

LEON STUCLIK

## LABORATORIUM PALYNOLOGICZNE W SZTOKHOLMIE-SOLNA

W 1964 r., korzystając ze stypendium Polskiej Akademii Nauk, pracowałem przez siedem miesięcy w Laboratorium Palynologicznym w Solnie. Celem pobytu było zaznajomienie się z metodyką prac nad morfologią i taksonomią sporomorf oraz zebranie informacji potrzebnych do rozpoczęcia w kraju badań w tym dziale palynologii.

Laboratorium istnieje jako odrębna instytucja od 1949 r. i od samego początku podlega Państwowej Radzie Naukowej (Statens Naturvetenskapliga Forskningsråd) w Sztokholmie. Powstało ono z inicjatywy prof. G. Erdtmanna i do dnia dzisiejszego pozostaje pod jego kierownictwem. Zagadnieniami palynologii zajmuje się prof. Erdtman od przeszło 40 lat i jest w tej dziedzinie badań naukowych znanym autorytetem w skali światowej. W latach powojennych rozwinął on nowy dział zwany palynotaksonomią, oparty na morfologii i anatomii ziarn pyłku i spor.

Laboratorium mieściło się początkowo w miejscowości Bromma, a w roku 1956 przeniesione zostało do nowego budynku w Solnej. W tym czasie zostało ono powiększone i wyposażone w nowoczesną aparaturę. W Laboratorium poza prof. Erdtmanem pracuje jeszcze dwóch asystentów naukowych; jeden z nich z wykształcenia geolog zajmuje się morfologią i taksonomią sporomorf oraz stratygrafią holocenu na podstawach palynologicznych, drugi to botanik poświęcający się wyłącznie morfologii sporomorf. Są oni współautorami dwutomowego dzieła flory pyłkowej Skandynawii (Erdtman, Berglund, Pragłowski 1961, Erdtman, Pragłowski, Nilsson 1964). Ponadto w Laboratorium zatrudniona jest jedna asystentka techniczna, dwie laborantki, bibliotekarka i sekretarka.

### Biblioteka — wydawnictwa

Laboratorium w Solnie posiada obecnie bibliotekę, która jest jedną z najlepiej zaopatrzonych bibliotek w pracy z zakresu palynologii na świecie. Księgozbiór ten w znacznej mierze powstał dzięki prywatnej wymianie prof. Erdtmanna. Biblioteka mieści się w trzech pokojach i prowadzi ją jedna bibliotekarka.

Profesor Erdtman jest autorem 170 prac palynologicznych a współautorem dalszych 24, ponadto 18 prac wykonano w Laboratorium pod jego kierunkiem (stan z końca 1963 roku). Od 1954 roku Laboratorium wydaje pod redakcją prof. Erdtmanna specjalne pismo «Grana Palynologica». Pismo to ma charakter międzynarodowego

biuletynu i drukuje prace z różnych działów palynologii. Okresowo pojawiają się w nim, sporządzane przez redaktora, spisy bibliograficzne prac palynologicznych. Dotychczas ukazało się 19 takich spisów, a ponadto dwa zestawienia prac podstawowych dla palynologii (Literature on basic palynology I, II, Erdtman 1959, 1960).

### Sporoteka

Od samego początku swego istnienia Laboratorium organizuje sporotekę, której podstawę stanowiły preparaty pyłkowe pochodzące z prywatnego zbioru prof. Erdtmanna. Zbiór ten był już na tyle bogaty, że mógł służyć do napisania pierwszego podręcznika palynologii (Erdtman 1943). Obecnie laboratorium dysponuje sporoteką liczącą około 30 000 preparatów. Niektóre rodziny są szczególnie dobrze reprezentowane, a zwłaszcza te, które w ostatnich latach były przedmiotem monograficznych opracowań ich morfologii pyłku. Preparaty ułożone alfabetycznie rodzinami są przechowywane w drewnianych pudełkach. Każdy preparat posiada obok etykiety oddzielną kartę, zawierającą dokładny opis pochodzenia materiału zielnikowego, szkice morfologiczne, niejednokrotnie dokładne diagnozy oraz wyniki pomiarów osi biegunowej i równikowej ziarn pyłku. Pomiary te są wykonywane co najmniej na 10 ziarnach, bezpośrednio po sporządzeniu preparatu, zanim sporomorfy ewentualnie zmienią swoje wymiary pod wpływem dłuższego przechowywania w glicerynie żelatynowej. W ten sposób, służyć one mogą nawet po kilku latach do precyzyjnych badań morfologicznych.

