

## ROLNICTWO ZAGRANICĄ

JADWIGA MARSZEWSKA-ZIEMIĘCKA

### PRACOWNIE MIKROBIOLOGICZNE W ANGLII

Oprócz uczestniczenia w Kongresie Łąkarskim celem mojej wycieczki w 1960 r. było zapoznanie się z obecną organizacją i kierunkami badań w niektórych zakładach mikrobiologii ogólnej i glebowej.

#### *Zakład Mikrobiologii Gleby w Stacji Doświadczalno-Rolniczej w Rothamsted*

Rothamsted to, jak wiadomo, najstarszy i wielki instytut angielski zajmujący się głównie podstawowymi badaniami nad glebą i roślinami. Dorobek tego instytutu obrazuje dobrze monografia pt. „Soil Conditions and Plant Growth”, napisana przez jego długoletniego dyrektora Sir E. Johna Russella. W Polsce przetłumaczono ją na język polski w 1958 r. pt. „Warunki glebowe a wzrost roślin” (por. też publikacje J. Ziemięckiej: „Stacja Doświadczalno-Rolnicza w Rothamsted” w Bibl. Puławskiej, 1934 r. oraz „Wycieczka naukowa do Anglii” w „Postęпах Nauk Rolniczych z 1959 r.).

W 1960 r. zwiedziłam w Rothamsted jedynie powyższy zakład, którego nazwa brzmi: Soil Microbiology Department. Placówka ta wciąż się rozwija i obecnie, oprócz kierującego nią dr A. G. Nutmana, zatrudnia 8 sił naukowych, kilku stażystów oraz 7 techników.

Najwięcej badań poświęca się w tym zakładzie bakteriom symbiotycznym roślin motylkowych. Zakład dysponuje kolekcją około 600 szczepów tych bakterii, głównie *Rhizobium* koniczyny i lucerny.

Sam dr Nutman zajmuje się od szeregu lat naturą symbiozy *Rhizobium* z jego roślinnymi partnerami. Ponieważ stwierdził, że nie wszystkie gatunki, a nawet rody koniczyn zdolne są do współżycia z różnymi szczepami *Rh. trifolii*, prowadzi badania genetyczne nad tymi roślinami. Krzyżuje między sobą różne gatunki koniczyn, krajowe i egzotyczne i sprawdza na ich potomstwie nabywanie lub utratę zdolności wchodzenia w symbiozę ze szczepami *Rhizobium*. Do badań tych używa m. in. chwastu australijskiego — *Trifolium glomeratum*. Jest to bowiem roślina samopylna i tak drobna, że można doprowadzić ją do wydania nasion w hodowli probówkowej. Oprócz tej roślinki używa też samopylnego gatunku australijskiego *Tr. subterraneum*. Krzyżuje je z *Tr. pratense* i z innymi gatunkami koniczyn uprawianymi w Anglii, obserwując w roślinach matecznych i w powstałych krzyżówkach reagowanie ich na szczepy *Rh. trifolii*, różniące się między sobą stopniem zdolności zakażenia roślin i wiązania wolnego azotu.

Szczepy *Rh. trifolii*, korzystne dla koniczyny czerwonej, okazały się nieskuteczne lub nawet ujemne dla gatunku *Tr. glomeratum*. Badania te są jeszcze w toku. Równocześnie bada Nutman, w jaki sposób można „uaktywnić” szczepy *Rh. trifolii* uznane za działające ujemnie na koniczynę czerwoną. W kolekcji swej ma szczep *Rh. trifolii* nazwany „Coryn”, odporny na fagi i klasycznie pozbawiony zdolności wiązania azotu w symbiozie z koniczyną czerwoną. Próby uaktywnienia go, polegające na przepuszczaniu go przez niektóre inne gatunki koniczyny w ciągu kilku

lat, zostały uwieńczone pewnym powodzeniem. Nabranie pod wpływem tych „pasaży” nieco większej aktywności wynika, być może, z powstawania mutantów w zmienionym środowisku roślinnym.

