

ADAM URBANEK  
Uniwersytet Warszawski

## BADANIA ULTRASTRUKTURY ORGANIZMÓW KOPALNYCH I ICH ZNACZENIE DLA PALEONTOLOGII

UKD 56.072:577.1:537.533.36:591.1.71:272:[563.719.1+564.73]

Podobnie jak wiele nauk geologicznych również paleontologia jest ogarnięta inwazją nowych technik i procedur badawczych. Spośród metod chemicznych stosowanych w paleontologii wymienić należy na pierwszym miejscu chemiczne metody preparowania skamieniałości o szkielecie organicznym, fosforanowo-wapiennym lub też skrzemieniastym. Wiele z tych metod stało się obecnie metodami standardowymi, trzeba jednak podkreślić pionierską rolę warszawskiej szkoły paleontologicznej w rozwoju i zastosowaniu tych metod na dużą skalę. Wykazanie ogromnego znaczenia metod preparowania chemicznego dla paleontologii jest przede wszystkim zasługą Profesora Romana Kozłowskiego, który metody te zaczął stosować na szeroką skalę już w połowie lat 30-tych.

Innym kierunkiem zastosowania metod chemicznych w badaniach paleontologicznych jest badanie składu chemicznego substancji organicznych pochodzenia biogenicznego, zachowanych bezpośrednio w szczątkach organicznych, często w postaci resztek osnowy organicznej szkieletu lub w postaci produktów jej rozkładu, względnie też rozproszonych w osadzie otaczającym skamieniałości, i występujących w różnych stanach wtórnej organizacji fizycznej. Ustalenie charakterystycznych grup chemicznych, pełniących często rolę wskaźników, markerów charakteru metabolizmu organizmów kopalnych, ma ogromne znaczenie przy badaniu najstarszych organizmów — organizmów prekambryjskich, gdzie używane jest do datowania głównych innowacji biochemicznych świata organicznego. Z tego względu, że wczesna ewolucja organizmów była przede wszystkim ewolucją chemiczną, badanie substancji organicznych pochodzenia biogenicznego ma ogromne znaczenie dla poznania eonu prekambryjskiego, a właściwie kryptozoiku, na naturalne jednostki stratygraficzne.

Wprowadzenie pojęcia skamieniałości chemicznej, to jest takiej, kiedy nie zachowuje się pierwotna struktura lub ogólnie biorąc organizacja fizyczna ustroju, lecz zachowują się swoiste dla istot żywych klasy związków chemicznych, bądź też grupy chemiczne, a także zaanonsowanie przez znanego biochemika amerykańskiego Calvina (1) paleontologii molekularnej jako nowej dyscypliny, zajmującej się badaniem biogenicznych cząsteczek chemicznych zachowanych w stanie kopalnym, znamionują nowy etap chemizacji nauk paleontologicznych.

Obok metod chemicznych wzrosło znaczenie różnego rodzaju fizycznych technik badawczych. Stosowanie promieni Roentgena, badanie i fotografowanie skamieniałości w świetle nadfioletowym dostarczyły wielu danych odnoszących się do budowy wewnętrznej szkieletu, jak również pozwoliły uwidocznić szczątki tkanek miękkich związanych ze szkieletem niektórych zwierząt kopalnych.

Największe jednak znaczenie przypada mikroskopii elektronowej, która jako samodzielna technika badawcza lub też w odpowiedniej kombinacji z innymi metodami oddaje nieocenione usługi nowoczesnej paleontologii.

Nie ma tu, oczywiście potrzeby omawiania zasady działania mikroskopu elektronowego. Wystarczy, że pamiętać będziemy, iż wiązka światła mikroskopu świetlnego zastąpiona jest tu przez strumień elektronów; system soczewek, kondensora, obiektywu i okularu zastąpiony jest przez odpowiednie pola elektromagnetyczne, zaś obraz rysowany jest na ekranie fluorescencyjnym lub na błonie fotograficznej.

