

PL ISSN 0023-4249

Indeks 362808

Polskie Towarzystwo Przyrodników  
im. KOPERNIKA

# KOSMOS



Tom 41

WARSZAWA 1992

Numer 2—3 (215—216)

W Y D A W N I C T W O   N A U K O W E   P W N



# K O S M O S

Rok założenia 1876

Warszawa 1992

Wydawnictwo Naukowe PWN

RADA REDAKCYJNA

LESZEK KUŹNICKI (wiceprzewodniczący), WŁODZIMIERZ MICHAJŁOW,  
WŁODZIMIERZ OSTROWSKI, HENRYK SZARSKI, PRZEMYSŁAW TROJAN,  
ADAM URBANEK (przewodniczący), KAZIMIERZ ZIELIŃSKI  
sekretarz: JADWIGA KOBUSZEWSKA

KOMITET REDAKCYJNY

BRONISŁAW CYMBOROWSKI, WŁADYSŁAW GOLINOWSKI, LUCYNA GRĘBECKA  
ANTONI HOFFMAN, WŁODZIMIERZ MICHAJŁOW  
KRZYSZTOF STAROŃ, KAZIMIERZ L. WIERZCHOWSKI (redaktor naczelny),  
JERZY ŻUK  
sekretarz: JADWIGA KOBUSZEWSKA

Adres redakcji: 00-901 Warszawa, Pałac Kultury i Nauki,  
Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika

Wydano z pomocą finansową  
Komitetu Badań Naukowych

---

WYDAWNICTWO NAUKOWE PWN — WARSZAWA, ul. MIODOWA 10  
Ark. wyd. 13,0. Ark. druk. 10,25. Papier druk. mat. III 71 g. B-1  
Oddano do składania w październiku 1992 r. Podpisano do druku  
w styczniu 1993 r. Druk ukończono w styczniu 1993 r.

---

Skład: „VARIA”. Druk i oprawa: Zakład Poligraficzny — W-wa, ul. Połażowa 8

ADAM JANKOWSKI  
ALEKSANDRA LEWANDOWICZ-USZYŃSKA

Klinika i Katedra Propedeutyki Pediatrii  
Akademii Medycznej we Wrocławiu  
(Wrocław)

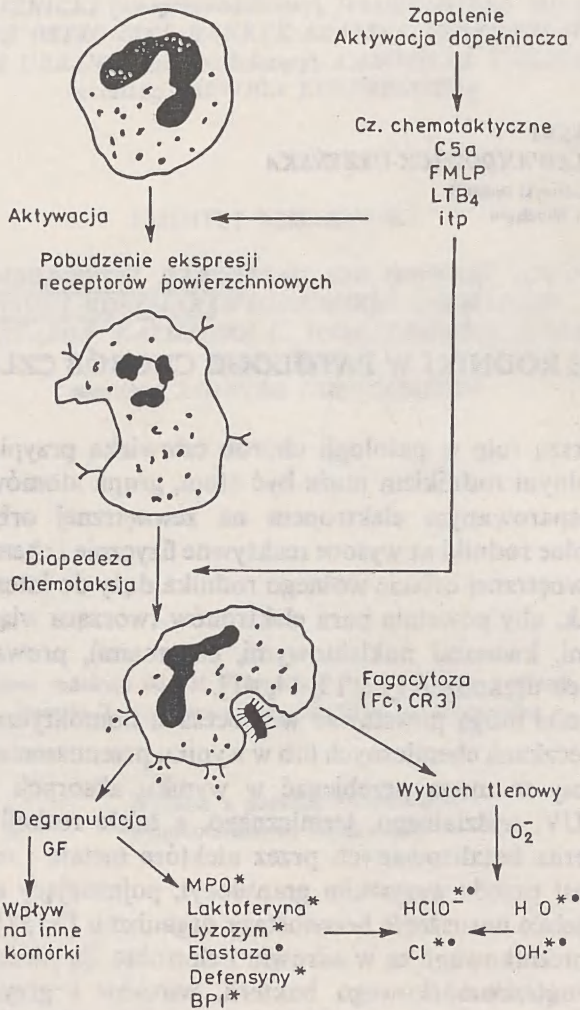
## WOLNE RODNIKI W PATOLOGII CHOROÓB CZŁOWIEKA

Coraz większą rolę w patologii chorób człowieka przypisuje się wolnym rodnikom. Wolnym rodnikiem może być atom, grupa atomów lub cząsteczka z jednym niesparowanym elektronem na zewnętrznej orbicie. Dzięki tej właściwości wolne rodniki są wysoce reaktywne fizycznie i chemicznie. Samotny elektron na zewnętrznej orbicie wolnego rodnika dąży do interakcji z innymi elektronami tak, aby powstała para elektronów tworząca wiązanie chemiczne (np. z białkami, kwasami nukleinowymi, enzymami), prowadząc często do nieodwracalnych uszkodzeń [11, 12, 14, 41].

Wolne rodniki mogą powstawać w procesach homolitycznego rozrywania wiązań w cząsteczkach chemicznych lub w wyniku przenoszenia elektronów [11, 13, 25]. Procesy te mogą przebiegać w wyniku absorpcji promieniowania jonizującego, UV, widzialnego, termicznego, a także reakcji redukcyjno-oksydacyjnych, oraz katalizowanych przez niektóre metale i enzymy [12, 14]. Źródłem ich jest przede wszystkim granulocyt, pojawiający się wszędzie tam gdzie miało miejsce naruszenie homeostazy organizmu [3, 37]. Wolne rodniki tlenowe (RT) produkowane są w zdrowiu i chorobie. Są niezbędne w procesie zabijania wewnątrzkomórkowego bakterii, wirusów i grzybów na drodze zależnej od tlenu, a także degradacji wielu antygenów [11, 38].

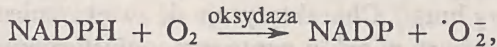
Pod wpływem różnych bodźców, np. adherencji na powierzchni granulocyta obcej cząsteczki lub w następstwie jej fagocytozy, dochodzi do zwiększonej produkcji aktywnych form tlenu [3, 7, 12, 44]. Stan ten nosi nazwę „burzy tlenowej” (respiratory burst). Charakteryzuje się zwiększeniem pobierania tlenu, wzrostem zużycia glukozy w cyklu pentozomonofosforanowym i przy udziale oksydazy NADPH, a także mieloperoksydazy (MPO), powstają wolne rodniki tlenowe: nadtlenki wodoru, rodnik hydroksylowy, rodnik nadtlenkowy, tlen singletowy [12, 13].

Po aktywacji błony komórkowej granulocyta dochodzi do napływu do wnętrza komórki jonów  $\text{Na}^+$  i  $\text{Ca}^{++}$ . Wapń łączy się z białkiem kalmoduliną, aktywując jednocześnie oksydazę NADPH, dla której substratem cząsteczkowym jest NADPH powstały w cyklu pentozofosforanowym [12, 13, 14].

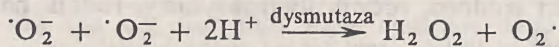


Rys. 1. Różne aspekty aktywacji neutrofilii w odpowiedzi na czynnik zapalny [44]

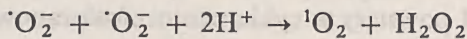
W reakcji z tlenem cząsteczkowym tworzy anion nadrtlenkowy:

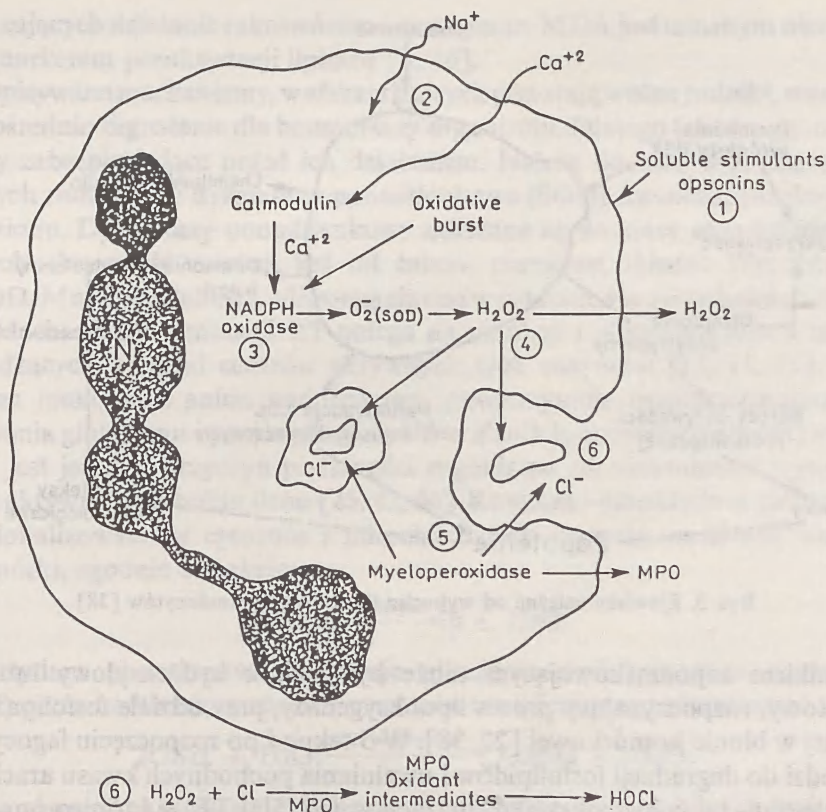


w czasie dalszej redukcji powstaje nadrtlenek wodoru:



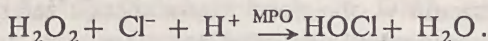
Jeżeli reakcja ta zachodzi spontanicznie, produktem jest nadrtlenek wodoru i tlen singletowy:





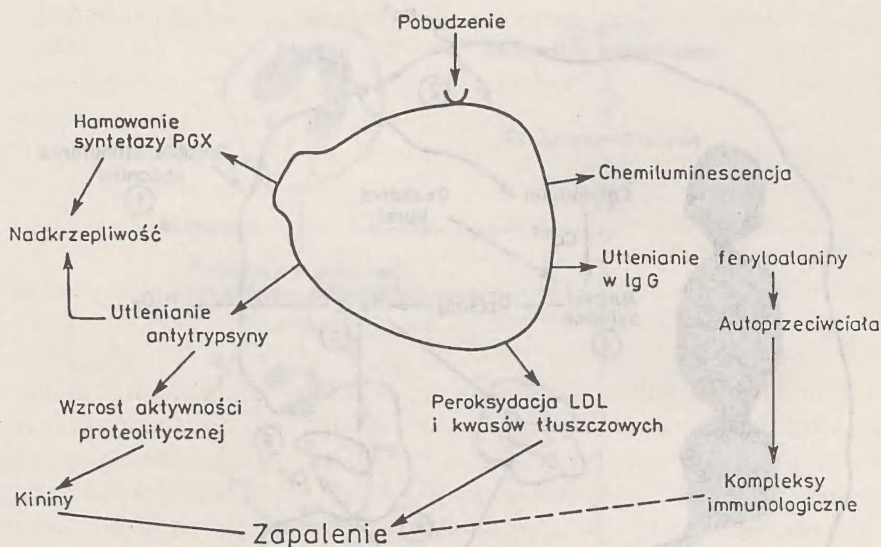
Rys. 2. Mechanizm cytotoksyczności granulocytów wielojądrzastych zależy od Mieloperoksydazy (MPO) [13]. (1) stymulacja błony komórkowej granulocyta, (2) efekt depolaryzacji z równoczesnym napływem do wnętrza komórki jonów  $\text{Na}^+$  i  $\text{Ca}^{+2}$ , (3) produkcja nadtlenu zależnych od układu oksydazy NADPH, (4) dysmutacja  $\text{H}_2\text{O}_2$  przez anion nadtlenkowy, (5) degranulacja, uwalnianie MPO, formowanie fagosomu, (6) interakcja  $\text{H}_2\text{O}_2$  z jonami  $\text{Cl}^-$  w obecności MPO

Aktywne metabolity tlenu mogą reagować z jonami bromu, jodu, fluoru, chloru. W reakcji katalizowanej przez mieloperoksydazę powstaje kwas podchlorowy:



Kwas podchlorowy, reagując z grupami aminowymi aminokwasów, tworzy chloraminę związek o bardzo dużej toksyczności dla większości drobnoustrojów [13, 44, 46]. Aktywne metabolity tlenu, produkowane przez pobudzone granulocyty, odpowiedzialne są ponadto za szereg reakcji, które mogą modyfikować niektóre procesy immunologiczne [16, 24, 39, 41].

Źródłem nadtlenu lipidowych są przede wszystkim błony komórkowe, zawierające znaczne ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, szczególnie narażonych na proces zwany „nadtlenowaniem lipidów” [13, 16, 22].



Rys. 3. Zjawiska zależne od wybuchu tlenkowego granulocytów [38]

Czynnikiem zapoczątkującym może być rodnik hydroksylowy lub tlen singletowy, rozpoczynający proces lipooksygenazy, przy udziale fosfolipazy  $A_2$  obecnej w błonie komórkowej [22, 38]. W 5 sekund po rozpoczęciu fagocytozy dochodzi do degradacji fosfolipidów i uwalniania pochodnych kwasu arachidowego: mono- i dwuhydroksyeikozatetraenowego (5HETE), z którego powstają leukotrieny ( $LTA_4$ ,  $LTB_4$ ,  $LTC_4$ ,  $LTE_4$ ) odpowiedzialne za cały ciąg negatywnych zjawisk:

- uwalniają histaminę z komórek tucznych,
- kurczą mięśnie gładkie oskrzeli,
- rozszerzają naczynia krwionośne, wzmagając przepuszczalność ich ściany,
- pobudzają receptory bólowe łącznie z bradykininą,
- hamują aktywność komórek naturalnych zabójców (NK)
- działają inotropowo ujemnie [13, 21, 22, 38, 39].

Proces ten w warunkach fizjologicznych zachodzi wolno, ulegając jednakże znacznemu przyspieszeniu w obecności jonów metali: żelaza, miedzi [13, 25]. W wyniku opisywanych reakcji dochodzi do:

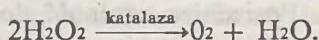
- modyfikacji składników błony komórkowej,
- zmiany struktury błon, wpływającej na funkcję i ich antygenowy charakter,
- utlenianie grup tiolowych (SH),
- zmiany w stosunku nienasyconych kwasów tłuszczowych do białka,
- zaburzenie płynności błony komórkowej i związane z tym zaburzenie transportu przez błony [12, 25]

Wynikiem wyżej wymienionych procesów jest nie tylko uszkodzenie błon, ale także produkcja 4-hydroksynonenalu i aldehydu dwumalonowego (MDA),

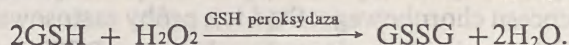


wykazujących działanie rakotwórcze i mutagenne. MDA jest uznanym nieswoistym markerem peroksydacji lipidów [9, 16].

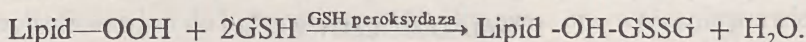
Opisywane mechanizmy, w efekcie których powstają wolne rodniki, stanowią bezpośrednie zagrożenie dla homeostazy organizmu. Dlatego też istnieją mechanizmy zabezpieczające przed ich działaniem. Należą do nich tzw. „zmiatacze wolnych rodników”: dysmutazy ponadtlenkowe (SOD), katalaza, peroksydaza glutationu. Dysmutazy ponadtlenkowe zaliczane są do klasy oksydoreduktaz, których aktywność zależna jest od żelaza, manganu, miedzi. Wyróżnia się FeSOD, MnSOD, CuSOD. Mieszczą się one w cytozolu i w mitochondriach [16, 25]. Mechanizm dysmutacji RT polega na redukcji i utlenianiu jonów metali, wchodzących w skład centrów aktywnych tych enzymów [13, 15, 25]. Dysmutaza inaktywuje anion nadtlenkowy, powstrzymuje rozprzestrzenianie się utleniania glutationu i peroksydacji lipidów. Zanik lub zmniejszenie aktywności SOD jest jedną z przyczyn podatności organizmu na uszkodzenia wywołane przez aktywne metabolity tlenu [25, 43, 46]. Katalaza i peroksydaza glutationowa zlokalizowane w cytozolu i mitochondriach usuwają nadtlenek wodoru z komórki, zgodnie z reakcją:



Peroksydaza glutationowa katalizuje utlenianie zredukowanego glutationu (GSH) przez nadtlenek wodoru z utworzeniem utlenionego glutationu i wody:



Działa również na wodorotlenki lipidowe i redukuje je do stabilnych hydroksykwasów:



Inny sposób zabezpieczania organizmu przed wolnymi rodnikami to nieenzymatyczne antyutleniacze. Należą do nich między innymi: glutation, kwas askorbinowy i moczowy, metionina, cysteina, bilirubina, karotenoidy, selen, niektóre związki farmakologiczne: mannitol, dwumetylosulfotlenek, inhibitory czynnika aktywującego płytki (PAF-u) [11, 21]. Kwas askorbinowy neutralizuje nadtlenki, ten singletowy, rodniki hydroksylowe oraz znosi działanie układu MPO ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )<sup>-</sup> [13, 16]. Zabezpiecza także DNA przed destrukcyjnym wpływem utleniaczy, zmniejszając liczbę doświadczalnych aberacji chromosomalnych, oraz limfocyty i neutrofile przed ich rozpadem w miejscach fagocytarnej aktywności [16, 25].

Witamina E (tokoferol) przerywa i zapobiega utlenianiu podwójnych wiązań kwasów tłuszczowych. Z tego też powodu między innymi znalazła zastosowanie w ochronie przed skutkami terapii RTG, cytostatykami, wzmagającymi produkcję wolnych rodników [9, 25]. Podawanie lecznicze witaminy E podnosi aktywność fagocytarną granulocytów, zmniejszając nieco ich właściwości bakteriobójcze [7, 16, 20]. Witamina A i inne karotenoidy mają zdolność „wygasza-

nia tlenu singletowego” i mogą odgrywać rolę czynnika hamującego rozprzestrzenianie się peroksydacji w lipidach [12, 16].

Z przytoczonych faktów widać, jak ciągła obecność RT zmusiła organizm człowieka do stworzenia i umiejętnego korzystania z mechanizmów ochronnych przed szkodliwym ich działaniem [19, 20, 27]. Niekiedy jednak mechanizmy te są niewystarczające. Dlatego też, obecnie uważa się, iż u podłoża takich chorób, jak: przewlekłe zapalenie oskrzeli, astma oskrzelowa, cukrzyca, reumatoidalne zapalenie stawów, zaćma, choroba Crohna (i inne) leżą między innymi mechanizmy wyzwalane przez rodniki tlenowe. W chorobach autoimmunizacyjnych, np. w reumatoidalnym zapaleniu stawów, obserwuje się nadprodukcję aktywnych metabolitów tlenu z jednoczesnym upośledzeniem mechanizmów zabezpieczających (spadkiem aktywności SOD, katalazy, peroksydazy) [19, 28, 30, 32]. Powstawanie RT w tej chorobie związane jest między innymi z powstającymi miejscowo kompleksami immunologicznymi i limfokinami oraz z aktywacją układu dopełniacza, które są czynnikami chemotaktycznymi dla granulocytów [2, 19, 29]. Pobudzone w ten sposób neutrofile produkują duże ilości aktywnych metabolitów tlenu i enzymów lizosomalnych, powodujących destrukcję powierzchni stawowych [29, 39]. Posiadając zdolność do utleniania fenyloalaniny w cząsteczce IgG powodują, iż staje się ona autoantygenem, dodatkowo stymulując napływ i metabolizm granulocytów [39, 41]. Fakt powstawania RT może być jednym z głównych mechanizmów stałego podtrzymywania i „napędzania” procesu chorobowego. Stąd też, próby zastosowania preparatów SOD (Orgotein, Ontosein, Peroxinorm) w leczeniu RZS, stwardnienia rozsianego, przewlekłego zapalenia pęcherza moczowego [26].

#### UKŁAD MOCZOWY

Udowodniono, że w przebiegu zapalenia kłębkowego nerek nadtlenuk wodoru, anion nadtlenukowy i wolne atomy tlenu bezpośrednio niszczą struktury kłębków nerkowych [24, 33]. Prawdopodobnie następuje to w wyniku inaktywacji alfa-1-antytrypsyny — inhibitora proteaz leukocytarnych [24, 39]. Również i w przewlekłym zapaleniu pęcherza moczowego przypisuje się negatywną rolę RT. Stwierdzenie w moczu śladowych ilości SOD ułatwia nagromadzenie RT pod wpływem niektórych substancji (leków, metabolitów dymu tytoniowego, smoły), prowadząc do przewlekłego zapalenia błony śluzowej pęcherza moczowego [16, 26].

#### UKŁAD ODDECHOWY

Tkanka płucna, w której zachodzi wymiana gazowa, jest związana z bezpośrednim oddziaływaniem tlenu. W przypadku wystąpienia upośledzenia mechanizmów zabezpieczających jest ona w szczególny sposób narażona na działanie rodników tlenowych.

Istnieje teoria tłumacząca w ten sposób patogenezę zaburzeń oddychania u noworodków (IRDS). Zespół ten może być spowodowany niedoborem surfaktantu i dysmutazy nadtlenkowej w tkance płucnej. Stan ten może prowadzić do wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia RT, a w konsekwencji do uszkodzenia pneumocytów II rzędu [7, 36, 41].

W patologii chorób płuc ogromne znaczenie ma dym tytoniowy: bezpośrednio dostarczający wraz z innymi szkodliwymi substancjami wolne rodniki. U palaczy istnieje mechanizm sprzężenia zwrotnego: z jednej strony sam proces palenia dostarcza RT, z drugiej zaś strony aktywują one makrofagi płucne do wzmożonego metabolizmu, co w konsekwencji doprowadza do nadprodukcji endogennych rodników, pogłębiając proces destrukcji tkanki płucnej. Sugeruje się ich udział w powstawaniu rozedmy płuc [16, 39, 41].

Wolne rodniki mogą indukować powstanie pylicy krzemowej [17, 30]. Z obserwacji bowiem wynika, że kurz zawierający duże ilości krzemu wywołuje efekt oksydacyjny w płucach i peroksydację lipidów tkanki płucnej.

Badania wykazały, że granulocyty krwi obwodowej i makrofagi płuc u ludzi cierpiących na astmę oskrzelową wykazują wzmożoną produkcję aktywnych metabolitów nadtlenków lipidów. Jak wykazały badania M o r e l y i wsp., wraz z PAF-em, histaminą, serotoniną stymulują burzę oddechową granulocytów i makroflagów, co może być jedną z przyczyn ułatwiających powstawanie procesów alergicznych w płucach [7, 13, 39].

#### USZKODZENIA TKANEK WYNIKAJĄCE Z NIEDOTLENIENIA

W stanach niedotlenienia w wyniku fosforylacji oksydatywnej adenozyzna katabolizowana jest do hipoksantyny [9]. Ponowne przywrócenie prawidłowego stężenia tlenu związanego z powrotem krążenia doprowadza do nadprodukcji RT (zależnych od oksydazy ksantynowej) i rozprzestrzeniania się ich wraz z krążącą krwią. Te zaś powodują wzrost przepuszczalności naczyń. Zjawiska te mogą mieć miejsce w uszkodzeniu niedokrwiennym serca, płuc, mózgu, jelit, kłębuszków nerkowych [1, 5, 8, 24, 41, 43].

Podczas zawału mięśnia sercowego obserwuje się znaczny wzrost RT w mięśniu sercowym pacjenta i systematyczny ich spadek w czasie zdrowienia [5, 26, 39, 41]. Stanowi temu towarzyszy spadek aktywności SOD. Fakt ten zapoczątkował próby leczenia pacjentów z zawałem preparatami SOD otrzymanymi z ludzkich granulocytów [26].

#### MIAŻDŻYCA

Niektórzy autorzy traktują endogenne rodniki lipidowe jako nieswoiste i pierwotne czynniki w powstaniu miażdżycy. Wolne rodniki mogą uszkadzać ścianę naczyń krwionośnych, ułatwiając tym samym odkładanie się cholesterolu w miejscach tychże uszkodzeń [39]. Przyjmuje się równocześnie, że frakcje

lipoproteidów małej gęstości (LDL) i w nieco mniejszym stopniu lipoproteidy o bardzo małej gęstości (VLDL) są nośnikami nadtlenków lipidowych. Wszelkie zaburzenia (nieprawidłowa dieta, uwarunkowania genetyczne, długotrwały stres, niedobór nienasyconych kwasów tłuszczowych: linolowego, linolenowego, niedoczynność tarczycy, dym tytoniowy) doprowadzające do przewagi którejś z frakcji usposabiają do powstania miażdżycy [30]. Jednym z produktów peroksydacji lipidów jest lipofuscyna. Jej obecność w śródbłonce tętnic może być uznana jako pośredni dowód reakcji tlenu cząsteczkowego z kwasami tłuszczowymi [41]. Nadtlenki hamują syntezę prostacykliny zwiększając tym samym działanie tromboksanu A<sub>2</sub>, co w konsekwencji doprowadza do zwiększonej agregacji płytek krwi, wzmożenia wydzielania leukotrienów, obniża fibrynolizę i angiogenezę sprzyjając tym samym czynnikom miażdżycorodnym [39].