Przebywający na dłuższym stażu mikrobiolog hinduski B. M. Gupta zajmuje się specjalnie sprawą mutacji u tych bakterii. Pod wpływem ultrafioletu otrzymał z przeżywających zabieg komórek *Rh. trifolii*, obok zmutowanego szczepu białego, także jego szczep czerwony, a więc łatwo dający się odróżnić od zwykłego szczepu tych bakterii. Czerwony pigment tych mutantów jest cechą stałą. Gupta oznacza wraz z Janiną Kleczkowską inne jego cechy. M. in. stwierdza się, że czerwony mutant odznacza się zdolnością wytwarzania potrzebnych mu witamin i w hodowlach swoich wymaga dodatku tylko wit. B<sub>1</sub> do pożywki. W projekcie są badania genetyczne z pomocą „crossing over”, transdukcji i transformacji między szczepami bezbarwnymi i pigmentowanymi oraz wpływ roślinnych gospodarzy na właściwości tych szczepów.

Otrzymano też w tym zakładzie z pomocą UV lub streptomycyny kilkadziesiąt innych mutantów ze szczepu *Rh. trifolii*, aktywnego dla koniczyny czerwonej, czyli uzdolnionego do wiązania wolnego azotu we współzyciu z tą rośliną. J. Kleczkowska, która od wielu lat prowadzi wnikliwe badania nad fizjologią i wrażliwością lub opornością szczepów tych bakterii na fagi, stwierdziła, że na ogół mutanty nie tracą pierwotnych zdolności wiązania azotu. Z pomocą różnych metod genetycznych stwierdziła ponadto, że cecha oporności na lizujące działanie fagów sprzężona jest z brakiem zdolności wiązania azotu. Badane są też inne cechy (typy serologiczne, potrzeby pokarmowe) otrzymanych mutantów i krzyżówek.

Wszystkie te badania wydają mi się specjalnie ważne. *Rhizobium* — to bakterie odznaczające się dużą zmiennością, a więc przedstawiające interesujący obiekt dla badań genetycznych. Równorzędnie z tym bakterie te odgrywają wielką rolę w przyrodzie i w rolnictwie, dzięki zdolności przysparzania azotu roślinom motylkowym. Należy gruntownie poznać ich właściwości i dążyć z pomocą różnych metod do otrzymywania ich szczepów wysoce uzdolnionych do wiązania wolnego azotu we współzyciu z odpowiadającą im grupą roślin.

W Polsce podobne badania prowadzone są od kilku lat w Zakładzie Mikrobiologii Ogólnej w uniwersytecie lubelskim (patrz nasze publikacje w *Acta Microbiologica Polonica*).

Interesujący wielu mikrobiologów problem, na czym polega swoista zdolność zakażenia i współzycia różnych szczepów *Rhizobium* tylko z określonymi rodzajami roślin motylkowych (ich tzw. „cross inoculation groups”), jest również przedmiotem wnikliwych badań w Rothamsted, opartych na analizie biochemicznej bakterii i roślin oraz produktów wydzielanych przez obu partnerów symbiotycznych podczas wnikania bakterii do korzeni roślin. W tym kierunku współpracuje Nutman z badaczami szwedzkimi (Fähraeus i Ljunggren). Sądzą oni obecnie, że swoistość „cross inoculation groups” polega na składzie chemicznym i strukturze polisacharydów, odrębnym u różnych szczepów *Rhizobium*.

Pracownia Nutmana włączyła się też obecnie w nurt międzynarodowych badań nad samym procesem symbiotycznego wiązania wolnego azotu i nad metabolizmem azotu w naroślach korzeni roślin motylkowych. Badania te prowadzi w niej R. Cooper na odciętych brodawkach lub w ich poszczególnych frakcjach przy użyciu <sup>15</sup>N, ze szczególnym uwzględnieniem roli bakteroidów *Rhizobium* w tym procesie. Dotychczas stwierdzono w Rothamsted, że zawartość brodawek korzeniowych może szybko syntetyzować niektóre podstawowe składniki białka w obecności znakowanego amoniaku i enzymu trójfosforanu — adenozy (A. T. P.).

