

W. MACIEJEWSKA-POTAPCZYKOWA

## TUMORY ROŚLINNE

Patologiczny wzrost tkanek i powstawanie nowotworów budzi od dawna ogromne zainteresowanie. Olbrzymia jednak większość prac poświęconych zagadnieniom onkologii dotyczy materiału zwierzęcego i ludzkiego, problem natomiast nowotworów roślinnych jest jak dotychczas znacznie mniej opracowany. Badania tumorów roślinnych posiadają duże znaczenie teoretyczne, zwłaszcza że niektórzy autorzy uważają, że istnieje analogia pomiędzy nowotworami zwierzęcymi i tumorami roślinnymi (Smith i Jensen cyt. przez Brauna 1954-a, Gautheret 1950, de Ropp 1951, Braun 1952, Ryżkow 1960). Pogląd ten opiera się na pewnych podobieństwach między tymi dwoma rodzajami nowotworów, a przede wszystkim na fakcie, że zarówno tkanki tumorów roślinnych jak i nowotworów zwierzęcych posiadają charakter embrionalny oraz zdolność nieograniczonego wzrostu *in vivo* i *in vitro*. W jakim jednak stopniu tumor roślinny może stanowić model tkanki patologicznej w ogóle, trudno rozstrzygnąć. Charakterystyczne bowiem jest, że czynniki kancerogenne, powodujące powstawanie nowotworów zwierzęcych na ogół nie wywołują tworzenia się tumorów u roślin, a przejawiają raczej działanie specyficzne, polegające na stymulowaniu powstawania tkanek kallusowych i korzeni (Kiser, Lindenberga 1940, Levine 1925, 1930, 1939, 1940, 1950, Rogozińska 1958). Być może, że etiologia procesu przekształcania się tkanek normalnych w nowotworowe jest inna u roślin, a inna u zwierząt.

Przyczynami poznanymi dotychczas, a powodującymi patologiczny wzrost tkanek roślinnych mogą być: bakterie, wirusy lub też czynniki genetyczne.

### Tumory bakteryjne

Pierwsze wzmianki o tumorach bakteryjnych spotykamy już w roku 1907, kiedy to Smith i Townsend wyizolowali z narośli występującej na *Chrysanthemum frutescens* L. gramoujemną bakterię, którą nazwali *Bacterium tumefaciens*. W związku z bardziej nowoczesną koncepcją systematyki bakterii nazwę tę zmieniono później na *Agrobacterium tumefaciens*. Wyizolowanie i scharakteryzowanie tego drobnoustroju, jako czynnika powodującego wzrost neoplastyczny, wywołało ogromne zainteresowanie patologów, tym bardziej że w owym czasie nie udało się jeszcze uzyskać eksperymentalnie żadnego nowotworu zwierzęcego.

W wyniku tego odkrycia Smith wysunął hipotezę, że narośl, wywołana na roślinie przez *Agrobacterium tumefaciens*, jest rakiem roślinnym i jednocześnie analogiem nowotworu zwierzęcego (Smith 1912, 1913, 1916, 1922, 1923, 1924, 1925, 1926). Autor ten wyrażał również pogląd, że jeżeli tumory roślinne wywołane są przez bakterie, to i raki zwierzęce i ludzkie muszą być podobnego pochodzenia.

Chociaż wielu badaczy przyjęło początkowo hipotezę Smitha o analogii pomiędzy tumorem roślinnym a rakiem zwierzęcym, to jednak analogię tę przyjmowano z coraz większą rezerwą (Robinson 1927). Zastrzeżenia budziła przede wszystkim kwestia pochodzenia tumorów roślinnych oraz, czy bakterie są jedynym czynnikiem wywołującym ich powstawanie. Okazało się bowiem, że same tylko substancje wzrostowe, występujące obficie w tumorach pochodzenia bakteryjnego, zdolne są wywoływać tumory u roślin (Gautheret 1947, Camus i Gautheret 1948). Działaniem syntetycznych substancji wzrostowych również udało się wywołać u buraka powstawanie narośli podobnych do tumorów bakteryjnych. Narośla te jednak miały ograniczony wzrost, a przeszczepione na innego gospodarza tego samego gatunku, nie powodowały tworzenia się tumorów (Braun 1947a). Hodowla tych tumorów *in vitro* wykazywała ich zapotrzebowanie na substancje wzrostowe.

Koncepcja Smitha ustalająca, że bakterie są przyczyną powstawania tumorów była błędna. Już bowiem doświadczenia Jensena przeprowadzane w latach 1910—1918 wskazywały na występowanie tumorów bezbakteryjnych u buraka ćwikłowego (doświadczenia cyt. przez Brauna 1954a).

Według współczesnych poglądów bakterie inicjują tylko proces przekształcania komórek normalnych w tumorowe, zaś dalszy wzrost tkanek tumoru jest od bakterii zupełnie niezależny (Braun, Stornier 1958). Według tych autorów tumor nie jest, jak początkowo sądził Smith, stymulowaną przez bakterie hyperplazją, lecz prawdziwą rakowatą neoplazją rośliny. Wykazano również, że tumory można przeszczepiać i uzyskiwać tą drogą nowotwory wtórne nie zawierające bakterii (Braun 1941, White i Braun 1942, Braun i White 1943), a posiadające zdolność nieograniczonego wzrostu *in vivo* i *in vitro*. Z tych tumorów wtórnych wyizolowano następnie tkanki pozbawione bakterii (de Ropp 1947, Morel 1948). Wolne od bakterii tkanki tumorowe charakteryzowały się zdolnością nieograniczonego wzrostu na podłożu White'a (1954), które nie jest odpowiednie dla wzrostu tkanek normalnych.

