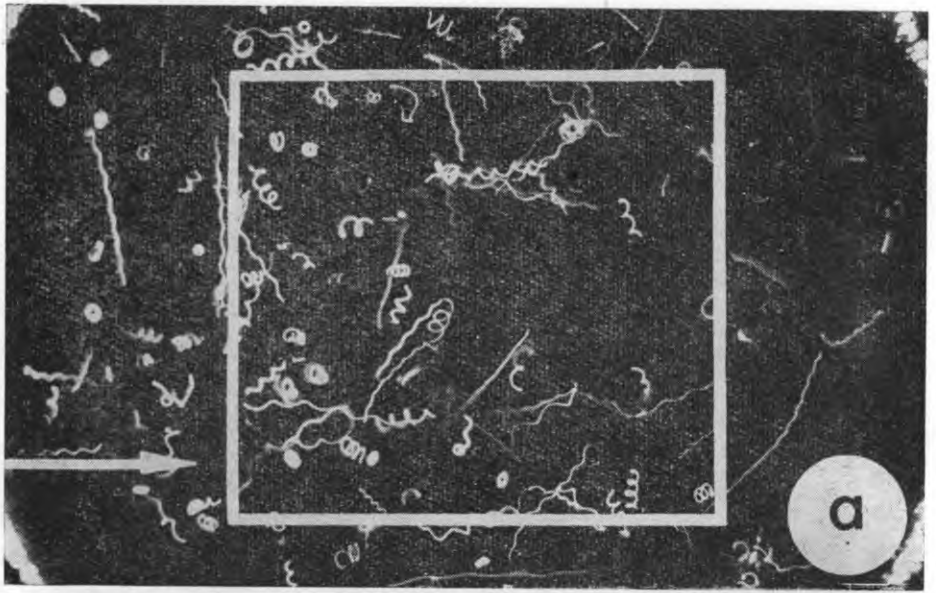
PLANSZA IX



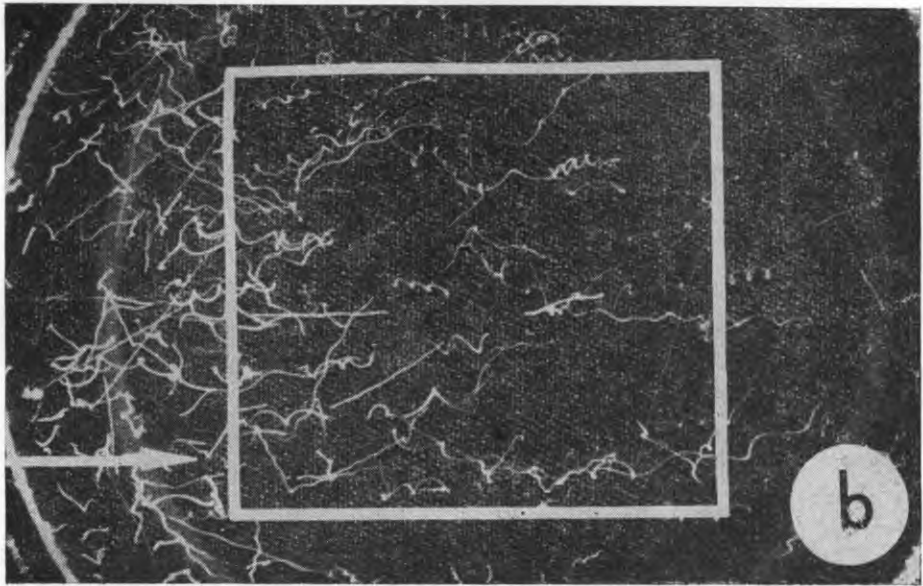
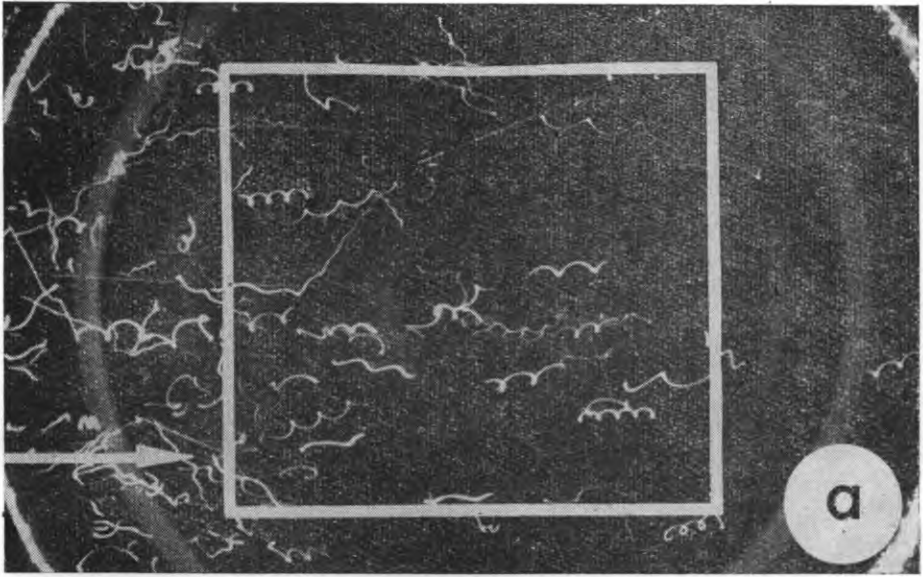
FLANSA X