Poza zbiorem głównym w Laboratorium znajduje się oddzielny zbiór preparatów pyłkowych reprezentujących florę Skandynawii.

Osobną kolekcję stanowią preparaty ultracienkich skrawków ziarn pyłku. Każdy preparat posiada, podobnie jak w sporotece głównej, oddzielną kartkę z dokładnym opisem skrawków, szkicami przedstawiającymi stratyfikację sporodermy, nieraz również zdjęcia fotograficzne. Na rozbudowę tej kolekcji kładzie się obecnie duży nacisk, z czasem ma ona objąć wszystkie rodzaje reprezentowane w zbiorze głównym.

Sporoteka w Solnie stale powiększa się o nowe preparaty. Przy ich sporządzaniu zatrudnione są na etatach laboranckich dwie osoby. Większość materiałów pochodzi z zielnika Muzeum Przyrodniczego w Sztokholmie i z zielnika Uniwersytetu w Uppsali. Ponadto Laboratorium utrzymuje kontakty z wieloma zagranicznymi zielnikami. Preparaty wykonywane są metodą acetolizy (Erdtman 1943, 1961) i w zasadzie nie są barwione. Jedynie ziarna bardzo delikatne i jasne podbarwia się lekko fuksyną zasadową.

### Ultracienkie skrawki — ultratom

Metodyka przygotowania materiału do sporządzania ultracienkich skrawków ziarn pyłku jest dosyć skomplikowana. Do krojenia można używać zarówno materiału świeżego, jak i po acetolizie. Lepsze rezultaty daje jednakże materiał świeży,

pozwalaćcy prześledzić nie tylko warstwową budowę sporodermy, ale także sposób połączenia intyny (najbardziej wewnętrzna warstwa sporodermy) z żywą treścią komórki.

Istnieją różne sposoby zatapiania materiału pyłkowego przeznaczonego do krojenia na ultratomie. Najczęściej stosuje się zatapianie w metakrylacie i eponie. Zatapianie w metakrylacie okazało się niezbyt wygodne, ponieważ zbyt często tworzą się bańki powietrza utrudniające krojenie. Dlatego też ostatnio w Solnie zatapia się ziarna pyłku przeznaczone do krojenia tylko w eponie.

Materiał przed zatopieniem musi być odwodniony i do tego celu używa się alkoholu o rosnącym stężeniu, najpierw 70% a potem 95% i absolutny. Następnie materiał zadaje się dwukrotnie po 15 minut propylenem oksydacyjnym ( $C_3H_6O$ ), a na końcu na okres jednej godziny mieszaniną propylenu oksydacyjnego i eponu w stosunku 1:1. Dla przyspieszenia reakcji dodaje się katalizatora (DMP = tri dimethyl aminomethyl). Po zdekantowaniu materiał zalewa się ponownie, ale już samym eponem z dodatkiem katalizatora również na przeciąg jednej godziny, a po zdekantowaniu traktuje się go raz jeszcze eponem z katalizatorem i przelewa do specjalnych żelatynowych kapsułek. Kapsułki umieszcza się na okres 48—72 godzin w termostacie początkowo w temperaturze 35° C, potem 45° a na końcu 60°. W tym czasie materiał nabiera odpowiedniej konsystencji aż do twardej ale plastycznej.

Epon otrzymuje się z odpowiedniej mieszaniny dwu składników A i B. Składnik A powstaje przez mieszanie Eponu 812 z DDSA (Dodecenył succinic anhydrite), a składnik B ze zmieszania Eponu 812 z Nadic methyl.