Problemem tumorów roślinnych zajmowali się głównie de Ropp (1951), Braun (1954), oraz Klein i Link (1955). Stwierdzono dotychczas, że tumory roślinne, wywołane przez *Agrobacterium tumefaciens* mogą występować u 142 gatunków należących do 61 różnych grup roślin, w szczególności dwuliściennych (Braun, Stornier 1958). Tumory te mogą występować prawie na wszystkich organach rośliny: korzeniach, łodygach, liściach, pąkach i organach zapasowych. Tkanki tumorów, wywołanych działaniem *Agrobacterium tumefaciens*, różnią się znacznie od tkanek normalnych (Gäumann 1960). Komórki tumorowe barwią się silnie. Bywają one izodiametryczne lub wrzecionowate, jedno- lub wielojądrowe (liczba jąder w komórkach dochodzi niekiedy do 30). Jądra tych komórek są zwykle po-

większone, gwiazdzisto-płatowe, niekiedy poliploidalne i zdolne do podziałów amitotycznych. Pod względem histologicznym są one atypowe, odznaczają się słabym unaczynieniem lub nawet jego brakiem. W hodowlach zarówno *in vivo*, jak i *in vitro* zachowują zawsze własności neoplastyczne. Tumory wywołane *Agrobacterium tumefaciens* posiadają zdolność tworzenia przerzutów, dając w efekcie tzw. tumory wtórne. Wszystkie te cechy właściwe są także nowotworom zwierzęcym.

Morfologia i anatomia tkanek roślinnych normalnych i patologicznych jest już w najogólniejszych zarysach poznana (prace Gauthereta, Morela i White'a), natomiast problem fizjologii i biochemii tumorów, a w szczególności mechanizmu wykształcania się cech tumorowych są, jak dotychczas, znacznie mniej opracowane. Brak w tej dziedzinie przede wszystkim badań porównawczych, dotyczących metabolizmu tkanek tumorowych różnego pochodzenia. Jedną z nielicznych pozycji literatury na ten temat są obok prac Camusa i Gauthereta (1948a, b, c), Gauthereta (1942) badania Czosnowskiego (1948, 1952), który opracował bardzo szczegółową charakterystykę chemiczną i enzymatyczną trzech typów tkanek *Vitis vinifera*: normalnej, tumora bakteryjnego i tumora chemicznego, hodowanych *in vitro*.

Zawartość związków azotu i fosforu (Klein 1952, Lee 1952, Maciejewska-Potapczykowa 1960) oraz aktywność enzymów biorących udział w przemianach kwasów nukleinowych, a mianowicie RNazy, DNazy i GPazy (Maciejewska-Potapczykowa 1960) są znacznie wyższe w tumorach niż w tkankach normalnych.

Lipetz i Galston (1959) stwierdzili, że tkanki tumorowe *Partenocissus tricuspidata* wytwarzają więcej pozakomórkowej oksydazy i peroksydazy kwasu indolooctowego niż tkanki normalne. Wiąże się to prawdopodobnie z faktem, że tumory wywołane *Agrobacterium tumefaciens* są bogate w substancje wzrostowe, odgrywające doniosłą rolę w stymulacji wzrostu tumora. Dlatego też hodowle *in vitro* tkanek tumorowych są mało wrażliwe na dodatek stymulatorów wzrostu z zewnątrz (Gautheret 1955).

Tkanki tumorowe mogą też zawierać specyficzne frakcje białkowe (Braun 1954b), oraz aminokwasy nieswoiste dla danej rośliny. Biermann i współpracownicy (1961) wyizolowali z tkanek tumorowych nowy aminokwas. Z racji jego podobieństwa do D-oktopiny nazwali go D-lipopiną.

Proces przekształcania tkanek normalnych w tumorowe można prześledzić na roślinach zakażonych *Agrobacterium tumefaciens*.

Okres pomiędzy zaszczepieniem roślinie drobnoustroju, a początkiem fazy transformacji tkanek normalnych w nowotworowe trwa 30—34 godzin po zakażeniu i zależy od pory roku i wieku rośliny (Braun i Mendle 1948).

Przeprowadzono także próby infekcyjności *Agrobacterium tumefaciens* w zależności od temperatury (Braun 1947b): rośliny zakażone tym drobnoustrojem umieszczano kolejno w temperaturach 32 i 25°C. W wyniku tych doświadczeń stwierdzono, że jeżeli rośliny przetrzymać najpierw w temperaturze 32° w ciągu 24 godzin, a następnie przenieść je do temperatury 25°C, to przekształcenie tkanek normalnych w tumorowe zachodzi po 10 godzinach. Dłuższe przetrzymywanie

roślin w temperaturze 25° powodowało zwiększenie intensywności tej przemiany. Maksimum tej intensywności ma okres nie krótszy niż 3 doby. Podobne wyniki otrzymali Braun i White (1943) dla *Vinca rosea*, zakażonej *Agrobacterium tumefaciens*.

Przekształcanie tkanek normalnych w tumorowe przebiega według Brauna (1954a) w dwóch fazach. W fazie pierwszej bakterie przekształcają komórki normalne w tumorowe, które jednak nie rozwijają się w kierunku wzrostu neoplastycznego. Druga faza związana jest ze zdolnością wytwarzania przez komórki nowotworowe substancji wzrostowych. Obie te fazy związane są z wirulentnością bakterii. Kultury bakterii o osłabionej wirulentności zdolne są wywoływać tylko fazę pierwszą (Braun i Stornier 1958). Poglądy te oparto na fakcie, że małe tumory utworzone pod wpływem słabo wirulentnych szczepów bakterii, stawały się większe wskutek działania na nie substancji wzrostowych.

Rack (1953) uważa substancje wzrostowe za czynnik wzmagający skłonność komórek do wzrostu patologicznego, ale nie wpływający na wzrost samych tumorów.

Klein i Link (1955) wyróżniają w procesie przekształcania się tkanek normalnych w tumorowe 3 etapy: podatności, przekształcania się tkanek normalnych w patologiczne i stymulacji wzrostu tumoru. Doświadczenia mające na celu ustalenie charakteru poszczególnych faz przeprowadzone były na marchwi. Stwierdzono, że faza podatności zawarta jest w granicach 16—20 godzin przy temperaturze 25°C, faza przekształcania w granicach 60—70 godzin, a faza stymulacji 28—30 godzin. Wobec tego przekształcenie komórek normalnych w nowotworowe przebiega w ciągu 104—120 godzin.