Spośród innych badań dotyczących *Rhizobium* i jego współzycia z roślinami motylkowymi, wspomnę już tylko o stwierdzeniu przez Nutmana ważnej roli stożka wzrostu rośliny dla przenikania bakterii do jej korzeni i formowania się na nich brodawek z bakteriami. Z ważnych bezpośrednio dla praktyki rolniczej, wymienić należy badania związane z produkcją i stosowaniem szczepionek dla roślin motylkowych. M. in. obserwuje się długość życia *Rhizobium* w glebach w stanie wolnym przy braku kontaktu z roślinnymi gospodarzami oraz w obecności różnych innych drobnoustrojów.

### Wytwórnia szczepionek *Rhizobium* w Anglii

Pod fachowym nadzorem Nutmana prowadzona jest w firmie Allen and Hanbury's w Wave, w pobliżu Rothamsted, produkcja szczepionek bakterii symbiotycznych dla różnych roślin motylkowych, głównie dla lucerny. Roślina ta jest szczepiona w Anglii i Walii powszechnie. Produkcję tę prowadzą pani M. E. Fraser wraz z 3 bakteriologami. Są to szczepionki agarowe, czynność ich trwa 6 tygodni. Sprzedawane są bezpośrednio farmerom w cenie po 5 szylingów za porcję potrzebną do zaszczepienia nasion na 1 akr. W Rothamsted kontrolowana jest wartość co tysięcznej szczepionki. Szczepy macierzyste pochodzą też z Rothamsted.

Główną produkcją tej dużej firmy są różne środki farmaceutyczne.

Inne badania prowadzone w Zakładzie Mikrobiologii w Rothamsted obejmują:

### Szczepienie roślin azotobakterem

Richard M. Jackson prowadzi od 2 lat próby szczepienia tą bakterią buraków i zbóż. Doświadczenia wykonywane są głównie w wazonach, z uwzględnieniem różnych poziomów nawożenia zwłaszcza azotowego. Tak samo jak u nas, dr Jackson stwierdza powiększanie się liczebności azotobaktera na korzeniach roślin pod wpływem ich szczepienia. Jak dotychczas, tylko w 1 z licznie przeprowadzonych doświadczeń (z jęczmieniem) uzyskał pod wpływem tego zabiegu istotny przyrost plonu. Ponieważ pracownia puławska przeprowadziła już wiele doświadczeń w tym kierunku, odbyliśmy dłuższą naradę nad sposobami i celowością szczepienia różnych roślin.

### Rozprzestrzenienie azotobaktera w glebach

Długoletnia pracowniczka Rothamsted Jane Meicklejohn określa liczebność azotobaktera i *Clostridium* w glebach „klasycznych” pól w Rothamsted, z których każde od kilkudziesięciu lat jest stale jednakowo traktowane. Jest to wznowienie pracy, którą wykonałam w Rothamsted w 1931 r. Potwierdza się w niej znowu sposób reagowania azotobaktera m. in. na różne poziomy nawożenia azotowego. W ciągu 1960 r. przeprowadziła panna Meicklejohn analogiczne badania w Ghanie nad glebami leśnymi i łąkowymi.

### Mykoriza

Mykorizę wewnętrzną bada w Rothamsted przebywająca tam na dwuletnim stażu Barbara Mosse, pracowniczka East Malling Experimental Station. Badania prowadzone są z kilku punktów widzenia, a mianowicie:

1. Mając do dyspozycji szereg szczepów grzybów mykoryzowych w czystych hodowlach, np. *Endogone sp.*, *Pythium ult.* i in., określa się ich potrzeby pokarmowe, siłę oddychania oraz wpływ na ich rozwój innych drobnoustrojów glebo-

wych. Szczególnie rozległe badania prowadzi p. Mosse nad *Endogone* sp., który to gatunek ma bardzo swoiste wymagania pokarmowe i wrażliwość na ciała wzrostowe. Z tego też zapewne względu współżyje w glebie z niektórymi bakteriami, korzystając z wydzielanych przez nie metabolitów.