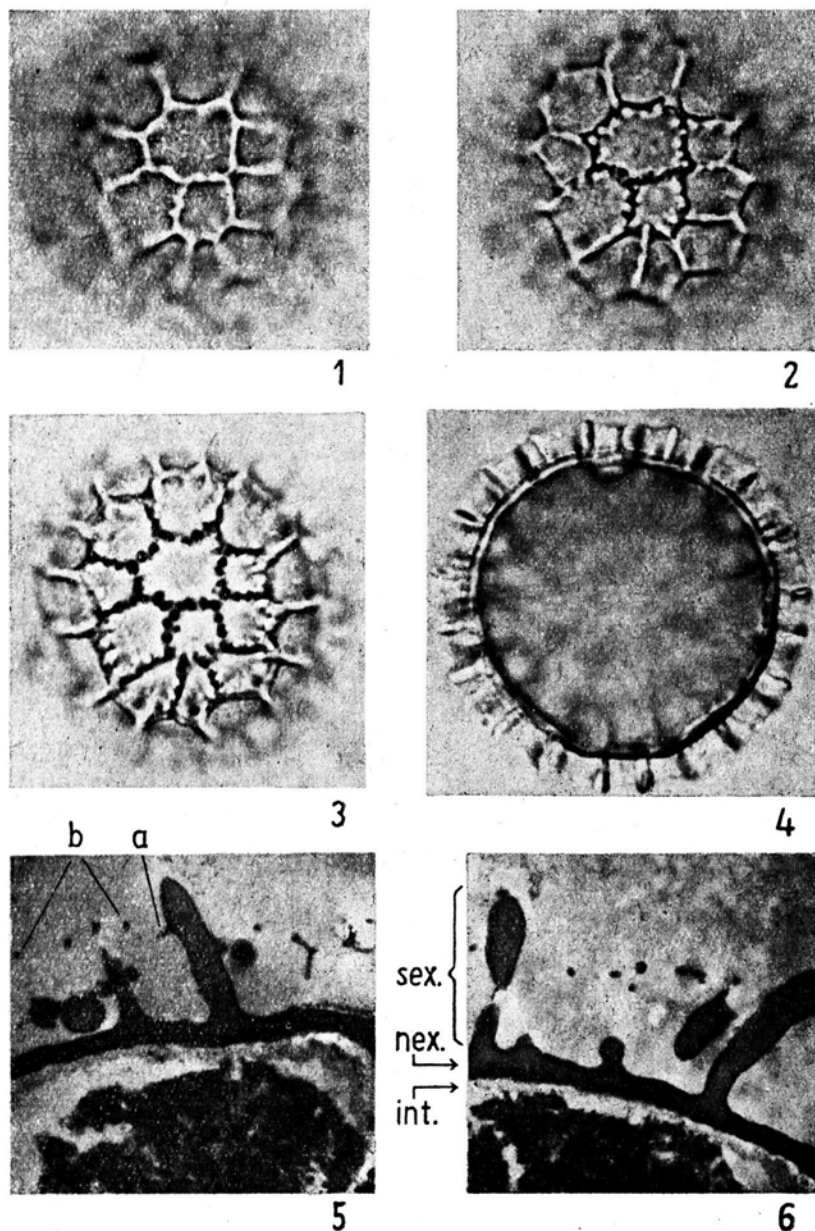
Przed przystąpieniem do krojenia ultracienkich skrawków należy z kapsułki zawierającej materiał pyłkowy, wykroić odpowiednią piramidkę tak, aby ziarna przeznaczone do krojenia znajdowały się przy samej powierzchni piramidy (por. Pragłowski 1957). W ten sposób przygotowany materiał umocowuje się specjalnym uchwytem na ramieniu ultratomu i przy pomocy dwu śrub — mikro i makro — pod kontrolą zamontowanego mikroskopu stereoskopowego, nastawia się piramidkę pod odpowiednim kątem i w odpowiedniej odległości od ostrza noża. Gdy piramida niemal dotyka ostrza noża, włącza się elektronowe urządzenie sterownicze na odpowiednią grubość skrawków. Najnowszy model ultratomu — LKB Ultratome firmy LKB Produkter Stockholm 12 — daje możliwość krojenia od 100 Å (= 0,01  $\mu$ ) do 10  $\mu$ . Skrawki takie można więc badać zarówno pod normalnym mikroskopem optycznym, jak i przy pomocy mikroskopu elektronowego. Do krojenia używa się noży szklanych lub diamentowych. Noże szklane przygotowuje się każdorazowo z szyby o grubości 6 mm przez pocięcie jej pod odpowiednim kątem. Noże tego typu dają doskonałe wyniki, jednakże zrobienia dobrego noża szklanego nie jest rzeczą łatwą. Nóż diamentowy otrzymuje się z firmy produkującej ultratomy, jest on praktycznie niezniszczalny. Skrawki gromadzące się w odpowiednim naczyniu z wodą umieszczonym na nożu, można kontrolować w czasie pracy ultratomu, przy pomocy zamontowanego mikroskopu stereoskopowego. Ultratom może pracować również bez kontroli, jest bowiem sterowany przez urządzenie elektronowe. Po zakończeniu krojenia skrawki wyławia się z wody na szkiełka