#### CHOROBY PRZEWODU POKARMOWEGO

W cukrzycy typu I (insulinozależnej) stwierdzono obniżenie aktywności SOD, peroksydazy glutationu, co prowadzi do akumulacji nadtlenku wodoru uszkadzającego dodatkowo komórki beta trzustki [1, 8, 39].

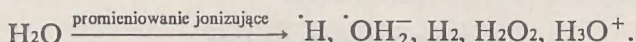
#### CHOROBA CROHNA

Negatywną rolę RT przypisuje się również i w tej chorobie. Zarówno w granulocytach krwi obwodowej, jak i w enterocytach ludzi cierpiących na tę chorobę, obserwuje się wzmożoną produkcję RT podczas „spoczynkowej” aktywności tych komórek. Stąd też, być może nadwrażliwość śluzówki jelita na dodatkowe uszkodzenia [9, 39, 41]. Lecznicze efekty sulfasalazyny związane są z usuwaniem RT, zależą prawdopodobnie od inaktywacji utleniaczy, produkowanych przez enterocyty i makrofagi.

W doświadczalnym zapaleniu trzustki wywołanym ceruleiną stwierdzono we wczesnych godzinach choroby obniżenie SOD w tkance trzustkowej, z jednoczesnym wzrostem aldehydu malonowego — wykładnika peroksydacji lipidów.

#### USZKODZENIA POPROMIENNE JELIT

Nabłonek jelitowy jest bardzo wrażliwy na uszkodzenia spowodowane działaniem promieni RTG. Uważa się, że cytotoksyczne efekty spowodowane są przede wszystkim wolnymi rodnikami powstającymi z radiolizy wody:



#### ZACMA

Wykazano doświadczalnie, że RT mogą prowadzić do zaćmy, szczególnie u ludzi starych, w wyniku nasilenia utleniania kwasów tłuszczowych i obniżenia

aktywności enzymów ochronnych soczewki. Doprowadza to do zmiany jej właściwości fizykochemicznych (zmniejszenie jej przejrzystości) [41].

### ERYTROCYTY

Błony komórkowe krwinek czerwonych charakteryzują się wysoką zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych, które ulegają ciągłemu nadtlenowaniu, w wyniku stałego narażenia ich na wysokie stężenie tlenu cząsteczkowego. Utlenianie bowiem oksyhemoglobiny do methemoglobiny wiąże z uwalnianiem anionu ponadtlekowego. Stwierdzono, że hemoliza będąca skutkiem peroksydacji lipidów zachodziła tylko wtedy, gdy aldehyd dwumalonowy przekraczał tzw. stężenie krytyczne [12, 20, 41].

Antyoksydacyjny system erytrocytów (SOD, GSH-PX, katalaza, wit. E) chroni tę komórkę przed działaniem aktywnych metabolitów tlenu i nadtlenków lipidów. U noworodków, a szczególnie u wcześniaków, gdzie stężenie witaminy E jest bardzo niskie, obserwuje się dużą podatność erytrocytów na hemolizę indukowaną nadtlenkiem wodoru [20, 30, 53].

Niektóre z wrodzonych defektów enzymatycznych erytrocytów (np. w zaburzeniach przemiany glutationu) nadwrażliwość na nadtlenki ujawnia się po zażyciu leków o właściwościach oksydacyjnych (aspiryna) [13, 19, 21, 35].

### LEUKOCYTY

Większość patologii wolnych rodników związana jest z ich nadprodukcją. Istnieją jednak sytuacje, gdy choroba objawia się podczas ich niedoboru. Ma to na przykład miejsce w przewlekłej chorobie ziarniniakowej związanej z niedoborem oksydazy NADPH i tym samym brakiem czynników bakteriobójczych (nadtlenku wodoru, rodnika ponadtlenkowego). Osoby dotknięte tą chorobą cierpią na nawracające infekcje spowodowane drobnoustrojami katalazododatnimi. W skórze, płucach, wątrobie tworzą się ziarniniaki [13, 14, 18, 36]. Fagocytoza w tej chorobie przebiega prawidłowo lub jest nieznacznie obniżona, brak jest natomiast „wybuchu tlenowego”, a tym samym upośledzenie zabijania wewnątrzkomórkowego patogenów [11, 12, 18, 36, 39].

Inny przykład z patologii granulocytów związanych z niedoborem aktywnych metabolitów tlenu to deficyt mieloperoksydazy leukocytów. Choroba może przebiegać bezobjawowo lub ujawniać się w przebiegu ciężkich zapaleń płuc, posocznicy (łączy się często z przewlekłą kandydią), gdy zawiodą inne mechanizmy produkcji rodników tlenowych [13, 23, 36].

U osób z prawidłową funkcją i aktywnością granulocytów może w niesprzyjających okolicznościach (długotrwały stres, niektóre leki, skażenie środowiska) dojść do stanu „wyczerpania” leukocytów i produkcji niewystarczającej ilości RT. Stan ten predysponować może do uporczywych nawracających infekcji

[4, 10, 22, 42, 46]. Wiadomo, że na aktywność granulocytów wpływać może ogromna liczba związków chemicznych, które na drodze zaburzeń fagocytozy, adherencji, chemotaksji, zablokowania lub pobudzenia enzymów modyfikują produkcję wolnych rodników [4, 6, 21, 22, 24, 34, 37, 47].

Jak wynika z przedstawionych danych, wolne rodniki biorą aktywny udział w istotnych dla życia procesach homeostazy. Wydaje się, iż istnieje bardzo precyzyjnie kontrolowany „margines bezpieczeństwa”, którego przekroczenie z jakichkolwiek wymienionych przyczyn pociąga za sobą następstwa chorobowe, często niebezpieczne dla życia.

#### LITERATURA

1. Baranao RI. — *Some characteristic of neutrophils from diabetic patients and their relation to the levels of circulating immune complexes.* Acta-Diabetol-Let. 1988, 25: 11, 13—23.
2. Bender JG. — *Altered function of synovial fluid granulocytes in patients with acute inflammatory arthritis.* Inflammation 1986, 10:4 443—453.
3. Bilzer M., Lauterburg BH. — *Glutathione Metabolism in Activated Human Neutrophils.* European J. of Clin. Invest. 1991, 21: 3, 316—322, 4. Belsheim.
4. Gnarpeh J. — *Tetracyclines and host defense mechanisms: interference with leucocyte chemotaxis.* Scand. J. Infect. Dis. 1979, 11: 141—145.
5. Blaustein AS., Schine L. Brooks WW. — *Influence of exogenously generated oxidant species on myocardial function.* Am. J. Physiol. 1986, 4:250, 6.
6. Bowen T., Ochs H. — *Severe recurrent bacterial infections associated with defective adherence and chemotaxis in two patients with deficient in a cell-associated glycoprotein.* J. Pediatr. 1987, 101: 932—940, 7.
7. Calhoun WJ., Stevens C. — *Modulation of superoxide production of alveolar macrophages and peripheral blood mononuclear cells by beta-agonists and theophylline.* J. of Labor. Clin. Med. 1991, 117: 6, 514—522.
8. Collier A., Wilson R., Bradley H. — *Free radical activity in type 2 diabetes.* Diabetic Med. 1990, 7:1 27—30.
9. Dąbrowski A., Gabrylewicz A. — *Rodniki tlenowe w chorobach przewodu pokarmowego.* Medycyna 2000. 1990, 6: 4—7.
10. Derentowicz P., Lewandowicz-Uszyńska A. — *Wpływ wibramycyny na wybrane parametry immunologiczne u królików.* (Praca nieopubl.).
11. Derentowicz P., Wójcik J. — *Mechanizmy zabijania zależne od tlenu występujące w komórkach fagocytujących — wybrane aspekty.* (Praca nieopubl.).
12. Dyke Van Knox, Castranova V. — *Measurement of phagocytosis and cell-mediated cytotoxicity by chemiluminescence.* Methods in enzymology 1988, 132: 498—507.
13. Dyk Van Knox, Castranova V. — *Cellular chemiluminescence.* 1987, Vol. 1, 2,3.
14. Elsbach P., Wiess J. — *A reevaluation of the roles of the O2-dependent and O2-independent microbicidal systems of phagocytes.* Reviews of infectious diseases. 1985, 5: 843—853.
15. Gasyna Z. — *Struktura i funkcja katalazy.* Post. Biochem. 1975, 21: 175—191.
16. Graczyk A. — *Biologiczne utleniacze. Biologiczne przeciwutleniacze.* Mag. Med 1991/7, S. 33—38.
17. Hedenborg M. — *Quartz-dust-induced production of reaktive oxygen metabolites by human granulocytes.* Lung 1989, 167: 1 23—32.
18. Hoger PH — *Chronic granulomatous disease: uptake and intracellular activity of fosfomicin in granulocytes.* Pediatr. Res. 1985, 19: 1, 38—44.

19. Imadaya A., Terasawa K., Tosa U. — *Erythrocyte antioxidant enzymes are reduced in patients with rheumatoid arthritis*. J. Reumatol. 1988, 15(1): 1628—31.
20. Kalinicheva, Aladysheva — *Role of Vitamin E, superoxide dismutase and catalase in the development of early anemia in premature infants*. Pediatrics 1985, 11: 63—72.
21. Kapp A. — *Modulation of oxidative metabolism of granulocytes by nonsteroidal anti-inflammatory agents*. Immun. Infest. 1987, 15: 1, 26—30.
22. Koller M. — *Heat shock induces alterations of the lipoxygenase pathway in human polymorphonuclear granulocytes*. Prostaglandins-Leukot.-Essent-Fatty-Acids, 1989, 38: 2, 99—106
23. Kusenbach G. — *Myeloperoxidase deficiency as a cause of recurrent infections*. Klin. Pediatr. 1985, 197: 5, 443—445.
24. Kuźniar J., Sajewicz W., Kopeć W. — *Chemiluminescence of Neutrophils in Patients with Glomerulonephritis Treated with Methylprednisolone*. Internat. Urology and Nephrology 1991, 2315: 527—534.
25. Liczmański A.E. — *Toksyczność tlenu. Mechanizmy ochronne*. Post. Biochem. 1988/34: 293—310.
26. Lipecka K. — *Lecznicze zastosowanie dysmutazy ponadtlenkowej jako czynnika przeciwzapalnego*. Pol. Tyg. Lek. 1989, 14: 339—340.
27. Male D. — *Immunology*. An Illustrated Outline, 1986.
28. Malec-Olecka J. — *Toksyczność tlenu*. Problemy 1988, 503, 21.
29. Meske S. — *Maly FE (Liberation of the oxygen radical from peripheral human phagocytes in patients with chronic polyarthritis*. Z. Rheumatol. 1985, 44: 1, 41—45.
30. Nowak D., Piasecka G. — *Erythrocytes protect alfa-1-proteinase inhibitor from oxidative inactivation induced by chemical the myeloperoxidase H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> halide system and stimulated polymorphonuclear leukocytes*. Exp. Pathol. 1991, 42: 1, 47—58.
31. Pasquier C., Laoussadi S., Serfati G. — *Superoxidedismutases ankylosing spondylitis or rheumatoid arthritis*. Clin. Exp. Rheumat. 1985, 3: 123—126.
32. Pronail L., Ichikawa Y., Nakanawa H. — *Enhanced Superoxide Generation and the decreased superoxide scavenging activity of peripheral blood*. Clin. Exp. Rheumat. 1991, 9: 227—233.
33. Richarre M. J., Arnaud J., Jurkovitz C. — *Trace elements and lipid peroxidation abnormalitis in patients with chronic renal failure*. Nephron 1991, 57: 10—15.
34. Robertson ID., Maughan RJ., Duthie GG. — *Increased blood antioxidant systems of runners in response to training load*. Clin. Science 1991, 80: 611—618.
35. Shaikin-Kestenbaum R., Caruso C. — *Hereditary high phosphatidcholine hemolytic anemia*. Clin. Invest. Med. 1990, 13: 313—321.
36. Świńska-Gołębiowska H. — *Immunopatologia wieku rozwojowego*. PZWL, Warszawa 1980.
37. Szmidt M., Garliński P. — *Wpływ aspiryny na chemiluminescencję leukocytów stymulowanych FMLP u chorych na astmę z nadwrażliwością na aspirynę*. Pneum. i Alergol. Pol. 1991, 59: 3—4.
38. Tchórzewski H. — *Niektóre współczesne poglądy na immunoregulacyjne funkcje granulocytów*. Immunol. Pol. 1990 XV, 1—2: 147—156.
39. Tchórzewski H. (red.) — *Wykłady z patofizjologii*. WAM, Łódź 1990.
40. Tchórzewski H. — *Rola granulocytów w odpowiedzi immunologicznej typu komórkowego*. Immunol. Pol. 1978. 3: 75—89.
41. Waniec J., Wysocki M. — *Rola wolnych rodników w patologii człowieka*. Pol. Tyg. Lek. 1990 XLV 195—196.
42. Wójcik J., Derentowicz P., Garliński D. — *Wpływ hydrokortyzonu, metyloprednizonu i dexametazonu na chemiluminescencję granulocytów obojętnochłonnych krwi obwodowej*. Pneum. Pol. 1987: 154—158, 41.

43. Y a h a v a O., H a s h i m o t o K. — *Serum Manganese-Superoxide Dismutase in Patients with neuromuscular disorders as judged by an Elisa*. Research Commun. [w:] Chemical Pathol. Pharmacol. 1991, 72: 2. 315—326.
44. Z e m a n K. — *Metody izolacji i oceny funkcji granulocytów obojętnochłonnych*. Immunol. Pol. 1990, 15: 157—170.
45. Z h a n g Y o n e i S. — *Induction of Manganese-superoxide dismutase by membrane binding drugs in Escherichia-Coli*. Journ. Bacteriol. 1991, 11: 3488—3491.
46. Z g l i c z y ń s k i J. M., O l s z e w s k a E., O l s z e w s k i S. — *A possible origin of chemiluminescence in phagocytosing neutrophils. Reaction between chloramines and H2O2*. Int. J. Biochem. 1985, 17: 515—519.
47. Z g l i c z y ń s k i J. M., K r a s n o w s k a E., S t e l m a s z y ń s k a T. — *Functional states of neutrophils as by whole blood chemiluminescence*. Acta Bioch. Pol. 1988, 35: 331—342.



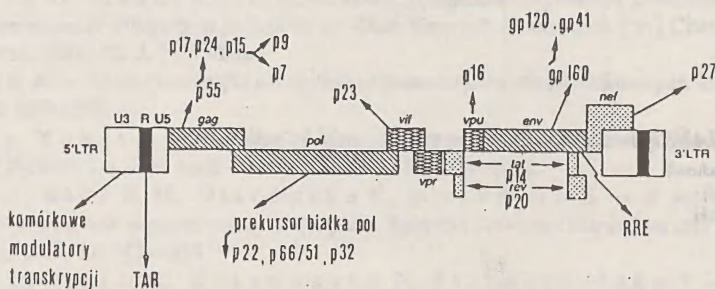
**ZOFIA KILIAŃSKA**Katedra Cytobiochemii  
Instytut Biochemii  
Uniwersytet Łódzki  
Łódź

## GENY WIRUSA HIV CHARAKTERYSTYKA I ROLA PRODUKTÓW ICH EKSPRESJI

Wirus HIV (ang. Human Immunodeficiency Virus), etiologiczny czynnik nabytego zespołu niedoboru immunologicznego (ang. Acquired Immunodeficiency Syndrome; skrót AIDS) należy do rodziny retrowirusów. Wirusy te charakteryzuje obecność enzymu — odwrotnej transkryptazy, dzięki której ich materiał genetyczny w postaci RNA zostaje przepisany na komplementarną doń „minus” DNA. Ten ostatni tworzy przejściowy kompleks RNA–DNA trawiony przez RNazę H, a następnie po dobudowaniu nici „plus” jako forma dwuniciowego DNA (prowirus) zwykle zostaje włączony w genom komórki gospodarza. W przypadku HIV mogą to być m.in. limfocyty wspomagające T, monocyty, niektóre komórki mózgu. W większości komórek prowirusowy DNA ulega podwojeniu w czasie ich podziału, zachowując w swoim genomie geny intruza. Sekwencje prowirusowego DNA stanowią zatem liniową replikę materiału genetycznego wirusa. W formie prowirusa HIV może pozostać bez przejawów aktywności replikacyjnej przez długi okres (nawet kilka lat). Wstawienie „własnego” zestawu genów HIV w genom gospodarza wywołuje stan stałej infekcji (ang. permanent infection). Aktywacja zainfekowanych komórek (m.in. antygeny, mitogeny, współinfekcja wirusowa) wyzwala kaskadę zdarzeń doprowadzających do masowej replikacji potomnych cząstek wirusowych.

Ostatnio zwraca się uwagę na występowanie w zakażonych wirusem HIV komórkach T4 i monocytach niezintegrowanych, pozachromosomalnych form prowirusowego DNA, których rola w patogenezie infekcji HIV pozostaje wciąż niewyjaśniona. Być może ich występowanie warunkuje czasookres latencji HIV [1]. Prowirusowy DNA ulega transkrypcji z udziałem komórkowej DNA — zależnej polimerazy RNA II. Utworzony na tej matrycy RNA stanowi materiał genetyczny potomnych cząstek wirusowych oraz jest wykorzystywany jako mRNA w biosyntezie białek wirusowych.

Genom różnych szczepów wirusa HIV osiąga długość około 10 000 par zasad. Zsekwencjonowany jako jeden z pierwszych genom klonu BH10, wydzielony z komórek H9, liczy 9749 par zasad [2]. W porównaniu z komórką ludzką potencjał genetyczny HIV jest mniejszy około 100 000 razy. Rysunek 1



Rys. 1. Schemat genomu wirusa HIV oraz produkty ekspresji poszczególnych genów (wg Greene [3] zmodyfikowany)

przedstawia schemat ułożenia genów wirusa HIV oraz produkty ich ekspresji [3], zaś w tabeli 1 zestawiono aktualnie i poprzednio stosowane oznakowania genów tego wirusa (2–8) oraz funkcje białek — produktów ich ekspresji.

Przez gen obecnie rozumie się taką sekwencję nukleotydową DNA (lub RNA), która zostanie przepisana na sekwencję zasad w informacyjnym RNA (mRNA) wyznaczającą kolejność aminokwasów w kodowanym łańcuchu białkowym albo w RNA typu rRNA, tRNA itd. Gen, jednostka funkcji, reprezentuje transkrybowany odcinek DNA wraz z sekwencją bezpośrednio regulującą inicjację transkrypcji — promotorem oraz sekwencjami otaczającymi 5' i 3' koniec genu (regulującymi jego ekspresję).

Tabela 1

Geny wirusa HIV i funkcja kodowanych przez nie białek

Poprzednio stosowany symbol	Aktualny symbol	Funkcja kodowanych białek
<i>gag</i>	bez zmian	Struktura rdzenia
<i>pol</i>	—”	Białka enzymatyczne
<i>env</i>	—”	Struktura otoczki
<i>tat III, TA</i>	<i>tat</i>	Transaktywator genów HIV
<i>art, trs</i>	<i>rev</i>	Regulator ekspresji
<i>3' orf, B, E', F</i>	<i>nef</i>	Inhibitor ekspresji cząstek wirusowych
<i>sov, A, P', Q</i>	<i>vif</i>	Czynnik infekcyjności
	<i>vpu</i>	Warunkuje efektywność uwalniania cząstek HIV
<i>R</i>	<i>vpr</i>	Słaby aktywator transkrypcji

W wyniku licznych badań ujawniono szereg nieoczekiwanych właściwości genów, m.in. fakt istnienia genów zachodzących, ich przemieszczanie się, występowania w obrębie innych genów itd. Większość genów organizmów eukariotycznych, wielu wirusów, a także pewnych bakterii (np. *Sulfolobus sulfataricus*) wykazuje strukturę nieciągłą — mozaikową. Są zbudowane z sekwencji „informacyjnych” — kodujących (eksony), poprzedzielanych sekwencjami „nieinformacyjnymi” — niekodującymi (introny). Transkrypcja (przepisa-

nie) genu prowadzi do powstania pierwotnego transkryptu, który w następstwie skomplikowanego procesu usuwania intronów i łączenia odpowiednich eksonów (tzw. składanie, ang. *slicing*) dostarcza dojrzałych transkryptów.

Jak dotąd wiadomo, że w genomie wirusa HIV znajduje się 9 genów, których ekspresja prowadzi do biosyntezy trzech białek strukturalnych, typowych dla wszystkich retrowirusów, tj. białek rdzenia, enzymów i otoczki kodowanych odpowiednio przez geny *gag*, *pol* i *env* oraz 6 białek związanych z regulacją cyklu życiowego HIV. Są to geny: *tat* (ang. *transactivator of transcription*), *rev* (ang. *regulator of virion protein expression*), *nef* (ang. *negative regulatory factor*), *vif* (ang. *viral infection factor*) oraz *vpr* i *vpu* — geny o mało poznanej funkcji. Graniczne sekwencje 5' i 3' genomu HIV stanowią tzw. długie powtarzające się sekwencje końcowe LTR (ang. *Long Terminal Repeats*; por. rys. 1), zbudowane z trzech segmentów, tj. U3, R i U5 o długości odpowiednio 455, 97 i 85 par zasad [1].

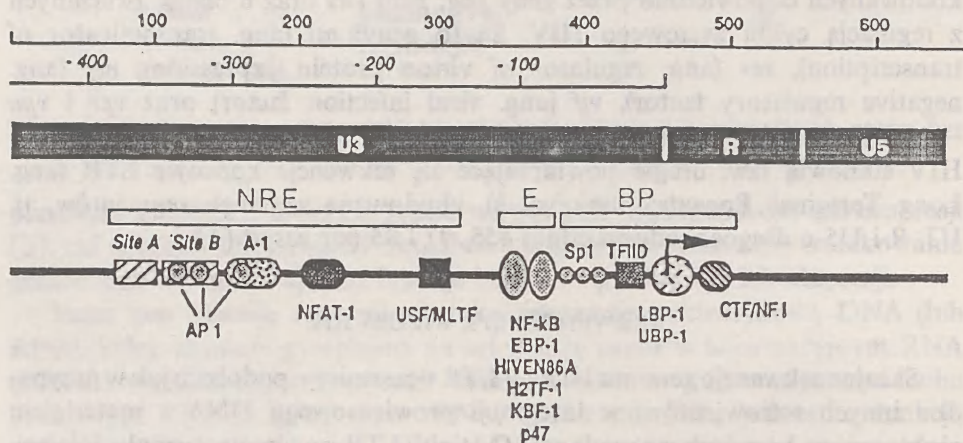
#### SEKWENCJE LTR WIRUSA HIV

Skrajne sekwencje genomu HIV — LTR uczestniczą, podobnie jak w przypadku innych retrowirusów, w integracji prowirusowego DNA z materiałem genetycznym komórek gospodarza. Odcinki LTR zawierają sygnały inicjacji i poliadenylacji transkryptów wirusowego RNA oraz sekwencje regulatorowe, które modulują aktywność transkrypcyjną prowirusa [3]. Rozpoczyna je sekwencja TG, zaś kończy układ sekwencji odwróconej CA [9]. Koniec segmentu U3 poprzedza miejsce inicjacji transkrypcji wirusowego mRNA, tj. pierwszy (+1) nukleotyd segmentu R. Segment U5 rozpoczyna się sekwencją CCA ulegającą poliadenylacji, którą wcześniej poprzedza sygnał poliadenylacji, w 3' końcowej części R (por. [6, 9]). Z segmentem U5 5'LTR sąsiaduje 18-nukleotydowy odcinek sekwencji komplementarnej do tRNA Lys, który odgrywa rolę startera w biosyntezie nici „minus” DNA. Z kolei w 3' LTR wirusa HIV, w którym nie występuje odcinek wiązania startera, z segmentem U3 graniczy 16-nukleotydowy fragment reprezentujący szlak polipurynowy istotny dla inicjacji biosyntezy nici „plus” DNA [10].

W obrębie sekwencji LTR wirusa HIV określono kilka funkcjonalnych domen dzięki doświadczeniom włączającym badania aktywności genu reporterowego — acetylotransferazy chloramfenikolowej (CAT), do której przyłączano określone odcinki LTR.

Rysunek 2 przedstawia schemat budowy sekwencji 5'LTR wirusa HIV opracowany ostatnio przez G i a c c a i wsp. [11]. Stanowi on próbę usystematyzowania aktualnych danych o funkcjonalnych domenach sekwencji LTR wirusa HIV oraz możliwości wiązania się z nimi czynników białkowych, modulujących ekspresję genów. W odcinku 5'LTR wirusa HIV znajdują się przynajmniej trzy *cis*-aktywne elementy regulujące, skupione głównie w obrębie odcinków U3 i R. Obejmują one trzy domeny, tj.:

pierwszą — związaną z miejscem inicjacji transkrypcji wraz z odcinkiem bezpośrednio go poprzedzającym, opisywaną jako podstawowy promotor (BP, ang. Basal Promoter),  
 drugą — reprezentującą sekwencje wzmacniające (E, ang. Enhancer) oraz  
 trzecią — stanowiącą region sekwencji związanych z negatywną regulacją ekspresji (NRE, ang. Negative Regulatory Element).



