

WPŁYW STŁOCZENIA TASIEMCÓW *HYMENOLEPIS DIMINUTA* NA BUDOWĘ PROGLOTYDÓW W OKRESIE ICH WZMOŻONEJ ZMIENNOŚCI

MAREK STRADOWSKI

Zakład Biologii Ogólnej i Parazytologii Instytutu Biostruktury AM
02-004 Warszawa, ul. Chałubińskiego 5

CROWDING EFFECT IN THE PERIOD OF INTENSIFIED VARIABILITY OF PROGLOTTIDS IN *HYMENOLEPIS DIMINUTA*

Abstract. Tapeworms obtained 13 months after the administration to rats of cysticeroids *Hymenolepis diminuta* – WMS il1 measured in 3–6-specimen populations an average of 677.9 mm in length while in 23–26-specimen populations an average of 356.9 mm in length. Strobilas of an exclusively unilateral (right-sided) position of genital pores (PGP) appeared in 76.3%–79.8% of tapeworms of the investigated groups. In such tapeworms belonging to 23–26-specimen populations the frequency of occurrence of typical proglottids containing 1 testis on the poral side and 2 testes on the aporal side (1p2a) and type 0p3a proglottids averaging 86.5% and 6.8%, respectively, declines in comparison to the average frequency of occurrence of proglottids of this type in 3–6-specimen populations amounting to 87.8% and 8.8%, respectively. The frequency of occurrence of four-testes (1p3a) proglottids averaged 5.5% in tapeworms from the 23–26-specimen populations and was 4.0% higher than the 1.5% average in tapeworms from the 3–6-specimen populations, in spite of the fact that in a population with a higher number of specimens proglottids are smaller and, therefore, have less room for an additional number of these organs. In tapeworms with variable PGP type 2p1a proglottids constituted the most frequent deviation in each of investigated group of different infection intensity. Their average frequency of occurrence rose from 0.4%–0.5% in tapeworms with unilateral PGP to an average of 5.5%–5.9% in tapeworms with variable PGP. Close positive correlation was found in tapeworms with variable PGP between the frequency of occurrence of such changes and the frequency occurrence of type 2p1a proglottids in every of investigated group ($P < 0.01$, $r =$ from +0.887, to +0.918).

WSTĘP

Zmienność niektórych cech morfologicznych u tasiemców podlega w dużym stopniu wpływom warunków hodowli. Do takich cech, stosunkowo dobrze już zbadanych, należy długość tasiemców zależna od ich intensywności inwazji. Zjawisko to nazwane *crowding effect* zostało opisane u *Hymenolepis diminuta* jak też u innych gatunków tasiemców pasożytujących u ssaków (WOODLAND 1924, SHORB 1933, HUNNINEN 1935, CHANDLER 1939, HAGER 1941, WARDLE i GREEN 1941, READ 1951, READ i wsp. 1958, ROBERTS 1964, HESSELBERG i ANDREASSEN 1975, ROBERTS 1980, ZAVRAS i ROBERTS 1984, STRADOWSKI 1994b), a także u ptaków (WIŚNIEWSKI i wsp. 1958, KORPACZEWSKA 1963, STRADOWSKI 1973).

Inne czynniki wywierające istotny wpływ na charakter zmian morfologicznych u tasiemców związane są z czasem trwania inwazji, co zostało po raz pierwszy wykryte u *H. diminuta* 'rasy' WMS (STRADOWSKI 1993). Stwierdzono bowiem pojawienie się u 5-miesięcznych tasiemców tej 'rasy' zmian położenia męskich i żeńskich dróg płciowych i odpowiednich zmian położenia zatok płciowych (PGP). Liczebność tych zmian wzrastała w miarę upływu czasu aż do 23 miesiąca, w którym zakończono obserwacje. Godne uwagi są przy tym korelacje wykryte pomiędzy liczebnością zmian PGP a liczebnością proglotydów typu 1p2a (zawierających jedno jądro pomiędzy jajnikiem a stroną poralną wyznaczoną położeniem zatoki płciowej i dwa jądra po stronie aporalnej), 2p1a, 3p0a i 3p1a (STRADOWSKI 1993).

Jeszcze innym zjawiskiem zależnym od warunków hodowli, do których można zaliczyć czynniki związane z określoną liczebnością tasiemców w jelicie żywiciela, jest wykryty ostatnio u *H. diminuta* charakter zmienności wyrażający się zmniejszoną liczebnością proglotydów trzyjądrowych – typu 1p2a i 0p3a, przy równoczesnym wzroście liczebności proglotydów czterojądrowych – typu 1p3a w miarę wzrostu intensywności inwazji (STRADOWSKI 1994b). Jest to nieoczekiwany i trudny do interpretacji wynik, gdyż mniejsze proglotydy, jakie występują u tasiemców z populacji przegęszczonych, zawierają mniej miejsca na narządy wewnętrzne. Zjawisko to wykryto u tasiemców młodych – 2,5-miesięcznych, u których brak było jeszcze zmian PGP (STRADOWSKI 1994b). Należy zatem przypuszczać, że u starszych tasiemców, u których występują takie zmiany, wzajemne powiązania topograficzne pomiędzy badanymi narządami mają jeszcze bardziej złożony charakter.