Dla celów paleontologicznych używane są dwa zasadniczo odmienne typy mikroskopów elektronowych — tzw. odbiciowy (scanning)\* i transmisyjny. Pierwszy używany jest do badania obiektów nieprzenikliwych dla elektronów i umożliwia tylko uzyskiwanie obrazów ich powierzchni. Techniki stosowane polegają często na powlekaniu powierzchni badanych obiektów ultracienką warstwą złota lub platyny i na bezpośredniej ich obserwacji.

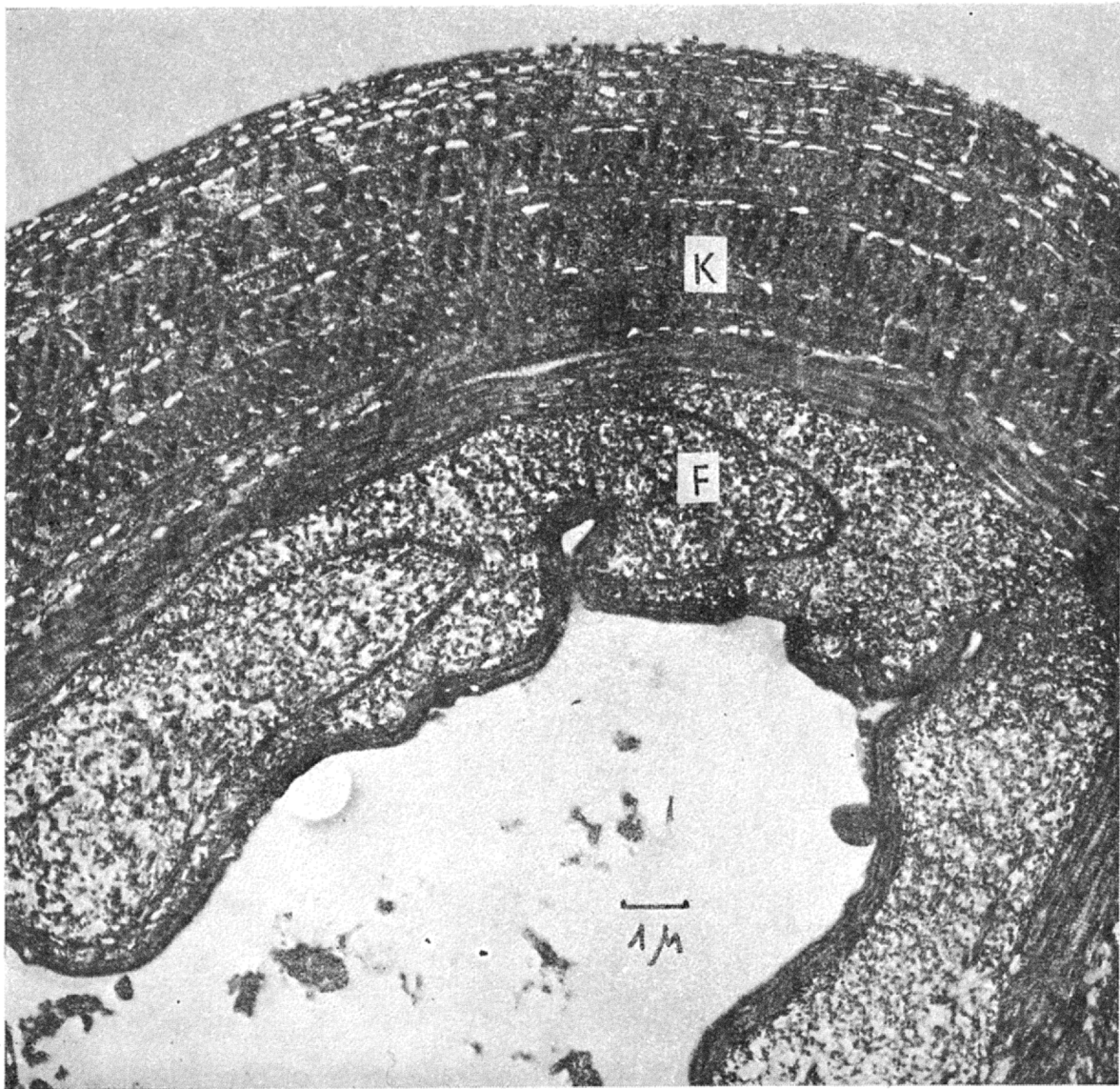
Technika mikroskopu odbiciowego znajduje ogromne zastosowanie dla badania morfologii submikroskopowej mikroskamieniałości (kokkolity, otwornice, małżoraczki), a w niektórych przypadkach (kokkolity) stała się ona techniką standardową, niezbędną dla identyfikacji samych obiektów. Nieocenione usługi oddaje elektronowy mikroskop odbiciowy przy badaniu szczegółów budowy mikroorganizmów prekambrzyjskich, gdzie uzyskiwane obrazy mają duże znaczenie dla określenia poziomu organizacji tych przeważnie zagadkowych szczątków. Badanie odpowiednio zróżnicowanych powierzchni muszli ramieniogów za pomocą tego mikroskopu było zasadniczą techniką, używaną przez Allyna Williamsa dla ustalenia typów ultrastruktury i sposobu sekrecji poszczególnych kryształów przez komórki nabłonka piaszcza.