Rys. 2. Organizacja sekwencji 5'LTR wirusa HIV oraz przykłady znanych białek komórek ludzkich wchodzących z nimi w interakcje. Symbole objaśniono w tekście. Liczby oznaczają kolejność nukleotydów w odcinku LTR, startując od „+1” (strzałka) — miejsca przyłączenia DNA polimerazy, Umownie przyjęto oznaczenie sekwencji nukleotydowych na lewo od startu jako „-”, a na prawo „+”. Górna skala przedstawia numerację licząc od pierwszego nukleotydu 5' LTR, zaś dolna — od miejsca startu transkrypcji (wg G i a c c a i wsp. [11])

Dotychczas poznano kilkanaście komórkowych oraz kilka wirusowych białek, które mogą wiązać się z LTR wirusa HIV. Białka komórkowe mające zdolność specyficznej interakcji z określonymi sekwencjami DNA, aktywujące bądź hamujące proces transkrypcji przyjęto nazywać czynnikami białkowymi transkrypcji. Czynniki te powszechnie występują w wielu typach komórek (niektóre tylko w komórkach limfoidalnych), a sekwencje przez nie rozpoznawane odnajduje się zarówno w genach komórkowych, jak i wirusowych [1, 11].

W rejonie promotorowym — BP (rys. 2) znajdują się trzy miejsca wiązania dla jednego z najwcześniej wykrytych białek aktywujących transkrypcję, tj. białka SP1 [12], oraz czynnika TFIID wiążącego się z układem sekwencji TATAA (ang. TATA box; 13). Z tym odcinkiem LTR wirusa HIV mogą związać się dwa inne czynniki białkowe — CTF/NF1, rozpoznający sekwencje GGCCAATCT (tzw. CAAT box; 14), oraz białko odpowiadające za latencję HIV — LBP-1 (ang. Latency Binding Protein) rozpoznające sekwencje TCTGG. Białko LBP1 wykazuje wysokie powinowactwo do sekwencji 5' LTR na pograniczu segmentów R/U5, zlokalizowanych między -16. i +27. nukleotydem (miejsce I),

oraz mniejsze — do odcinka między -16. i -38. nukleotydem (miejsce II). Według odkrywców tego białka [15], mającego naturę inhibitora transkrypcji, może ono zapobiegać wiązaniu się innego modulatora transkrypcji — TFIID z sekwencją „TATA box”.

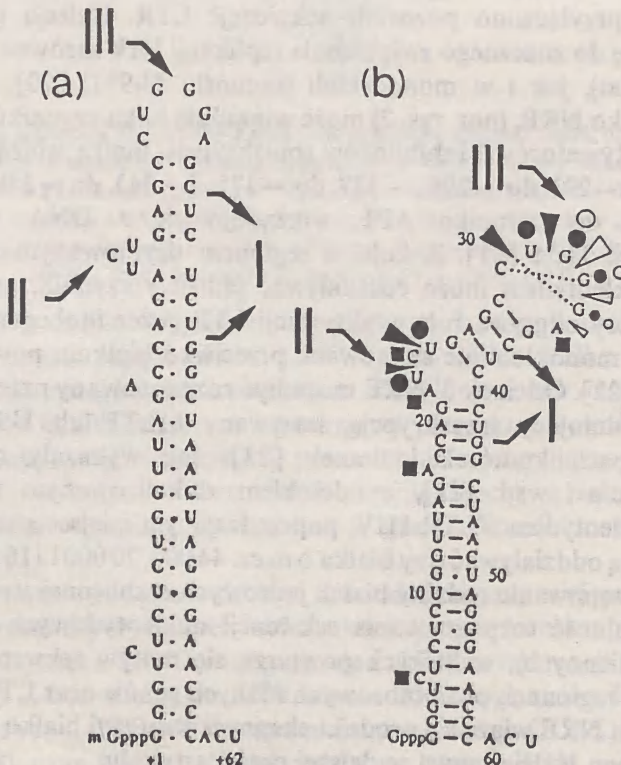
Domenę tzw. sekwencji wzmacniających — E (rys. 2) wirusa HIV stanowią dwa proste powtórzenia sekwencji GGGACTTTCC, usytuowane między -81. a -104. nukleotydem [16], które wpływają na podwyższenie poziomu transkrypcji. Z tym odcinkiem sekwencji może wchodzić w interakcję szereg czynników białkowych, które udało się oczyścić i scharakteryzować [11]. Najlepiej dotychczas poznany czynnik aktywujący transkrypcję — białko NF Kappa B, rozpoznający sekwencje wzmacniające, należy do fosfoprotein — rodziny białek NF Kappa B o m.cz. 50 000–65 000. Został opisany jako czynnik aktywujący transkrypcję w limfocytach B [17], a następnie w komórkach linii T pobudzonych czynnikami aktywującymi proliferację [18].

Pionierskie doświadczenia grupy H a s e l t i n e [19, 20] wykazały, że delecja regionu obejmującego nukleotydy między pozycją -167. a -423. odcinka 5' LTR wirusa HIV powoduje wzrost ekspresji bakteryjnego genu *CAT*, do którego przyłączono pozostałe sekwencje LTR. Delecja tych sekwencji przyczynia się do znacznego zwiększenia replikacji HIV zarówno w komórkach linii T (Jurkat), jak i w monocytach (komórki U-937) [20]. Z tą domeną opisywaną jako NRE, (por. rys. 2) może wiązać się kilka czynników białkowych o naturze aktywatorów i inhibitorów transkrypcji. Białka wiążące się z odcinkami między -291. do -299., -337. do -371., i -343. do -349. nukleotydem są podobne do czynnika AP1, wiążącego się z DNA, występującego w komórkach Hela [21]. Z kolei z regionem usytuowanym między -216. a -254. nukleotydem może oddziaływać jądrowy czynnik, opisywany jako NFAT-1, który odgrywa rolę w aktywacji LTR przez fitohemaglutyninę oraz przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko białkom powierzchniowym komórek T [22]. Odcinek 3' NRE może być rozpoznawany przez inny czynnik jądrowy modulujący transkrypcję, nazywany MLTF/lub USF, a wykryty w wielu typach komórek i tkanek [23]. Jak wykazały ostatnie badania G i a c c a i wsp. [11], z odcinkiem zlokalizowanym między -152. a -174. nukleotydem 5'LTR HIV, poprzedzającym miejsce startu polimerazy RNA II, mogą oddziaływać trzy białka o m.cz. 44 000, 70 000 i 110 000. Autorzy ci sugerują występowanie rodziny białek jądrowych o zbliżonej strukturze, wykazujących zdolność rozpoznawania sekwencji nukleotydowych (w niewielkim stopniu odmiennych), w których powtarza się motyw sekwencji CACGTG, spotykany w regionach promotorowych różnych genów oraz LTR wirusa HIV.

Z domeną NRE wiąże się produkt ekspresji genu *nef*, białko o m. cz. 27 000 (p27), o którym będzie mowa w dalszej części artykułu.

W odcinku LTR wirusa HIV znajduje się stosunkowo wcześniej poznana domena regulatorowa — TAR (ang. trans-activation region), z którą oddziałuje białko p14 — produkt ekspresji genu *tat*, nieodzowne w procesie transaktywacji

[19, 24]. Właściwości i rola tego białka zostanie przedstawione później. Odcinek TAR jest usytuowany między -17. a +81. nukleotydem LTR [19]. Dla procesu aktywacji wymagane jest przynajmniej 25-30 nukleotydów tego fragmentu LTR [25]. Segment TAR w wyniku obróbki produktów transkrypcji HIV zostaje wcielony w sekwencje liderowe (niekodujące) wirusowych mRNA, tworząc stabilną strukturę przypominającą „spinkę do włosów” (ang. hairpin), zawierającą 60 nukleotydów, z miejscem „cap” u podstawy pętli [26-31]. Wyróżnia się w niej trzy elementy, tj. pień, wybrzuszenie i pętlę (ang. stem, bulge, loop). Dla wiązania i aktywności białka transaktywującego istotna jest integralność strukturalna TAR (rys. 3). Poznano sekwencję nukleotydową odcinka stanowiącego „wybrzuszenie” (UCU), istotną w wiązaniu białka p14, a także sześcioknukleotydowej pętli (CUGGGA) — ważnej dla interakcji z białkami komórkowymi [27-29]. Oba te fragmenty TAR są nieodzowne w transaktywacji [30]. Mutacja bądź modyfikacje w obrębie „wybrzuszenia” TAR wskazały na kluczową rolę nukleotydu urydylowego w pozycji 23. w wiązaniu białka transaktywującego [28].

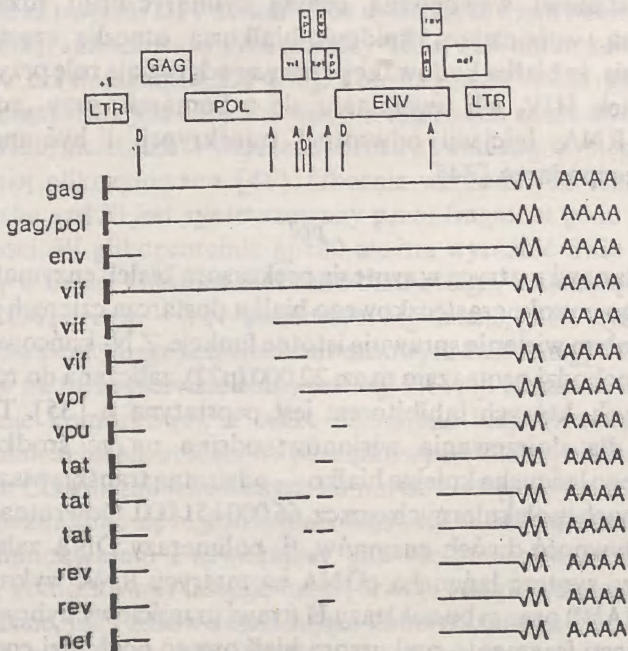


Rys. 3. Strukturalna organizacja domeny regulatorowej TAR, (a) — wg Wu i wsp. [29] i (b) — wg Colvina i Garcia-Blanco [31], I — pień (ang. stem), II — wybrzuszenie (ang. bulge), III — pętla (ang. loop)

Ostatnio, Colvini i Garcia-Blanco [31], na podstawie obszernych badań wykorzystujących modyfikacje chemiczne i trawienie nukleazami (RNaza T i RNaza A) domeny TAR i jej mutantów, przedstawili dane sugerujące, że „wybrzuszenia” ważne w wiązaniu białka transaktywującego zawiera 4 nukleotydy, tj. AUCU.

Na podkreślenie zasługuje wykrycie białka komórek HeLa o m.c. 185 000, opisywanego symbolem TRP-185, które wiąże się specyficznie z rodzimą strukturą TAR wirusa HIV. Ta interakcja jest regulowana zarówno przez wirusowe białko p14, jak i komórkowe czynniki białkowe modulujące ekspresję HIV [29].

Ekspresja genów HIV, pozostająca pod kontrolą czynników wiążących się z sekwencjami LTR, obejmuje złożone etapy dojrzewania pierwotnych transkryptów, a następnie wykorzystanie ich w biosyntezie białek wirusowych. Należy podkreślić, że tylko geny *gag* i *pol* wykorzystują jako matrycę mRNA nie podlegający składaniu i odpowiadający RNA potomnych cząstek wirusowych (rys. 4). Białka otoczki pochodzą z translacji mRNA, po jednoetapowym składaniu, które objęło „wycięcie” sekwencji kodujących *gag* i *pol*. Natomiast inne białka wirusa HIV wykorzystują matryce mRNA, które podlegają wielokrotnemu składaniu. W zakażonych wirusem HIV komórkach może pojawić się kilkanaście różnych wirusowych mRNA, wynikających z możliwości odmiennego składania pierwotnego transkryptu (por. rys. 4; [5, 32]).



Rys. 4. Typy mRNA wirusa HIV. Symbole A i D oznaczają akceptorowe i donorowe miejsca składania (wg K i e n y [5])

Produkty ekspresji genów *gag* i *pol* tworzą rdzeń dojrzałego wirionu HIV. Z kolei białka kodowane przez *env* budują jego zewnętrzny płaszcz. Natomiast białka syntetyzowane na matrycach genów regulatorowych występują głównie w cytoplazmie zaatakowanych komórek i wpływają na aktywność genów strukturalnych i regulatorowych (z autoregulacją włącznie).

## GENY STRUKTURALNE WIRUSA HIV

### CHARACTERYSTYKA I ROLA PRODUKTÓW ICH EKSPRESJI

#### *gag*

Ekspresja genu *gag* dostarcza prekursora białek rdzenia, którym jest polipeptyd o masie cząsteczkowej (m.cz.) 55 000 (p55), bogato ufosforylowany i mirystylowany na reszcie N-końcowej glicyny. Ostatnio wykazano, że mirystylacja N-końcowego aminokwasu białka p55 jest nieodzowna dla ostatecznego formowania cząstek HIV [33]. Proteaza wirusowa nacina łańcuch polipeptydu p55, co prowadzi do powstania trzech dojrzałych białek rdzenia, tj. p17, p24, p15 [3]. Specyficzna proteoliza białka p55 w zaatakowanych przez HIV komórkach zachodzi w czasie tzw. „pączkowania” cząstek wirusowych z błon tych komórek. Silnie zasadowe białko p15 ulega dalszemu cięciu prowadzącemu do utworzenia peptydów p7 i p9, oddziałujących z RNA genomu wirusa. Silnie immunogenne białko p24 stanowi wewnętrzną osłonę cylindrycznego rdzenia, zaś p17 — zewnętrzną, wyścielającą lipidowo-białkową otoczkę cząstki wirusowej. Przypuszcza się, że białka kodowane przez *gag* odgrywają rolę przy powstawaniu nowych cząstek HIV, ich uwalnianiu się z komórek, przy „rozpłaszczaniu” wirusowego RNA, inicjacji odwrotnej transkrypcji i być może interakcji z genomem gospodarza [34].

#### *pol*

Gen *pol* stanowi matrycę w syntezie prekursora białek enzymatycznych HIV. Proteoliza tego wysokocząsteczkowego białka dostarcza czterech polipeptydów, które w dojrzałym wirionie sprawują istotne funkcje. Z N-końcowego fragmentu prekursora pochodzi proteaza o m.cz. 22 000 (p22), zaliczana do rodziny proteaz asparaginowych, których inhibitorem jest pepstatyna A [35]. Ten enzym jest nieodzowny dla dojrzewania wirionów; odcina on ze środkowej domeny prekursorowego łańcucha kolejne białko — odwrotną transkryptazę, występującą w dwóch formach molekularnych o m.cz. 66 000 i 51 000. Odwrotna transkryptaza wykazuje aktywność dwóch enzymów, tj. polimerazy DNA zależnej od RNA (przeprowadza syntezę łańcucha cDNA na matrycy RNA wykorzystując jako „starter” tRNA<sup>Lys</sup>) oraz rybonukleazy H (trawi przejściowy hybryd RNA-DNA). Z C-końcowego fragmentu prekursora białkowego pochodzi enzym o cechach integrazy/endonukleazy o m.cz. 32.000 (p32). Ten ważny enzym odpowiada za integrację prowirusowego DNA z genomem komórek gospodarza [5, 36].



*env*

Z analiz genetycznych wynika, że *env*, należący do najbardziej zmiennych sekwencji genomu HIV, ma zdolność kodowania prekursorowego białka o długości 873 aminokwasów [37]. Białko to zawiera silnie hydrofobową sekwencję przy końcu łańcucha, która jest odcinana w sposób typowy dla białek sekrecyjnych z jednoczesną glikozylacją jego cząsteczki. Glikoproteina o m.c. 160 000 (gp 160) wyposażona jest w C-końcowym fragmencie cząsteczki w hydrofobowy odcinek, stanowiący miejsce jej zaczepienia w błonie atakowanej komórki. Rozszczepienie białka gp160 otoczki wirusa za pomocą komórkowej proteazy prowadzi do powstania dwóch białek: zewnątrzotoczkowego polipeptydu gp120 i białka transmembranowego opisywanego jako gp41. Charakterystykę białek otoczki HIV przedstawiono uprzednio (por. [6, 8]). Białka te cechuje wysoka zawartość cysteiny (18 reszt w gp120 i 1–5 reszt w gp41), aminokwasu istotnego dla utrzymania ich właściwej struktury. Ostatnio określono położenie 9 mostków S–S w białku gp120, które tworzą się między resztami cysteiny: 61–81, 126–212, 133–203, 138–164, 225–254, 235–246, 303–338, 385–452 i 392–425 [38]. Zewnątrzotoczkowa glikoproteina gp120 wiąże się łatwiej z antygenem powierzchniowym CD4 komórek docelowych niż prekursor białka otoczkowego — gp160. Antygen CD4 (glikoproteina o m.c. 55 000) jest głównym, aczkolwiek prawdopodobnie nie jedynym receptorem wirusa HIV [3, 39]. Białko gp120 odpowiedzialne za tropizm HIV do komórek nosiciela zawiera odcinek konserwatywnych sekwencji aminokwasowych (między 420. a 463. aminokwasem), istotny dla interakcji z cząsteczkami CD4 [40]. Ten fragment białka gp120, tkwiący w zagłębieniu cząsteczki, jest ukryty w osłonie cząsteczek cukrowych. Natomiast część białka gp120, nieistotna w wiązaniu wirusa z komórką, występuje w postaci pętli i jest mniej glikozylowana [41]. Obecnie wiadomo, że ten „wypętłony” odcinek łańcucha gp120 jest syntetyzowany przez fragment genu *env* o bardzo dużej zmienności. W glikoproteinie gp120 można wyróżnić dwie funkcjonalne domeny: jedną w części C końca łańcucha białkowego, a służącą do interakcji z antygenem CD4 i drugą — w N-końcowym segmencie, gdzie występuje region wiązania (niekowalencyjnego) z transmembranowym białkiem gp41 [3,5]. Istnieje wiele dowodów na to, że pierwsze etapy infekcji HIV, tj. wiązanie, zakotwiczenie wirusa w błonie komórkowej, a także późniejsza fuzja (zlewanie) komórek przebiega z udziałem białek otoczki. W początkowym stadium białko gp120 wiąże się z receptorem CD4 niezainfekowanych komórek. Następnie jeden koniec białka gp41 (w którym znajduje się region odpowiedzialny za fuzję usytuowany między 518. a 527. aminokwasem i zawierający głównie aminokwasy hydrofobowe) przebija błonę komórkową i inicjuje fuzję [5, 41]. Ten proces zwykle obejmuje zarówno zakażone, jak i zdrowe sąsiadujące komórki, prowadząc do powstania wielojądrowych, krótko żyjących syncytiów. W ten sposób dochodzi do masowego zaniku limfocytów T4. *In vitro* wykazano, że pojedynczy zaatakowany wirusem limfocyt T4 może uśmiercić w wyniku fuzji około 500 zdrowych komórek T4.

Gen *env* reprezentuje sekwencje genomu HIV, które podlegają zmianom w najrozleglejszym (do 25%) stopniu (m.in. mutacje punktowe, delecje, insercje, duplikacje krótkich fragmentów). Z badań grupy M o n t a g n i e r a pochodzą dane świadczące o tym, że zamiana nawet jednego aminokwasu, np. izoleucyny (w pozycji 425.) na leucynę lub tryptofanu (w pozycji 432.) na fenyloalaninę lub tyrozynę prowadzi do istotnych zmian właściwości laboratoryjnego szczepu HIV w postaci utraty jego zdolności wiązania się z antygenem CD4 [42].

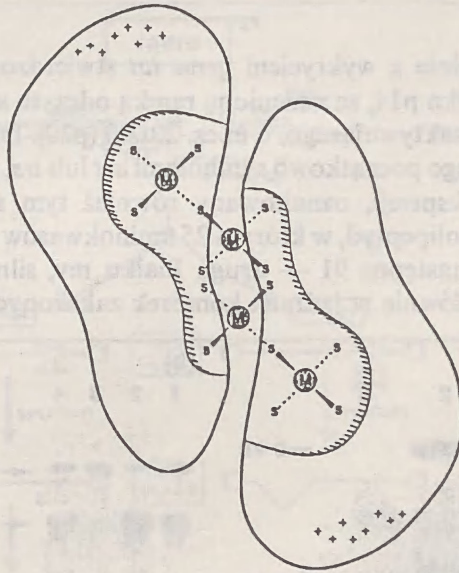
GENY REGULATOROWE WIRUSA HIV:  
CHARAKTERYSTYKA I ROLA PRODUKTÓW ICH EKSPRESJI

Z dotychczasowych badań wynika, że prawdopodobnie wszystkie tzw. niestrukturalne geny wirusa HIV (por. rys. 1; tab. 1) są zaangażowane w regulację jego replikacji. W określeniu aktywności i funkcji genów HIV wykorzystuje się m.in. transfekcje komórek różnych linii (np. komórki Jurkat *tat* III, Raji, komórki cos-1 nerki mały) plazmidami, które zawierają sekwencje prowirusowego HIV, bądź jego mutanty delecyjne [43, 44].

W połowie lat osiemdziesiątych wykryto w genomie HIV dwa geny, opisywane w tym okresie jako *tat* III [45] i *art* [46, 47] (obecnie — *tat* i *rev*), związane z procesem transaktywacji transkrypcji. Produkty ich ekspresji mogą regulować aktywność transkrypcyjną genów wirusa, odmiennych od tych, które je kodują.

*tat*

*Tat* jest przykładem genu podzielonego, który tworzą trzy eksony. Pierwszy — niekodujący (250 par zasad) jest usytuowany w 5'LTR i pełni rolę sekwencji liderowej w mRNA. Drugi — istotny dla transaktywacji (242 pary zasad), umieszczony między genami *vpr* i *vpu* koduje 72-aminokwasowy, bogaty w cysteinę polipeptyd. Natomiast trzeci (1243 pary zasad) — zlokalizowany w 3' odcinku genu *env*, ale w innej ramce odczytu, produkuje krótki 14-aminokwasowy łańcuch [2, 45]. Produkt ekspresji genu *tat* — 86-aminokwasowe białko, bogate w aminokwasy zasadowe i prolinę wędruje w żelu poliakryloamidowym w postaci pasma odpowiadającego m.cz. 14 000 (p14). W białku tym można wyróżnić trzy domeny: 1) w N końcu — bogatą w prolinę, 2) centralną — z wysoką zawartością cysteiny (wśród 16 reszt aminokwasowych 7 stanowi cysteina) oraz 3) w C końcu — zasadową, w której na 9 aminokwasów przypada aż 6 reszt argininowych i 2 lizynowe [3, 45, 48, 49]. Ta ostatnia domena jest miejscem oddziaływania białka p14 z RNA i odpowiada za jego lokalizację w jądrze komórkowym [50]. Na podstawie analizy widmowej w UV stwierdzono, że białko, kodowane przez gen *tat* w formie monomeru, wiąże dwa jony  $Zn^{+2}$  lub  $Cd^{+2}$ . Badania elektroforetyczne kompleksów białko p14 — jony metali wskazują, że polipeptyd ten tworzy dimery połączone przez jony  $Zn^{+2}$  lub  $Cd^{+2}$  [49]. Rysunek 5 przedstawia prawdopodobny sposób ich oddziaływania.