W fazie pierwszej doniosłą rolę odgrywa czynnik przyranny. Przy uszkodzeniu tkanek na skutek wniknięcia do nich bakterii sok ze zranionych komórek rozplywa się po powierzchni kilku mm<sup>2</sup> i stymuluje podziały sąsiednich komórek.

Specyficzną rolę zranienia w zapoczątkowaniu procesu tumorowacenia ilustrują doświadczenia Brauna z *Kalanchoe daigremontiana*, (1952), w których autor wykazał, że komórki gospodarza, zanim staną się podatne na działanie czynników wywołujących powstawanie tumorów, muszą być przed tym do tego przygotowane przez bodziec zranienia. Efekt ten wykazano porównując reakcję tkanki zranionej na 48 godzin przed zakażeniem bakterią z reakcją tkanki zaszczepionej bakterią zaraz na początku doświadczenia. Tkanki zakażone *Agrobacterium tumefaciens* po uprzednim zranieniu wytwarzały większe tumory niż rośliny nie zranione. Tumory pojawiają się najczęściej w 2—3 dni po zranieniu. Wcześniejsze lub późniejsze okresy działania bodźca zranienia są mniej sprzyjające dla wytworzenia się nowotworu. Dodanie do kultury bakterii soku, ze skrawków łądyg uprzednio zranionych, nie wywoływało powstawania tumorów u roślin uprzednio nie zranionych i przetrzymywanych w temperaturze 25°C tylko przez 24 godziny.

Po okresie podatności rośliny na powstanie tumoru, uwarunkowanym przez hormony przyranne, następuje proces przekształcania tkanek normalnych w patologiczne pod działaniem czynnika powodującego powstanie narośli. W fazie tej

następuje również zakończenie przemiany komórki normalnej w tumorową (Braun 1954a, Klein i Link 1955). Etap trzeci to faza stymulacji wzrostu tumoru, wywołana zazwyczaj przez auksyny lub inne czynniki wpływające na jego wzrost. Wielu autorów uważa, że na skutek zachwiania równowagi hormonalnej w tkankach tumoru wytwarza się w nich wielka ilość auksyn (Gautheret 1947, de Ropp 1947, 1951, Braun 1954a).

Charakterystyczne jest jednak, że bardzo wysokie stężenia substancji wzrostowych działają zabójczo na wzrost tumoru. De Ropp (1947) wykazał, że wysokimi stężeniami substancji wzrostowych można zahamować wzrost tumorów. Netien (1958) stwierdził hamujące działanie gibereliny na wzrost tumorów *Scorzonera*, łądyg głogu i marchwi hodowanych *in vitro*. Bardzo interesujące są również badania Apffela (1959), dotyczące hamującego działania auksyn na wzrost nowotworów zwierzęcych i ludzkich. Autor ten stwierdził, że jonizujące postacie auksyn są ogromnie czynne cytostatycznie. Szczególnie aktywny okazał się w tym względzie ester etylowy, a jeszcze bardziej ester metylowy kwasu 2,4-dwuchlorofenoksyoctowego. Przeciwrakowe działanie tych substancji wzmocnione jest przez ryboflawinę.

Znaczna różnica we wzroście tkanek normalnych i tumorowych, zaobserwowana przez White'a i Brauna (1942), którzy hodowali te tkanki na środowisku pozbawionym substancji typu auksyn wskazuje, że tkanki tumorowe mają zdolność syntezy tych związków i wobec tego nie potrzebują dodatku ich z zewnątrz. Wyniki te potwierdzają również badania Kleina (1952a), któremu nie udało się zahamować rozwoju tumoru na pomidorze hydrazydem kwasu meleinowego, podczas gdy to samo stężenie tego preparatu wywoływało wyraźne zahamowanie wzrostu merystemu wierzchołkowego pomidora. Ta różnica w zachowaniu się tego samego inhibitora w stosunku do różnych tkanek świadczy o dużym stężeniu substancji stymulujących wzrost w tumorze w porównaniu z tkanką merystematyczną.

Braun i Naf (1954) wykazali, że w tkankach tumoru występują substancje wzrostowe charakteru nieauksynowego, zdolne stymulować proliferację komórek. W hodowli tkanek rdzenia tytoniu na środowisku White'a (1954), zawierającym kwas naftylooctowy, zaobserwowano tylko wydłużanie się komórek rdzenia; dopiero dodanie wyciągów z tkanek tumorów wywołało szybki podział tychże komórek. Okazało się, że istnieje prosty stosunek między koncentracją kwasu naftylooctowego z ekstraktem tumorowym a proliferacją komórek.

Gibereliny, kinetyna, różne aminokwasy a także produkty rozpadu kwasów nukleinowych działają stymulująco na wzrost słabo rosnących tumorów (Ryżkow 1960).

Jeśli chodzi o zagadnienie czynnika tumorotwórczego, to charakter jego jest jeszcze niewyjaśniony.

Według Brauna (1947b) czynnikami powodującymi przemianę normalnych komórek roślinnych w tumorze mogą być:

1. Produkty metabolizmu bakterii rakotwórczych.
2. Normalne składniki organizmu gospodarza, zmienione działaniem bakterii na czynniki rakotwórcze.

3. Kwas dezoksyrybonukleinowy komórki bakteryjnej.

4. Jad związany z bakterią i przez nią przenoszony.

5. Same bakterie, które dostając się do komórek zranionych, zmieniają się pod względem morfologicznym i fizjologicznym w ten sposób, że nie można ich wyizolować, ani wykryć za pomocą reakcji barwnych.

Nowsze badania Kleina i współpracowników (Klein 1952b, 1953, 1954, Klein i Knapp 1957) wskazują na KDN jako czynnik tumorotwórczy. Klein (1953) wykazał, że zupełnie niewirulentne szczepy bakterii stają się wirulentne jeżeli dodać do ich kultur KDN wyizolowanego ze szczepów bakterii wirulentnych. Sam jednakże KDN nie posiada zdolności wywoływania tumorów. Wprawdzie osłabione pod względem wirulentności szczepy *Agrobacterium tumefaciens* zdolne są również do wytwarzania czynnika tumorotwórczego, ale tracą one jednocześnie zdolność produkowania auksyn niezbędnych dla rozwoju tumora.