Celem pracy było zbadanie liczebności proglotydów określonych typów w strobilach *Hymenolepis diminuta* uzyskanych z hodowli mało liczebnych i przegęszczonych w okresie wzmożonej zmienności morfologicznej. Dokonano ponadto pomiarów długości tasiemców.

Material i metody

Badania dotyczyły 13-miesięcznych tasiemców uzyskanych w wyniku sekcji szczurów, samców rasy WAG/alb. Szczury w wieku 1,5 miesiąca otrzymały odpowiednio 6, 20 i 35 cysticerkoidów *H. diminuta* wyizolowanych z jamy ciała *Tribolium destructor*. Owady kontaktowano 1,5 miesiąca wcześniej, po 7-dniowym głodzeniu, z pojedynczymi proglotydami uzyskanymi od jednego tasiemca, należącego do 30 pokolenia hodowli wsobnej *H. diminuta* – WMS il1 (skrót nazwy od Warsaw Medical School inbred line 1, STRADOWSKI 1994a). Zarazone owady hodowano w mące z płatkami owsianymi z dodatkiem jabłka, szczury zaś karmiono paszą murigran. Pozostałe czynności dotyczące metod pracy przedstawia STRADOWSKI (1994b). U 6 szczurów służących jako kontrola niezaplanowanej inwazji, nie stwierdzono obecności tasiemców.

Wyniki

Ogólna liczba wykrytych tasiemców wynosiła 296. Z pomiarów długości i określania liczebności poszczególnych typów proglotydów wyłączono 3 tasiemce uszkodzone w części hermafrodytycznej: 2 z grupy I, uzyskanej po podaniu szczurom dawki 6 cysticerkoidów, oraz 1 z grupy III uzyskanej po podaniu 35 cysticerkoidów. Ponadto wyłączono z pomiarów samej tylko długości 8 tasiemców, przeciętych przypadkowo w macicznej części strobili: 2 z grupy I, 4 należące do grupy II uzyskanej po podaniu poszczególnym szczurom 20 cysticerkoidów oraz 2 z grupy III.

Względna liczebność tasiemców wykrytych u szczurów zmniejszyła się ze wzrostem liczby podanych cysticerkoidów (tab. 1).

TABELA 1

Intensywność inwazji *Hymenolepis diminuta* po 13 miesiącach od podania odpowiednich dawek cysticerkoidów

TABLE 1

Intensity of infection with *Hymenolepis diminuta* 13 months after infection in relation to number of cysticercooids administered

Grupa tasiemców Group of tapeworms	Dawka cysticerkoidów Dose of cysticercooids	Liczba zarażonych szczurów No of infected rats	Liczba wykrytych tasiemców No of worms recovered			% w stosunku do liczby podanych cysticerkoidów % related to no. of cysticercooids administered
			razem total	od-do range	średnio mean	
I	6	20	101	3–6	5,1	84,2
II	20	6	97	15–18	16,2	80,8
III	35	4	98	23–26	24,5	70,0

TABELA 2

Długość 13-miesięcznych tasiemców *Hymenolepis diminuta* w odniesieniu do ich stłoczenia

TABLE 2

Length of 13 months old *Hymenolepis diminuta* tapeworms in relation to the intensity of infection

Grupa tasiemców Group of tapeworms	Intensywność inwazji Intensity of infection	Długość tasiemców w mm Length of tapeworms in mm				
		od from	do to	średnio mean	SD	SE
I	3–6	583	768	677,9	46,7	4,7
II	15–18	308	488	398,0	45,1	4,7
III	23–26	287	432	356,9	33,0	3,4