2. *In vitro* oraz w hodowlach wodnych lub piaskowych badany jest przebieg rozwoju i rodzaj mykorizy w warunkach aseptycznych. Jałowe rośliny wskaźnikowe (np. kilka gatunków koniczyn) szczepi się skielkowanymi sporami poszczególnych szczepów grzybów i obserwuje szybkość rozwoju współżycia w zależności od rośliny i od rodzaju pokarmów w ich hodowli. Okazało się, że np. *Endogone* sp. nie może wnikać do korzeni różnych roślin, o ile nie zaszczepi się ich środowiska dodatkowo pewnymi bakteriami. Na czym polega wpływ tych bakterii (z rodzaju *Pseudomonas*), jest to obecnie badane szczegółowo. *Endogone* nie wchodzi również w symbiozę w przypadku zawartości w pożywce hodowlanej pewnych ilości azotu organicznego lub mineralnego. Byłyby to ciekawe wskazówki dotyczące rozpowszechnienia mykorizy w zależności od czynników ekologicznych i uprawowych.

3. Badane jest rozpowszechnienie niektórych grzybów mykorizowych w różnych glebach. W specjalnych doświadczeniach określa się ich przeżywalność w glebie przy braku korzeni roślin.

4. Określany jest wzajemny wpływ na siebie roślin i grzybów mykorizowych przy użyciu jako roślin wskaźnikowych cebuli i siewek jabłoni. Zarówno *Endogone* sp., jak *Pythium* ult. podwyższyły 2—3 razy ciężar plonów tych roślin. Niektóre rośliny wpływają też swoiście na budowę grzyba.

Wobec tego, że pracownicy Rothamsted często wyjeżdżają na staże zagraniczne, trudno jest tam nieraz zapoznać się bliżej z całokształtem badań poszczególnych pracowni. Aby wyczerpać wykaz tematów, którymi zajmowała się w 1960 r. pracownia mikrobiologiczna, dodaje tylko w kilku słowach, że prowadzone są w niej nadal studia nad nitryfikacją i nad beztlenowym rozkładem celulozy. Ponadto poszukuje się w glebach grzybów uzdolnionych do wiązania wolnego azotu.

*Pracownia Mikrobiologii Gleby (Laboratory of Soil Microbiology) w Botany Department w Imperial College of Science and Technology — Londyn, South Kensington*

Pracownią tą kieruje prof. S. Jacobs, którego głównym pomocnikiem jest A. H. Dadd. W sumie pracuje w niej 11 sił naukowych i technicznych. Problematyka obejmuje tu głównie mikroflorę bytującą w rizosferze, czyli na korzeniach różnych roślin.

1. Mikroflora rizosfery roślin zbożowych. Szczepy drobnoustrojów wyodrębnia się z korzeni, po czym określa się ich cechy fizjologiczne. Tworzy się sztuczne zespoły tych szczepów i zespołami tymi szczepi się rośliny w celu zbadania oddziaływania ich na różne rośliny, a z drugiej strony określa się przeżywanie poszczególnych szczepów na korzeniach tych roślin.

2. Odżywianie się azotem roślin--pionierów na piaskach i w innych na nowo powstających środowiskach (hałdy kopalniane, lawa po wybuchach wulkanów itp.). Badania te prowadzi się z pomocą  $^{15}\text{N}$ , określając rozwój lub brak mikroflory na roślinach. Chodzi tu o stwierdzenie, czy możliwe jest w tych warunkach przyswajanie wolnego azotu przez rośliny same lub w łączności z drobnoustrojami.