W mikroskopie transmisyjnym strumień elektronów przechodzi bezpośrednio przez ultracienkie (900—1200<sup>o</sup>) skrawki obiektów.

Znaczenie mikroskopu elektronowego transmisyjnego omówię na przykładzie moich własnych badań nad ultrastruktura perydermy graptolitów i pióroskrzelnych. Jak wiadomo, zbudowana jest ona z substancji organicznej o bliżej nie ustalonym składzie, w którym przypuszczalnie doniosłą rolę odgrywają białka. Ponieważ budowa mikroskopowa perydermy graptolitów, zbadana przez Prof. R. Kozłowskiego (3), okazała się dla nich niezmiernie charakterystyczna (swoista) i dostarczyła podstawy do poglądów na temat pochodzenia i stanowiska systematycznego tej ważnej grupy zwierząt kopalnych, wyłoniło się obecnie w sposób naturalny zagadnienie struktury submikroskopowej perydermy graptolitów i charakteru jej tworzenia molekularnego.

Za pomocą mikroskopu świetlnego wyróżniono dwa główne składniki perydermy graptolitów — tkan-

\* Jednak tylko w niektórych z tych mikroskopów do tworzenia obrazu wykorzystywane są rzeczywiście elektrony odbite, przeważnie wykorzystuje się tu elektrony z emisji wtórnej.



Ryc. 1. Przekrój poprzeczny teki graptolita *Dictyonema* sp. (ordowik górny) oglądany w postaci ultracienkiego skrawka w mikroskopie elektronowym przechodzącym. Widoczne główne składniki perydermy — tkanka korowa (K) i fuzellarna (F).

Fig. 1. Cross-section of theca of graptolite *Dictyonema* sp. (Upper Ordovician); ultra-thin strip seen under transmissional electron microscope; note principal elements of periderm — bark (K) and fusellar (F) tissues.

kę lub warstwę fuzellarną oraz tkankę względnie warstwę korową. Pierwsza złożona jest z charakterystycznych **pasemek przyrostowych**, mających zarys wrzecionowaty i nałożonych na siebie regularnie, przez co wytwarza się podwójny szew zygawkowaty. Tkanka fuzellarna stanowi pierwotny składnik ściany poszczególnych tek, czyli rurek oddzielnych osobników (młodociane, rosnące części kolonii składają się wyłącznie z tkanki fuzellarnej). Następnie na ten pierwotny składnik nakładają się kolejne warstwy tkanki korowej. Ta ma wyraźną budowę laminarną i stopniowo grubieje w miarę wieku kolonii.

Za pomocą mikroskopu elektronowego można łatwo rozpoznać oba główne składniki perydermy graptolitów, a następnie ustalić ich złożoną substrukturę (ryc. 1).