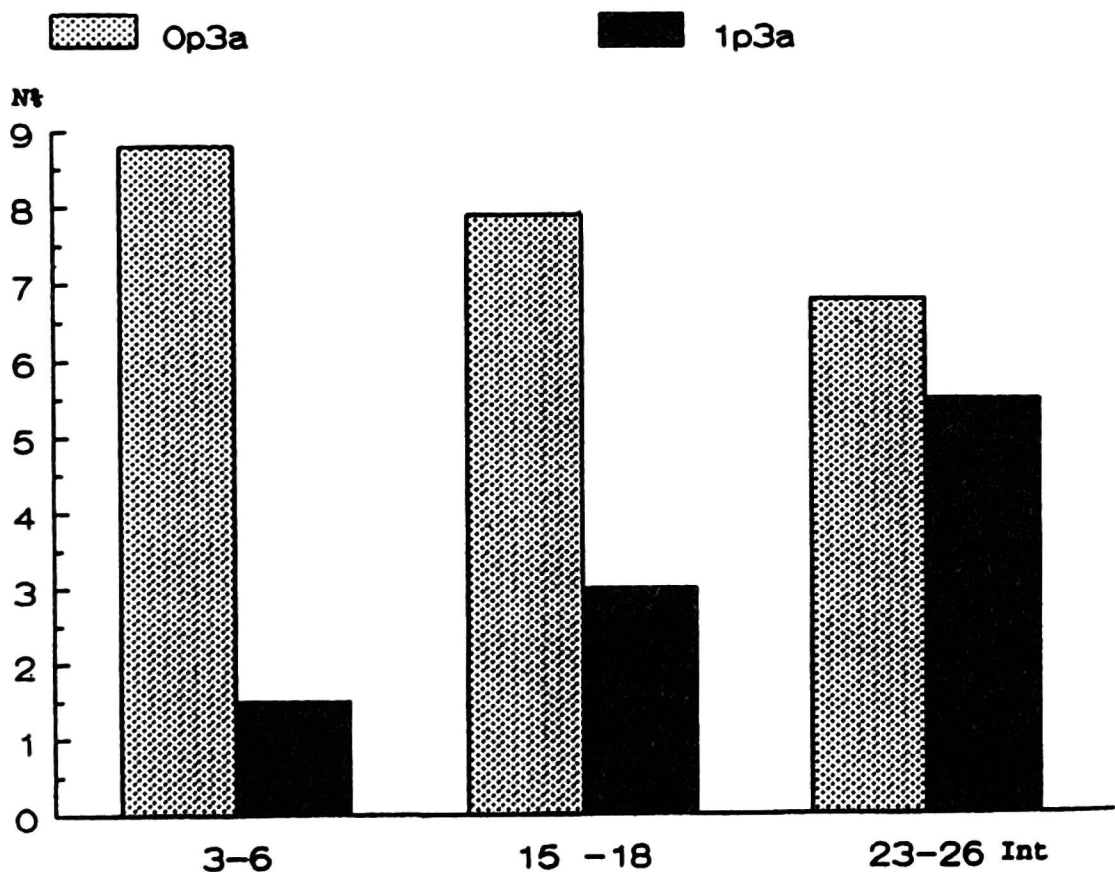
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
23-26	74	314,0	0,0	82,1	0,0	82,1	2,6	0,0	2,6	2,5	0,0	2,5	0,0	0,0	0,0	0,0
		532,0	0,0	93,0	0,0	93,0	9,5	0,0	9,5	8,9	0,0	8,9	0,9	0,0	0,9	1,5
		427,0	0,0	86,5	0,0	86,5	6,8	0,0	6,8	5,5	0,0	5,5	0,4	0,0	0,4	0,8
		44,2	0,0	2,1	0,0	2,1	1,4	0,0	1,4	1,3	0,0	1,3	0,2	0,0	0,2	0,3
	23	242,0	0,9	32,3	20,6	79,8	1,0	0,3	1,6	1,0	0,3	1,5	0,7	0,5	1,2	1,4
		501,0	29,8	66,3	52,8	89,8	3,8	3,0	5,8	3,6	2,8	5,7	6,4	6,0	11,4	5,8
		412,2	13,3	52,1	33,9	86,0	2,0	1,4	3,4	1,8	1,2	3,0	2,9	2,6	5,5	2,2
		60,3	9,6	11,2	11,0	2,6	0,7	0,7	1,1	0,6	0,7	0,9	1,7	1,6	3,0	0,9

Objaśnienia: kolumny: 1 — intensywność inwazji, 2 — liczba zbadanych tasiemców, 3 — liczba proglotydów, 4 — liczebność zmian PGP w %. Wartości liczbowe w kolumnach 3—17 podano w kolejności: od-do, średnio i odchylenie standardowe. Explanations: columns: 1 — intensity of infection; 2 — No. of investigated tapeworms; 3 — No. of proglottids; 4 — No. of PGP changes in %. Figures in columns 3—17 are given in the following sequence: from to, average and standard deviation.

Długość tasiemców wynosiła od 287 do 768 mm, wykazując ścisłą zależność od intensywności inwazji (tab. 2). Najdłuższe tasiemce występowały w populacjach grupy I liczących 3–6 osobników, i mierzyły średnio 677,9 mm, najkrótsze zaś, o średniej długości 356,9 mm, w populacjach 23 do 26-osobnikowych grupy III (tab. 2).

W każdej z trzech porównywanych grup występowały strobile o jednostronnym (zawsze wtedy prawostronnym) PGP oraz strobile o zmiennym położeniu tych narządów (tab. 3). W populacjach I grupy 79,8% strobil posiadało jednostronne PGP i odpowiednie do tego położenie dróg płciowych. Podobna była liczebność tego typu strobil w populacjach tasiemców grupy II i III, wynosząca odpowiednio 77,3% i 76,3% (tab. 3).