podstawowe. Są one zawsze zwinięte, chcąc je wyprostować działa się parami chloroformu. Skrawki pozostawia się na szkiełkach podstawowych do całkowitego wyschnięcia wody, następnie barwi się je fuksyną zasadową, a po wyschnięciu zatapia w glicerynie żelatynowej pod szkiełkiem nakrywkowym. Dobre wyniki daje również zatapianie skrawków w nitrocelulozie bez użycia szkiełek nakrywkowych (por. Reymanówna, Stuchlik 1959).

Ultracienkie skrawki można badać przy pomocy zwykłego mikroskopu, jednakże znacznie lepsze wyniki uzyskuje się przy zastosowaniu urządzenia fazowo-kontrastowego. Skrawki o grubości 100 Å—1000 Å można badać ponadto za pomocą mikroskopu elektronowego.

Dobre wyniki uzyskuje się również przy użyciu mikroskopu z zastosowaniem światła ultrafioletowego (UV). Mikroskop taki musi jednak być wyposażony w optykę kwarcową, a skrawki umieszcza się na kwarcowych szkiełkach przedmiotowych. Podobnie jak w mikroskopie elektronowym skrawki bada się tylko na fotografiach. Przy użyciu światła ultrafioletowego można uzyskać mniej więcej dwukrotnie większe powiększenia aniżeli w zwykłym mikroskopie. Używając w mikroskopie zwykłym najlepszych obiektywów o dużej zdolności rozdzielczej, o tzw. współczynniku aperturycznym najwyższym, wynoszącym 1,40, można uzyskać powiększenia tylko do pewnych granic. Dalsze zwiększanie obrazu nie wzbogaca go już o nowe szczegóły lecz jedynie powiększa ich wymiary, ponieważ zdolność rozdzielcza mikroskopu zależy, obok współczynnika aperturycznego obiektywu, także od długości fali zastosowanego światła. Im fala jest krótsza tym zdolność rozdzielcza obiektywu przy tej samej aperturze jest większa. I tak np. obiektyw o współczynniku aperturycznym 1,40 wykazuje przy użyciu światła ultrafioletowego o długości fali około 0,36  $\mu$  tę samą zdolność rozdzielczą, jaką przy zastosowaniu światła białego — o długości fali 0,55  $\mu$  — mógłby teoretycznie uzyskać obiektyw o współczynniku aperturycznym 2,14 ( $A = 1,4 \frac{0,55 \mu}{0,36 \mu} = 2,14$ , por. Michel 1957). W mikroskopie do światła ultrafioletowego ustnieją jednakże poważne trudności w nastawieniu na ostrość skrawka. Można to wykonać eksperymentalnie przez obliczenie poprawki lub przy użyciu specjalnej soczewki korekcyjnej. W Solnie próbuje się ostatnio wykorzystać do tego kamerę telewizyjną.

Znaczenie badań nad ultracienkimi skrawkami ziarn pyłku i spor jest duże, a zwłaszcza w nowoczesnej systematyce roślin. Bez wniknięcia w submikroskopową budowę sporodermy często nie można odróżnić ziarn pyłku gatunków czy nawet rodzajów blisko ze sobą spokrewnionych. Badając kierunki rozwojowe jakiejś grupy roślin, można uzyskać przez poznanie morfologii ziarn pyłku, a w szczególności stratyfikacji sporodermy, brakujące ogniwa w szeregu ewolucyjnym. Bez ultracienkich skrawków nie można często należycie wytłumaczyć budowy pewnych elementów sporodermy. Np. ziarna pyłku *Phlox diffusa* (ryc. 1) mają na powierzchni eksyny wyraźną siatkę (reticulum) o oczkach wielokątnych o średnicy 3,2—8,3  $\mu$ . Pomiędzy ściankami (muri) oczek znajdują się cienkie listewki tworzące w świetle oczek siatkę drugiego rzędu. Analiza «LO» pozwoliła jedynie na wykazanie istnie-