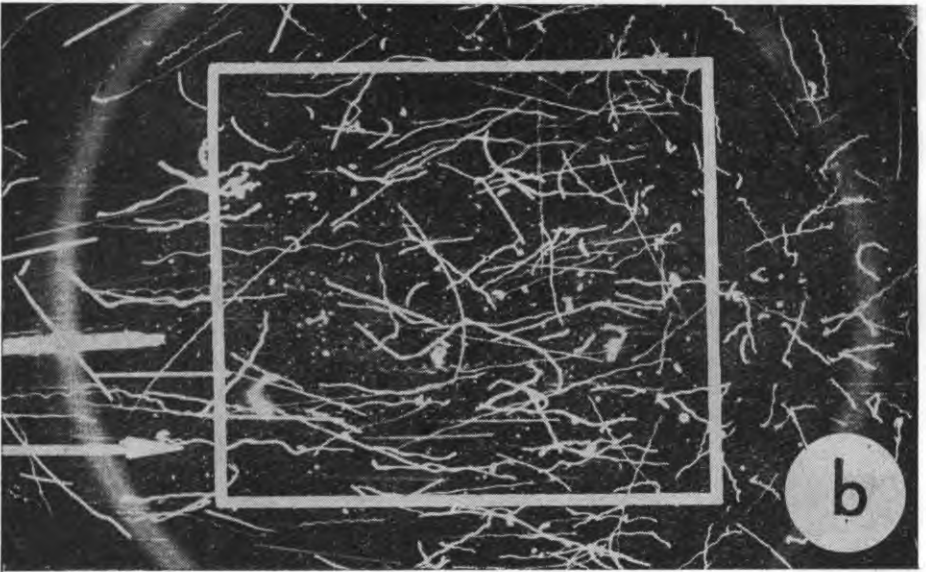
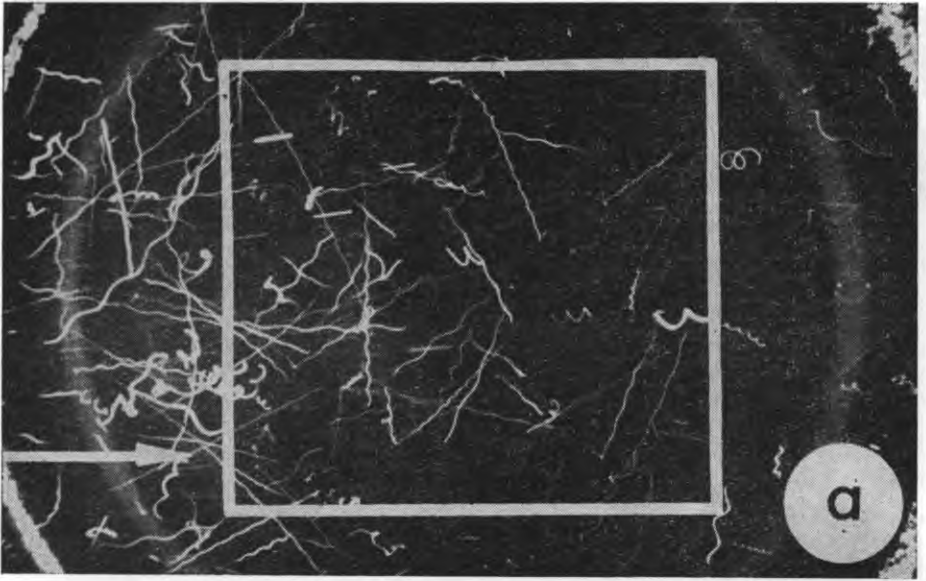
PLANSZA XI