3. Z dziedziny drobnoustrojów chorobotwórczych bada się skład chemiczny i biologię *Corynebacterium fascians*, pasożyta groszku pachnącego. Z pomocą UV otrzymuje się też mutanty tej bakterii.

4. Rozkład antybiotyków w glebie. Jest to zagadnienie wciąż jeszcze dyskutowane, a niezmiernie ważne ze względu na możliwość hamowania w glebie jednych gatunków drobnoustrojów przez inne, wydzielające ciała antybiotyczne. Z punktu widzenia rolniczego ważne zwłaszcza ze względu na ewentualne głuszenie rozwoju pasożytów roślin. W pracowni Jacobsa znaleziono dotychczas jeden szczep bakterii, który może rozkładać dodaną do gleby streptomycynę. Są to gramoujemne pałeczki. Wykryto je przy dodawaniu do gleby jakiegoś węglowodanu i zmiennych ilości (do 3 mg/g gleby) streptomycyny. Bakteria ta rozkłada ten antybiotyk tylko w glebie. Notuje się częstą utratę tej zdolności.

#### *Microbiology Unit w Department of Biochemistry Oxford University*

Jak wiadomo, w każdym wydziale biochemicznym jest obecnie także pracownia mikrobiologiczna. Kierownikiem omawianej pracowni jest prof. D. D. Woods, oprócz którego pracuje w niej 5 starszych pracowników naukowych, 4 doktorantów i 7 sił technicznych. Każdy starszy pracownik naukowy ma przydzielonego sobie przynajmniej 1 technika lub laboranta.

Ogólnymi kierunkami prac są tam: ekologia i taksonomia drobnoustrojów, ich genetyka i cytologia. M. in. badane są maczugowce. Panna J. Lascelles zajmuje się specjalnie fotosyntezą u bakterii purpurowych. Bada syntezę pigmentów w różnych warunkach hodowli 5 gatunków purpurowych bakterii siarkowych, uwzględniając specjalnie wpływ natury i mocy światła. Podała mi różne cenne wskazówki metodyczne.

W Oxford przy specjalizacji w naukach biochemicznych i mikrobiologicznych studenci otrzymują następujące tytuły naukowe: po 3 latach studiów — B. A. (Bachelor of Art), na podstawie dalszych studiów i przygotowania tezy doktorskiej — B. Ph. (Bachelor Phil.) lub D. Ph. (Dr Fil.).

#### *Microbiology Unit w School of Botany — Oxford*

Szkoła Botaniczna w Oxfordzie, kierowana przez prof. Bevana, ma 10 starszych pracowników naukowych (ze stopniem D. Ph.) i 12 młodszych. Bardzo korzystny dla badaczy jest tam stosunek liczby pracowników naukowych do liczby pomocników technicznych, gdyż każdy asystent ma do pomocy 1 lub 2 techników.

W pracowni mikrobiologicznej (Microbiology Unit) prowadzone są bardzo ciekawe prace genetyczne i enzymatyczne, publikowane w *Biochemical Journal* i w *Journal of General Microbiology*. Podczas badań nad genetyką *Saccharomyces cerevisiae* otrzymano czerwono zabarwionego mutantu, który ma też pewne odrębne cechy fizjologiczne i wobec tego jest dobrym obiektem do otrzymywania nowych krzyżówek z normalnymi, białymi szczepami. Stwierdzono tu, że cytoplazma komórek bierze udział w przekazywaniu cech dziedzicznych (dr Cox). Przy otrzymywaniu mutantów z pomocą UV korzystne jest według Woodsa zastosowanie przez 1 godzinę niskiej temperatury i wyciągu z drożdży.

Z dziedziny enzymatyki prowadzone są m. in. badania nad syntezą niektórych witamin (np. kwasu nikotynowego z tryptofanu) i nad ich rolą w komórce. Bada się na *E. coli* naturę czynników hamujących tworzenie się białek w komórce.

Cytuję te badania tytułem przykładu.