Klein (1952b, 1953) stwierdził, że tkanki łodygi pomidora zakażone *Agrobacterium tumefaciens* wykazują wysoką zawartość KDN w ciągu 48 godzin po zakażeniu. Poziom ten ulega stopniowo obniżeniu, aż dochodzi do stanu pierwotnego.

Szczepy niewirulentne bakterii przekształcone w szczepy wirulentne, przez dodanie do hodowli KDN, posiadają zdolność syntetyzowania KDN *in vivo* i powodują w tkance tumorowej takie samo podwyższenie poziomu zawartości tego kwasu jak szczepy wirulentne. Przez dodanie do hodowli niewirulentnych szczepów bakterii KDN, wytworzonego przez szczepy wirulentne, Kleinowi udało się przenieść właściwość specyficznej wirulentności, nie tylko w stosunku do *Agrobacterium tumefaciens*, lecz również bliskich jej gatunków jak: *Bacterium rubi*, *Bacterium radiobacter* i *Rhizobium leguminosarum* (D. K. Klein i R. Klein 1953). Opierając się na tych danych Klein dochodzi do wniosku, że czynnikiem odpowiedzialnym za tworzenie się tumorów jest prawdopodobnie jakiś polimer KDN. Za słusznością tej hipotezy przemawiają wyniki badań nad inaktywacją termiczną czynnika tumorotwórczego: przy temperaturze 32°C w tkankach tumora występował niski poziom KDN.

W poszukiwaniu czynnika tumorotwórczego Klein i Knapp (1957) przeprowadzili następujące doświadczenie: inkubowali oni *Agrobacterium tumefaciens* z wyciągiem marchwi, a następnie usuwali z inkubatu bakterie przez kilkakrotne filtrowanie przez sączki bakteryjne. Otrzymany przesącz wywoływał tumory na sterylnie hodowanych wycinkach korzeni marchwi. Autorzy ci uważają, że czynnikiem tumorotwórczym jest w tym wypadku KDN, ponieważ enzymy hydrolizujące KDN (dezoksyrybonukleazy) obniżają jego zdolność przekształcania komórek normalnych w patologiczne.

Stell (1958) przebadał rolę KDN w tworzeniu się tumorów w sposób następujący; zakażał on rośliny *Datura Stramonium*: 1) *Agrobacterium tumefaciens*, 2) sterylną frakcją kwasów nukleinowych bakterii oraz 3) mieszaniną kwasów nukleinowych bakterii i soku z miejsc zranionych rośliny. Tworzenie się tumorów obserwowano tylko w doświadczeniach pierwszym i trzecim. Autor ten więc przy-



puszcza, że czynnikiem tumorotwórczym jest frakcja białkowa soku z miejsc zranionych rośliny, zawierająca domieszkę KDN bakterii.

Obok wyżej przytoczonych hipotez dotyczących przyczyn powstawania narośli, interesująca jest również koncepcja tworzenia się tumorów na drodze infekcji wirusowej, którą to koncepcję wysunął de Ropp (1947b). Autor ten w wyniku badań nad tworzeniem się na łądych słonecznika tumorów wtórnych bezbakteryjnych, wysunął przypuszczenie, że czynnikiem tumorotwórczym jest w tym wypadku wirus. Podobną hipotezę wysunęli również i inni badacze jak Mc Even (1952), Camus i Gautheret (1948). Hipoteza wirusowa znalazła potwierdzenie w wyniku badań Camusa, Wildmana i Bonnera (1951). Znalezione mianowicie w tumorach wysokomolekularne białko, stanowiące około 20% całości białek tumora. To białko nie występowało w normalnych tkankach tego samego rodzaju i było nieinfekcyjne. Autorzy przypuszczają, że białko to jest pochodzenia wirusowego.

Hipoteza wirusowa, sprowadzająca etiologię chorób tumorowych do jednego tylko czynnika, jest niewątpliwie bardzo atrakcyjna, brak jednak, jak dotychczas, nowszych danych w pełni potwierdzających tę koncepcję.

Bardzo ciekawym problemem wzrostu neoplastycznego jest zagadnienie powstawania tumorów wtórnych.

Zaobserwowano, że na niektórych roślinach oprócz narośli pierwotnych powstają w miejscach nieraz bardzo odległych od miejsca zakażenia tumory wtórne. Jak wykazały badania, większość tych tumorów jest wolna od bakterii. W naroślach odległych od miejsca pierwotnego zakażenia o mniej niż 10 cm obecność bakterii stwierdzono u 83% tumorów, w naroślach bardziej odległych tylko u 4% (White i Braun 1942).

Pod względem morfologicznym tumory wtórne można podzielić na dwie grupy: 1° tumory, które umiejscowiono na ogonkach liściowych i głównym nerwie liści, zbudowane z płytkich powierzchniowych uwypukleń; 2° tumory występujące w miejscach zrośnięcia liści z łądą o budowie bardziej zwartej.

Mechanizm powstawania tumorów wtórnych budził w opiniach różnych badaczy wiele wątpliwości i sprzeczności i dotychczas nie został jeszcze wyjaśniony.

E. P. Smith początkowo interpretował powstawanie tych tumorów jako wynik metastaz. Uważał on, że tumor pierwotny w celu wniknięcia do sąsiednich tkanek, przecina w poprzek łądę i tworzy nowe ogniska w coraz to innych miejscach. Później autor ten zmodyfikował swoją koncepcję, twierdząc, że wzrost tumora wtórnego zachodzi drogą apozycji. W wyniku tego procesu powstaje nić tumorowa, która daje początek nowym ogniskom tkanek neoplastycznych (E. F. Smith 1922). Nie we wszystkich jednak badanych przypadkach udało się temu autorowi stwierdzić występowanie nici tumorowych.