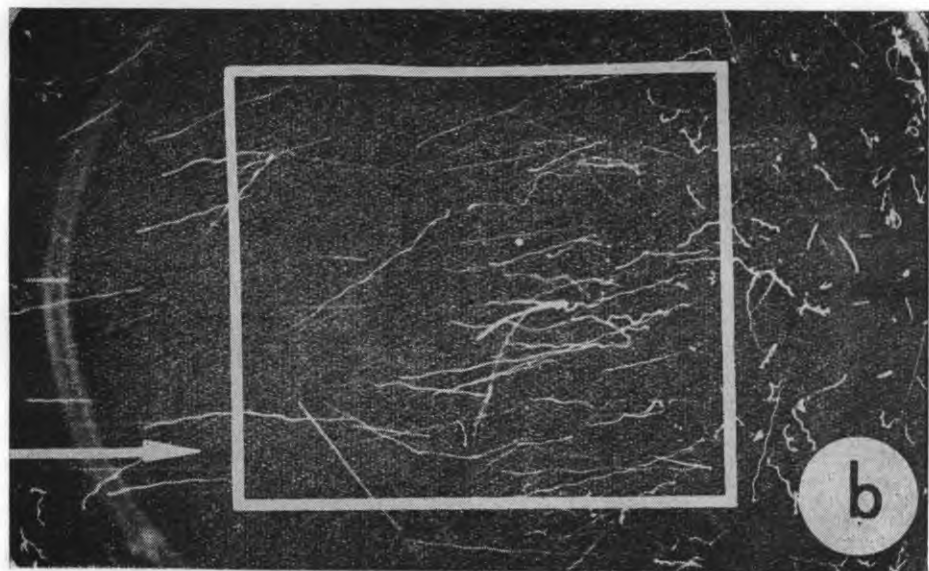
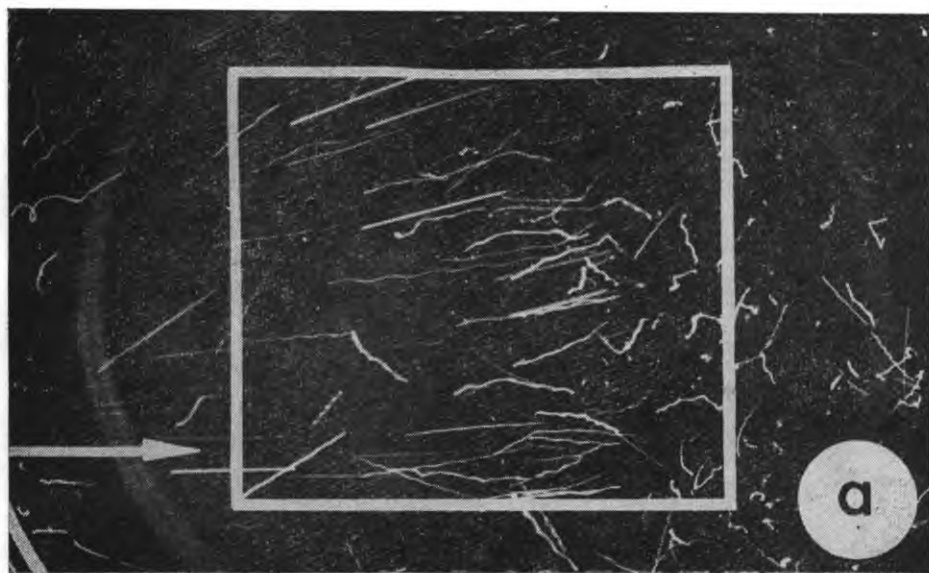
PLANSZA XII