**Tkanka korowa** składa się z licznych warstw przyrostowych, oddzielonych elektronowo gęstymi błonami. Z tymi ostatnimi wiąże się obecność licznych i bardzo charakterystycznych pęcherzyków, których znaczenie pozostaje zagadkowe. Każda warstwa korowa składa się z licznych fibrilli, ułożonych równolegle

i zorientowanych jednakowo w obrębie danej warstwy. Natomiast w sąsiednich warstwach korowych fibrille te wykazują często odmienną orientację, przez co ułożenie włókien w kilku kolejnych warstwach może być diagonalne lub nawet ortogonalne (ryc. 2).

Fibrille tkanki korowej połączone są za pomocą substancji podstawowej, czyli tzw. **matrix**, która jednak nie wypełnia w sposób ciągły przestrzeni między nimi, ale sama jest zorganizowana w postaci licznych **beleczek poprzecznych**, łączących w odpowiednich miejscach sąsiednie fibrille. Na przekrojach podłużnych widoczny jest względnie regularny układ tych beleczek substancji podstawowej, których regularne odległości u niektórych graptolitów mają z pewnością związek z periodycznością samego włókna.

Na podstawie cech fizycznych elementarnych składników ultrastruktury tkanki korowej Towe i Urbanek (4) wysunęli tezę, że składnik włóknisty tej tkanki jest przypuszczalnie białkiem należącym do grupy kolagenu. O tym świadczy ogólny wygląd, szeregu szczegółów budowy, a w szczególności charakte-



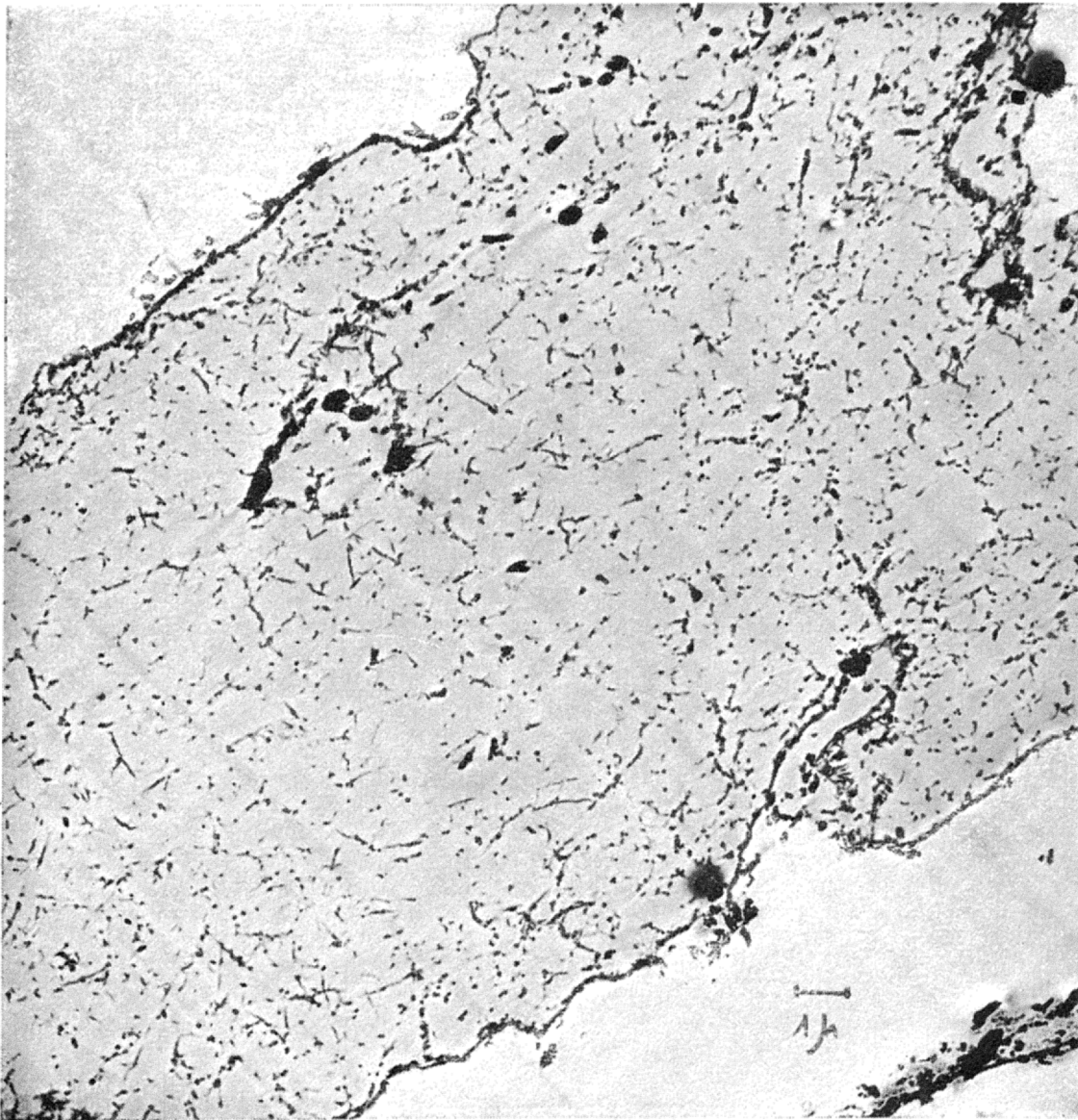
Ryc. 2. Szczegóły złożonej architektury tkanek perydermalnych u *Dictyonema* sp. widoczne w mikroskopie elektronowym przechodzącym; K — tkanka korowa, F — tkanka fuzellarna.