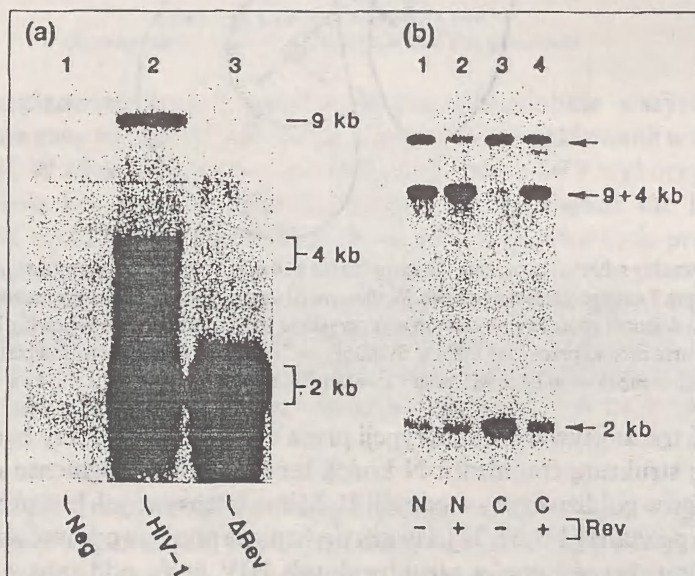


Rys. 5. Przepuszczalny schemat tworzenia dimerów białka p14 połączonych przez jony metali. Każdy monomer p14 zawiera 7 cząsteczek cysteinowych. W dimerze p14 połączonym przez jony metalu (M) tworzy się układ o czterościennej geometrii, w którym wykorzystane jest 14 reszt cysteinowych (S). Dwie z czterech reszt tworzą mostki przez jony metalu. Symbole „+” określają zasadowy region białka, reprezentujący równocześnie możliwe miejsca wiązania z kwasami nukleinowymi (wg Frankel i wsp., [49])

Zdolność transaktywacji transkrypcji przez białko p14 niektórzy badacze [51, 52] wiążą ze strukturą fragmentu N końca łańcucha oraz fragmentu cząsteczki umieszczonego w pobliżu lizyny w pozycji 41. Mimo intensywnych badań rola białka p14 jest słabo poznana [1, 3, 31, 32]. Uważa się, że może ono powodować wzrost ilości produktów transkrypcji genów strukturalnych HIV przez oddziaływanie z sekwencją TAR (por. poprzedni rozdział). Sekwencja ta, obecna w niekodującym fragmencie mRNA, rozpoznawanym przez inicjujący rybosom, hamuje translację przyległych sekwencji, czemu z kolei zapobiega interakcja z białkiem p14. Jedną z możliwości zakłada, że udział białka p14 w podnoszeniu poziomu transkrypcji może polegać na uwalnianiu niedojrzałych miejsc terminacji z odcinka położonego w pobliżu końca struktury pnia sekwencji TAR (por. rys. 3) i podnosić wydajność procesu elongacji transkrypcji [53, 54]. Pojawiły się doniesienia wskazujące, że omawiane białka wpływają zarówno na inicjację, jak i elongację transkrypcji [3, 53]. Należy podkreślić wyniki doświadczeń podkreślających zależność działania białka kodowanego przez gen *tat* od komórkowych czynników aktywujących transkrypcję (np. białka SP1, NF-Kappa B), rozpoznających określone sekwencje w obszarze 5'LTR [16, 55, 56]. Mutacja w pobliżu dwóch kodujących eksonów [46] bądź delecja genu *tat* [57] dramatycznie zmniejsza zdolność (ok. 1000-krotnie) wirusa do ekspresji białek strukturalnych i jego replikacji. Stymulacja genów strukturalnych i regulatorowych przez aktywne białka p14 przyczynia się do intensywnego namnażania nowych cząstek wirusowych [53].

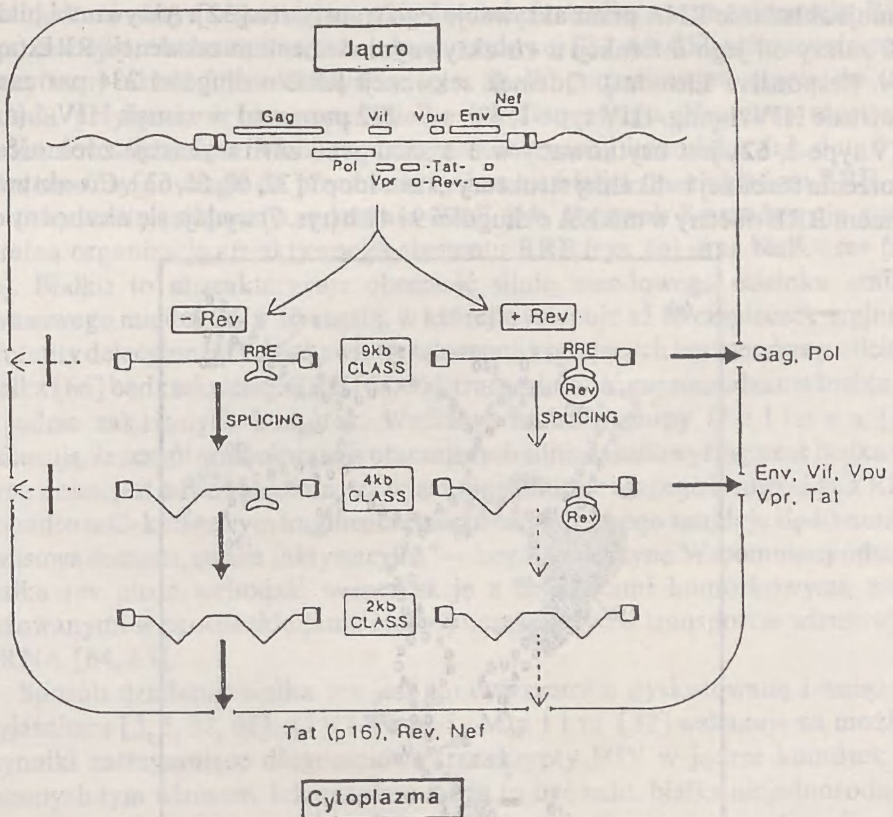
## rev

Niemal równocześnie z wykryciem genu *tat* stwierdzono [46, 47, 58], że mRNA, kodujący białko p14, ze zmienioną ramką odczytu stanowi matrycę dla kolejnego białka transaktywującego, o m.c. 20 000 (p20). Dla genu kodującego białko p20, opisywanego początkowo symbolami *art* lub *trs*, przyjęto symbol *rev* [4]. Jego produkt ekspresji, oznakowany również tym symbolem, stanowi 116-aminokwasowy polipeptyd, w którym 25 aminokwasów od N końca koduje pierwszy ekson, zaś następne 91 — drugi. Białko *rev*, silnie zasadowa fosfo-proteina, występuje głównie w jądrach komórek zakażonych HIV [46, 59].



Rys. 6. Analiza Northern wirusowych mRNA w cytoplazmie cos-1 transfekowanych plazmidami zawierającymi prowirusy HIV, pozbawione genu *rev* (Rev; ścieżka 3) bądź prowirusy szczepu dzikiego (HIV-1, ścieżka 2) (a). Analiza transkryptów (z nukleazą S1) wirusa HIV w jądrze komórkowym (N) i cytoplazmie (C) komórek cos-1 transfekowanych w obecności (+) lub braku (—) *rev* (wg Feinberga i wsp. [47]) (b)

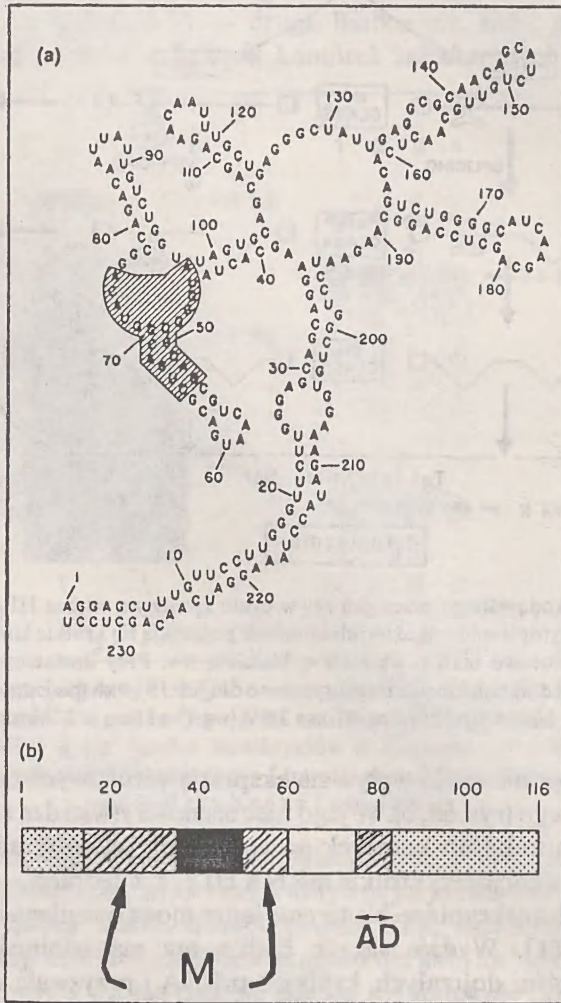
Od pionierskich eksperymentów opublikowanych w 1986 roku przez grupę G a l l o [47] wiadomo, że przy braku aktywnego białka *rev* praktycznie nie obserwuje się ekspresji białek strukturalnych HIV, natomiast dochodzi do wzmoczonej ekspresji krótkich mRNA o długości ok. 2kb, na których syntetyzują się białka regulatorowe wirusa (rys. 6). Białko *rev* indukuje cytoplazmatyczną ekspresję tzw. długich transkryptów (ok. 9kb) odpowiadających długością genomowemu RNA i mRNA dla białek kodowanych przez *gag* i *pol* oraz mRNA po jednokrotnym cięciu i składaniu (ok. 4kb), którego ekspresja może dostarczyć białek otoczki. Proces składania 4kb mRNA, zaliczanego również do tzw. długich transkryptów, usuwa sekwencje kodujące *env*, *vif*, *vpr*, *vpu*, generując mRNA o długości 2kb, który koduje białka: p14, *rev* i *nef* (rys. 7). Natomiast



Rys. 7. Rola białka kodowanego przez gen *rev* w cyklu życiowym wirusa HIV. Początkowo, przy braku białka *rev*, w cytoplazmie zakażonych komórek pojawiają się krótkie łańcuchy mRNA (2 kb), które kodują regulatorowe białka, włącznie z białkiem *rev*. Przy dostatecznej ilości białka *rev* dochodzi do ekspresji długoniciowych transkryptów o długości 9 i 4 kb (po jednorazowym składaniu) kodujących białka strukturalne wirusa HIV (wg Cullen i Malima [32])

białko *rev* okazuje niewielki wpływ na ekspresję wirusowych mRNA w obrębie jądra komórkowego (rys. 6a, b). W jego nieobecności stwierdza się w cytoplazmie zakażonych komórek (lub komórek po transfekcji plazmidami pozbawionymi w prowirusie sekwencji *rev*) krótkie mRNA HIV, a w jądrach — nagromadzenie długoniciowych transkryptów. Na terenie jądra mogą one ulegać degradacji bądź składaniu [60, 61]. Wydaje się, że białko *rev* ma zdolność specyficznego rozróżniania w pełni dojrzałych, krótkich mRNA i przyzwala na ich „eksport” poza jądro komórkowe. Indukcja ekspresji genów strukturalnych HIV przez białko p20 prawdopodobnie jest związana z ułatwianiem transportu jądro-cytoplazmatycznego długoniciowych transkryptów [60, 61], których retencja w jądrze może wynikać z ich interakcji z czynnikami komórkowymi [32]. Z przeprowadzonych dotąd badań nie wynika czy białko *rev* aktywuje transport wirusowych mRNA przez hamowanie procesu składania ich prekursorów, czy

hamuje składanie RNA przez aktywację jego transportu [32]. Aktywność białka p20 zależy od jego interakcji z *cis*-aktywnym elementem sekwencji RRE (ang. Rev. Responsive Element). Odcinek sekwencji RRE o długości 234 par zasad w wirusie HIV-1 (ang. HIV type-1, 63), a — 272 par zasad w wirusie HIV-2 (ang. HIV type-2, 62), jest usytuowany w 3' końcu genu *env* i wykazuje zdolność do tworzenia stabilnej helikalnej struktury „stem loop” [32, 60, 61, 63]. *Cis*-aktywny element RRE obecny w mRNA o długości 9 i 4 kb (rys. 7) wydaje się niezbędny dla



Rys. 8. Strukturalna organizacja *cis*-aktywnego elementu RRE i białka rev, (a) Sekwencja nukleotydowa RRE wraz z pierwotnym miejscem wiązania białka rev (region zakreślony), (b) W łańcuchu białka rev zaznaczono czarnym prostokątem domenę argininobogatą, odpowiedzialną za wiązanie z RRE oraz jego lokalizację w jądrze komórkowym. Klamrą wraz ze strzałkami zaznaczono fragment łańcucha odpowiedzialny za multimeryzację (M), AD — domena aktywacyjna białka rev (wg Cullen a i Malima [32])

biologicznej aktywności białka p20. Interakcja białka rev z sekwencją RRE, o poznanej strukturze pierwszo- i drugorzędowej [32, 64, 65], odbywa się przez specyficzny układ jej nukleotydów (rys. 8). W początkowym etapie do tego układu przyłącza się monomer białka regulatorowego. Następne cząsteczki białka rev wiążą się z RRE, tworząc multimeryczny kompleks. Jak dotąd nie wiadomo czy powstaje on przed związaniem się białka rev z układem RRE, czy po utworzeniu połączenia monomer-RRE (64). Rysunek 8 przedstawia strukturalną organizację *cis*-aktywnego elementu RRE (rys. 8a) oraz białka rev (rys. 8b). Białko to charakteryzuje obecność silnie zasadowego odcinka aminokwasowego między 35. a 50. resztą, w której występuje aż 10 cząsteczek argininy. Mutanty delecyjne HIV pozbawione sekwencji kodujących ten zasadowy odcinek białka [66] bądź sekwencji RRE [64, 65], tracą zdolność nagromadzania białka rev w jądrze zakażonych komórek. Wnikliwe badania grupy Cullena [65] wskazują, że zespół aminokwasów otaczających silnie zasadowy fragment białka rev, wraz z nim, jest odpowiedzialny za wiązanie multimerycznego kompleksu z RRE. Ponadto w C-końcowym fragmencie łańcucha białkowego znajduje się 10-aminokwasowa domena, zwana „aktywacyjną” — bogata w leucynę. Wspomniany odcinek białka rev może wchodzić w interakcję z czynnikami komórkowymi, zaangażowanymi w proces składania i (albo) uczestniczyć w transporcie wirusowych mRNA [64, 65].

Sposób działania białka rev jest sprawą szeroko dyskutowaną i wciąż nie wyjaśnioną [3, 5, 32, 66]. Cullen i Malim [32] wskazują na możliwe czynniki zatrzymujące długoniciowe transkrypty HIV w jądrze komórek zakażonych tym wirusem. Ich zdaniem mogą to być m.in. białka niejednorodnego jądrowego rybonukleoproteidu C (hnRNP; ang. heterogenous nuclear ribonucleoprotein), odpowiedzialne za jądrową retencję niedojrzałych transkryptów. Inna możliwość — to komórkowe czynniki, bezpośrednio zaangażowane w proces składania prekursorów mRNA, które w organizmach eukariotycznych tworzą kompleks z premRNA (ang. commitment complex). Prekursorowy mRNA w takim kompleksie pozostaje aż do zakończenia procesu składania. W tym miejscu należy podkreślić opublikowane ostatnio wyniki doświadczeń Liu i wsp. [66] wskazujące, że U1 niskocząsteczkowy jądrowy RNA (U1snRNA, ang. U1 small nuclear RNA), składnik kompleksu przeprowadzającego proces składania premRNA u drożdży, wchodzi *in vivo* w interakcję z mRNA kodującym białka otoczkowe HIV, których ekspresja jest sterowana przez białko rev. Autorzy nie wykluczają, że U1snRNA odgrywa przejściową rolę w kompleksie z mRNA białek otoczkowe. Wydaje się jednakże, że właśnie w tym kompleksie transkrypt kodujący białka otoczkowe jest rozpoznawany przez białko p20.

Kolejna hipoteza wyjaśniająca mechanizm działania białka rev zakłada, że jego interakcja z sekwencją RRE może hamować tworzenie kompleksu z czynnikami komórkowymi przeprowadzającymi składanie prekursorów mRNA albo doprowadzać do jego rozpadu przed zakończeniem procesu składania [32]. Uwolnione z tego kompleksu wirusowe mRNA, które nie uległy składaniu, są

transportowane do cytoplazmy. Oczywiście nie można wykluczyć, że po związaniu białka rev z elementem RRE dochodzi do kierowania transkryptów wirusowych poza jądro komórkowe, co prowadzi do odłączenia czynników komórkowych zaangażowanych w proces składania.

### *nef*

Ten gen zlokalizowany jest w 3' krańcu genomu HIV tak, że około połowa jego sekwencji zachodzi na odcinek 3'LTR [67]. Inicjatorowy kodon metioniny znajduje się za kodonem terminacyjnym genu dla białek otoczkowych. Z badań sekwencyjnych genomu HIV wynika, że mRNA (ok. 2 kb) tworzy się w wyniku składania genowego i zawiera trzy eksony [68]. Ekspresja *nef* prowadzi do biosyntezy białka o m.c. 27 000 (p27), które występuje przede wszystkim w cytoplazmie zakażonych komórek w połączeniu z kwasami tłuszczowymi. Cechą charakterystyczną p27 jest mirystylacja N-końcowego aminokwasu, zapewne istotna dla jego interakcji z błoną komórkową [5, 69]. Ponadto N-końcowa część łańcucha p27 jest silnie ufosforylowana przez komórkową kinazę C [69]. Wciąż pozostaje sprawą otwartą funkcja białka kodowanego przez gen *nef* [3]. Jedną z możliwości zakłada, że odpowiada ono za hamowanie wzrostu wirusa i pozostawienie go w formie „uśpionej” [5]. Początkowo podkreślano zdolności hamowania replikacji wirusa HIV przez białko p27 (stąd jego symbol *nef*; ang. negative factor), wskazując na jego interakcję z sekwencją regulatorową NRE w obrębie odcinka 5' LTR genomu wirusa HIV [70, 71].

Niektórzy badacze zwracają uwagę na niewielki efekt negatywnej kontroli przez gen *nef*, a część z nich neguje inhibitorową rolę białka kodowanego przez ten gen w procesie replikacji HIV [72, 73]. Analiza sekwencji genu *nef* różnych izolatów wirusa HIV dostarcza danych o ich pewnej różnorodności. Okazuje się, że część wirusów posiada kodon „stop” wewnątrz sekwencji kodujących białko p27, konsekwencją czego jest różna długość tego polipeptydu, być może warunkująca odmienną patogenność szczepów wirusowych [5].

### *vif*

W centralnej części genomu HIV znajduje się najbardziej konserwatywny gen — *vif* o długości 609 nukleotydów. Fragment 5' tego genu zachodzi na 3' koniec genu *pol*, natomiast jego 3' koniec zachodzi na gen *vpr* (por. rys. 1). Gen *vif* koduje silnie zasadowe białko o m.c. 23 000, z dużą zawartością tryptofanu [74, 75], występujące przede wszystkim w cytoplazmie zakażonych komórek. Funkcja tego białka jest mało poznana. Uważa się, że reguluje stopień infekcyjności wirusa i bierze udział we wczesnych etapach replikacji HIV [3, 76].

### *vpu i vpr*

Jak dotąd, w najmniejszym stopniu poznano rolę tych sąsiadujących ze sobą genów, usytuowanych między genami struktury — *pol* i *env*. Uważa się, że kodowane przez nie białka są istotne dla infekcji komórek docelowych [70, 77, 78].



Gen *vpu* występuje wyłącznie w materiale genetycznym wirusów HIV-1. Spokrewnione z nimi wirusy HIV-2 oraz retrowirusy niektórych małp SIV (ang. Simian Immunodeficiency Virus) zawierają odpowiednik tego genu, ale o innej sekwencji — *vpx* [77]. Sugeruje się, że ta odrębność genów *vpu* i *vpx* stanowi jedną z podstawowych różnic między tymi wirusami, a ich obecność odpowiada za ostry (HIV-1) bądź powolny (HIV-2) przebieg zespołu AIDS.

Ostatnio udało się wstępnie określić właściwości białka kodowanego przez gen *vpu*. Jest nim silnie hydrofobowe białko o m.c. 16 000 (p16), występujące głównie w cytoplazmie zaatakowanych komórek. Przypuszcza się, że jest ono nieodzowne w procesie dojrzewania, efektywnego „pączkowania” i uwalniania cząstek wirusowych [76, 78, 79]. Infekcja komórek T4 w hodowli mutantem wirusa HIV, pozbawionym sekwencji *vpu*, prowadzi do ograniczenia replikacji wirusów: takie komórki produkują 5–10 razy mniej dojrzałych wirusów.

Rola genu *vpr* nie została dotychczas bliżej określona. Z sygnałnych doniesień wynika, że białko kodowane przez ten gen jest słabym aktywatorem transkrypcji [80]. Stymuluje ono sekwencje LTR wirusa HIV podobnie jak niektóre sekwencje promotorowe wirusów i komórek.

Wirus HIV, którego budowa molekularna i wiele właściwości zostało w znacznym stopniu poznanych w stosunkowo krótkim czasie, wykazuje największe podobieństwo do retrowirusów rodziny Lentivirinae (tzw. wirusy powolne). Różnica pomiędzy HIV a innymi (spoza rodziny Lentivirinae) retrowirusami tkwi w złożoności jego genomu i obecności wielu genów regulatorowych. Precyzyjne określenie mechanizmów działania tych genów stanowi zapewne klucz do pełnego zrozumienia molekularnych podstaw infekcji HIV i jego cytopatycznych efektów.

#### LITERATURA\*

1. Bednarik D. P., Folks T. M. — AIDS, 6: 3—16, 1992.
2. Ratner L., Haseltine W., Patarca R. i wsp. — Nature, 313: 277—284, 1985.
3. Greene W. C. — New Engl. J. Med. 324: 308—317, 1991.
4. Haseltine W. A., Wong - Staal F. — Scientific Am. 256: 52—62, 1988.
5. Kieny M. P. — J. Acq. Immun. Def. Synd. 3: 395—402, 1990.
6. Jung M., Zagórski W. — Post. Biochem. 33: 399—424, 1987.
7. Kiliańska Z. — Wszechświat, 89: 281—283, 1988.
8. Kiliańska Z. — Post. Biol. Kom. 15: 299—326, 1988.
9. Starcich B., Ratner L., Josephs S., Okamoto T., Gallo R. C., Wong - Staal F. — Science 227: 538—540, 1985.
10. Sanchez - Pescador, Power M. Barr P., Steiner K., Stempien M., Levy J., Dina D., Luciw P. — Science 227: 484—492, 1985.
11. Giacca M., Gutierrez M.J., Menzo S., D'adda Di Fagnana F., Falaschi A. — Virology 186: 133—147, 1992.
12. Briggs M. R., Kadonaga J. T., Bell S. P., Tjian R. — Science 234: 47—52, 1986.

\* W niektórych nielicznych pozycjach, z uwagi na kilkunastu współautorów, cytowano trzy pierwsze nazwiska.

13. Wu F, Garcia J, Mitsuyasu R, Gaynor R. — *J. Virol.* 62: 218—225, 1988.
14. Jones K. A., Luciw P. A., Duchange N. — *Genes Dev.* 2: 1101—1114, 1988.
15. Kato H, Horikoshi M, Roeder R. — *Science* 251: 1476—1479, 1991.
16. Nabel G, Baltimore D. — *Nature* 326: 711—713, 1987.
17. Sen R, Baltimore D. — *Cell* 46: 705—716, 1986.
18. Lenardo M. J, Baltimore D. — *Cell* 58: 227—229, 1989.
19. Rosen C. A., Sodroski J. G., Haseltine W. A. — *Cell* 41: 813—823, 1985.
20. Lu Y, Stenzel M, Sodroski J.G., Haseltine W. A. — *J. Virol.* 63: 4115—4119, 1989.
21. Franza B. R. J., Rauscher F. J. I., Josephs S. F., Curran T. — *Science* 239: 1150—1153, 1988.
22. Shaw J. P., Utz P. J., Durano D. B., Toole S. S., Emmer E. A., Crabtree D. R. — *Science* 241: 202—205, 1988.
23. Sawadogo M., van Dike M. W., Gregor P. D., Roeder R. G. — *J. Biol. Chem.* 263: 985—993, 1988.
24. Sodroski J, Rosen C. A., Haseltine W. A. — *Science* 225: 381—385, 1984.
25. Hauber J, Cullen B.R. — *J. Virol.* 62: 673—679, 1988.
26. Muesing M. A., Smith D. H., Capon D. J. — *Cell* 48: 691—701, 1987.
27. Marciniak R. A., Garcia - Blanco M. A., Sharp P. A. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 3624—3628, 1990.
28. Weeks K. M., Ampe C., Schulz S. C., Steitz T. A., Crothers D. M. — *Science* 249: 1281—1285, 1990.
29. Wu F, Garcia J, Sigman D., Gaynor R. — *Genes Dev.* 5: 2128—2140, 1991.
30. Dingwall C., Ernberg I., Gait M. J. *in* *isp.* — *EMBO J.* 9: 4145—4153, 1990.
31. Colvin R. A., Garcia - Blanco M. A., — *J. Virol.*, 66: 930—935, 1992.
32. Cullen B. R., Malim M. H. — *TIBS* 16: 346—350, 1991.
33. Gheysen D., Jacobs E., de Foresta F., Thiriart C., Francotte M., Thines D., De Wilde M. — *Cell* 59: 103—112, 1989.
34. Trono D., Feinberg M. B., Baltimore D. — *Cell* 59: 113—120, 1989.
35. Weber I. T., — *Proteins: Structure, Function, and Genetics* 7: 172—184, 1990.
36. Lighfoote M. M., Coligan J. E., Folks T. M., Fauci A. S., Martin M. A., Venkatsan S. — *J. Virol* 60: 771—775, 1986.
37. Starcich B. R., Hahn B. H., Shaw G. M. *in* *isp.* — *Cell* 45: 637—648, 1986.
38. Leonard C. K., Spellman M. W., Riddle L., Harris R. J., Thomas J. N., Gregory T. J. — *J. Biol. Chem.* 265: 10373—10382, 1990.
39. Dalgleish A. G., Beverley P. C., Clapham P. R., Crawford D. H., Greaves M. F., Weiss R. A. — *Nature* 312: 763—767, 1984.
40. Bolognesi D. P. — *Acq. Immun. Def. Synd.* 3: 390—394, 1990.
41. Matthews T. J., Bolognesi D. P. — *Scientific Am.* 256: 120—127, 1988.
42. Cordonnier A., Montagnier L., Emerman M. — *Nature* 320: 571—574, 1989.
43. Rosen C. A., Sodroski J. G., Campbell K., Haseltine W. A. — *J. Virol.* 57: 379—384, 1986.
44. Fischer A. G., Wong - Staal F., Gallo R. C., — *Nature* 320: 367—370, 1986.
45. Sodroski J., Patarca R., Rosen C., Dayton A. Terwilliger E., Haseltine W. — *Science* 229: 74—77, 1985.
46. Sodroski J., Goh W. C., Rosen C., Dayton A. Terwilliger E., Haseltine W. — *Nature* 321: 412—417, 1986.
47. Feinberg M. B., Jarret R. E., Aldovini A., Gallo R. C., Wong - Staal F. — *Cell* 46: 807—817, 1986.
48. Sadaie M. R., Benter T., Wong - Staal F. — *Science* 239: 910—913, 1988.
49. Frankel A. D., Bredt D. S., Pabo C. O. — *Science* 240: 70—73, 1988.