*Department of Microbiology w Uniwersytecie w Reading*

Zakład ten wchodzi w skład Wydziału Przyrodniczego. Kierownikiem katedry i zakładu jest prof. B. C. J. G. Knight. Współpracownikami jego jest 8 wykwalifikowanych badaczy (senior staff), 3—4 młodszych sił (research students) i 6 techników.

Ogólna problematyka zakładu:

1. Maczugowce glebowe i roślinne. Badania prowadzone są przy pomocy dużej kolekcji szczepów. Obejmują one fizjologię i taksonomię tych bakterii. Obecnie główna uwaga zwrócona jest na skład chemiczny błony komórkowej i na potrzeby pokarmowe.

2. Różne bakterie chorobotwórcze roślin.

3. Fotosynteza u glonów (*Chlorella*).

4. Drobnoustroje chorobotwórcze zwierząt z grupy *Pleuropneumoniae*.

5. Grupa *D-Streptococci*.

6. Proces utleniania metanu.

Bieżąca tematyka prac doktorskich łączy się z tymi problemami, dotycząc metabolizmu komórek, żywienia się bakterii, zastosowania deuterium do badania fotosyntezy, genetyki rodzaju *Neurospora* i in.

Prace publikowane są głównie w *Journal of General Microbiology*. Po przeprowadzeniu badań podstawowych przechodzi się do praktycznego ich zastosowania.

Prof. Knight jest równocześnie kierownikiem Studium Mikrobiologicznego w uniwersytecie. Tok tych studiów jest następujący:

W ciągu pierwszych 2 lat studentom wyklada się chemię, mikrobiologię i jako trzeci przedmiot botanikę lub zoologię. Studenci uzyskują po 2 latach pierwszy stopień naukowy, którym jest B. Sci.-general. Biologia i biochemia uważane są od początku studiów za przedmioty równie ważne.

Po uzyskaniu tytułu B. Sci.-general, najlepsi studenci słuchają w ciągu następnego roku wykładów mikrobiologii i mogą uzyskać stopień B. Sci.-special, wykonując w tym czasie małą pracę tego typu, co nasze prace magisterskie. W ciągu dalszych 3—4 lat następuje specjalizowanie się w różnych kierunkach mikrobiologii. Do uzyskania stopnia M. Ph. (Master Phil.) lub D. Ph. (Doctor Phil.) potrzeba w sumie 6 lub 7 lat studiów.

Wykłady i zajęcia praktyczne prowadzi cały personel katedry. Tok wykładów ustala prof. Knight w następującej kolejności: Chemia, Biochemia, Mikrobiologia (zwłaszcza fizjologia drobnoustrojów, plus ogólne podstawy biologiczne). Do uzyskania stopnia B. Sci.-general potrzebne jest zaznajomienie studenta z następującymi działami mikrobiologii: czynniki środowiskowe: fizyczne i chemiczne, które warunkują rozmnażanie się drobnoustrojów; technika laboratoryjna; zapoznanie się na wybranych przykładach z różnymi grupami drobnoustrojów; enzymatyka; metabolizm i ogólne cechy fizjologiczne wybranych drobnoustrojów; serologia.

Ogólny tok studiów mikrobiologicznych powinien dać studentom według prof. Knighta: zaznajomienie się z przedstawicielami ważniejszych grup drobnoustrojów i z metodami ich badania; dobre podstawy chemiczne i biochemiczne do badań fizjologicznych; opanowanie metody porównawczej.

Po uzyskaniu stopnia B. Sci. studenci mogą otrzymać stypendia od władz miejscowych. Obecnie zaczęto im też przyznawać stypendia rządowe 2 lub 3-letnie.

Wobec dużego zapotrzebowania mikrobiologów w szkołach akademickich, w przemyśle i rolnictwie analogiczna specjalizacja prowadzona jest też w Leeds i w różnych innych ośrodkach uniwersyteckich Anglii i Walii.