Fig. 2. Details of complex architecture of periderm tissues of *Dictyonema* sp. observable under transmissional electron microscope; K — bark tissue, F — fusellar tissue.

rystyczny układ fibrill tkanki korowej, ludząco podobnej do swoistego układu ultrawłókien kolagenu w tak zwanych błonach bazalnych, występujących na granicy nabłonka i tkanki łącznej wielu zwierząt. Ten wniosek, oparty na zbadaniu ultrastruktury perydermy graptolitów liczących ponad 400 milionów lat, jest tym bardziej istotny, że, jak wykazują nasze nowe badania, substancja organiczna szkieletu graptolitów podlegała głębokiej diagenecie, tak że nie zachowały się chemiczne ślady świadczące o jej pierwotnym składzie chemicznym. Peryderma graptolitów niemal nie podlega hydrolizie, zaś hydrolizaty nie zawierają wiarygodnych ilości aminokwasów lub innych charakterystycznych związków organicznych. Wynika to prawdopodobnie z głębokiego uwęglenia i samodestylacji pierwotnej materii graptolitowej, czyli tzw. graptyny. Opublikowane przed kilku laty wyniki badań nad składem chemicznym perydermy graptolitów (2), polegają, jak się wydaje, raczej na zanieczyszczeniu samych reagentów (głównie HCl) śladowymi ilościami aminokwasów, niż na hydrolizatach samej perydermy.

Zupełnie inny jest obraz ultrastruktury tkanki fuzellarnej (ryc. 2). Składa się ona z sieci splecionych, rozgałęziających się i anastomozujących włókien, bardziej delikatnych niż fibrille korykalne. Te włókna wydają się jedynym składnikiem tkanki, która z tego względu może być uważana za system **monotypowy**. Przyżyciowo jednak były one zapewne połączone w substancji podstawowej, przypuszczalnie w stanie koloidu, która w przeciwieństwie do takiej substancji w tkance korowej nie zachowuje się w stanie kopalnym. Jest to stała cecha tkanki fuzellarnej wszystkich zbadanych dotychczas graptolitów. **Oddzielne fuzellusy** ograniczone są elektronowo gestą błoną — tzw. **błoną zewnętrzną fuzellusów**, zaś powierzchnia wewnętrzna teki wyścielona jest ponadto często wielowarstwową błoną, tzw. **wyściółką wewnętrzną**.

Natura fibrilli fuzellarnych jest jeszcze mniej jasna, niż fibrilli korykalnych. Ważne znaczenie mieć mogą nieopublikowane jeszcze moje badania, że w pewnych miejscach obserwuje się ciągłe przejście od nieregularnych, faliście wyginających się fi-



Ryc. 3. Fragment rurki zooidalnej kopalnego przedstawiciela pióroskrzelnych — *Rhabdopleurites primaevus* Kozł. (ordowik środkowy). Porównaj ze strukturą tkanki fuzellarnej (F) na ryc. 1.