50. Hauber J, Perkins A, Heimer E. P., Cullen B. R. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 6364—6368, 1987.
51. Rappaport J, Lee S-J, Khalili K, Wong - Staal F. — New Biologist 1: 101—110, 1989.
52. Tiley L. S., Brown P. H., Cullen B. R., — Virology 178: 560—567, 1990.
53. Laspia M. F., Rice A. P., Mathews M. B. — Cell 59: 283—292, 1989.
54. Kao S-Y., Calman A. F., Luciw P. A., Peterlin B. M. — Nature 330: 489—493, 1987.
55. Jones K. A., Kadonaga J. T., Luciw P. A., Tijan R. — Science 232: 755—759, 1986.
56. Berkhout B., Gatignol A., Rabson A. B., Jeang K. T. — Cell 62: 757—767, 1990.
57. Fischer A. G., Feinberg M. B., Joseph S. F. wsp. — Nature 320: 367—371, 1986.
58. Arya S. K., Guo C., Josephs S. F., Wong - Staal F. — Science 229: 69—73, 1985.
59. Cullen B. R., Hauber J., Campbell K., Sodroski J. G., Haseltine W. A., Rosen C. A. — J. Virol. 62: 2498—2501, 1988.
60. Malim M. H., Hauber J., Lee S-Y., Maizel J. V., Cullen B. R. — Nature 338: 254—257, 1989.
61. Emerman M., Vazeux R., Peden K. — Cell 57: 1155—1165, 1989.
62. Lewis N., Williams J., Rekosh D., Hammar skjöld M. L. — J. Virol. 64: 1690—1697, 1990.
63. Zapp M. L., Green M. R. — Nature 342: 714—716, 1989.
64. Malim M. H., Cullen B. R. — Cell 65: 241—248, 1991.
65. Malim M. H., Tiley L. S., Mc Carn D. F., Rusche J. R., Hauber J., Cullen B. R. — Cell 60: 675—683, 1990.
66. Lu X., Heimer J., Rekosh D., Hammar skjöld M. L. — Proc. Natl. Acad. Sci., USA 87: 7598—7602, 1990.
67. Allan J. S., Coligan J. E., Lee T. H., Mc Lane M. F., Kanki P. J., Groopman J. E., Essex M. — Science 230: 810—813, 1985.
68. Franchini G., Robert - Guroff M., Wong - Staal F., Ghayel J., Kato I., Chang N. T. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 5282—5285, 1986.
69. Guy B., Kienny M. P., Riviere Y. i wsp. — Nature 330: 266—269, 1987.
70. Ahmad N., Venkatesan S. — Science 241: 1481—1485, 1988.
71. Terwilliger E., Sodroski J. G., Rosen C. A., Haseltine W. A. — J. Virol 60: 754—760, 1986.
72. Kim S. Y., Ikeuchi K., Byrn R., Groopman J., Baltimore D. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 9544—9548, 1989.
73. Kestler H. W., Ringler D. J., Mori K., Panicali D. L., Sehgal P. K., Daniel M. D., Desrosiers R. C. — Cell 65: 651—662, 1991.
74. Kan N. C., Franchini G., Wong - Staal F., Dubois G. C., Robey W. G., Lautenberg J. A., Papas T. S. — Science 231: 1553—1555, 1986.
75. Strebel K., Daugherty D., Clouse K., Cohen D., Folks T., Martin M. — Nature 328: 728—730, 1987.
76. Gallo R. — J. Acq. Immun. Def. Synd. 3: 380—389, 1990.
77. Essex M., Kanki P. J. — Scientific Am. 256: 64—71, 1988.
78. Strebel K., Klimkait I., Martin M. A. — Science 241: 1221—1223, 1988.
79. Terwilliger E. F., Cohen E. A., Lu X., Sodroski J. G., Haseltine W. A. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 5163—5167, 1989.
80. Cohen E. A., Dehni G., Sodroski J. G., Haseltine W. A. — J. Virol 64: 3097—3099, 1990.



**ELŻBIETA KUTA**

Zakład Cytologii  
i Embriologii Roślin  
Instytutu Botaniki  
Uniwersytet Jagielloński  
Kraków

**METODY BIOLOGII MOLEKULARNEJ W BIOSYSTEMATYCE ROŚLIN****WSTĘP**

Wiele się zmieniło od wprowadzenia w roku 1943 przez *Campa* i *Gilly'ego* [9] definicji biosystematyki. Terminem tym autorzy określali raczej wąską dziedzinę badań. Biosystematyka, czyli inaczej eksperymentalna taksonomia, w swoich początkach wykorzystywała badania kariologiczne, embriologiczne i eksperymentalne (różne typy krzyżowań międzyrodzajowych i międzygatunkowych) jako źródła dodatkowych informacji (obok morfologiczno-anatomicznych). Badania kariologiczne koncentrowały się wówczas głównie na ustalaniu liczby chromosomów, a co się z tym wiąże na określaniu poliploidów i aneuploidów. Z danych embriologicznych, szczególnie przydatne dla biosystematyki okazały się informacje dotyczące sposobu koniugacji chromosomów w mejozie oraz typów rozmnażania (głównie dotyczyło to apomiksji, czyli innego niż seksualny sposobu rozmnażania). W roku 1969 na Międzynarodowym Kongresie Botanicznym w Seattle, *Wagner* [80] podsumowując osiągnięcia biosystematyki stwierdził, iż te dodatkowe dane dotyczące poliploidów, mieszańców i innych sposobów rozmnażania to tylko tzw. „szum ewolucyjny” (evolutionary noise). Główne mechanizmy ewolucji działają na poziomie diploidalnym u organizmów rozmnażających się seksualnie.

Dzisiaj, z perspektywy ponad 20 lat, nikt nie ma wątpliwości, że współczesna taksonomia odbiega od utartego schematu dawnej klasycznej taksonomii, opierającej się głównie na cechach morfologiczno-anatomicznych, a staje się nauką korzystającą z informacji dostarczanych z różnych dziedzin biologii, począwszy od anatomii i morfologii, poprzez dane kariologiczne, embriologiczne czy wreszcie biochemiczne (tab. 1). O tym, jak zmieniły się metody badań, najlepiej świadczą referaty prezentowane na międzynarodowych sympozjach biosystematyki roślin odbywających się co trzy lata [34, 46, 79].

Najnowsze techniki badań stosowane w biosystematyce oparte są głównie na analizie DNA jądrowego (głównie rDNA) oraz DNA organelli komórkowych. Coraz większe zastosowanie w rozwiązywaniu skomplikowanych problemów natury taksonomicznej i ewolucyjnej znajduje analiza zmienności chloroplas-

Tabela 1

Cechy genomu brane pod uwagę w biosystematyce roślin (wg Granta (1987) [w:]  
Urbanska [79])

Cytogenetyczne	Molekularne
1. Liczba chromosomów a) gametyczna (n) b) genomowa (x) c) poliploidalna d) aneuploidalna 2. Kariotyp a) wewnątrzkomórkowe przestrzenne rozmieszczenie chromosomów b) zmienność kariotypu c) mutacje chromosomów d) B-chromosomy 3. Morfologia chromosomów a) heterochromatyna b) centromery c) przewężenia wtórne i satelity d) wzory prążkowe 4. Koniugacja chromosomów w mejozie a) frekwencja chiasm b) asynapsis-desynapsis	1. Ilość DNA (ustalona dla całego genomu, lub chromosomu) 2. Ilość unikatowych i powtarzających się sekwencji w genomie; sekwencje kodujące i niekodujące; zmienność rDNA 3. Hybrydyzacja DNA-DNA, DNA-RNA 4. Mapy restrykcyjne sekwencji DNA jądrowego i genomów organelli komórkowych

Tabela 2

Metody biologii molekularnej w biosystematyce roślin (wg Clegga i wsp. [11], zmienione)

Analiza genów/genomu	Stosowane metody
1. DNA chloroplastów (cpDNA) cpDNA geny- <i>rbcL</i>	Analiza restrykcyjna Analiza sekwencji
2. DNA mitochondriów (mtDNA)	Analiza restrykcyjna
3. rDNA- odcinki DNA kodujące rybosomalny RNA	Analiza restrykcyjna i analiza sekwencji
4. Powtarzające się sekwencje DNA a) Knob heterochromatyna b) geny CAB c) geny <i>rbcS</i>	Analiza sekwencji Analiza sekwencji Analiza sekwencji
5. Unikatowe sekwencje genów	Analiza restrykcyjna

towego DNA (cpDNA) oraz mitochondrialnego DNA (mtDNA). W ciągu ostatnich 10 lat nastąpił duży postęp w technikach badań, stwarzając możliwości porównywania nie tylko całych genomów, ale pojedynczych genów, czy nawet tylko pewnych odcinków genu (tab. 2). Zastosowanie metod biologii molekularnej pozwala na lepsze zrozumienie procesów mikroewolucyjnych, na ustalenie przyczyn zmienności roślin, wykrywanie zmienności ukrytej oraz powiązań filogenetycznych w obrębie różnych grup roślin i na różnych poziomach

taksonomicznych. Ponadto możliwość ekstrahowania i analizowania DNA pochodzącego z kopalnych szczątków roślinnych i zwierzęcych otwiera nowe perspektywy dla paleobotaniki i paleozoologii.

## METODY BADAŃ I ICH ZASTOSOWANIE

### A. METODA ELEKTROFOREZY ENZYMÓW (ANALIZA ZMIENNOŚCI ALLOENZYMÓW I IZOENZYMÓW)

Metody polegające na elektroforetycznym rozdziale enzymów znalazły zastosowanie głównie w badaniach populacyjnych na poziomie gatunku i podgatunku, czyli przy analizowaniu procesów mikroewolucyjnych związanych z różnymi systemami kojarzeń w populacjach, z migracjami oraz hybrydyzacją. Zastosowanie metod analizy enzymów pozwala na wykrycie lokalnego zróżnicowania w populacjach roślinnych oraz stwarza możliwości ustalenia jego przyczyny. Natomiast znaczenie omawianych metod jest wyraźnie mniejsze przy ustalaniu powiązań filogenetycznych na wyższych poziomach taksonomicznych. Spośród licznych prac przeglądowych dotyczących zastosowania i wykorzystania w biosystematyce roślin informacji dotyczących zmienności enzymów na podkreślenie zasługują następujące opracowania: Brown [6], Buth [8], Crawford [13], Ferguson [22], Gottlieb [28, 30, 31], Hillis [39], Hurka [42], Soltis i Soltis [70], Stoneburner i wsp. [73].

### B. ANALIZA DNA

Analiza DNA dostarcza najbardziej bezpośrednich informacji genetycznych, a tym samym stwarza możliwość ustalenia ścisłego pokrewieństwa genetycznego między taksonami. Do badań biosystematycznych wykorzystuje się zarówno DNA jądrowy, jak również pozajądrowy, głównie DNA chloroplastów (cpDNA) i mitochondriów (mtDNA). Różne typy komórkowego DNA analizuje się stosując najczęściej dwie podstawowe metody: 1) analizę restrykcyjną, będącą pośrednią metodą analizy DNA, oraz 2) bezpośrednią analizę DNA z zastosowaniem metod sekwencjonowania. Obydwie metody zmierzają do zbadania nie poznanych dotąd prawidłowych sekwencji w DNA roślinnym, jak również do wykrycia różnego typu mutacji.

Analiza restrykcyjna polega na uzyskaniu fragmentów nici DNA przez zastosowanie enzymów restrykcyjnych (każdy enzym „rozpoznaje” określoną sekwencję nukleotydów w łańcuchu DNA). Uzyskane w wyniku cięcia enzymami odcinki DNA poddaje się elektroforezie na żelu agarozowym, a następnie hybrydyzacji z radioaktywnymi sondami molekularnymi wg Southerna. Analiza prążków widocznych na autoradiogramie pozwala na dokonanie porównań pomiędzy osobnikami danego gatunku czy między różnymi gatunkami.

Analiza sekwencji nukleotydów w łańcuchach DNA dostarcza najbardziej precyzyjnych informacji dotyczących zmian zachodzących w DNA w toku

ewolucji. Najnowsze techniki badań pozwalają na sekwencjonowanie pojedynczych genów czy nawet fragmentów genu. Powszechnie dzisiaj stosowana metoda enzymatycznej amplifikacji (powielania) *in vitro* genów (PCR — Polymeryza Chain Reaction) pozwala na bardzo szybkie powielanie pojedynczych wybranych genów (stosując tę metodę omija się długi proces klonowania). W reakcji tej, z użyciem syntetycznych oligonukleotydowych primerów komplementarnych do sekwencji flankujących wybrany odcinek DNA oraz polimerazy DNA, następuje szybka synteza kilkuset tysięcy kopii danej sekwencji. Produkty reakcji mogą być następnie analizowane metodami elektroforezy w żelach, trawienia enzymami restrykcyjnymi lub bezpośredniego sekwencjonowania. Metoda ta znalazła szerokie zastosowanie w genetyce człowieka, a otwiera również nowe możliwości dla badań biosystematycznych [11]. Pozytywne rezultaty uzyskano stosując technikę PCR do amplifikacji fragmentów DNA pochodzącego z kopalnych szczątków roślin i zwierząt. Stosunkowo niedawno dokonano amplifikacji genów z tkanek zwierzęcych pochodzących sprzed 4—13 tysięcy lat [60]. Sukcesem zakończyły się również badania nad chloroplastowym DNA (amplifikacji poddano gen *rbcL* kodujący dużą podjednostkę karboksylazy rybulozo-1,5-dwufosforanowej) wyizolowanym z miocenńskich szczątków kopalnych liścia *Magnolia latahensis* [26]. Porównanie kopalnych szczątków *Magnolia* z materiałem pochodzącym z kilku obecnie żyjących spokrewnionych taksonów: *Magnolia macrophylla*, *Liriodendron tulipifera* i *Persea americanum* wykazało duże pokrewieństwo materiału kopalnego z pozostałymi przedstawicielami *Magnoliidae*.

## 1. DNA jądrowy

### a) satelitarny DNA.

Satelitarny DNA jest stałym elementem genomu roślin, zwierząt i człowieka. Odcinki satelitarnego DNA zbudowane są z wielokrotnie powtarzających się sekwencji nukleotydów i są zlokalizowane w heterochromatynie okołocentromerowej, rzadziej w telomerach. Satelitarny DNA nie jest transkrybowany *in vivo*, a jego ilość może się wahać od 1—60% (najczęściej kilka %) ogólnej wielkości genomu i stanowi charakterystyczną cechę danego organizmu. Metody biologii molekularnej (klonowanie, sekwencjonowanie), pozwalają na wydzielenie i analizę powtarzających się sekwencji w genomie roślin.

### b) rDNA

U większości organizmów geny kodujące rybosomalny RNA występują w wielokrotnych kopiach w formie długich sekwencji tandemowych zlokalizowanych w jednym lub w kilku loci chromosomu. Tworzą one obszar organizatora jąderkowego (NOR). Odcinki DNA kodujące rRNA spotykane są również w mitochondrialnym DNA oraz w chloroplastowym DNA, a geny w nich



zawarte są najczęściej wykorzystywane do badań filogenetycznych. Analiza restrykcyjna, jak również sekwencjonowanie odcinków rDNA, wykazały różne tempo ewolucji poszczególnych jego rejonów. Odcinki nietranskrybowane, oddzielające rejony kodujące, mają tendencję do stosunkowo szybkich zmian mutacyjnych, natomiast rejony kodujące są bardziej konserwatywne. Tak więc zmienność wewnątrzpopulacyjną, czy powiązania między blisko spokrewnionymi gatunkami można wykryć analizując niekodujące rejony rDNA, natomiast w celu konstruowania filogenezy na wyższych poziomach taksonomicznych należy raczej porównywać wolniej ewoluujące, kodujące fragmenty rDNA [11, 45, 47, 66].

## 2. DNA pozajądrowy

### a) DNA chloroplastów (cpDNA)

U większości roślin okrytonasiennych genom ten wykazuje dziedziczenie mateczne, natomiast u nagozalążkowych jest wprowadzany przez organizm ojcowski; istnieje również pewna grupa roślin nasiennych, u których obydwa osobniki rodzicielskie wnoszą cpDNA. Chloroplastowy DNA jest łatwy do izolacji, klonowania i ustalania sekwencji, jest wysoce konserwatywny, czyli ma ogromne znaczenie przy ustalaniu powiązań filogenetycznych na wyższych poziomach taksonomicznych [11, 56, 59, 71].

### b) DNA mitochondriów (mtDNA)

Rośliny wyższe mają największy genom mtDNA spośród wszystkich organizmów eukariotycznych; na przykład mtDNA *Cucumis melo* jest około 100 razy większy od mtDNA człowieka [11, 14, 67]. Ponieważ stwierdzono, że geny zawarte w mtDNA ewoluują w różnym tempie, zastosowanie tego typu DNA w badaniach ewolucyjnych jest stosunkowo szerokie i teoretycznie można wykorzystywać metody analizy mtDNA do rozwiązywania większości problemów filogenetycznych. Badania mitochondrialnego DNA są jeszcze słabo wykorzystywane w biosystematyce roślin [14, 67], natomiast znalazły już szerokie zastosowanie dla świata zwierzęcego. Podobnie jak w przypadku chloroplastowego DNA, u większości roślin okrytonasiennych mtDNA jest przekazywany linią żeńską (dziedziczenie mateczne) [14, 53]. Specyficzny typ dziedziczenia mitochondrialnego i chloroplastowego DNA stwarza dodatkowe możliwości dla genetyki populacyjnej, dotyczy to szczególnie roślin charakteryzujących się dziedziczeniem matecznym mtDNA, zaś ojcowskim cpDNA (niektóre nagozalążkowe). W takim przypadku możliwe jest oddzielne analizowanie przepływu genów ojcowskich i matczyńskich w badanych populacjach roślinnych [14].

## I. Zastosowanie analizy cpDNA i rDNA do potwierdzania mieszańcowości oraz introgresji

Zjawisko hybrydyzacji występuje w świecie roślin z dużą częstotliwością i w przeciwieństwie do świata zwierząt odgrywa kluczową rolę w ewolucji. Hybrydyzacja jest jednym z mechanizmów wprowadzających zmienność w populacjach roślinnych, a w wielu przypadkach (pośrednio, lub bezpośrednio) może prowadzić do specjacji [33]. Znane są różne sposoby stabilizacji mieszańców w świecie roślin. Jednym z najczęściej spotykanych jest zwielokrotnienie liczby chromosomów sterylnej mieszańca, czyli powstawanie allopoliploidów. Znane są również inne typy specjacji, u których podstaw leży hybrydyzacja, ale stabilizacja mieszańców przebiega bez zwielokrotnienia liczby chromosomów. Należy tu tzw. specjacja rekombinacyjna (recombinational speciation), specjacja mieszańcowa z wytworzeniem barier zewnętrznych (hybrid speciation with external barriers) oraz tzw. permanentna heterozygotyczność translokacyjna (permanent translocation heterozygosity), której najlepszym przykładem jest rodzaj *Oenothera*. Szczegółowy opis różnych modeli specjacji podaje Grant [33].

Spośród wyżej wymienionych typów specjacji w świecie roślin, powstawanie allopoliploidów odgrywa największą rolę w ewolucji, na co wskazuje wysoki procent poliploidów (głównie allopoliploidów, czy auto-allopoliploidów) w różnych grupach roślin. Według szacunkowych danych z lat osiemdziesiątych około 70—80% roślin dwuliściennych i prawie tyle samo wśród jednoliściennych stanowią poliploidy (*sensu lato*) [50].

Powstające w przyrodzie mieszańce mogą być rozpoznawane z zastosowaniem różnych metod. Należy jednak zdawać sobie sprawę z tego, że wiele innych procesów zachodzących w populacjach roślinnych daje efekty morfologiczne podobne do hybrydyzacji. Toteż opieranie się wyłącznie na analizie cech morfologiczno-anatomicznych może prowadzić do błędnych wniosków. Heiser [38] dokonał rewizji szeregu przykładów hybrydyzacji i introgresji zwracając uwagę na wiele zjawisk, które mogą być interpretowane jako przykłady introgresji, chociaż z tym procesem nie mają nic wspólnego. Spośród najważniejszych procesów mogących wywołać efekt „pozornej hybrydyzacji” Heiser [38] wymienia następujące:

1. Obecność cech dwóch gatunków u danego osobnika niekoniecznie musi świadczyć, iż jest on mieszańcem. Może to natomiast wynikać stąd, że osobniki o cechach pośrednich są pozostałością populacji ancestralnej, z której wywodziły się oba gatunki.

2. Intergradacja pierwotna (primary intergradation) — w przypadku gatunków o szerokim zasięgu, występujących na obszarach zróżnicowanych pod względem geograficznym i ekologicznym, tworzy się stopniowa zmienność. U jej podstaw leżą zmiany genetyczne, ale nie hybrydyzacja.

3. Mutacje mogą dawać efekt podobny do introgresji. Mutacja gatunku A może być tego typu, iż mutant będzie w pewnych cechach podobny do gatunku B.

4. Segregacja u gatunków allopoliplodialnych. Segreganty mogą być podobne do jednego lub drugiego gatunku rodzicielskiego biorącego udział w powstaniu formy allopoliploidalnej.

5. Zmienność obserwowana niekiedy w populacjach roślin autogamicznych może być błędnie tłumaczona jako efekt introgresji, a jest ona najczęściej jedynie wynikiem sporadycznie występującej hybrydyzacji między osobnikami z reguły autogamicznymi. Powstała w ten sposób zmienność jest utrwalona na drodze autogamii i w konsekwencji może wystąpić selekcja pewnych typów.

6. Niekiedy tzw. rój mieszańców (hybrid swarm) jest mylnie interpretowany jako efekt introgresji. Oczywiście w takim roju mieszańców są osobniki pokolenia  $F_1$ , dalsze pokolenia mieszańców, jak również osobniki powstałe w wyniku krzyżówek wstecznych z jednym lub z obydwojema formami rodzicielskimi. Te typy jednak nie są uważane za formy introgresywne, gdyż w myśl definicji A n d e r s o n a [1] introgresja to powtarzające się krzyżówki wsteczne.

Z powyższych rozważań wyraźnie wynika, że w wielu przypadkach do stwierdzenia mieszańcowego charakteru form, potwierdzenia zjawiska introgresji czy allopoliploidalnego pochodzenia gatunków nie wystarczają metody analizy morfologiczno-anatomicznej, czy nawet kariologicznej, ale niezbędne jest wyszukanie precyzyjnych markerów genetycznych. Tego typu informacji dostarczają badania chemiczne, a w szczególności analiza zmienności enzymów oraz DNA i to zarówno jądrowego (rDNA), jak również DNA organelli komórkowych (mtDNA i cpDNA).