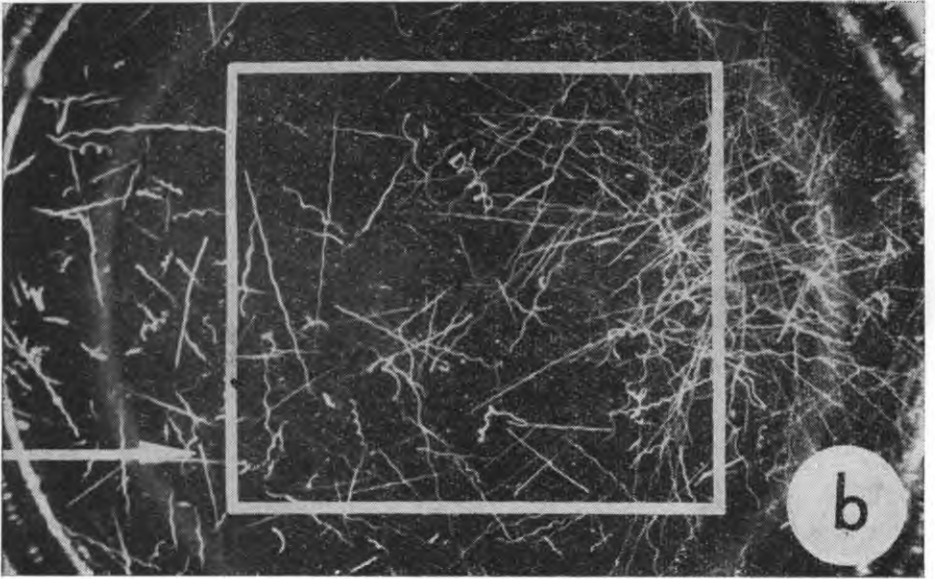
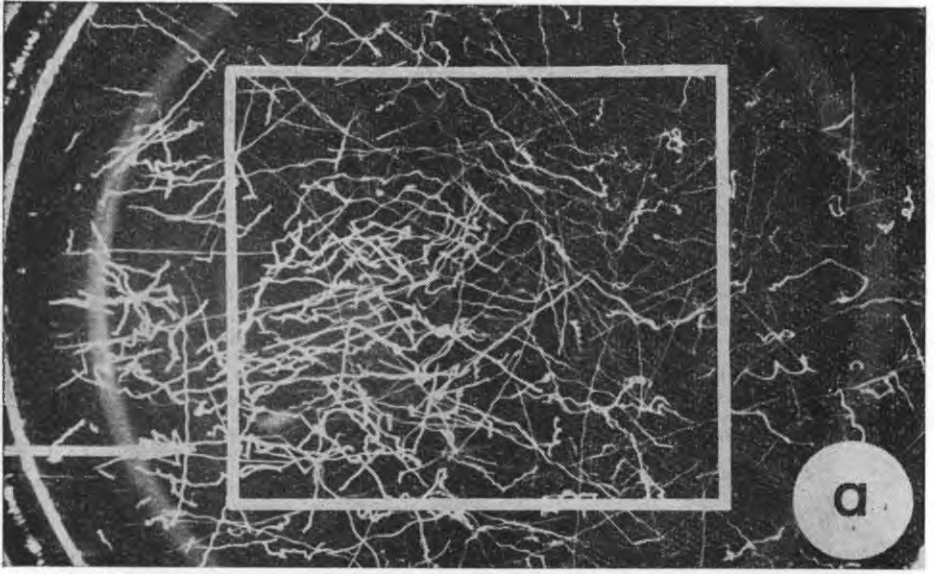
PLANSZA XIII