Ricker (1925) oraz Robinson i Walkien (1925) wyrażają pogląd, że nowotwory wtórne jak również nici tumorowe są wynikiem zakażenia merystematycznego regionu łądgi. Na skutek wydłużania się rosnących komórek szczytu łądgi następuje przemieszczenie i rozprzestrzenienie się bakterii, co powoduje powstawanie nowych ognisk zakażenia. Autorzy ci uważają, że wszystkie tumory wtórne są wy-

nikiem takiego właśnie procesu. Pogląd ten jest w pewnych przypadkach poprawny. Podobnie i Levine (1925), któremu nie udało się zaobserwować nici łączących tumory wtórne z pierwotnymi, zgadza się z poglądem na ten temat wyżej wymienionych badaczy.

Sult i Eardley (1935) uważają, że tzw. nici tumorowe, zaobserwowane przez Smitha stanowią wewnętrzne tumory pierwotne, wytworzone w strefie protoksylemu w miejscach, gdzie wskutek wydłużenia się tkanek naczynia zostały rozerwane.

Zupełnie inny mechanizm powstawania tumorów wtórnych zaobserwowano u słonecznika (Braun 1941). Narośla wtórne można uzyskać u tej rośliny przez wprowadzenie bakterii do międzywęźli w miejscach położonych kilka centymetrów poniżej pąka szczytowego. Jeżeli międzywęźla osiągnęły już w tym momencie pełną lub prawie pełną długość, to zabieg taki uniemożliwia tworzenie się tumorów wtórnych w wyniku wydłużania się rosnących tkanek.

Według Brauna (1941) nici tumorowe i tumory wtórne są ściśle związane z ksylemem. Autor ten śledząc etapy tworzenia się nici tumorowych, stwierdził, że nie wyrastają one bezpośrednio z tumoru pierwotnego, jak sądził Smith, ale powstają z komórek otaczających naczynia ksylemu. Komórki te zaczynają dzielić się w kierunku lateralnym ku rdzeniowi, tworząc nić dającą początek narośli wtórnej. Braun zaobserwował, że naczynia z których pochodzi czynnik stymulujący wzrost sąsiednich komórek są zazwyczaj bezbarwne. Spostrzeżenie to nasunęło mu przypuszczenie o obecności w nich bakterii. Nie udało mu się jednak stwierdzić, czy istotnie w trakcie wydłużania się komórek otaczających elementy naczyniowe bakterie obecne są w naczyniach. Autor ten wykazał również, że nowotwory wtórne nie są związane pochodzeniem z pierwotnymi. Tumory wtórne bowiem otrzymywał on w miejscach odległych od punktu zakażenia rośliny *Agrobacterium tumefaciens*, przy czym w miejscach zranienia łodygi nie powstawały narośla pierwotne.

Tamm (1954) uważa, że tumory wtórne powstają nie tylko drogą sztucznego lub naturalnego uszkodzenia tkanek gospodarza, ale również w wyniku działania nieznanymi dotąd czynników. Tak więc zagadnienie tumorów wtórnych pozostaje nadal otwarte.

### Tumory wirusowe

Znane od dawna tumory wirusowe zaczęły budzić coraz większe zainteresowanie od chwili wyizolowania z nich czynnika infekcyjnego — wirusa. Wirus ten zwany *Aurangenus magnivena* Black. przenoszony jest przez owady, a także może być przekazywany roślinom drogą szczepienia dość wysokiej koncentracji jego preparatu. Wirus ten należy do grupy wirusów, które mogą rozwijać się w organizmie gospodarza zarówno roślinnego jak i zwierzęcego. Został on też wyizolowany z obu gospodarzy: rośliny i owada, oczyszczony i poddany obserwacji w mikroskopie elektronowym (Brakke, Maramorash, Black 1950, 1953, Black 1955). Posiada on następujące własności: jest przesykalny przez filtry bakteryjne, jego stała sedymentacji ( $S_{20}^{29}$ ) wynosi około 600 jednostek Svedberga, a oczyszczone i wysuszone



preparaty wirusa dają w mikroskopie elektronowym obraz wielościanów o średnicy około 80  $\mu$ . Roztwory wirusa w solach obojętnych znoszą temperaturę około 30°C przez 10 minut, wysuszone preparaty wirusa przechowywane w temperaturze 0°C zachowują swą aktywność infekcyjną w ciągu 1 roku.

Wirus ten został najpierw wyizolowany z *Agaliopsis novella* przez Blacka (1944), który stwierdził, że na żyłkach młodych roślin koniczyny czerwonej (*Trifolium incarnatum* L.) powstają pod wpływem nagryzienia ich przez *Agaliopsis* podłużne nieregularnie rozwijające się zgrubienia. Stwierdzono także, że i gatunki *Agalia constricta* i *Agalia quadripunctata* są przenosicielami tego wirusa (Black 1947).

U niektórych roślin jak np. *Melilotus alba* Dess. lub *Rumex acetosa* infekcja wirusowa powoduje powstawanie ogromnych tumorów, wykazujących zdolność nieograniczonego wzrostu *in vivo* i *in vitro* (Black 1949, 1952). Ponadto tkanki tumorowe *Rumex acetosa* w hodowli *in vitro* zdolne są wytwarzać amylazę pozakomórkową, co umożliwia im rozwój na podłożu skrobiowym (Nickell i Brakke 1954).

Tumory wirusowe są bardzo szeroko rozpowszechnione w przyrodzie. U około 50 gatunków roślin należących do 20 rodzin stwierdzono typowe symptomy tej choroby: nieregularne, podłużne zgrubienia żyłek, tumory na korzeniach, narośla na żyłkach, skręcanie i kędzierzawienie się liści, skrócenie międzywęźli, zgrubienie łodyg i ogólne skarłowacenie (Black 1952).

Dla zapoczątkowania wirusowego procesu tumorowacenia niezbędne są dwa czynniki: zranienie i infekcja wirusowa.