Fig. 3. Fragment of zooidal tube of fossil representative of pterobranchids, *Rhabdopleurites primaevus* Kozł. (Middle Ordovician); compare with the structure of fusellar tissue (F) in Fig. 1.

brilli fuzellarnych — do prostych włókien korykalnych o uporządkowanym układzie. Zdaże się to świadczyć o tym, że oba materiały włókniste należą do tej samej klasy, tj. są różnymi formami organizacji fizycznej kolagenu, zależnymi od ilości i charakteru substancji podstawowej, określającej, jak się przypuszcza, wielkość, kształt i wzajemny układ fibrilli.

Badania moje objęły już cały szereg obiektów i ograniczone ramy artykułu nie pozwalają na ich bliższe omówienie. Warto tu może jedynie wspomnieć o zasadniczych różnicach w budowie tworzywa submikroskopowego perydermy graptolitów oraz współczesnych i kopalnych (ryc. 3) pióroskrzelnych. Obie te grupy uważa się za blisko spokrewnione ze względu na głębokie podobieństwa anatomii mikroskopowej ich szkieletu. Pod względem ultrastruktury występują jednak duże różnice. Stwarza to ważne problemy kryteriów homologii na poziomie ultrastruktury oraz problemy relacji molekularnego (submikroskopowego) i mikroskopowego (komórkowego) poziomu przemian ewolucyjnych, a także rzuca no-

we światło na stosunki filogenetyczne obu wspomnianych grup.

Docierając do makromolekularnych, elementarnych jednostek strukturalnych materii żywej, mikroskopia elektronowa umożliwia rozwój nauki, którą można by nazwać **morfologią molekularną** lub **anatomią biochemiczną**. Na gruncie tej dyscypliny dochodzi do integracji tak pozornie odległych nauk, jak: morfogeneza, biochemia, chemia strukturalna i fizyczna, a także paleontologia.

Przykładem integrujących teorii naukowych, które wyrosły na podstawie mikroskopii elektronowej utworów szkieletowych zwierząt kręgowych i bezkręgowych — są **ogólne teorie biomineralizacji**. W wyniku badań przeprowadzonych zarówno za pomocą elektronowego mikroskopu **odbiciowego**, jak i **przechodzącego**, przy zastosowaniu różnych, niekiedy bardzo pomysłowych metod sporządzania preparatów (repliki) ustalono, że **wszystkie** materiały szkieletowe złożone są z dwu składników. Są nimi **faza organiczna** i **faza nieorganiczna** (mineralna). Zebrane dotychczas fakty przemawiają za doniosłą rolą, jaką

pełni faza organiczna w procesie powstawania i wzrostu szkieletu. Nie znamy szkieletów organicznych, które byłyby wyłącznie mineralne, zawsze kryształ fazy nieorganicznej pozostają w ścisłym związku z organiczną podstawą szkieletu, wykształconą w postaci błon, włókien lub pasm otaczających oddzielne kryształy. Badania te udowodniły, że molekularne mechanizmy, odpowiedzialne za powstanie i wzrost oddzielnych kryształów, nie stanowią wyłącznie zagadnienia z dziedziny mineralogii i krystalochemii, bowiem tworzą się w wyniku złożonych interakcji, obejmujących także aktywność żywych komórek i właściwości charakterystycznych ich wytworów biochemicznych.

U kręgowców organiczną fazę stanowi głównie znany nam już kolagen, zaś fazę nieorganiczną — fosforan wapnia, natomiast u bezkręgowców skład obu faz cechuje duża różnorodność.