U tasiemców o jednostronnym PGP występowały, oprócz proglotydy typowych zawierających jedno jądro pomiędzy jajnikiem a stroną poralną, wyznaczoną położeniem zatoki płciowej, i dwa jądra po stronie aporalnej (1p2a) z zatoką płciową po stronie prawej (R), oznaczonych zatem symbolem 1p2aR, również proglotydy typu 0p1aR, 0p2aR, 0p3aR, 0p4aR, 0p5aR, 1p0aR, 1p1aR, 1p3aR, 1p4aR, 1p5aR, 2p0aR, 2p1aR, 2p2aR, 2p3aR i 2p4aR. Najliczniejszymi, po proglotydach typowych – 1p2aR, były proglotydy typu 0p3aR i 1p3aR.

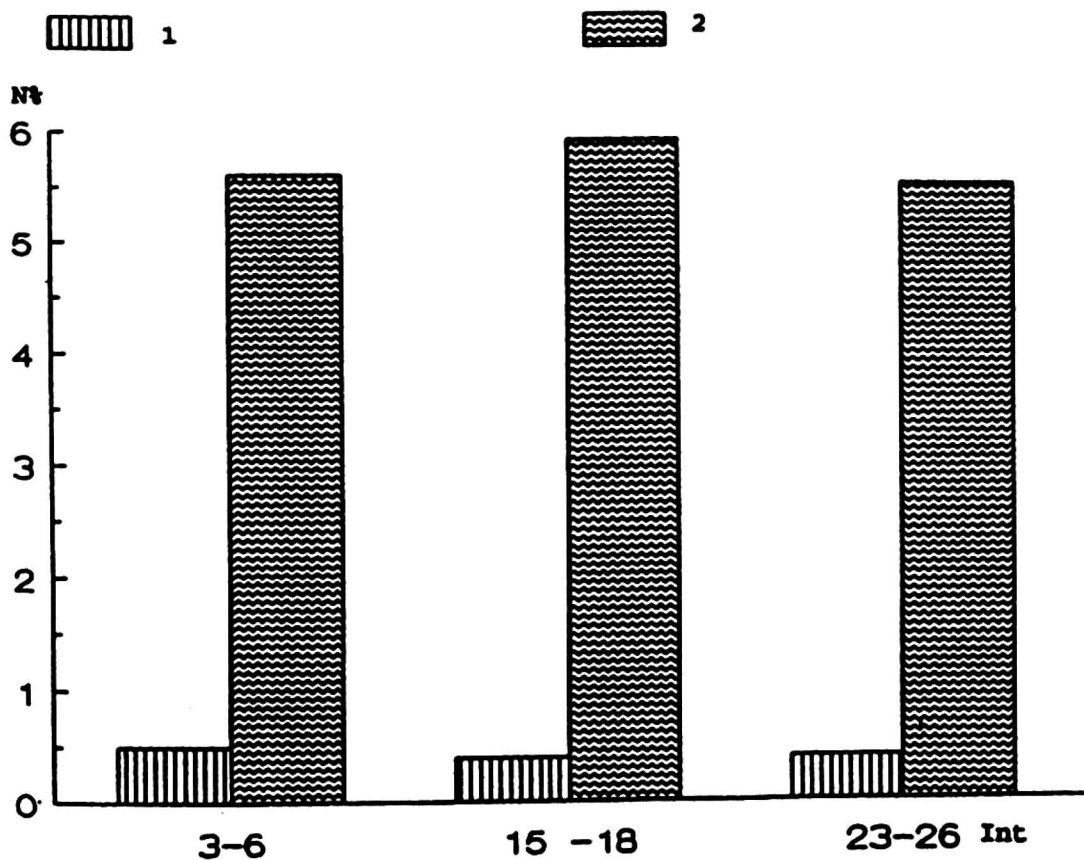


Ryc. 1. Liczebność proglotydy typu 0p3a i 1p3a u tasiemców *Hymenolepis diminuta* o jednostronnym PGP w inwazjach o różnej intensywności. Objaśnienia: N% – liczebność proglotydy w % z ogólnej liczby, Int – intensywność inwazji

Fig. 1. Frequency of occurrence of type 0p3a and 1p3a proglottids in *Hymenolepis diminuta* tapeworms with unilateral PGP in infections of different intensity. Explanations: N% – number of proglottids in % of the total number, Int – intensity of infection