Rola zranienia nie jest znana. Prawdopodobnie wywołone w trakcie zranienia hormony przyranne czynią komórkę gospodarza podatną na wniknięcie wirusa (Lee 1955). Tumory takie powstają najczęściej na korzeniach w pobliżu ich rozgałęzień bocznych. Fakt ten znajduje swoje uzasadnienie w tym, że korzenie boczne, powstające z perycyklu, przebijają warstwę kory pierwotnej rozrywając ją i tworząc w ten sposób wrota dla zakażenia roślin wirusem. Inaczej dzieje się w przypadku łodyg, u których pędy boczne powstają z powierzchniowych tkanek merystematycznych, dzięki czemu łodygi są mniej podatne na zakażenie.

Tumory pochodzenia wirusowego przybierają często charakter złośliwy, szczególnie wtedy, kiedy występują na roślinie w większych ilościach, jak np. w chorobie fidzi, która polega na powstawaniu podłużnych tumorów wzdłuż żyłek liści trzciny cukrowej, rozrastających się także w głąb tkanek miękiszu i powodujących śmierć rośliny (Ryżkow 1960).

Ustalenie granicy między tumorami łagodnymi i złośliwymi jest niezmiernie trudne: charakter bowiem nowotworu określa wiele współdziałających ze sobą czynników.

### Tumory genetyczne

Pierwsze doniesienia na temat tumorów genetycznych zawdzięczamy genetykowi bułgarskiemu Kostowowi (1930), który krzyżując *Nicotiana langsdorfii* z innymi gatunkami *Nicotiana* otrzymał 9 hybrydów wytwarzających spontanicznie tumory.

Inni autorzy (Kehr i Smith 1954) otrzymali ponad 40 kombinacji hybrydów wytwarzających tumory.

Próby wyjaśnienia przyczyn powstawania takich tumorów genetycznych na drodze poszukiwań w nich jakiegoś czynnika infekcyjnego nie dały jak dotychczas wyników. Wskazuje to raczej, że na powstawanie tumorów u niektórych hybrydów wpływają czynniki genetyczne.

Pierwsze próby analizy genetycznych podstaw tych tumorów przeprowadzili Kehr i Smith (1952, 1954). Autorzy ci uzyskali szereg di- i poliploidalnych odmian, powstałych na skutek krzyżowania *N. glauca* × *N. langsdorfii* i stwierdzili, że tumory występują najczęściej u hybrydów, które zawierają przynajmniej po jednym komplecie chromosomów każdego gatunku, na odmianach natomiast, które posiadają po jednym lub po kilka chromosomów *N. glauca* w garniturze diploidalnym *N. langsdorfii* nie stwierdzono występowania tumorów.

Według Nafa (cyt. przez Brauna i Storniera 1958) wszystkich rodziców hybrydów tytoniu można podzielić na dwie grupy, oznaczając je umownie jako grupy plus i minus. Tumory genetyczne powstają tylko u potomków powstałych ze skrzyżowania dwóch przeciwstawnych grup. Przy hybrydyzacji dokonanej między osobnikami jednej grupy tzn. grupy plus lub minus nie otrzymuje się hybrydów zdolnych do tworzenia tumorów. Do grupy pierwszej należą odmiany tytoniu posiadające w swoich komórkach po 18 lub 20 chromosomów. Narośla pojawiają się tylko u tych hybrydów, które powstały w wyniku skrzyżowania tych odmian z odmianami grupy drugiej o 24, 36 lub 48 chromosomach. Wyjątki z tego prawa są niesłychanie rzadkie.

Przy powstawaniu tumorów genetycznych dużą rolę odgrywa również czynnik przyranny. Za pomocą nacięcia liści hybrydów można wywołać powstanie narośli. Tumory te jednak nie przenoszą się drogą szczepień z roślin porażonych na zdrowe.

Naświetlanie hybrydów *N. glauca* × *N. langsdorfii* promieniami X powoduje u osobników zdrowych powstawanie tumorów, a u zaatakowanych narośla nasilenie się procesu tumorowacenia, wywołanego zachwianiem się metabolizmu fitohormonalnego (Sparrow i Gunckel 1956, Sparrow i inni 1956).

Powstawanie tumorów genetycznych wyjaśniane jest przez Kehra (1951) nie-normalnym pokrewieństwem fitohormonalnym krzyżowanych roślin. Autor ten uważa, że *Nicotiana langsdorfii* wytwarza mniej efektywne substancje wzrostowe typu auksyn niż inne gatunki tytoniu. Przy skrzyżowaniu więc różnych gatunków *Nicotiana* następuje zachwianie metabolizmu fitohormonalnego u hybryda, a nadmiar wytworzonych przez niego auksyn prowadzi do stymulacji wzrostu niektórych komórek, które nabierają własności merystematycznych i dają początek naroślom.

P. H. Smith (cyt. przez Brauna i Storniera 1958) stwierdził, że tumory hybrydów nie wywołują procesu mutacji somatycznej.

Bardzo interesującym zjawiskiem u tumorów genetycznych jest neoplastyczny charakter normalnej, zdrowej części łodygi hybryda, która przeszczepiona na zdrowych gospodarzy powoduje podobnie jak tumor powstawanie typowych narośli (Kehr i Smith 1954).

Tkanki tumorowe hybrydów posiadają szereg właściwości chemicznych, które odróżniają je od normalnego typu tkanek. Kehr i Smith (1954) stwierdzili, że hybryd *N. glauca* × *N. langsdorfii* zawiera więcej wolnego tryptofanu niż formy rodzicielskie i, że zachodzi w nim intensywniejsza przemiana tryptofanu w kwas  $\beta$ -indoloocetowy.

Vester i Anders (1960) badając zawartość wolnych aminokwasów u form rodzicielskich i u hybrydów *N. glauca* × *N. langsdorfii*, stwierdzili u hybrydów o około 50% więcej aminokwasów, przy czym histamina, kinurenina i tryptofan występowały wyłącznie u hybrydów. Zawartość zaś lizyny, oksyproliny i alaniny była u hybrydów znacznie wyższa niż u form rodzicielskich. Autorzy ci uważają, że niektóre z tych aminokwasów odgrywają ważną rolę w powstawaniu narośli u roślin.