Ryc. 1. *Phlox diffusa* L. 1—4 ziarno pyłku w różnych przekrojach optycznych, pow. około 1500 ×; 1 — siatka (reticulum) I-go rzędu; 2, 3 — pałeczki (bacula) podpierające listewki (muri); 4 — przekrój optyczny brzegu ziarna; 5, 6 — przekrój grubości 0,09 μ przez ziarno pyłku sfotografowany pod mikroskopem elektronowym, pow. 7000 ×; 5 a — miejsce przyczepu listewek siatki II-go rzędu do listewek siatki I-go rzędu; 5 b — listewki siatki II-go rzędu w przekroju poprzecznym. Objaśnienie skrótów: sex. = seksyna, nex. = nekksyna, int. = intyna

nia takiej siatki, nie można było natomiast stwierdzić, w jaki sposób jest ona umieszczona w stosunku do siatki I rzędu. Teoretycznie mogły być dwa sposoby jej umieszczenia: albo siatka II rzędu znajduje się na powierzchni neksyny jako zgrubienia tej warstwy sporodermy, albo też przyczepiona jest do ścian siatki I rzędu na pewnej wysokości od powierzchni neksyny. Ultracienkie skrawki oraz mikro-fotografie wykonane przy pomocy mikroskopu elektronowego pokazały, że siatka II rzędu zawieszona jest na ściankach siatki I rzędu na wysokości  $2/3$  ścianki od powierzchni neksyny.

Do badań ultracienkich skrawków używa się w Solnie również mikroskopu ze światłem interferencyjnym, co pozwala nieraz na wydzielenie w sporodermie warstw mało różniących się. Różne warstwy w świetle interferencyjnym zabarwione są na różne kolory, co można doskonale prześledzić na kolorowych diapozytywach.

### Mikrofotografia

Do wykonywania mikrofotografii używa się w omawianym Laboratorium urządzenia Aristo-Phot firmy Leitz-Wetzlar. Jako materiał negatywowy i pozytywowy stosuje się klisze ortochromatyczne i panchromatyczne oraz papiery stykowe angielskiej firmy Ilford. Z każdego ziarna pyłku wykonuje się w różnych przekrojach optycznych serię mikrofotografii ilustrujących elementy budowy sporodermy. Do pomiaru czasu ekspozycji używa się światłomierza «Mikrosix». Z wartości podanej na światłomierzu odczytuje się czas naświetlania ze specjalnej tabeli (por. Samuelsson 1963). W celu zwiększenia kontrastu danego obiektu stosuje się odpowiednie filtry w myśl zasady używania tej samej barwy filtru co barwa ziarna pyłku (Samuelsson l. c.).

Wszystkie klisze z negatywami, jak i odbitki pozytywowe są odpowiednio opisywane, a następnie przechowywane jako materiały archiwalne.

### Kontakty z instytucjami krajowymi i zagranicznymi

Specjalna komórka organizacyjna Laboratorium Palynologicznego w Solnie zajmuje się wymianą i sprzedażą preparatów pyłkowych. Zatrudniona jest przy tym jedna osoba opłacana całkowicie z funduszków uzyskanych ze sprzedaży i za różnego rodzaju ekspertyzy. W ostatnim czasie szczególnie dobrze rozwija się współpraca Laboratorium z medycyną. Bardzo popularne są obecnie w Szwecji różne wyroby farmaceutyczne jak tabletki, kremy, maści i inne z dodatkiem ekstraktu z ziarna pyłku. Fabryka w Vegeholm (Skania) zużywa w olbrzymich ilościach pyłek do produkcji tego ekstraktu (ryc. 2), a jej przedstawiciele utrzymują stały kontakt z Laboratorium, gdzie badane są próbki pyłku. Określa się przede wszystkim zanieczyszczenie innymi ziarnami pyłku, sporządza diagnozy morfologiczne itp.