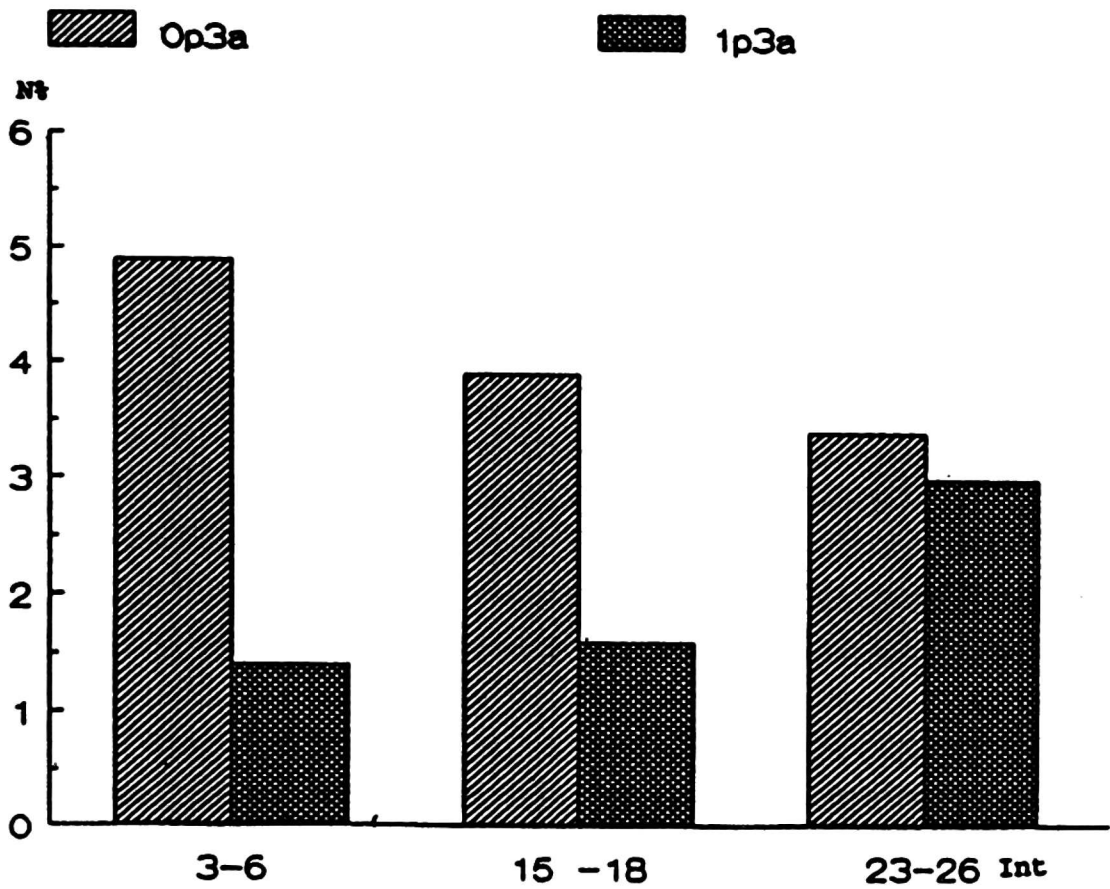
Ze wzrostem intensywności inwazji zmniejszyła się u tasiemców o jednostronnym PGP średnia liczebność proglotydydów typu 1p2aR i 0p3aR (tab. 3, ryc. 1). Spadek liczebności proglotydydów tych typów wynosił w grupie III, w porównaniu z grupą I, odpowiednio 1,3% i 2,0%. Inaczej kształtowała się liczebność proglotydydów typu 1p3aR; ich liczba bowiem wzrasta w miarę wzrostu intensywności inwazji tasiemców o 1,5% w grupie II oraz o 4,0% w grupie III, w porównaniu z grupą I (tab. 3, ryc. 1). Względny wzrost liczebności tego typu proglotydydów jest w miarę wzrostu intensywności inwazji 2,0-krotny u tasiemców grupy II i 3,7-krotny u tasiemców grupy III, w porównaniu z tasiemcami grupy I (tab. 3). Ocena statystyczna przedstawionych wyników, dokonana przy użyciu testu WILCOXONA, wykazała istotność zależności ($P < 0,01$) pomiędzy liczebnością proglotydydów tych typów (1p2aR, 0p3aR i 1p3aR) a intensywnością inwazji tasiemców przy porównaniu grupy I, do której należą populacje złożone z 3–6 tasiemców, z grupą III złożoną z populacji liczących 23–26 tasiemców (tab. 3). Porównanie liczebności tych typów proglotydydów w grupach I i III z grupą II złożoną z populacji o pośredniej liczbie 15–18 tasiemców wskazuje na istotność różnic tylko w przypadku liczebności proglotydydów typu 0p3a i 1p3a ($P < 0,01$).