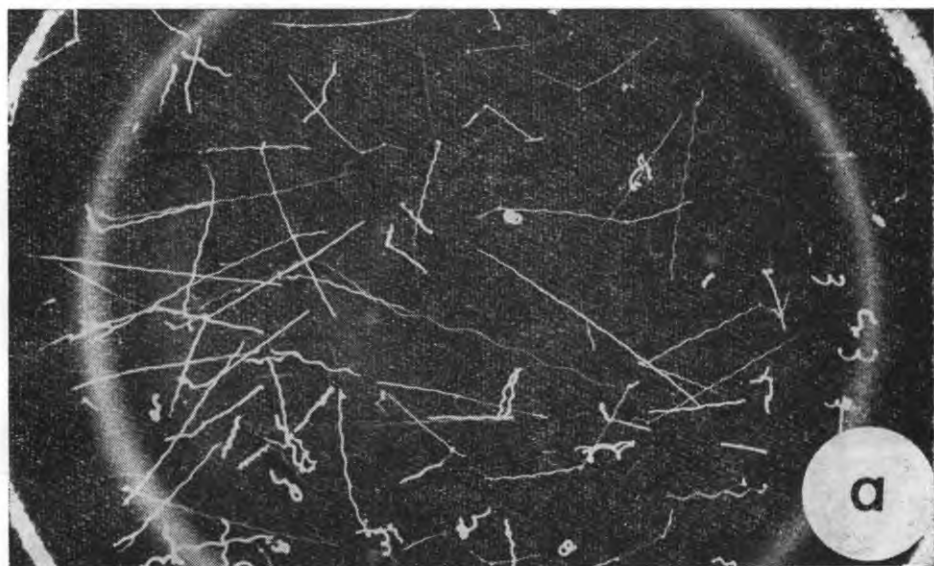
PLANSZA XIV



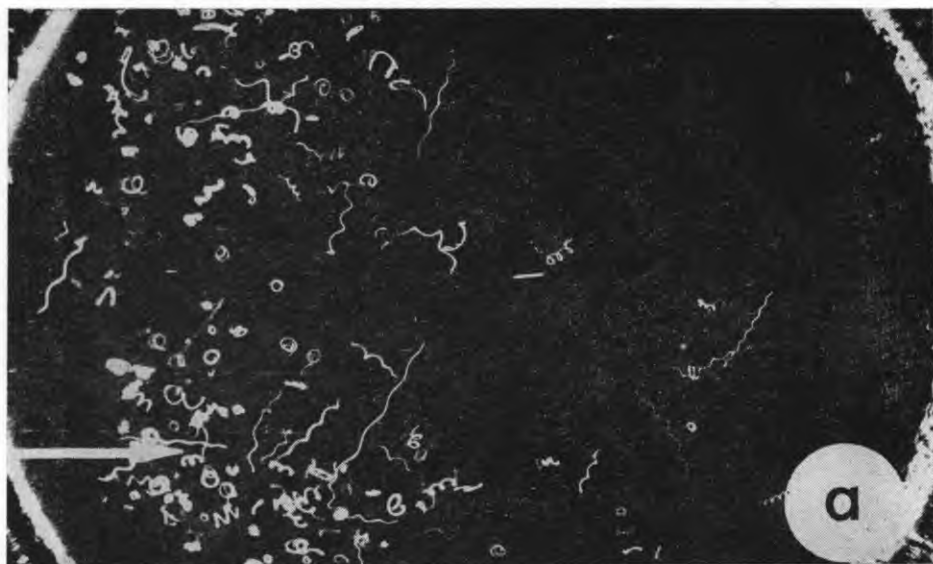
PLANSZA XV



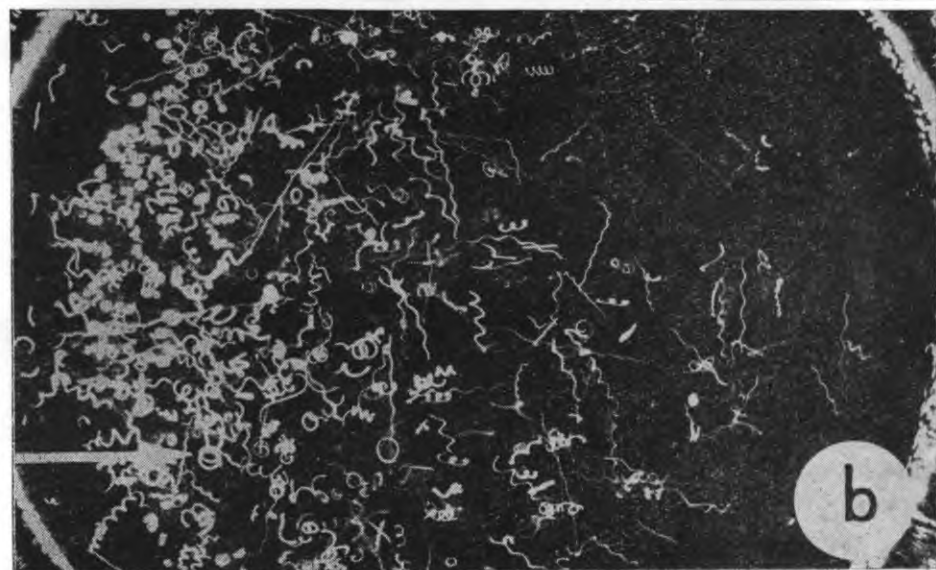
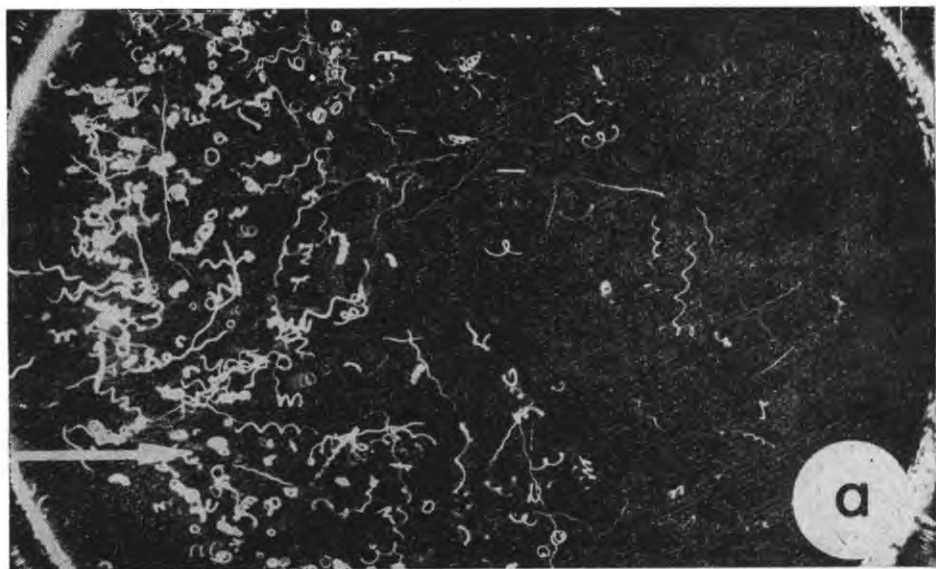