Tak więc do potwierdzania mieszańcowości i introgresji zaczęto stosować, obok metod opierających się wyłącznie na analizie cech morfologiczno-anatomicznych, również metody chemiczne. Badano zarówno wtórne metabolity (np. terpenoidy) [23, 24], jak również białka, głównie enzymy [15, 35, 36, 48, 61, 62, 72, 86], oraz DNA jądrowy (rDNA) i chloroplastowy (cpDNA) [2, 4, 16, 20, 21, 47, 56, 58, 63, 64, 71, 85]. Obiektem tych badań były często rodzaje uznane niegdyś za klasyczne przykłady introgresji, np. rodzaj *Juniperus*, *Helianthus* czy *Iris* (informacji dotyczących tych klasycznych badań prowadzonych odpowiednio przez Fassetta, Heisera i Rileya dostarcza G r a n t [33].) Podano również wiele nowych przykładów z różnych grup roślin, począwszy od mszaków poprzez nago- i okrytozalążkowe. W wielu przypadkach badania te nie potwierdziły występowania introgresji, czy nawet hybrydyzacji. Tak było na przykład w przypadku dwóch północnoamerykańskich gatunków z rodzaju *Juniperus*: *Juniperus virginiana* i *J. ashei*. W populacjach tych gatunków, przy zastosowaniu analizy terpenoidów [23], nie wykazano nie tylko obecności form introgresywnych, ale nawet osobników pokolenia  $F_1$ . Brak dowodów na występowanie hybrydyzacji między tymi gatunkami sugeruje, że obserwowana zmienność jest raczej wynikiem radiacji adaptacyjnej. Natomiast analiza terpenoidów przeprowadzona w populacjach *J. virginiana* i *J. scopulorum* [24] potwierdziła występowanie introgresji będącej przyczyną zmienności obser-

wowanej w populacjach tych gatunków. Zastosowanie metod opartych na analizie enzymów oraz różnych typów DNA pozwoliło na weryfikację dalszych przykładów introgresji. Klasycznym przykładem introgresji, cytowanym od lat niemal we wszystkich podręcznikach dotyczących specjacji w świecie roślin, jest rodzaj *Helianthus*. Badania nad jego przedstawicielami z Ameryki Północnej były prowadzone przez Heisera w latach 1947—1965 (zob. Grant [33]). Autor stwierdził, iż gatunki z obrębu rodzaju *Helianthus* krzyżują się łatwo w przyrodzie i chociaż powstałe mieszańce wykazują bardzo obniżoną płodność, to jednak istnieje możliwość krzyżowań wstecznych, prowadzących w efekcie do powstawania form introgresywnych. Najczęściej opisywane były przykłady populacji dwóch gatunków: *Helianthus annuus* i *H. bolanderi*. W obrębie *Helianthus bolanderi* zostały wyróżnione dwie rasy: typu „chwast” oraz „serpentykowa”. Heiser na podstawie badań morfologicznych i cytologicznych wysunął hipotezę, że rasa typu „chwast” powstała przez stopniowe wprowadzanie genów *H. annuus* do rasy „serpentykowej”, czyli jest wynikiem introgresji. Hipotezy tej nie potwierdziły badania oparte zarówno na analizie enzymów, jak również cpDNA i rDNA [64]. Obecnie przypuszcza się, że rasa typu „chwast” wyróżniona w obrębie *H. bolanderi* nie powstała przy udziale introgresji, ale na drodze izolacji edaficznej czy geograficznej pewnych populacji rasy „serpentykowej”. Ograniczenie wymiany genów pomiędzy tymi populacjami a populacją wyjściową mogło przyczynić się do powstania nowej rasy. Badania te wykazały również, że rasa typu „chwast” powstała stosunkowo dawno, a nie w ciągu ostatnich kilku setek lat, co sugerował Heiser. Na stare jej pochodzenie wskazuje wysoce zróżnicowany genom cpDNA w porównaniu z cpDNA rasy „serpentykowej” i *H. annuus*.

Natomiast stosując analizę rDNA potwierdzono występowanie naturalnej hybrydyzacji i introgresji w parapatrycznych populacjach (populacje których zasięgi kontaktują się, ale nie zachodzą na siebie, krzyżowanie między nimi zdarza się bardzo rzadko) dwóch gatunków *Iris* z terenów Ameryki Północnej (Louisiana) [2]. Dotyczy to innego z klasycznych przykładów introgresji pomiędzy *Iris fulva* i *I. hexagona* (*I. hexagona* var. *gigantii-caerulea*) [1, 33].

Metody biologii molekularnej okazały się również bardzo użyteczne przy potwierdzeniu hipotezy o istnieniu w przyrodzie wspomnianej wyżej specjacji rekombinacyjnej (recombinational speciation). Grant [33] szeroko dyskutował możliwość występowania w przyrodzie specjacji rekombinacyjnej, przytaczając szereg wcześniejszych przykładów eksperymentalnego zsyntetyzowania nowych tzw. „mieszańcowych” gatunków w rodzajach *Gilia*, *Nicotiana*, *Elymus* i *Crepis*, oddzielonych silnymi barierami genetycznymi od gatunków wyjściowych. Analiza zmienności enzymów oraz rDNA i cpDNA potwierdziła mieszańcowe pochodzenie (na drodze specjacji rekombinacyjnej) niektórych gatunków np. *Stephanomeria diegensis* [25] czy *Helianthus paradoxus*, gatunku powstałego przy udziale *H. annuus* i *H. petiolaris* [63]. Obecnie, mając możliwość precyzyjnego potwierdzenia mieszańcowego pochodzenia gatunków, niewątpli-

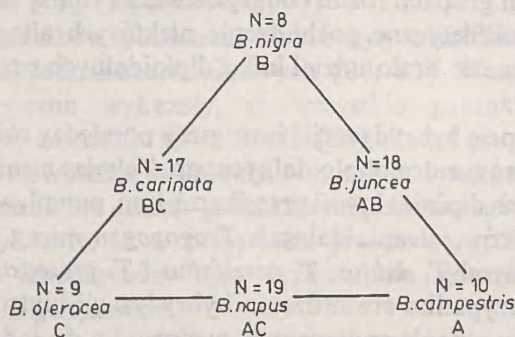
wie zmieni się dotychczasowy pogląd (oparty raczej na rozważaniach teoretycznych) na znaczenie specjacji rekombinacyjnej i częstotliwość jej występowania w populacjach roślinnych.

## II. Metody biologii molekularnej (analiza cpDNA, rDNA oraz enzymów) w badaniach nad ewolucją autopoliplloidów i allopoliplloidów

Wprowadzenie metod biologii molekularnej (analiza enzymów oraz różnych typów DNA) do biosystematyki roślin dało możliwość wyjaśnienia związków w obrębie nawet najbardziej skomplikowanych kompleksów poliploidalnych. Zastosowanie metod analizy chloroplastowego DNA (cpDNA), a w szczególności połączonych metod badania chloroplastowego DNA (cpDNA) oraz pewnych odcinków jądrowego DNA (rDNA) rozpoczyna nową erę w badaniach nad ewolucją poliplloidów. A prawdziwą rewolucję poglądów dotyczących poliploidalności zapowiadają zaskakujące wyniki analiz izoenzymów niektórych paprotników i okrytonasiennych, określanych na podstawie liczby chromosomów mianem wysokich poliplloidów.

### 1. Zastosowanie metod analizy cpDNA i rDNA

Badania nad zastosowaniem DNA chloroplastów (cpDNA) w biosystematyce roślin rozpoczęły się w latach osiemdziesiątych i jedne z pierwszych dotyczyły właśnie poliplloidów, a mianowicie allopoliploidalnego kompleksu *Brassica* [21, 58]. Podobnie analiza jądrowego DNA (rDNA) okazała się niezwykle przydatna w ustalaniu pochodzenia i ewolucji poliplloidów. Z wcześniejszych, na uwagę zasługują prace dotyczące badań nad *Brassica napus* [58], nad poliploidalnym kompleksem *Claytonia* [18], nad rodzajem *Tolmiea* [20] czy *Zea* [87].



Rys. 1. Hipotetyczny model pochodzenia trzech amfidiploidalnych gatunków *Brassica* od trzech diploidów (wg P a l m e r [56], oparte na badaniach cytogenetycznych z roku 1935)

Analiza chloroplastowego DNA i jądrowego DNA (rDNA) dostarczyła w wielu przypadkach jednoznacznych odpowiedzi na pytania dotyczące powstawania i dalszego różnicowania się kompleksów poliploidalnych. Wyniki

tych badań podsumowane w przeglądowej pracy S o l t i s i S o l t i s [71] pozwoliły między innymi:

1. Ustalić gatunki rodzicielskie w przypadku allopoliploidów (a przy zastosowaniu cpDNA gatunek matczyny). Przykładem takich badań są prace dotyczące: *Gossypium*, *Brassica*, *Cofea*, allopoliploidalnych gatunków *Aegilops* i *Triticum*, dwóch tetraploidalnych gatunków *Tragopogon* (*T. mirus* i *T. miscellus*), tetraploidalnego cytotypu paproci *Polystichum californicum*, czy heksaploidalnego gatunku *Draba lactea*. Natomiast w przypadku autopoliploidów, badania chemiczne pozwalają potwierdzić ich pochodzenie od konkretnego gatunku diploidalnego; np. z rodziny *Saxifragaceae* przykładem mogą być tetraploidalne cytotypy *Heuchera micrantha* i *Tolmiea menziesii*.

2. Potwierdzić wielokrotne powstawanie poliploidów na danym terenie, a nawet bardziej precyzyjnie, ile razy powstały aktualnie występujące poliploidy. Dotyczy to poliploidów z obrębu różnych grup roślin, zarówno mchów, paproci, jak i roślin kwiatowych. Odpowiedzi na to pytanie dostarczają szczegółowe badania nad takimi gatunkami allopoliploidalnymi, jak: *Tragopogon mirus* i *T. miscellus*, *Draba lactea*, *Glycine tabacina*, *Asplenium*, *Hemionitis palmata*, *Pteris cretica*, *Plagiomnium medium* oraz nad autopoliploidalnymi cytotypami *Heuchera micrantha* i *Tolmiea menziesii*. Badania te wykazały w wielu przypadkach wielokrotne powstawanie poliploidów. Szczególne znaczenie ma ten fakt w przypadku autopoliploidów, gdyż może zmienić powszechnie uznawany pogląd, że autopoliploidy powstają bardzo rzadko w przyrodzie i nie odgrywają znaczącej roli w ewolucji. Już w 1980 roku L e w i s [50] sugerował wprowadzenie pojęcia tzw. autopoliploidów heterozygotycznych, czyli poliploidów powstałych przy udziale różniących się genetycznie osobników danego gatunku. U podstaw powstawania tych form leży wewnątrzgatunkowa hybrydyzacja. Ten typ autopoliploidów występuje stosunkowo często w różnych grupach roślin i odgrywa ważną rolę w ewolucji i specjacji.

3. Stwierdzić polifiletyczne pochodzenie niektórych allopoliploidów, czyli ustalić czy w ich genezie brało udział kilku diploidalnych przodków z różnych stref geograficznych.

4. Badać frekwencję hybrydyzacji i introgresji pomiędzy różnymi cytotypami w obrębie kompleksów autopoliploidalnych, np. *Tolmiea menziesii*, oraz między allopoliploidami i ich diploidalnymi przodkami, knp. przepływ genów pomiędzy populacjami gatunków tetraploidalnych *Tragopogon mirus*, *T. miscellus* oraz gatunkami diploidalnymi *T. dubius*, *T. porrifolius* i *T. pratensis*.

5. Ustalić (w przypadku stwierdzenia hybrydyzacji i introgresji) jak częsty jest przepływ genów cytoplazmatycznych w stosunku do jądrowych.

6. Stwierdzić (przy zastosowaniu cpDNA), który z gatunków diploidalnych biorących udział w powstawaniu mieszańców czy allopoliploidów jest organizmem matczynym, a który dostarczającym pyłku. W badaniach nad genezą allotetraploidalnych gatunków *Tragopogon* wysunięto hipotezę, że diploidy występujące rzadko są z reguły organizmami matczynymi, natomiast diploidy występujące powszechnie stanowią rośliny ojcowskie.

## 2. Zastosowanie metod elektroforetycznych — analiza izoenzymów (izozymów)

Metody analizy izoenzymów znalazły zastosowanie przy potwierdzaniu poliploidalnego pochodzenia roślin o wysokich liczbach chromosomów.

Gottlieb [28, 29, 30] w swoich pracach dotyczących stosowania metody elektroforezy izoenzymów u roślin podał kilka fundamentalnych założeń, które zostały uznane za podstawę do dalszych rozważań. Założenia te można sformułować następująco:

1. Wiele enzymów u roślin ma izoenzymy, ponieważ ta sama reakcja katalityczna występuje w kilku strukturach komórkowych, najczęściej w plastydach i mitochondriach. Minimalna liczba izoenzymów jest wartością stałą. Stała jest również ich lokalizacja w strukturach komórkowych.

2. Podwyższenie liczby izoenzymów u gatunków diploidalnych jest wynikiem duplikacji strukturalnych loci genu, czyli wynikiem duplikacji odcinków DNA odpowiedzialnych za kodowanie białek.

3. Powyższenie liczby izoenzymów u gatunków poliploidalnych jest wynikiem obecności genomów zawierających homeologiczne loci. Dotyczy to oczywiście allopoliploidów, powstających na drodze hybrydyzacji i zwielokrotnienia liczby chromosomów poprzez fuzję niezredukowanych gamet lub jednej gamety, czyli połączenia genomów niosących homeologiczne loci. Podwyższenie liczby izoenzymów na skutek poliploidyzacji jest o wiele większe niż w przypadku duplikacji pojawiającej się u diploidów.

Na przedstawionych wyżej założeniach oparto się przy próbach weryfikacji poglądów na temat poliploidalnego pochodzenia niektórych paprotników [37, 68, 83] oraz z obrębu roślin okrytonasiennych, przedstawicieli rodzin: *Asteraceae* [27], *Bromeliaceae* [69] i *Orchidaceae* [10].

Spośród paprotników obiektami badań były niektóre gatunki skrzypów [68] oraz paproci jednakozarodnikowych [37, 83]. Wcześniejsze, klasyczne badania kariologiczne wykazały, iż wszystkie gatunki skrzypów mają  $2n = 216$ , co przy założeniu  $x = 9-11$  [51] dla tej grupy, wskazuje iż one mogą być uznane za wysokie poliploidy. Natomiast wyniki analizy izoenzymów [68] przeprowadzone dla trzech gatunków: *Equisetum arvense*, *E. laevigatum* i *E. telmateia* wykazały, że w przypadku prawie wszystkich analizowanych enzymów liczba izoenzymów była typowa dla gatunków diploidalnych *Gymnospermae* i *Angiospermae*.

Dla paproci jednakozarodnikowych podawano również wysokie liczby chromosomów ( $2n = \text{ok. } 20-70$ ) i na tej podstawie (przyjmując  $x = 9-11$ ) uznano, iż ponad 95% w tej grupie stanowią wysokie poliploidy [51, 51]. Podobnie jak w przypadku skrzypów, badania izoenzymów niektórych gatunków paproci jednakozarodnikowych nie potwierdziły poliploidalnego pochodzenia analizowanych osobników. Wykazały natomiast, że mimo wysokich liczb chromosomów, gatunki te są diploidami genetycznymi [37, 83].

Na podstawie powyższych informacji można wysunąć trzy zasadnicze hipotezy:

1. Wysoka liczba chromosomów u skrzyków i paproci jest wynikiem powtarzających się w dalekiej przeszłości przypadków powstawania allopoliploidów. Uzyskany w toku analizy wzór izoenzymów, typowy dla diploidów, sugeruje, że gatunki te można teoretycznie uznać za diploidy lub allopoliploidy, u których nastąpiło „wyciszenie” (silencing) prawie wszystkich zwielokrotnionych genów (duplicated genes) w ciągu długiego okresu od momentu ich powstania.

2. Gatunki te są diploidami, ponieważ trudno przyjąć hipotezę, że nastąpiło „wyciszenie” wszystkich zwielokrotnionych loci w tak różnych ewolucyjnie grupach roślin.

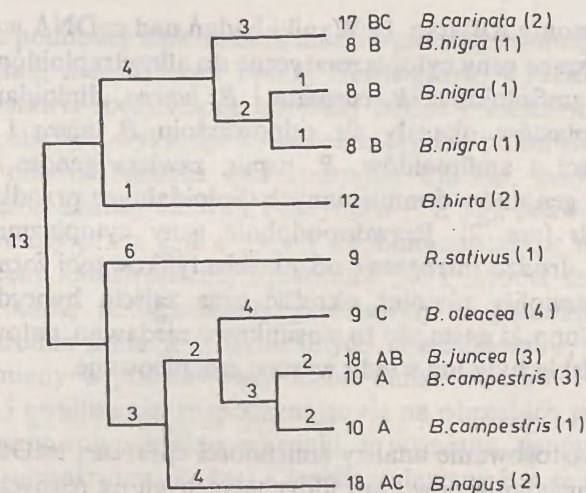
3. Można również teoretycznie założyć, że gatunki te są autopoliploidami młodego wieku, czyli, że loci izoenzymów zostały zwielokrotnione bez zróżnicowania. Jednak genetyczną konsekwencją autopoliploidalności jest dziedziczenie tetrasomiczne. Badane osobniki wykazują natomiast typowe dziedziczenie disomiczne. Również przy założeniu, że na drodze autopoliploidalności organizmy mogą osiągnąć najwyżej poziom tetraploidalny, hipotezę tę można odrzucić.

Podobne wyniki uzyskano w badaniach nad niektórymi roślinami kwiatowymi. W obrębie *Orchidaceae*, w podtrybie *Oncidiinae* dużemu zróżnicowaniu kariologicznemu, od  $2n = 10$  do  $2n = 60$  nie towarzyszy podwyższenie liczby izoenzymów, co sugeruje, iż wysokie liczby chromosomów w tej grupie nie powstały w wyniku procesu poliploidyzacji [10]. Stosunkowo wysokie liczby chromosomów ( $2n = 50$ ) ustalone dla większości przedstawicieli *Bromeliaceae*, są również związane z typową dla diploidalnych *Angiospermae* liczbą enzymów [69]. Podobnie badania przeprowadzone nad gatunkami z rodzajów *Aster* i *Machaeranthera* (*Compositae*) [27] nie potwierdziły poliploidalnego pochodzenia cytotypów o  $2n = 18$ . Liczba izozymów u tych gatunków była taka sama jak u gatunków o somatycznej liczbie chromosomów  $2n = 8$  i  $2n = 10$ , co sugeruje uznanie wszystkich wyróżnionych cytotypów za genetyczne diploidy. Powyższe przykłady mogą zmienić zasadniczo starsze koncepcje dotyczące frekwencji i znaczenia poliploidów w świecie roślin. Zwracają one również uwagę na niebezpieczeństwo wyciągania wniosków natury ewolucyjnej na podstawie danych dotyczących jedynie liczb chromosomów.

### III. Zastosowanie metod analizy cpDNA do ustalania pochodzenia roślin uprawnych i ich związków z domniemanymi dzikimi przodkami

Zmienność cpDNA badano w wielu grupach zawierających gatunki roślin uprawnych. Obiektami intensywnych badań były rodzaje: *Lycopersicon-Solanum*, *Nicotiana*, *Triticum-Aegilops*, *Brassica-Raphanus*, *Coffea*, *Zea*, *Pisum*, *Linum* i *Gossypium* (zob. prace przeglądowe [56, 59, 71]).





Rys. 2. Drzewo ewolucyjne ośmiu uprawnych gatunków *Brassica* i *Raphanus* oparte na analizie restrykcyjnej cpDNA. Liczby na odgałęzieniach wskazują liczbę zaszych mutacji punktowych. Liczby na końcu odgałęzień wskazują liczbę chromosomów, za nimi są oznaczenia literowe genomów. Liczby w nawiasach wskazują liczbę badanych powtórzeń (wg Palmer i wsp. [59])

Badania nad uprawianą bawełną (*Gossypium*) i jej pochodzeniem odegrały ważną rolę w historii cytogenetyki roślin i teorii specjacji. Według jednej z nowszych klasyfikacji taksonomicznych (Fryxell 1979) w obrębie tego rodzaju wyróżniono 42 gatunki, w tym 36 diploidów i 6 tetraploidów. Pionierskie prace nad pochodzeniem uprawnych tetraploidalnych form *Gossypium barbadense* ( $2n=4x=52$ ) i *G. hirsutum* ( $2n=4x=52$ ) prowadzone były już w latach trzydziestych i czterdziestych. Wyniki tych badań wskazywały, iż tetraploidy z obrębu Nowego Świata są alloplodami zawierającymi genom A, pochodzący od diploidalnych gatunków Starego Świata i genom D, podobny do genomu diploidów Nowego Świata. Gatunki tetraploidalne *Gossypium* mają szeroki zasięg i są wysoce heterogeniczne, co sugeruje, że prawdopodobnie powstawały wielokrotnie i są bardzo starymi formami. Wiek ich szacowano na około 100 milionów lat., czyli na okres kredy, kiedy to obydwa kontynenty Ameryka i Afryka były jeszcze połączone. Wyniki analizy cpDNA [82] potwierdziły pochodzenie genomu chloroplastów od diploidalnych przodków Starego Świata. Natomiast niski stopień zróżnicowania cpDNA u gatunków tetraploidalnych zmienił nieco koncepcję ich tworzenia się na środkowy plejstocen, czyli na około 2 miliony lat temu.

Analiza zmienności cpDNA okazała się bardzo przydatna w badaniach nad ewolucją tak dobrze, wydawałoby się, opracowanego poliploidalnego kompleksu *Brassica* [21, 58]. W obrębie tego kompleksu występują gatunki diploidalne: *B. nigra* ( $n = 8$  — genom B), *B. oleracea* ( $n = 9$  — genom C), *Brassica campestris* ( $n = 10$  — genom A) oraz amfiploidy: *B. carinata* ( $n = 17$  — genomy BC), *B. napus* ( $n = 9$  — genomy AC), *B. juncea*

( $n = 18$  — genomy AB) (rys. 1). Wyniki badań nad cpDNA wskazały gatunki matczyne, wnoszące geny cytoplazmatyczne do allotetraploidów. I tak, w przypadku dwóch amfiploidów: *B. carinata* i *B. juncea*, diploidami wnoszącymi genom chloroplastów okazały się odpowiednio *B. nigra* i *B. campestris*. Natomiast trzeci z amfiploidów, *B. napus*, zawiera genom chloroplastów różniący się od genomów domniemanych diploidalnych przodków: *B. oleracea* i *B. campestris* (rys. 2). Prawdopodobnie geny cytoplazmatyczne zostały przekazane na drodze introgresji od niezidentyfikowanej formy diploidalnej. Badania te pozwoliły również określić czas zajścia hybrydyzacji. Na ich podstawie ustalono, iż nastąpiło to stosunkowo niedawno, natomiast wyjściowe formy rodzicielskie były już wtedy wysoce zróżnicowane.

#### IV. Zastosowanie analizy zmienności cpDNA i mtDNA do ustalania powiązań filogenetycznych na różnych poziomach taksonomicznych

##### 1. Badanie zmienności wewnątrzgatunkowej

Analiza zmienności cpDNA i mtDNA ma ograniczone zastosowanie w przypadku badania wewnątrzgatunkowego zróżnicowania genetycznego. Wynika to z faktu, iż molekula cpDNA, jak również pewne odcinki mtDNA ewoluują bardzo wolno (zob. opracowania przeglądowe: [11, 14, 56, 59, 67]). Potwierdziły to badania populacyjne z zastosowaniem analizy cpDNA nad *Lupinus texensis* [3] oraz nad dwoma gatunkami sosny [81]. W przypadku *Lupinus texensis* spośród 100 analizowanych osobników pochodzących z 21 populacji w Teksasie, 88 roślin wykazywało identyczny genom chloroplastów. Dla badań populacyjnych, jak również do ustalania związków na poziomie gatunku, największe zastosowanie znalazła analiza enzymów (allozymy i izozymy).