Strobile o zmiennym PGP występowały u 20,2% do 23,7% tasiemców z badanych grup (tab. 3). U takich tasiemców w każdej grupie wraz ze



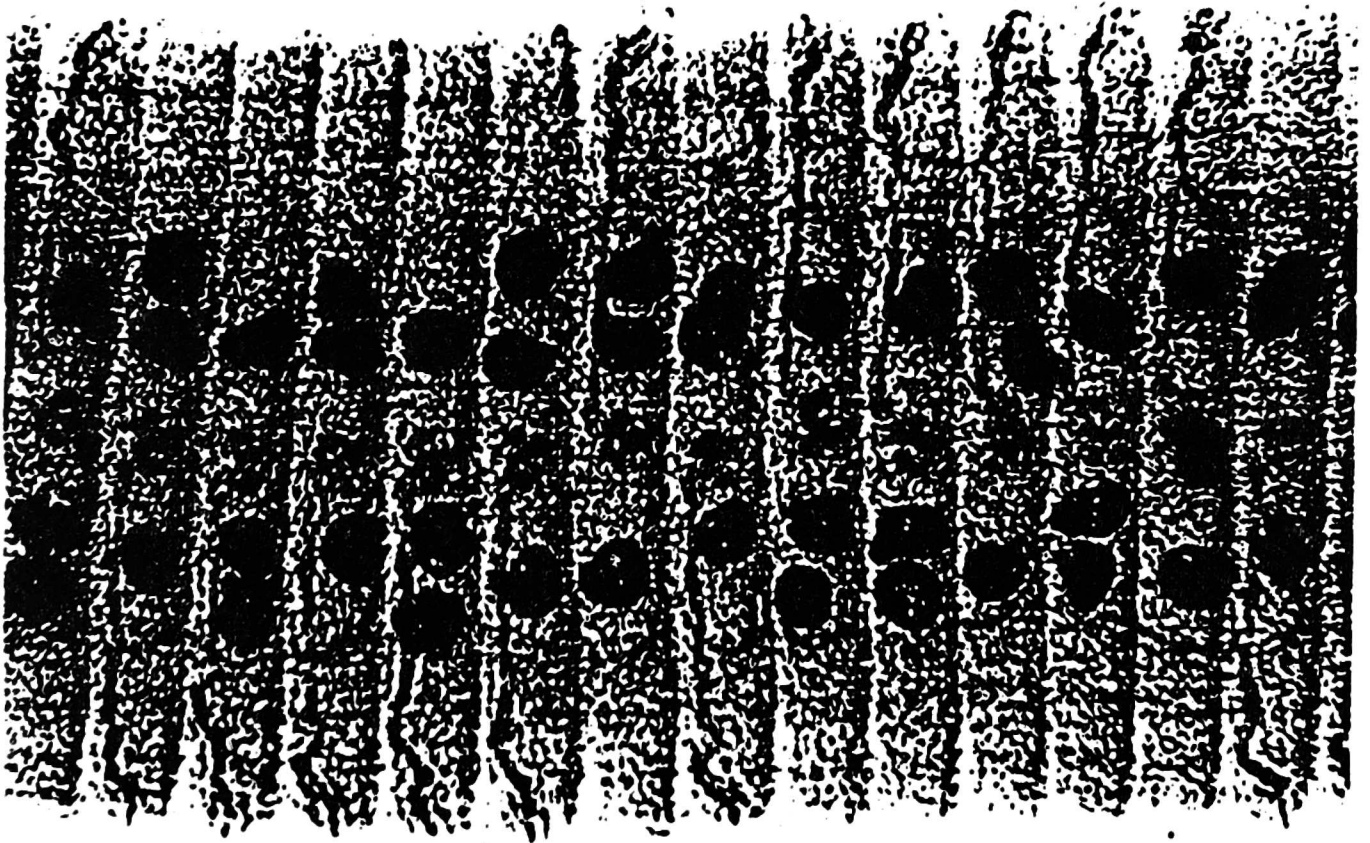
Ryc. 2. Liczebność proglotydydów typu 2p1a u *Hymenolepis diminuta* o jednostronnym (1) i zmiennym (2) PGP. Objasnienia jak do ryc. 1

Fig. 2. Frequency of occurrence of type 2p1a proglottids in *Hymenolepis diminuta* with unilateral (1) and variable (2) PGP. Explanations as in fig. 1



Ryc. 3. Liczebność proglotydy typu 0p3a i 1p3a u *Hymenolepis diminuta* o zmiennym PGP w inwazjach o różnej intensywności. Objaśnienia jak do ryc. 1

Fig. 3. Frequency of occurrence of type 0p3a and 1p3a proglottids in *Hymenolepis diminuta* with variable PGP in infections of different intensity. Explanations as in fig. 1



Ryc. 4. Odcinek strobili *Hymenolepis diminuta* o zmiennym PGP przedstawiający proglotydy kolejno: typu 1p2a, 1p2a, 2p1a, 1p2a, 2p1a, 1p2a, 2p1a, 1p2a itd.