PLANSZA XVI



PLANSZA XVII



PLANSZA XVIII



PLANSZA XIX



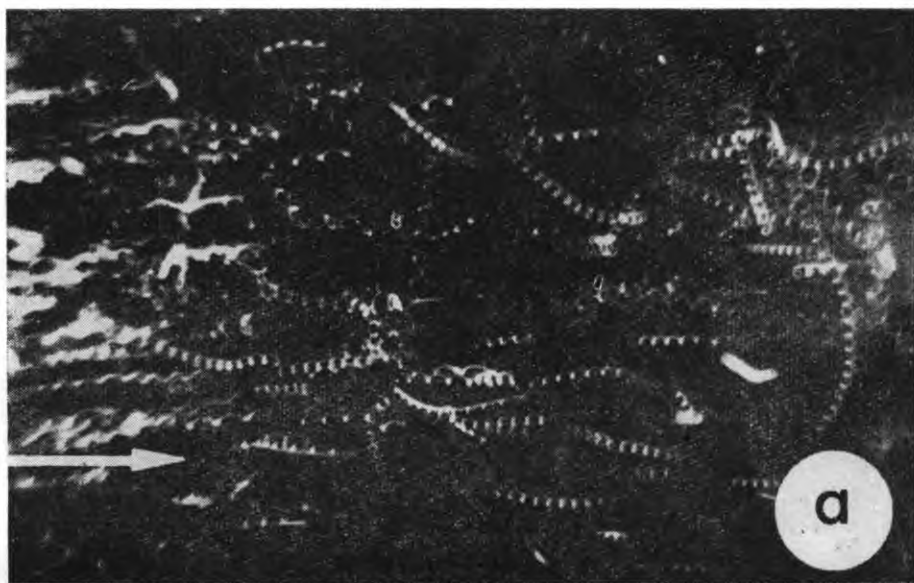
PLANSZA XX



PLANSZA XXI



PLANSZA XXII



PLANSZA XXIII

Cena zł 17.—