Ci sami autorzy (Anders i Vester 1960) zauważyli ponadto, że nie u wszystkich hybrydów, powstałych w wyniku skrzyżowania *N. glauca* × *N. langsdorfii*, występują spontanicznie tumory, a tylko u hybrydów allotetraploidalnych. Dokładna analiza chromatograficzna i spektrofotometryczna wykazały, że zawartość cystyny, histaminy, hydroksyproliny, alaniny, kinureniny, tryptofanu i innych substancji, dających pozytywną reakcję z ninhydriną, była znacznie wyższa u tych hybrydów niż u form rodzicielskich. Prawdopodobnie spontaniczne powstawanie tumorów wiąże się z wysoką zawartością tych aminokwasów.

Charakterystyczne jest, że tumory genetyczne nie pojawiają się u roślin w okresie ich intensywnego wzrostu, natomiast rosną wtedy, kiedy roślina zaczyna kwitnąć, a wzrost merystemu wierzchołkowego jest zahamowany. U niektórych hybrydów tumory pojawiają się wówczas, kiedy roślina wytworzy 1–2 liście; wtedy to następuje zahamowanie jej wzrostu (doświadczenia cyt. przez Terechową 1956) i roślina już zaczyna, jeśli można się tak wyrazić «starzeć się». Tylko u bardzo nielicznych hybrydów tumory pojawiają się już w bardzo wczesnym okresie rozwoju. Rozmiary narośli mogą być różne. Na liściach tumory bywają wielkości ziarna grochu, na łodygach wielkości orzecha, a w miejscu przejścia łodygi w korzeń dosięgają nawet rozmiarów kurzego jaja. Tkanki tumora, przenikając do tkanek normalnych, powodują ich obumieranie.

Tumory genetyczne spotykane są także w świecie zwierzęcym. U niektórych hybrydów ryb występują nowotwory pigmentowe, zawierające dużą ilość barwników i nabierające często charakteru złośliwego (Gordon 1950, Ryżkow 1960).

Obok przyczyn, powodujących powstawanie tumorów natury bakteryjnej, wirusowej lub genetycznej, istnieje jeszcze wiele innych czynników dotychczas nie zbadanych. Ryżkow (1960) cytuje szereg doświadczeń, w których stwierdzono, że np. izolowanie korzeni różnych roślin w warunkach niedostatku tlenu powoduje ich tumorowacenie w hodowli *in vitro*. Również dodawanie do hodowli tkanek korzeni niektórych odmian tytoniu wyciągu drożdży wywołuje powstawanie narośli. W niektórych znów przypadkach można obserwować powstawanie tumorów pod wpływem energii promienistej, co stwierdzono u rośliny ozdobnej — lwiej paszczy. Pod wpływem działania energii promienistej tworzyły się u tej rośliny komórki

o 8000 chromosomach, zamiast o 16. Komórki takie szybko obumierały. Charakterystyczne jest, że czynniki kancerogenne, wywołujące powstawanie narośli u zwierząt, stymulują u roślin powstawanie korzeni. Dowodzi to, że organizmy roślinny i zwierzęcy zupełnie inaczej reagują na działanie takich związków jak 1,2-benzopyren.

Dotychczasowe próby wywoływania tumorów dotyczyły głównie roślin wyższych. Nieliczne są natomiast doświadczenia tego rodzaju na roślinach niższych. Ryżkow (1960) podaje, że jeżeli przedrośla paproci hodować na pożywkach, to wzrost ich zostaje często zakłócony przez wytwarzanie się grup komórek o nie normalnej liczbie chromosomów. Pod działaniem promieniowania jonizującego takie grupki komórek powstają częściej. Również u grzybów wyższych udało się wywołać tumory za pomocą czynników kancerogennych.

Reasumując powyższe wywody można powiedzieć, że stymulatorami, wywołującymi patologiczny wzrost tkanek, mogą być różne czynniki bądź natury infekcyjnej, jak bakterie czy wirusy, bądź też natury fizycznej lub chemicznej, albo też przyczyny wewnętrzne natury genetycznej.

Charakterystyczne jest, że czynniki, wywołujące tumory, działają tylko na komórki znajdujące się w stanie podziałów. Jeżeli komórka normalna pod wpływem danego czynnika przekształci się w komórkę tumorową, to własność tę zachowuje przez nieograniczenie długi okres czasu. Najbardziej jednak istotnym momentem jest to, czy dana komórka normalna stanie się komórką tumorową i jakie właściwości organizmu decydują o tej przemianie. To właśnie zagadnienie stanowi problem niezmiernie interesujący zarówno pod względem teoretycznym, jak i praktycznym.

#### LITERATURA

- Apffel C. A., 1959, *La presse medicale*, 67, 6, 207.  
 Anders F., Vester F., 1960, *Experientia*, 16, 65—67.  
 Biermann K., Lioret C., Asselineau J., Leberer J., Polonsky J., 1961, *Chemical Abstracts*, v. 5, Nr 13, 12555.  
 Black L. M., 1944, *Philos. soc.* 88, 132—144.  
 Black L. M., 1947, *Sixth Growth Symp.*, 79—84.  
 Black L. M., 1949, *Survey of Biol. Progress* 1, 155—251.  
 Black L. M., 1952, *Ann. N. Y. Sci.* 54, 1067—1075.  
 Black L. M., 1955, *Phytopathology*, 42, 269—275.  
 Brakke M. K., Maramorash Z., Black L. M., 1950, *Phytopathology*, 40, 2.  
 Brakke M. K., Maramorash Z., Black L. M., 1953, *Phytopathology*, 43, 387—390.  
 Braun A. C., 1941, *Phytopathology*, 31, 135—149.  
 Braun A. C., 1947, a, *Amer. J. Bot.*, 34, 234.  
 Braun A. C., 1947b, *Growth*, 11, 325—357.  
 Braun A. C., 1952, *Growth*, 16, 65—361.  
 Braun A. C., 1954a *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 5, 133—162.  
 Braun A. C., 1954b, *Brookhaven Symposia in Biol.*, 6, 115—127.  
 Braun A. C., Mendle R. J., 1948, *Growth*, 12, 255—269.  
 Braun A. C., Naf M., 1954, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 86, 12.  
 Braun A. C., Stornier T., 1958, *Protoplasmatologia*, 10, (5a), 1—93.