Fig. 4. Fragment of strobilae of *Hymenolepis diminuta* with variable PGP. The following proglottids can be seen in turn: type 1p2a, 1p2a, 2p1a, 1p2a, 2p1a, 1p2a, 2p1a, 1p2a etc.

wzrostem liczebności zmian PGP wzrosła liczebność proglotydy typu 2p1aR, 2p1aL (R oznacza zatokę płciową po prawej stronie, L po stronie lewej) i obu tych typów rozpatrywanych łącznie, określonych wówczas symbolem 2p1a ($r = \text{od } +0,801 \text{ do } +0,918$, $P < 0,01$; ryc. 2). Proglotydy tego typu stały się u tasiemców o zmiennym PGP najliczniejsze po proglotydach typowych – 1p2a (ryc. 4), zaś proglotydy typu 0p3a i 1p3a zajęły kolejno następne miejsca pod względem liczebności, wykazując przy tym istotną zależność od intensywności inwazji tasiemców (ryc. 3, tab. 3), przy porównaniu grupy I złożonej z mało liczebnych populacji, z grupą III złożoną z populacji najbardziej liczebnych ($P < 0,01$).

Ze wzrostem liczebności zmian PGP wystąpił poza tym istotny spadek liczebności ($P < 0,01$) proglotydy typu 1p2a (jeśli nie uwzględnić prawej i lewej strony) w grupie III, 0p3a w grupie I i III oraz 1p3a w grupie I.

Tasiemce o zmiennym PGP odróżniają się od osobników o jednostronnym położeniu tegoż również znacznie większą różnorodnością notowanych typów proglotydy, gdyż oprócz wszystkich wymienionych wcześniej występują ich odpowiedniki z lewostronnym PGP, z najliczniejszym wśród nich – 1p2aL (tab. 3). Ponadto stwierdzono proglotydy typu 3p0aR i 3p1aR oraz ich odpowiedniki – 3p0aL i 3p1aL nie występujące u tasiemców o jednostronnym PGP. Należały one, przy średniej łącznej liczebności 0,21%, do najrzadziej spotykanych.

Dyskusja

Wraz ze wzrostem dawki inwazyjnej zmniejszał się, w stosunku do liczby podanych szczurom cysticerkoidów, odsetek wykrytych tasiemców. Pozostaje to w zgodzie z obserwacjami HESSELBERG i ANDREASSEN (1975); należy jednak zaznaczyć, że w przypadku badanych tu tasiemców czas trwania inwazji był znacznie dłuższy. Stosunkowo duża względna liczba wykrytych tasiemców, pomimo upływu 13 miesięcy od dnia zarażenia, świadczyła o wysokiej aktywności inwazyjnej cysticerkoidów w stosunku do żywiciela ostatecznego.

Zjawisko *crowding effect* wyrażające się zmniejszaniem się długości tasiemców w inwazjach o większej intensywności było przedmiotem licznych badań, co zostało przedstawione we wstępie, a podane tu wyniki stanowią potwierdzenie takich zależności u tasiemców pochodzących z hodowli wsobnej *H. diminuta*. Nie znano natomiast dotychczas, oprócz ostatnio wykrytego u młodych tasiemców *H. diminuta* cechujących się wyłącznie jednostronnym PGP (STRADOWSKI 1994b), wpływu intensywności inwazji na liczebność proglotydy określonych typów. Zjawisko to nie było badane u tasiemców starszych; nie znany był zatem jego charakter w populacjach, w których skład wchodzi oprócz tasiemców o jednostronnym PGP także tasiemce o zmiennym położeniu tych narządów.

Analiza zmian morfologicznych u starych tasiemców z jednostronnym PGP nasuwa przypuszczenie, że przyrost liczebności proglotydów typu 1p3a, wynoszący przy porównaniu grupy III z I 4,0%, mógł się odbywać przede wszystkim kosztem proglotydów potencjalnie typu 0p3a i 1p2a, których łączny ubytek wynosił 3,3%. Pomijając jednak nie znaną, przyjętą jedynie hipotetycznie, możliwość przekształcania się proglotydów potencjalnie jednego typu w inny, należy podkreślić fakt nieoczekiwanego wzrostu liczebności proglotydów czterojądrowych (1p3a) przy równoczesnym zmniejszeniu się liczebności takich, które zawierają tylko trzy jądra (1p2a i 0p3a) w warunkach zmniejszonej objętości proglotydów w przegęszczonych populacjach tasiemców.

U tasiemców z populacji przegęszczonych (grupa III), o zmiennym PGP, liczebność proglotydów typu 0p3a zmniejszyła się w porównaniu z liczebnością proglotydów tego typu w grupie I, liczebność zaś proglotydów typu 1p3a wzrosła (tab. 3). Wpływ intensywności inwazji jest tu jednak słabiej zaznaczony niż u tasiemców o jednostronnym PGP, co może być spowodowane złożonymi zależnościami w procesie przekształcania się proglotydów potencjalnie jednego typu w inny, w związku z powstawaniem zmian położenia dróg i zatok płciowych, które to zagadnienie dyskutuje STRADOWSKI (1993).