##### 2. Badanie zmienności międzygatunkowej

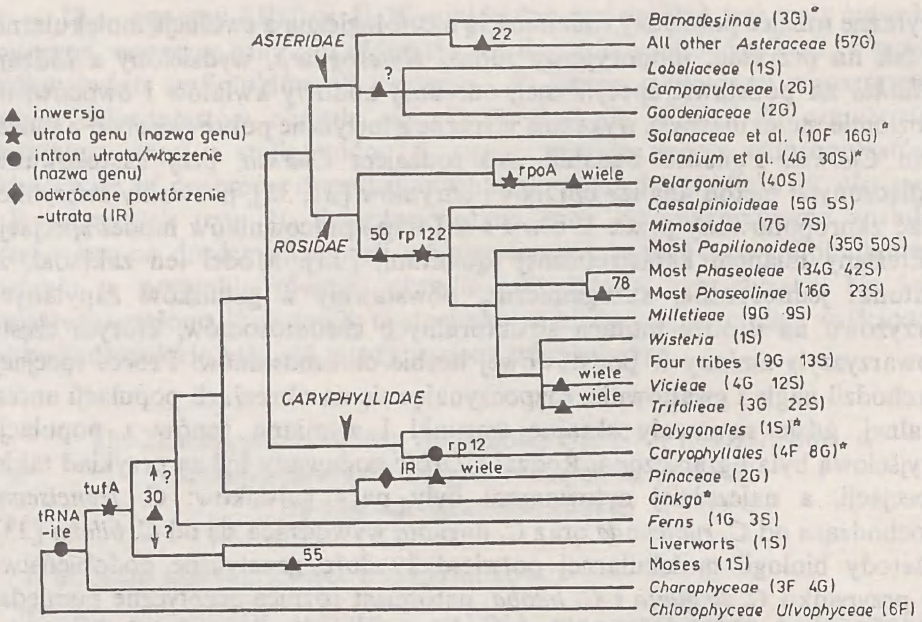
Metody biologii molekularnej (głównie analiza cpDNA i mtDNA) znalazły natomiast duże zastosowanie przy ustalaniu powiązań filogenetycznych między gatunkami w obrębie rodzaju. Do roku 1988 pojawiło się ponad 40 prac dotyczących zastosowania głównie metody analizy cpDNA do rozwiązywania problemów taksonomicznych na poziomie rodzaju (większość z nich jest cytowana w pracach przeglądowych np.: [56, 59, 67]). Wiele opracowań dotyczy rodzajów zawierających rośliny uprawne, np. *Nicotiana*, *Triticum* i *Aegilops* czy *Brassica* (zagadnienie to zostało szerzej omówione w rozdziale dotyczącym pochodzenia roślin uprawnych). Spośród prac odnoszących się do roślin dziko rosnących na podkreślenie zasługują opracowania takich rodzajów, jak: *Lisiant-hius* [77], *Clarkia* [32, 75] i *Heterogaura* [76]. Szczegółowe badania obejmujące analizę cpDNA gatunków z obrębu rodzajów *Clarkia* i *Heterogaura*, wykazały

wyraźne różnice pomiędzy zmiennością morfologiczną a ewolucją molekularną. I tak na przykład, monotypowy rodzaj *Heterogaura*, wydzielony z rodzaju *Clarkia* na podstawie specyficznej, odrębnej budowy kwiatów i owoców, na poziomie molekularnym wykazuje wyraźne genetyczne pokrewieństwo z rodzajem *Clarkia*. Ponadto badania nad rodzajem *Clarkia*, przy zastosowaniu połączonych metod analizy cpDNA i enzymów [31, 32], pozwoliły zweryfikować zaproponowany przez Lewis i współpracowników model specjacji, określane mianem katastroficznej (quantum) [33]. Model ten zakładał, że gatunki jednoroczne, autogamiczne, powstawały z gatunków zapylanych krzyżowo na drodze mutacji strukturalnych chromosomów, którym często towarzyszyły zmiany w podstawowej liczbie chromosomów. Proces specjacji zachodził nagle i gwałtownie, rozpoczynając się na obrzeżach populacji ancestralnej, gdzie panowały skrajne warunki i wymiana genów z populacją wyjściową była ograniczona. Rodzaj *Clarkia* podawany był za przykład takiej specjacji, a najczęściej cytowanymi były pary gatunków: *C. franciscana* pochodząca od *C. rubicunda* oraz *C. linguata* wywodząca się od *C. biloba* [33]. Metody biologii molekularnej potwierdziły duże genetyczne podobieństwo w przypadku *C. linguata* i *C. biloba*, natomiast różnice genetyczne pomiędzy *C. franciscana* i *C. rubicunda* okazały się na tyle duże, że trudno było przyjąć ten model specjacji i raczej należało uznać *C. franciscana* za relik, a nie za formę powstałą w niedalekiej przeszłości na drodze specjacji katastroficznej [32].

W następnych latach w wielu laboratoriach głównie amerykańskich i australijskich, podejmowano badania z zastosowaniem metody analizy cpDNA, a niekiedy połączonych metod, z uwzględnieniem analizy mtDNA, a nawet DNA jądrowego w przypadku trudnych taksonomicznie grup roślin. Należy tutaj wymienić chociażby prace nad powiązaniem filogenetycznymi w obrębie rodzaju *Pinus* [74], nad skomplikowanym pod względem cytogenetycznym rodzajem *Symphytum* [65], czy *Glycine* [19].

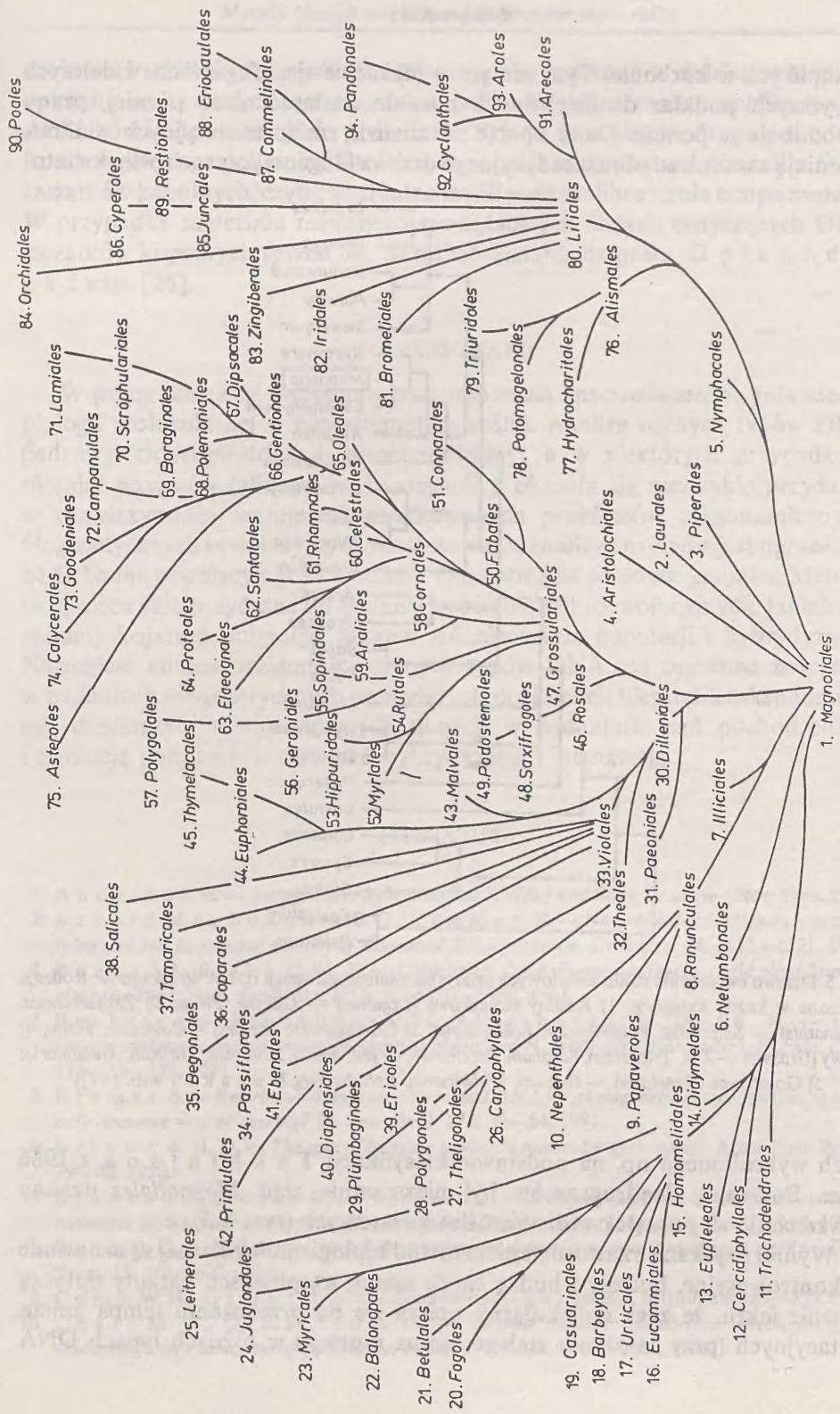
### 3. Badanie powiązań filogenetycznych w obrębie rodzin i na wyższych poziomach taksonomicznych

Metody biologii molekularnej okazały się bardzo pomocne przy rekonstruowaniu filogenezy na wyższych poziomach taksonomicznych, np. między rodzajami w obrębie rodzin, gdzie wzajemne powiązania są jeszcze bardzo słabo poznane. W ostatnich latach pojawiło się coraz więcej takich prac, co wskazuje na skuteczność stosowania metod biologii molekularnej w tej dziedzinie badań. Z wcześniejszych należy wymienić fragmentaryczne prace nad *Asteraceae* [43, 44], *Orchidaceae* [59], *Onagraceae* [78], *Fabaceae* [7, 57], *Solanaceae* [59], czy *Poaceae* [40]. Jedne z ostatnich dotyczą rodzin: *Leguminosae* [49], *Gramineae* [17, 41] i *Rubiaceae* [5]. Bardzo nieliczne są prace dotyczące związków między rodzinami, szczególnie blisko spokrewnionymi rodzinami. Do takich należy jedno z ostatnich opracowań nad filogenezą podklasy *Asteridae* [54].



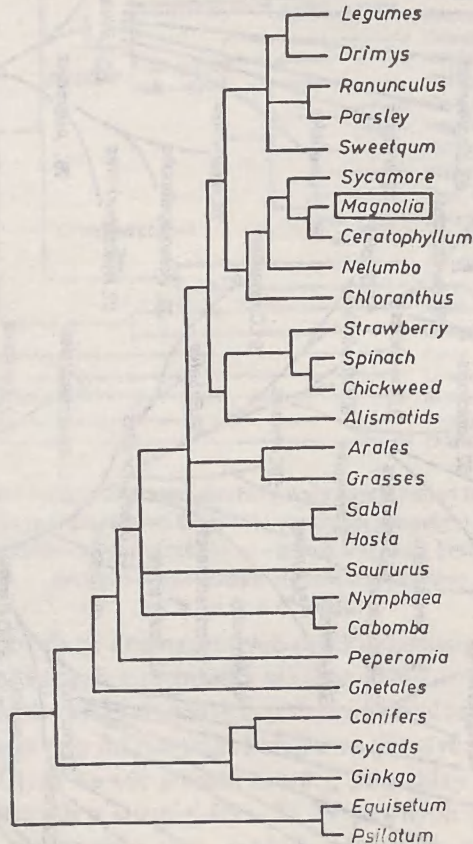
Rys. 3. Drzewo ewolucyjne oparte na rozmieszczeniu wybranych zmian mutacyjnych cpDNA. Nie wszystkie znane mutacje są przedstawione. Gwiazdki oznaczają genomy o układzie genów zgodnym z układem genów roślin naczyniowych. Liczby w nawiasach wskazują liczby badanych taksonów (F — rodzina; G — rodzaj; S — gatunek). Znaki zapytania wskazują zmiany niepewnego pochodzenia (wg P a l m e r [56])

Na podstawie informacji dostarczonych dzięki zastosowaniu metod biologii molekularnej, a dotyczących zmienności samego DNA na różnych poziomach taksonomicznych, dokonano rekonstrukcji drzewa ewolucyjnego całego świata roślin [55, 59]. Próbowano ustalić pokrewieństwa genetyczne w obrębie rodzin, pomiędzy rodzinami czy nawet jeszcze szerzej, pomiędzy roślinami wyższymi z jednej strony a glonami z drugiej (rys. 3). W pewnych przypadkach wyniki dostarczone przez stosowanie tych metod odbiegają od dotychczasowych i zmieniają nieco spojrzenie na niektóre powszechnie przyjęte hipotezy dotyczące np. czasu powstania roślin kwiatowych, wydzielenia się jedno- i dwuliściennych, czy pozycji filogenetycznej rzędu *Magnoliales* [47, 52, 84]. I tak na przykład, wyniki analizy pewnych sekwencji cpDNA oraz genu kodującego enzym dehydrogenazę 3-fosforanową aldehydu glicerolowego (GAPDH) przedstawiciele różnych grup roślin kwiatowych [47, 52, 84] wyraźnie wskazują na wcześniejsze pojawienie się roślin kwiatowych niż ustalono na podstawie badań szczątków kopalnych, umiejscawiających wydzielenie się *Angiospermae* w kredzie [12]. Wyniki analiz DNA sugerują pojawienie się pierwszych przedstawicieli roślin kwiatowych już 200 mln lat temu [47], a nawet jeszcze wcześniej, bo ok. 320 mln lat temu czyli w karbonie [52] (około 150 mln lat wcześniej niż na to wskazują szczątki kopalne). Badania te skłaniają również do przyjęcia hipotezy wcześniejszego zróżnicowania *Angiospermae* na jedno- i dwuliścienne, co mogło



Rys. 4. Drzewo ewolucyjne rzędów roślin kwiatowych oparte na schemacie klasyfikacji Takhtajana (1966)

nastąpić już w karbonie. Tym samym wydzielenie się *Magnoliidae* i dalszych 4 wyższych podklas dwuliściennych musiało nastąpić nieco później, prawdopodobnie w permie. Dane oparte na analizie zmian mutacyjnych w DNA zmieniają zasadniczo obraz tradycyjnego drzewa filogenetycznego roślin kwiatowych



Rys. 5. Drzewo ewolucyjne roślin kwiatowych oparte na analizie sekwencji rDNA 46 taksonów. Rodzaje włączone w każdą kategorię; 1) Rośliny strączkowe (*Legumes*) — *Glycyne*, *Pisum*; 2) Żabięcownate (*Alismatids*) — *Sagittaria*, *Potamogeton*, *Echinodorus*; 3) Obrzązkowate (*Arales*) — *Colocasia*, *Pistia*; 4) Trawy (*Grasses*) — *Zea*, *Tripsacum*, *Sorghum*, *Saccharum*, *Oryza*, *Avena*, *Hordeum*, *Triticum*, *Arundinaria*; 5) Gniotowce (*Genetales*) — *Gnetum*, *Welwitschia*, *Ephedra* (wg K n a a k a i wsp. [47]).

wych wykreślonego np. na podstawie klasyfikacji T a k h t a j a n a z 1966 roku. Podstawą dendrogramów był niezmiennie rząd *Magnoliales* uznany powszechnie za początek radiacji roślin kwiatowych (rys. 4, 5).

Wyniki uzyskane z zastosowaniem metod biologii molekularnej są uznawane za kontrowersyjne, budziły i budzą ciągle szereg wątpliwości. Zarzuty dotyczą głównie faktu, że zegr molekularny opiera się na przeliczaniu tempa zmian mutacyjnych (przy założeniu stałego tempa mutacji) w różnych typach DNA

osobników obecnie żyjących. Do tej pory, aby wnikać w daleką przeszłość, opierano się na danych molekularnych pochodzących z analizy współczesnych osobników i odnoszono je do przeszłości. Była to więc niejako droga pośrednia. Rozstrzygnięcie wątpliwości i istniejących sporów może dostarczyć analiza DNA szczątków kopalnych, czyli ewentualna możliwość skalibrowania tempa mutacji. W przypadku materiału roślinnego szczegółowych danych dotyczących DNA szczątków kopalnych sprzed ok. 20 ml lat dostarczyła praca G o l e n b e r - g a i wsp. [26].

#### PODSUMOWANIE

W pracy niniejszej dokonano podsumowania znaczenia stosowania metod biologii molekularnej w biosystematyce roślin. Analiza różnych typów DNA (jądrowy, chloroplastowy i mitochondrialny), a w niektórych przypadkach również enzymów (alozymów i izozymów), okazała się niezwykle przydatna w rozwiązywaniu szeregu skomplikowanych problemów taksonomicznych, filogenetycznych i ewolucyjnych. Zastosowanie analizy enzymów jest ograniczone do badań populacyjnych i ustalania zmienności na poziomie gatunku. Metody te są niezwykle przydatne do badania procesów mikroewolucyjnych, takich jak systemy kojarzeń, migracje, lokalne zróżnicowanie populacji i hybrydyzacja. Natomiast analiza zmienności różnych typów DNA ma ogromne znaczenie w badaniach filogenetycznych na wyższych poziomach hierarchii taksonomicznej, dostarczyła również nowych danych w badaniach nad pochodzeniem i ewolucją poliploidów oraz nad hybrydyzacją i introgresją.

#### LITERATURA

1. A n d e r s o n E. — *Introgressive hybridization*. J. Wiley and Sons, London—New York 1949.
2. A r n o l d M. L., B e n n e t t B. D., Z i m m e r E. — *Natural hybridization between *Iris fulva* and *Iris hexagona*; pattern of ribosomal DNA variation*. *Evolution* 44: 1512—1521, 1990.
3. B a n k s J. A., B i r k y C. W., Jr. — *Chloroplast DNA diversity is low in a wild plant *Lupinus texensis**. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 82: 6950—6954, 1985.
4. B e c k s t r o m - S t e r n b e r g S. M., R i e s e b e r g L. H., D o a n K. — *Gene lineage analysis in populations of *Helianthus niveus* and *H. petiolaris* (Asteraceae)*. *Pl. Syst. Evol.* 175: 125—138, 1991.
5. B r e m e r B. — *Restriction data from chloroplast DNA for phylogenetic reconstruction: is there only accurate way of scoring?* *Pl. Syst. Evol.* 175: 39—54, 1991.
6. B r t o w n A. H. D. — *The role of isozyme studies in molecular systematics*. *Austr. Syst. Bot.* 3: 39—46, 1990.
7. B r u n e a u A., D o y l e J. J., P a l m e r J. D. — *A chloroplast DNA inversion as a subtribal character in the tribe Phaseoleae (Leguminosae: Papilionoideae)*. *Amer. J. Bot.* 75: 162, 1988.
8. B u t h D. G. — *The application of electrophoretic data in systematic studies*. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 501—522, 1984.
9. C a m p W. H., G i l l y C. L. — *The structure and origin of species*. *Brittonia* 4: 323—385, 1943.
10. C h a s e M. W., O l m s t e a d R. G. — *Isozyme number in subtribe Oncidiinae (Orchidaceae): an evaluation of polyploidy*. *Amer. J. Bot.* 75: 1080—1085, 1988.

11. Clegg M.T., Durbin M.L. — *Molecular approaches to the study of plant biosystematics*. Austr. Syst. Bot. 3: 1—8, 1990.
12. Crane P.R., Donoghue M.J., Doyle J., Friis E.M. — *Angiosperm origin*. Nature 342: 131—132, 1989.
13. Crawford D.J. — *Phylogenetic and systematic inferences from electrophoretic studies [w:] Isozymes in Plant Genetics and Breeding*. S.O. Tanksley, T.J. Orton (red.), Elsevier, Amsterdam, 1983.
13. Crawford D.J. — *Phylogenetic and systematic inferences from electrophoretic studies [w:] Isozymes in Plant Genetics and Breeding*. S.O. Tanksley, T.J. Orton (red.), Elsevier, Amsterdam, 1983.
14. Crozier R.H. — *From population genetics to phylogeny: uses and limits of mitochondrial DNA*. Austr. Syst. Bot. 3: 111—124, 1990.
15. DePamphilis C. W., Wyatt R. — *Electrophoretic confirmation of interspecific hybridization in Aesculus (Hypocastanaceae) and the genetic structure of a broad hybrid zone*. Evolution 44: 1295—1317, 1990.
16. Doebley J. — *Molecular evidence for a missing wild relative of maize and the introgression of its chloroplast genome into Zea perennis*. Evolution 43: 1555—1559, 1989.
17. Doebley J., Durbin M., Golenberg E. — *Evolutionary analysis of the large subunit of carboxylase (rbcL) nucleotide sequence among the grasses (Gramineae)*. Evolution 44: 1097—1108, 1990.
18. Doyle J. J., Beachy R. N., Lewis W. H. — *Evolution of rDNA in Claytonia polyploid complexes*. [w:] *Plant Biosystematics*. W.F. Grant, (red.), Academic Press, London: 321—341, 1984.
19. Doyle J.J., Doyle J.L., Brown A.H.D. — *A chloroplast — DNA phylogeny of the wild perennial relatives of soybean (Glycine subgenus Glycine): congruence with morphological and crossing groups*. Evolution 4: 371—389, 1990.
20. Doyle J.J., Soltis D.E., Soltis P.S. — *An intergeneric hybrid in the Saxifragaceae: Evidence from ribosomal RNA genes*. Amer. J. Bot. 72: 1388—1391, 1985.
21. Erickson L.R., Straus N.A., Beversdorf W. — *Restriction patterns reveal origins of chloroplast genomes in Brassica amphiploids*. Theor. Appl. Genet. 65: 201—206, 1983.
22. Ferguson A. — *Isozyme studies and their interpretation*. [w:] *Prospects in Systematics*. D.L. Hawkesworth (red.) Clarendon, Oxford: 184—201, 1988.
23. Flake R. H., von Rudloff E., Turner B. L. — *Quantitative study of clinal variation in Juniperus virginiana using terpenoid data*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 64: 487—494, 1969.
24. Flake R.H., Urbatsch L., Turner B.L. — *Chemical documentation of allopatric introgression in Juniperus*. Syst. Bot. 3: 129—144, 1978.
25. Gallez G. P., Gottlieb L. D. — *Genetic evidence for the hybrid origin of the diploid plant Stephanomeria diegensis*. Evolution 36: 1158—1167, 1982..
26. Golenberg E. M., Giannasi D. E., Clegg M. T., Smiley Ch. J., Durbin M., Henderson D., Zurawski G. — *Chloroplast DNA sequence from a Miocene Magnolia species*. Nature 344: 656—658, 1990.
27. Gottlieb L. D. — *Gene numbers in species of Asteraceae that have different chromosome numbers*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 3726—3729, 1981.
28. Gottlieb L. D. — *Electrophoretic evidence and plant populations*. Progr. Phytochem, 7: 1—46, 1981.
29. Gottlieb L. D. — *Conservation and duplication of isozymes in plants*. Science 216: 373—380, 1982.
30. Gottlieb L. D. — *Isozyme number and phylogeny*. [w:] *Proteins and Nucleic Acids in Plant systematics*. U. Jensen, D.E. Fairbrothers (red.), Springer-Verlag, Berlin, 209—221, 1983.



31. G o t t l i e b L. D. — *Isozyme evidence and problem solving in plant systematics*. [w:] *Plant Biosystematics*. W. F. G r a n t (red.) Academic Press, Toronto, Orlando, San Diego, New York, London, Montreal, San Francisco, Sydney, Tokyo, Sao Paulo: 343—357, 1984.
32. G o t t l i e b L. D. — *Genetic differentiation, speciation and phylogeny in Clarkia (Onagraceae)*. [w:] *Modern aspects of species*. — K. I w a t s u k i, P. H. R a v e n, W. J. B o c k (red.), University of Tokyo Press, Tokyo: 145—160, 1986.
33. G r a n t V. — *Plant speciation*. Columbia University Press, New York, 1981.
34. G r a n t W. F. (red.) — *Plant Biosystematics*. Academic Press, Toronto, Orlando, San Diego, New York, London, Montreal, San Francisco, Sydney, Tokyo, Sao Paulo 1984.
35. H a m a k e r J. M., S n y d e r E. B. — *Electrophoretic patterns of needle enzymes in long leaf and sonderegger pines*. US Forest Serv. Res. Note 152: 1—8, 1973.
36. H a s e R. C., S w i t z e r G. L. — *Introgression with short-leaf pinemy explain rust resistance in western loblolly pine*. US Forest Serv. Note: 50—88, 1969.
37. H a u f l e r Ch., S o l t i s D. E. — *Genetic evidence suggests that homosporous ferns with high chromosome numbers are diploid*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 4389—4393, 1986.
38. H e i s e r C. B. — *Introgression re-examined*. Bot. Rev. 39: 347—366, 1973.
39. H i l l i s D. M. — *Molecular versus morphological approaches to systematics*. Ann. Rev. Ecol. Syst. 18: 23—42, 1987.
40. H i l u K. W. — *Chloroplast DNA in the systematics and evolution of the Poaceae*. [w:] *Grass Systematics and Evolution*. T. R. S o d e r s t r o m, K. W. H i l u, C. S. C a m p b e l l, M. E. B a r k w o r t h (red.), Smithsonian Press, Washington: 67—72, 1987.
41. H i l u K. W., J o h n s o n J. L. (1991) *Chloroplast DNA reassociation and grass phylogeny*. Pl. Syst. Evol. 176: 21—31, 1991.
42. H u r k a H. — *Enzymes as a taxonomic tool: a botanists view*. [w:] *Principles and Practice*. F. A. Bisby, J. G. Vaughan, G. A. Wright (red.), Academic Press, London: 103—121, 1980.
43. J a n s e n R. K., P a l m e r J. D. — *A chloroplast DNA inversion marks an ancient evolutionary split in the sunflower family (Asteraceae)*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 84: 5818—5822, 1987.
44. J a n s e n R. K., P a l m e r J. D. — *Phylogenetic implications of chloroplast DNA restriction site variation in the Mutisieae (Asteraceae)*. Amer. J. Bot. 75: 751—764, 1988.
45. J o r g e n s e n R. A., C l u s t e r P. D. — *Modes and tempos in the evolution of nuclear ribosomal DNA: new characters for evolutionary studies and new markers for genetic and population studies*. Ann. Missouri Bot. Gard. 75: 1238—1247, 1988.
46. K a w a n o S. (red.) — *Biological Approaches and Evolutionary Trends in Plants*. Academic Press, London, San Diego, New York, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto 1990.
47. K n a a k Ch., H a m b y K., A r n o l d M. L., L e b l a n c M. D., C h a p m a n R. L., Z i m m e r E. A. — *Ribosomal DNA variation and its use in plant biosystematics*. [w:] *Biological Approaches and Evolutionary Trends in Plants*. S. K a w a n o (red.), Academic Press, London, San Diego, New York, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto 1990.
48. L a n g e v i n S. A., C l a y K., G r a c e J. B. — *The incidence and effects of hybridization between cultivated rice and its related weed red race (Oryza sativa L.)*. Evolution 14: 1000—1008, 1990.
49. L a v i n M., D o y l e J. J., P a l m e r J. D. — *Evolutionary significance of the loss of the chloroplast-DNA inverted repeat in the Leguminosae subfamily Papilionoideae*. Evolution 44: 390—402, 1990.
50. L e w i s H. — *Polyploidy in species populations*. [w:] *Polyploidy Biological Relevance*. W. H. L e w i s (red.), Plenum Press, New York, London: 103—143, 1980.
51. L o e v e A., L o e v e D., P i c h i - S e r m o l l i R. E. G. — *Cytotaxonomical Atlas of the Pteridophyta*. Cramer, Vaduz.
52. M a r t i n W., G i e r l A., S a e d l e r H. — *Molecular evidence for pre-Cretaceous angiosperm origins*. Nature 339: 46—48, 1977.