Ryc. 2. Profesor Gunnar Erdtman koło worka z pyłkiem przeznaczonym do produkcji wyrobów farmaceutycznych w fabryce «Cernelle» w Vegeholm. (Zdjęcie pochodzi z archiwum fotograficznego Laboratorium Palynologicznego w Solnie)

Laboratorium Palynologiczne współpracuje również z Uniwersytetem w Sztokholmie. Pracownicy prowadzą wykłady i zajęcia praktyczne ze studentami geologii, które odbywają się częściowo w Laboratorium.

Ważną działalnością Laboratorium w Solnie jest propagowanie palynologii wśród młodzieży szkolnej. Dla tego celu sporządzono specjalny komplet kolorowych przezroczych różnych ziarn pyłku i spor, który wypożycza się szkołom do wyświetlania. Do kompletu tego dołączony jest popularny komentarz o palynologii nagrany przez prof. Erdtmana na taśmie magnetofonowej. Inną formą popularyzacji palynologii wśród młodzieży szkolnej jest zwiedzanie Laboratorium.

W Solnie utrzymuje się stały kontakt z licznymi placówkami naukowymi za granicą. Na stażu naukowym lub studiach specjalistycznych przebywa tu stale 1—2 pracowników naukowych z zagranicy. Są to albo młodzi naukowcy przyjeżdżający uczyć się podstaw palynologii, lub też pracownicy zaawansowani wykonywu-

jący samodzielnie prace z zakresu morfologii ziarn pyłku. Dla gości zagranicznych sporządzona jest specjalna kolekcja preparatów (study collection) ilustrujących bardzo urozmaiconą morfologię ziarn pyłku i spor.

Monograficzne opracowania morfologii ziarn pyłku poszczególnych rodzin prowadzi się pod kątem ustalonego w 1962 roku na konferencji palynologicznej w Tucson (U. S. A) projektu, opracowania flory pyłkowej świata (World Pollen-flora), odpowiednika w palynologii dzieła Englera i Prantla pt. «Die natürlichen Pflanzenfamilien» (1896). Prace te wykonywane pod kierunkiem prof. Erdtmanna uwzględniają nową klasyfikację sporomorf NPC (N — number of apertures — liczba otworów; P — position — ich układ; C — character — ich charakter) ustaloną przez Erdtmanna i Strakę (1961). System ten został ostatnio jeszcze rozwinięty przez Strakę (1964) i zastosowany do opracowania specjalnego systemu dziurkowanych kart opisowych.

*Institut Botaniki PAN w Krakowie  
Zakład Paleobotaniki*

#### LITERATURA

- Engler et Prantl, 1896, Die natürlichen Pflanzenfamilien nebst ihren Gattungen und wichtigeren Arten III, 4: 1—362. Wilhelm Engelmann Verl. Leipzig. 1
- Erdtman G., 1943, An introduction to pollen analysis. Waltham Mass USA pp. 239.
- Erdtman G., 1960, The acetolysis method a revised description. Svensk Bot. Tidskr. 54, 4: 561—564.
- Erdtman G., Straka H., 1961, Cormophyte spore classification. Geol. Fören. Förhandl. 83, 1: 65—78.
- Michel K., 1957, Die wissenschaftliche und angewandte Photographie. Band X Die Mikrophotographie. Springer Verl. Wien S. 740.
- Pragłowski Radwan J., 1957, On the cutting of ultra-thin sections. Suppl.: Erdtman G. «Pollen and spore morphology plant taxonomy». Almqvist & Wiksell Stockholm p.: 135—147.
- Reymanówna M., Stuchlik L., 1959, Próby stosowania polimerów w pracowni paleobotanicznej. Wiadomości Botaniczne III, 2: 95—100.
- Samuelsson K. E., 1963, Photomicrography in palynology. Suppl.: Erdtman G., Pragłowski J., Nilsson S. «An introduction to a Scandinavian pollen flora». Almqvist & Wiksell Stockholm p.: 65—69.
- Straka H., 1964, Palynologia Madagassica et Mascarenica. Pollen et Spores VI, 1: 239—288.