Przedstawione wyniki wskazują na szersze znaczenie pojęcia *crowding effect*, gdyż związany jest on nie tylko ze zmniejszaniem się długości tasiemców, ale przejawia się również określoną zmiennością budowy proglotydów u *H. diminuta*.

Stwierdzenie wpływu czasu trwania hodowli (STRADOWSKI 1993) i intensywności inwazji (STRADOWSKI 1994b, tab. 3) na istotne cechy taksonomiczne, jakimi są u wybranych Hymenolepididae liczba i topografia jąder w proglotydach, zachęca do zbadania, czy także inne niebrane dotychczas pod uwagę warunki środowiskowe rzutują na zmienność tasiemców.

Uzyskanie i utrzymywanie hodowli wsobnej *H. diminuta* pozwala ponadto na otrzymanie z ich onkosfer, w hodowlach o zwiększonej intensywności inwazji, dużej liczby tasiemców przeznaczonych na określone potrzeby doświadczalne. Macierzyste hodowle wsobne mogą stanowić odpowiednią bazę do prowadzenia badań ultrastrukturalnych a także z różnych innych dziedzin: fizjologii, biochemii, genetyki itd. Zwraca przy tym uwagę fakt, że liczne publikacje poruszające te sprawy oparte były w głównej mierze na *H. diminuta*, ale nie pochodzących z hodowli wsobnej.

LITERATURA

- CHANDLER A. C. 1939. The effects of number and age of worms on development of primary and secondary infections with *Hymenolepis diminuta* in rats, and an investigation into the true nature of 'premunition' in tapeworm infections. *American Journal of Hygiene* 29: 105-114.
- HAGER A. 1941. Effects of dietary modification of host rats on the tapeworm *Hymenolepis diminuta*. *Iowa State College Journal of Science* 15: 127-153.

- HESELBERG C. A., ANDREASSEN J. 1975. Some influences of population density on *Hymenolepis diminuta* in rats. *Parasitology* 71: 517-523.
- HUNNINEN A. V. 1935. Studies on the life history and host-parasite relations of *Hymenolepis fraterna* (*H. nana* var. *fraterna*) in white mice. *American Journal of Hygiene* 22: 414-443.
- KORPACZEWSKA W. 1963. Formation of a population structure and cestode complexes in water birds. *Acta Parasitologica Polonica* 11: 337-344.
- READ C. P. 1951. The 'crowding effect' in tapeworm infections. *Journal of Parasitology* 37: 174-178.
- SCHILLER E. L., PHIFER K. 1958. The role of carbohydrates in the biology of cestodes. V. Comparative studies on the effects of host dietary carbohydrate on *Hymenolepis* spp. *Experimental Parasitology* 7: 198-216.
- ROBERTS L. S. 1964. Host dietary carbohydrate and the 'crowding effect' in cestodes. *Journal of Parasitology* 50, Sect. 2 (Suppl.): 31.
- 1980. Development of *Hymenolepis diminuta* in its definitive host. In: H. P. Arai [Ed.]. *Biology of tapeworm Hymenolepis diminuta*. Academic Press, New York: 357-423.
- SCHORB D. A. 1933. Host-parasite relations of *Hymenolepis fraterna* in the rat and mouse. *American Journal of Hygiene* 18: 74-113.
- STRADOWSKI M. 1973. A study of *Diorchis stefanskii* Czaplinski, 1956 populations (Cestoda, Hymenolepididae) in experimentally infected domestic ducks. *Acta Parasitologica Polonica* 21: 349-357.
- 1993. Variability of the position of organs in *Hymenolepis diminuta* tapeworms at different ages. *Acta Parasitologica* 38: 23-28.
- 1994a. Effects of inbreeding in *Hymenolepis diminuta* (Cestoda). *Ibidem* 39: 146-149.
- 1994b. Evidence of a crowding effect on the morphology of *Hymenolepis diminuta* proceeding from WMS inbred line 1. *Ibidem* 39: 192-196.
- WARDLE R. A., GREEN N. K. 1941. The rate of growth of the tapeworm *Diphyllobothrium latum* (L.). *Canadian Journal of Research* 19: 245-251.
- WIŚNIEWSKI W. L., SZYMANIK K., BAŻAŃSKA K. 1958. The formation of a structure in tapeworm populations. *Československa Parasitologie* 5: 195-212.
- WOODLAND W. N. F. 1924. On the life cycle of *Hymenolepis fraterna* (*H. nana* var. *fraterna* Stiles) in the white mouse. *Parasitology* 16: 69-83.
- ZAVRAS E. T., ROBERTS L. S. 1984. Developmental physiology of cestodes: Characterization of putative crowding factors in *Hymenolepis diminuta*. *Journal of Parasitology* 70: 937-944.

Otrzymano 22 II 1995, zaakceptowano 3 I 1996