- Braun A. C., White P., 1943, *Phytopathology*, 33, 85—100.
- Camus G., Gautheret R. J., 1948a, *C. R. Ac. Sc.*, 226—774—755.
- Camus G., Gautheret R. J., 1948b, *C. R. Soc. Biol.*, 142, 15—16.
- Camus G., Gautheret R. J., 1948c, *Ann. Sci. Nat. Biol.*, 6, 1—119.
- Camus G., Wildman S. G., Bonner J., 1951, *Inst. Biol. Sci. Bull.*, 1, 34.
- Czosnowski J., 1948, *Bull. Soc. Amis Sc. et Lettr. de Poznań*, IX, 133—142.
- Czosnowski J., 1952, *Bull. Soc. Amis Sc. et Lettr. de Poznań*, XIII, Nr 4.
- De Ropp R. S., 1947a, *Phytopathology*, 37, 201—206.
- De Ropp R. S., 1947b, *Amer. J. Bot.*, 34, 248—261.
- De Ropp R. S., 1951, *Botan. Rev.*, 17, 629—670.
- Gautheret R. J., 1942, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 24, 13—47.
- Gautheret R. J., 1947, *C. R. Acad. Sci.*, 224, 1728, Paris.
- Gautheret R. J., 1950, *Endeavour*, 9, 21—25.
- Gautheret R. J., 1955, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 6, 433—434.
- Gordon M., 1950, *Endeavour*, 9, 26—34.
- Gauman E., 1960, *Nauka o infek. chor. Roślin*, 638—641.
- Kehr A. E., 1951, *Amer. Nat.*, 85, 51—64.
- Kehr A. E., Smith H. H., 1952, *Cornell Univ. Agric. Exper. Sta. Mem.*, 311, 1—19.
- Kehr A. E., 1954, *Brookh. Symp. Biol.*, 6, 35—78.
- Kiser J., Lindenberg L., 1940, *Jb. viss. Bot.*, 89, 89—155.
- Klein R. M., 1952a, *Amer. J. Bot.*, 39, 727.
- Klein R. M., 1952b, *Plant Physiol.*, 27, 335—354.
- Klein R. M., 1953, *Amer. J. Bot.*, 40, 597—599.
- Klein R. M., 1954, *Brookh. Symp. Biol.*, 6, 1—303.
- Klein R. M., Klein D. T., 1953, *J. Bact.*, 66, 127.
- Klein R. M., Knapp J. L., 1957, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.*, 43, 124—205.
- Klein R. M., Link G. K. K., 1955, *Quart. Rev. Biol.*, 30, 207—277.
- Kostoff D., 1930, *Zbl. Bakter. usw. Rbt. II*, 81, 244—260.
- Lee A. E., 1952, *Plant Physiol.*, 27, 173—178.
- Lee A. E., 1955, *Amer. J. Bot.*, 42, 693—698.
- Levine A. M., 1925, *J. Canc. Res.*, 9, 11—49.
- Levine M., 1934, *Bull. Torrey Bot. Club*, 61, 103—118.
- Levine M., 1936, *Bull. Torrey Bot. Club.*, 63, 177—199.
- Levine M., Bergmann H., 1936, *Amer. Jour. Cancer*, 26, 290—315.
- Levine M., 1939, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 40, 599—603.
- Levine M., 1940, *Bull. Torrey Bot. Club*, 67, 199—226.
- Levine M., 1950, *Amer. Jour. Bot.*, 37, 446—458.
- Lipetz J., Galston A. W., 1959, *Amer. J. Bot.*, 46, 193—197.
- Maciejewska-Potapczyk W., 1960, *J. Exp. Bot.*, 11, 98—103.
- McEvan D. N., 1952, *Nature* 169, 831.
- Morel G., 1947, *C. R. Soc. Biol.*, 141, 280—282.
- Morel G., 1948, *Ann. Epiphytas (N. S.)*, 14, 123—234.
- Netien G., 1958, *Comp. Rend.*, 247, 1645.
- Nickell L. G., Brakke M. K., 1954, *Amer. J. Bot.*, 41, 390.
- Rack K., 1953, *Phytopathol. Zschr.*, 21, 1.
- Ricker A. J., 1925, *J. Agric. Res.*, 26, 425—436.
- Robinson W., 1927, *Proc. Soc. Med. Lond.*, 20, 1507—1510.
- Robinson W., Waikien H., 1925, *Ann. Bot.*, 37, 299—324.
- Rogozińska J., 1958, *Acta Soc. Bot. Pol.*, 27, 429—461.
- Ryżkow W. L., 1960, *Priroda*, 7, 31—40.
- Smith E. F., 1912, *Phytopathology*, 2, 127—128.

- Smith E. F., 1913, Proc. 17-th Internat. Congr. Med. Sec. III, Gen. Path. 281—298.
- Smith E. F., 1916, Science, 43, 871—889.
- Smith E. F., 1922, J. Canc. Res., 7, 1—115.
- Smith E. F., 1923, J. Radiol., 4, 295—317.
- Smith E. F., 1924, J. Canc. Res., 8, 254—289.
- Smith E. F., 1925, Science, 81, 595—601.
- Smith E. F., 1926, Amer. Naturalist., 60, 240—256.
- Sparrow A., Gunckel M. E., 1956, Progress in Radiobiology, Oliver and Bard, Edinburg and London, 485—488.
- Sparrow A. H. i inni, 1956, Amer. J. Bot., 43, 377—388.
- Stoll M. P., 1958, Experientia, 14, 409—410.
- Sult R. F., Eardley E. A., 1935, Scient. Agric., 15, 345—357.
- Tamm B., Arch. f. Mikrobiol., 20, 273.
- Terechowa N. A., 1956, Uspiechi s owr. Biologii, Tom XLI, wyp. 2, 246—250.
- Vester F., Anders F., 1960, Bioch. Z., Nr 4, 332, 395—402.
- White P. R., 1954, Ronald Press Co, New York, 239.
- White P. R., Braun A. C., 1942, Canc. Res., 2, 597.