Wszystkie teorie biomineralizacji zakładają swoisty wpływ fazy organicznej, czyli osnowy organicznej szkieletu, tzw. *matrix* na proces nukleacji (powstawania zarodków kryształów) i wzrostu kryształów tworzących część mineralną szkieletu. W dalszym przebiegu tego procesu mogą się wytwarzać silnie zmineralizowane takie tkanki, jak kość czy muszle bezkręgowców. W świetle jednej grupy tych teorii, właściwości stereochemiczne osnowy organicznej, rozmieszczenie odpowiednich rodników lub łańcuchów bocznych, względnie też sama periodyczność włóknistych elementów substratu organicznego — określają miejsca nukleacji i kierunki wzrostu kryształów. Jest to teoria matrycy organicznych, zwana też teorią epitaksji.

Według innej teorii znaczenie osnowy organicznej dla procesu biomineralizacji jest mniej swoiste i polega przede wszystkim na organizacji przestrzeni, w jakiej zachodzi wzrost kryształów. Elementy strukturalne osnowy organicznej (błony, pasma, włókna etc.) tworzą system przegródek, przy czym wzrost kryształów dostosowuje się do istniejących przestrzeni, zaś ściany tych przegródek ułatwiają nukleację. Warto tu zauważyć, że ta teoria przegródkowa odwołuje się do częstego w biologii submikroskopowej zjawiska kompartmentyzacji, tj. organizacji przestrzeni na oddzielne wycinki i zwiększenia powierzchni czynnych.

## SUMMARY

Significance of modern techniques in palaeontological investigations with special reference to the electron microscopy is discussed. Results of recent researches on ultrastructure of periderm in graptolites and pterobranchs were briefly described and contribution of electron microscopy to the growths of general theories of biomineralization has been emphasized.

Obie teorie w swym obecnym stanie pozostawiają wiele problemów bez odpowiedzi, ale stanowią ogromny krok naprzód w stosunku do wcześniejszych poglądów na mechanizm powstawania szkieletu. W istocie, stanowią one nową wersję klasycznego i fundamentalnego dla paleontologii problemu stosunku części miękkich do szkieletu. Trudno tu oprzeć się pewnej refleksji osobistej. Kiedy rozpoczynałem studia paleontologiczne — a nie było to znowu tak bardzo dawno temu — problem ten, szczególnie zresztą analizowany, sprowadzał się w istocie do zagadnienia topograficznego związku głównych narządów i tkanek ciała ze szkieletem oraz do ich funkcjonalnych zależności. Nieco później w latach 50-tych, uległ on konkretyzacji — zaczęto badać znaczenie i funkcje oddzielnych komórek w procesie tworzenia elementów strukturalnych szkieletu. Badania te ustaliły nieoczekiwany fakt, że żywa komórka nie może bezpośrednio wytwarzać fazy mineralnej szkieletu, ale czyni to zawsze za pośrednictwem specjalnych swych wytworów, wydzielanych poza obręb cytoplazmy i nazwanych tu osnową organiczną. Wytwarzanie szkieletu mineralnego wiąże się więc ze szczególną formą aktywności sekrecyjnej komórki i pozostaje w ścisłym związku z molekularnymi właściwościami swoistych matrycy organicznych. Niemalże udział w tej radykalnej ewolucji poglądów na temat relacji tkanek miękkich do szkieletu odegrała mikroskopia elektronowa — niewątpliwie jedno z potężnych narzędzi poznania i ważny czynnik integracji różnorodnych dziedzin nauki współczesnej.

## LITERATURA

1. Calvin M. — Molecular Palaeontology. Trans. Leicester Literary and Philosophical Society, 1968, 62.
2. Foucart M. F., Bricteaux-Gregoire S., Jeuniaux Ch., Florin M. — Fossil Proteins of Graptolites. Life Sciences, 1965, 4.
3. Kozłowski R. — Les Graptolithes et quelques nouveaux groupes d'animaux du Tremadoc de la Pologne. Palaeont. pol. 1949, 3.
4. Towe K. M., Urbanek A. — Collagen-like Structures in Ordovician Graptolite Periderm. Nature, 1972, 237, 5356.

## РЕЗЮМЕ

В статье рассматривается применение новых методов исследований в палеонтологии, в частности электронной микроскопии. Представлены результаты исследования ультраструктуры перидермы граптолитов и крыложаберных. Обсуждается роль электронной микроскопии в развитии общей теории биоминерализации.