53. M o g e n s e n H. L. — *Exclusion of male mitochondria and plastids during syngamy in barley as a basis of maternal inheritance*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85: 2594—2597, 1988.
54. O l m s t e a d R. G., J a n s e n R. K., M i c h a e l i s H. J., D o w n i e S. R., P a l m e r J. D. — *Chloroplast DNA and Phylogenetic Studies in the Asteridae*. [w:] *Biological Approaches and Evolutionary Trends in Plants*. S. K a w a n o (red.), Academic Press, London, San Diego, New York, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto: 119—144, 1990.
55. P a l m e r J. D. — *Evolution of chloroplast and mitochondrial DNA in plants and algae*. [w:] *Monographs in Evolutionary Biology: Molecular Evolutionary Genetics*. R. J. M a c I n t y r e (red.), Plenum Press, New York: 131—240, 1985.
56. P a l m e r J. D. — *Chloroplast DNA evolution and biosystematic uses of chloroplast DNA variation*. Amer. Nat. 130: S6—S29, 1987.
57. P a l m e r J. D., O s o r i o B., A l d r i c h J., T h o m p s o n W. F. — *Chloroplast DNA evolution among legumes: Loss of a large inverted repeat occurred prior to other sequences rearrangement*. Curr. Genet. 11: 275—286, 1987.
58. P a l m e r J. D., S h i e l d s C. R., C o h e n D. B., O r t o n T. J. — *Chloroplast DNA evolution and the origin of amphiploid Brassica*. Theor. Appl. Genet. 65: 181—189, 1983.
59. P a l m e r J. D., J a n s e n R. K., M i c h a e l s H. J., C h a s e M. W., M a n h a r t J. R. — *Chloroplast DNA variation and plant phylogeny*. Ann. Missouri Bot. Gard. 75: 1180—1206, 1988.
60. P ä ä b o S. — *Ancient DNA: Extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 1939—1943, 1989.
61. P h i l l i p s M. A., B r o w n A. H. D. — *Mating system and hybridity in Eucalyptus pauciflora*. Austr. J. Biol. Sci. 30: 337—344, 1977.
62. P r u s - G ł o w a c k i W. — *Serological investigation of hybrid swarm population of Pinus sylvestris L. x Pinus mugo Turra, and the antigenetic differentiation of Pinus sylvestris L. in Sweden*. [w] *Proteins and Nucleic Acids in Plant Systematics*. U. Jansen, D.E. Fairbrothers (red.), Springer-Verlag, Berlin: 352—361, 1983.
63. R i e s e b e r g L. H., C a r t e r R., Z o n a S. — *Molecular tests of the hypothesized hybrid origin of two diploid Helianthus species (Asteraceae)*. Evolution 44: 1498—1511, 1990.
64. R i e s e b e r g L. H., S o l t i s D. E., P a l m e r J. D. — *A molecular reexamination of introgression between Helianthus annuus and H. bolanderi (Compositae)*. Evolution 42: 227—238, 1988.
65. S a n d b r i n g J. M., v a n B r e d e r o d e J., G a d e l l a T. W. J. — *Phylogenetic relationships in the genus Symphytum (Boraginaceae)*. Proc. Kon. Akad. v. Wetensch. 93: 295—333, 1990.
66. S h a a l B. A., L e a r n G. H., Jr. — *Ribosomal DNA variation within and among plant populations*. Ann. Missouri Bot. Gard. 75: 1207—1216, 1988.
67. S e d e r o f f R. R. — *Molecular mechanisms of mitochondrial—genome evolution in higher plants*. Amer. Nat. 130: 530—545, 1987.
68. S o l t i s D. E. — *Genetic evidence for diploidy in Equisetum*. Amer. J. Bot. 73: 908—913, 1986.
69. S o l t i s D. E., G i l m a r t i n A. J., R e i s e b e r g L., G a r d n e r S. — *Genetic variation in the epiphytes Tillandsia ionantha and T. recurvata (Bromeliaceae)*. Amer. J. Bot. 73: 531—537, 1987.
70. S o l t i s D. E., S o l t i s P. S. (red.) — *Isoenzymes in Plant Biology*. Dioscorides Press 1989.
71. S o l t i s D. E., S o l t i s P. S. — *Chloroplast DNA and Nuclear rDNA Variaton: Insights into Autopolyploid and Allopolyploid Evolution* [w:] *Biological Approaches and Evolutionary Trends in Plants*. S. K a w a n o (red.), Academic Press, London, San Diego, New York, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto: 97—117, 1990.
72. S t e i n b r u c k G., S c h l e g e l M., D a h l s t r o m I., R o t t g e r B. — *Characterization of interspecific hybrids between Orchis mascula and O. pallens by enzyme electrophoresis*. Pl. Syst. Evol. 153: 229—241, 1986.

73. Stoneburner A., Wyatt R. and Odrzykoski I. — *Application of enzyme electrophoresis to Bryophyte Systematics and Population Biology*. Advances in Bryology 4: 1—27, 1991.
74. Strauss S. H., Doerksen A. H. — *Restriction fragment analysis of pine phylogeny*. Evolution 14: 1081—1096, 1990.
75. Sysma K. J., Gottlieb L. D. — *Chloroplast DNA evolution and phylogenetic relationships in Clarkia sect. Peripetas (Onagraceae)*. Evolution 40: 1248—1261, 1986.
76. Sysma K. J., Gottlieb L. D. — *Chloroplast DNA evidence for the origin of the genus Heterogaura from a species of Clarkia (Onagraceae)*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 5554—5557, 1986.
77. Sysma K. J., Schaal B. A. — *Phylogenetics of the Lisianthus skinneri (Gentianaceae) species complex in Panama utilizing DNA restriction fragment analysis*. Evolution 39: 594—608, 1985.
78. Sysma K. J., Smith J. F. — *DNA and morphology: comparisons in the Onagraceae*. Ann. Missouri Bot. Gard. 75: 1217—1237, 1988.
79. Urbánska K. (red.) — *Differentiation Patterns in Higher Plants*. Academic Press 1987.
80. Wagner W. H., Jr. — *Biosystematics and evolutionary noise*. Taxon 19: 146—151, 1970.
81. Wagner D. B., Furnir G. R., Saghai-Maroof M. A., Williams S. M., Dancik B. P., Allard R. W. — *Chloroplast DNA polymorphisms in lodgepole and jack pines and their hybrids*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84: 2097—2100, 1987.
82. Wendel W. — *New world tetraploid cottons contain Old World cytoplasm*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86: 4132—4136, 1989.
83. Wolf P. G., Hauffler C. H., Sheffield E. — *Electrophoretic Evidence for Genetic Diploidy in the Bracken Fern (Pteridium aquilinum)*. Science 236: 947—949, 1987.
84. Wolfie K. H., Gouy M., Yang Y-W., Sharp P. M., Li W-H — *Date of monocot-dicot divergence estimated from chloroplast DNA sequence data*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 84: 9045—9058, 1989.
85. Wyatt R., Odrzykoski I. J., Stoneburner A., Bass H. W., Galau G. A. — *Allopolyploidy in bryophytes: Multiple origins of Plagiomnium medium*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85: 5601—5604, 1988.
86. Zieliński R. — *An electrophoretic and Cytological study of hybridization between Aconitum napellus ssp. skerisorae ( $2n = 32$ ) and A. variegatum ( $2n = 16$ )*. I. Electrophoretic evidence. Acta Soc. Bot. Pol. 51: 453—464, 1982.
87. Zimmer E. A., Jupe E. R., Walbot V. — *Ribosomal gene structure, variation and inheritance in maize and its ancestors*. Genetics 120: 1125—1136, 1988.



ANNA RUDZIŃSKA-LANGWALD  
 GRAŻYNA GARBACZEWSKA

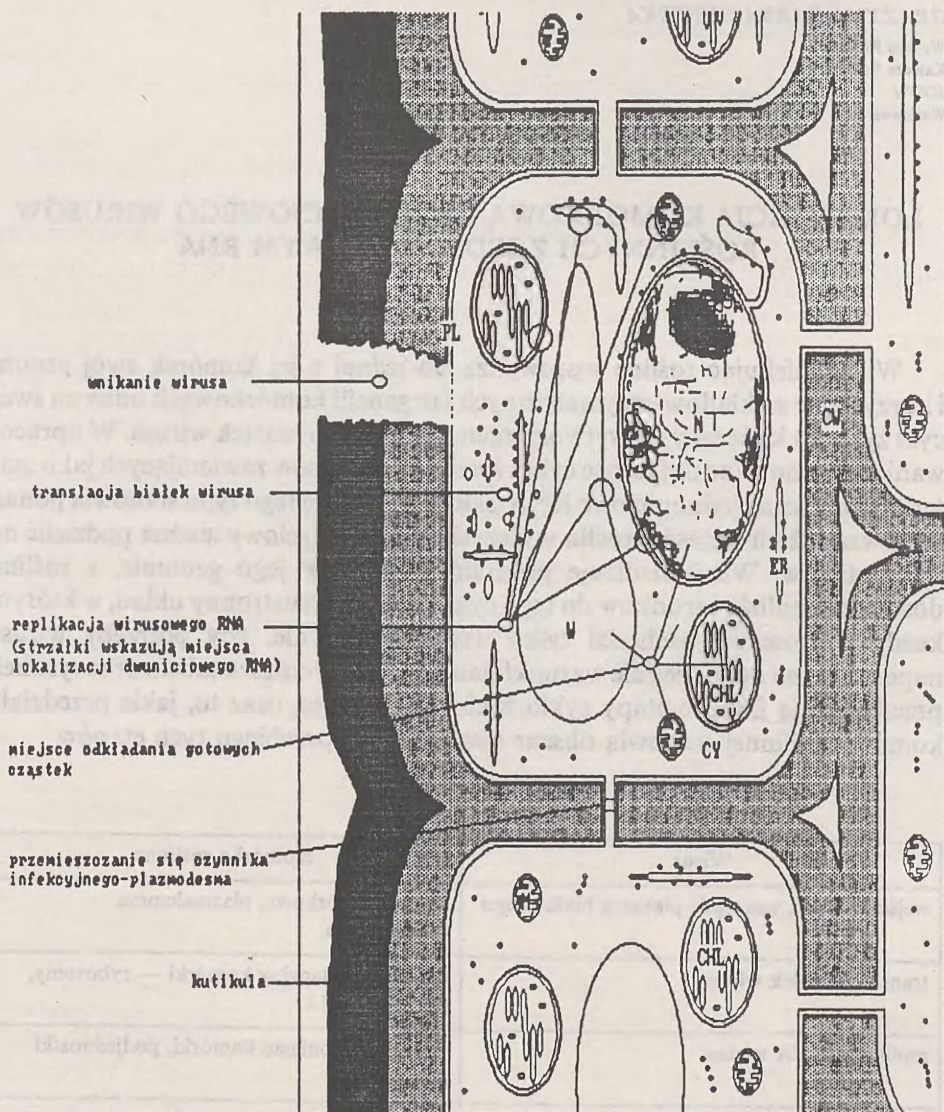
Wydział Rolniczy  
 Katedra Botaniki  
 SGGW  
 Warszawa

## LOKALIZACJA KOMÓRKOWA CYKLU ŻYCIOWEGO WIRUSÓW ROŚLINNYCH Z JEDNONICIOWYM RNA

Wirus infekując roślinę wprowadza do jednej z jej komórek swój genom i korzystając z układów enzymatycznych i organelli komórkowych odbywa swój cykl życiowy kończący się wytworzeniem potomnych cząstek wirusa. W opracowaniu zebrano dane dotyczące cyklu życiowego wirusów zawierających jako materiał genetyczny jednoniciowe RNA (ssRNA). Wirusy tego typu stanowią ponad 75% wszystkich wirusów roślin wyższych. Ich cykl życiowy można podzielić na kilka etapów. Wirus realizuje program zawarty w jego genomie, a roślina dostarcza podłoża i środków do tego cyklu. Jest to dwustronny układ, w którym każdy z procesów zachodzi tylko wtedy efektywnie, gdy potrzeby wirusa napotykają na odpowiednie warunki danej rośliny. Poniższa tabela oraz rysunek przedstawiają kolejne etapy cyklu życiowego wirusa, oraz to, jakie przedziały komórki roślinnej stanowią obszar niezbędny do przebiegu tych etapów

Wirus	Komórka roślinna
wejście wirusa, usunięcie płaszczki białkowej	ściana komórkowa, plazmalemma i cytoplazma
translacja białek wirusa	system translacyjny komórki — rybosomy, enzymy, tRNA
replikacja RNA wirusa	struktury błoniaste komórki, podjednostki polimerazy
odłożenie gotowych cząstek oraz białek kodowanych przez genom wirusa i stanowiących inkluzje	miejsce gromadzenia cząstek — cytoplazma, wakuola, jądro, mitochondria, chloroplasty
przemieszczanie się czynnika infekcyjnego do innych komórek	struktury umożliwiające transport — plazmodesmy

## Lokalizacja cyklu życiowego wirusów roślin z jednoniciowym RNA



CHL - chloroplast

CM - ściana komórkowa

CY - cytoplazma

ER - retikulum endoplazmatyczne

M - mitochondrium

N - jądro

PL - plazmalemma

W - wakuola

Poszczególne procesy związane z replikacją wirusa przystosowują metabolizm komórki do potrzeb cyklu życiowego wirusa. Wynikiem tego jest powstanie wtrątw obcych białek w protopląście oraz modyfikacja struktur komórkowych. Suma tych zjawisk przyczynia się do uruchomienia reakcji autoregulacyjnych i obronnych. Ta część reakcji rośliny została pominięta w powyższym opracowaniu.

#### WNIKANIE GENOMU WIRUSA DO KOMÓREK ROŚLINY GOSPODARZA

Proces wnikania cząstki wirusa do komórki roślinnej łączy się z pokonaniem bariery pomiędzy komórką gospodarza a środowiskiem zewnętrznym, jaką jest ściana komórkowa. Z racji specyfiki budowy roślin, przy rozprzestrzenianiu się infekcji z komórki do komórki w obrębie jednej rośliny wirusy napotykać na zupełnie inne uwarunkowania niż przy pierwotnym wnikaniu do rośliny. Przez proces wnikania genomu wirusa rozumiemy te zjawiska, które związane są z pierwotną infekcją rośliny i zachodzą w trakcie cyklu życiowego wirusa w pojedynczym osobniku rośliny tylko jeden raz. Stanowi to zasadniczą różnicę w sposobie infekcji wirus—roślina, w odróżnieniu od relacji wirus—zwierzę lub bakteriofag—bakteria, gdzie wniknięcie do każdej następnej komórki łączy się z powtarzającymi się procesami forsowania barier otaczających te komórki.

Wirusy roślin mogą być wprowadzane do komórek przez: 1) adsorbcję na powierzchni liścia (inokulacja mechaniczna); 2) owady posiadające zarówno aparat gębowy ssący jak i gryzący; 3) nicienie; 4) grzyby; 5) kaniankę; 6) szczepienie oraz 7) przez pyłek i nasiona.

Jednym z najbardziej kontrowersyjnych problemów związanych z wnikaniem wirusa do komórek roślin jest zagadnienie, co właściwie dostaje się do cytoplazmy — cała cząstka wirusa, czy też tylko sam kwas nukleinowy.

Jeżeli do cytoplazmy wnika tylko RNA wirusa, to usunięcie białek wirionu musi się odbywać poza protoplastem komórek. Proponowanymi miejscami odbiałczania RNA jest ściana komórkowa lub plazmolema. Wiązania hydrofobowe są związane z oddzieleniem wirusowego RNA od płaszcza białkowego *in vitro*. W komórce właśnie takimi hydrofobowymi miejscami mogą się okazać tłuszczowce kutikuli i/lub fosfolipidy plazmolemy. Hipoteza ta stała się szczególnie atrakcyjna w momencie, gdy stwierdzono, że wirusy pałeczkowate jednym końcem przyłączają się do kutikuli ściany komórkowej [27, 54]. S h a w [60, 61] stwierdził, że proces oddzielania białek płaszcza cząstki wirusa mozaiki tytoniu (tobacco mosaic virus) odbywający się na kutikuli jest procesem dwustopniowym. Pierwszy etap jest biofizyczny, a dalsze są czułe na temperaturę i są związane z działaniem enzymów. Niestety K u r t z - F r i s c h i H i r t h [42] nie stwierdzili drugiego, wrażliwego na temperaturę etapu dla wirusów polihedrycznych.

Obserwowano przyłączanie się wirionów również do powierzchni ściany komórkowej w przestrzeniach międzykomórkowych miększu asymilacyjnego [25]. W tego typu ścianach nie stwierdza się lipidów. Teren ten stanowi apoplast dostępny dla dyfuzji wody, a więc nie ma właściwości hydrofobowych.

Po oddzieleniu cząsteczki RNA od płaszcza białek kapsydu pozostaje konieczność przedostania się nagiego RNA przez znaczne obszary ściany komórkowej, co wydaje się procesem dość trudnym. Wprawdzie w zewnętrznych ścianach skórki występują ektodesmy — rozstępy nie zawierające żadnych utworów błoniastych ani plasmodesm, a wypełnione lipidami. Są to struktury pojawiające się i znikające w fibryllarnej konfiguracji ściany. Ze względu na swą budowę mogą stanowić kanały umożliwiające przejście wirionu lub RNA wirusa w kierunku protoplastu komórki. Proponowano je jako miejsca infekcji [5, 50, 65]. M e r k e n s i d e Z o e t e n (1979) nie stwierdzili cząstek wirusa X ziemniaka (potato virus X PVX) w ektodesmach ani w ścianie komórkowej, ale nie wyklucza to przemieszczania się nagiego RNA wirusowego w tych strukturach.

Innym prawdopodobnym miejscem oddzielania białek kapsydu jest plazmolema. Potwierdzają to badania nad izolowanymi fosfolipidami błon [39]. C o o k i n g [11] obserwował przyłączanie się jednym końcem cząstek TMV do błon protoplastów owoców pomidora. D u r n g h a m [16] proponował, że TMV i inne wirusy mogą być odbiałczane na plazmolemie dzięki różnicy stężeń jonów wapnia pomiędzy wnętrzem komórki a otoczeniem. Poza komórką stężenie jonów wapniowych wynosi średnio  $10^{-3}$  M jonów wapniowych, a w komórce stężenie to spada do  $10^{-7}$  M. Wiele wirusów jest stabilizowanych tymi jonami. Zmniejszenie ich stężenia może w istotny sposób wpłynąć na rozluźnienie wiązań wewnątrzcząsteczkowych. Jednak nie wszystkie wirusy wiążą jony wapnia. Nie wydaje się więc, by zjawisko to miało charakter uniwersalny.

Wydaje się, że wnikanie wirusów roślin do komórki nie jest związane ze specjalnymi miejscami adsorpcji na plazmolemie, jak to ma miejsce przy wnikaniu RNA bakteriofagów do komórek bakterii, czy też wirusów zwierzęcych do komórek ich gospodarzy [6]. Spośród wirusów roślin zawierających w cząstce ssRNA większość ma w budowie wirionu tylko jeden rodzaj polipeptydu (z wyjątkiem grupy wirusa ostrej mozaiki grochu — pea enation mosaic virus PEMV oraz comowirusów, w których cząstkach są dwa rodzaje białka). Nie występują również ani glikolipidy, ani glikoproteidy [52], które w wypadku wirusów zwierzęcych uznane zostały za receptory, dzięki którym cząstki wirusa adsorbują się na powierzchni komórek. Powierzchnia komórek roślinnych wygląda inaczej przede wszystkim ze względu na istnienie ściany komórkowej. Po drugie, nawet jeśli istnieje glikokaliks na powierzchni plazmolemy komórek roślinnych, to nie jest on specjalnie rozbudowany [32]. W tej warstwie z kolei występują receptory komórkowe powodujące adsorpcję cząstek wirusa na powierzchni komórek zwierzęcych i bakteryjnych.



Pewnych informacji na temat wnikania wirusów dostarczają badania protoplastów komórek roślinnych. Zaobserwowano tworzenie się pęcherzyków pinocytotycznych, wewnątrz których znajdowały się cząstki wirusa. Wskazuje to na pinocytozę jako możliwą drogę wnikania cząstek wirusów do cytoplazmy [7, 11, 38, 64]. Nie wiadomo jednak jak odbywa się przejście cząstki wirusa z pęcherzyka pinocytotycznego do cytoplazmy i co się z nią dzieje w trakcie tego procesu. Wyniki te przypominają w znacznym stopniu wnikanie do komórek zwierzęcych takich małych RNA wirusów jak picornawirusy. Jednak jest to zjawisko sztuczne, ponieważ nastąpiło usunięcie ściany komórkowej, a także z powodu dodania do pożywki związku uszkadzającego plazmolemę i powodującego powstawanie pęcherzyków pinocytotycznych poly-L-ornityny (PLO). Drugą możliwą drogą wnikania cząstek wirusa do protoplastów są uszkodzenia plazmolemy pod wpływem kompleksu wirus—PLO. Tak więc wnikanie cząstek wirusów roślinnych do protoplastów jest procesem biernym, głównie związanym z fizycznymi (elektrostatycznymi) siłami pomiędzy protoplastem a cząstką wirusa i to różni ten proces w porównaniu z wnikaniem picornawirusów.

Inną możliwością jest to, że do cytoplazmy dostaje się cała cząstka wirusa. Fakt ten pozostawałby w sprzeczności ze sposobem wnikania bakteriofagów i wirusów zwierzęcych. Jednak założenie, że dochodzi do kontaktu między cytoplazmą i całą cząstką wirusa, wydaje się logiczne, jeśli traktować różne sposoby rozprzestrzeniania się wirusów jako jednolity proces. Przenoszenie wirusa przez owady, nicienie i grzyby odbywa się w swym założeniu z uszkodzeniem komórki. Istnieje szereg pośrednich dowodów sugerujących, że do cytoplazmy wnika cała cząstka wirusa. Naświetlanie ultrafioletem inaktywuje kwasy nukleinowe, gdy nie są one osłonięte białkami. Naświetlanie UV roślin inokulowanych wirusem mozaiki tytoniu TMV hamowało infekcję, dopiero gdy wykonano je w trzy godziny po inokulacji. Natomiast jeśli inokulowano rośliny samym RNA wirusa, to osiągnięto efekt hamujący infekcję przy naświetlaniu ultrafioletem bezpośrednio po inokulacji. Z drugiej strony fakt, że możliwa jest inokulacja roślin nagim RNA wirusowym znaczy, że przy procesie wnikania wirusa do komórek nie jest potrzebne białko płaszczka. Możliwe jest jednak, że białko płaszczka potrzebne jest przy dalszych etapach cyklu życiowego wirusa, odbywającego się w cytoplazmie komórek. Obecność białek płaszczka lub odcinka RNA kodującego to białko jest niezbędna do namnażania się wirusa mozaiki lucerny (alfalfa mosaic virus AMV) oraz wirusów z grupy ilarvirus. Białko to prawdopodobnie umożliwia rozpoznanie RNA tych wirusów przez polimerazę.

Interesującą hipotezę wysuwa W i l s o n [70]. Łączy ona oddzielanie białek kapsydu od wirusowego RNA z dalszymi etapami cyklu życiowego. Przy końcu 5'RNA znajduje się informacja dotycząca tworzenia się polipeptydów polimerazy RNA. Odbiałczanie cząstki (dla wirusów nitkowatych) zaczyna się od końca 5', o czym wiemy z badań *in vitro*. Gdy nienaruszona cząstka wirusa wniknie do cytoplazmy, jej proces odbiałczania zaczyna się podobnie. Powoduje to odsłonięcie odcinka RNA kodującego polimerazę, przyłączenie się do niego

rybosomów i powstanie polimerazy. W tym czasie odbywa się odbiałczanie przesuwające się do końca 3'. Gdy ten proces zostanie zakończony, polimeraza przesuwa się do końca 3', hamuje translację i zaczyna się tworzenie nici (-)RNA. Tłumaczy to fakt, że polimeraza powstaje jako jedno z białek wczesnych i że powstaje jej stosunkowo mało. Machida i Kihō (1970) i Kihō (1970 i 1972) inokulowali tytoń TMV, którego RNA był znakowany pierwiastkami radioaktywnymi. Stwierdzili, że w cytoplazmie komórek znajduje się oplaszczony RNA wirusowy. Taki niecałkowicie odbiałczony RNA przyłącza się do rybosomów osadzonych na błonach retikulum endoplazmatycznego. Jeśli inokuluje się rośliny nagim RNA wirusa, to przyłączy się on wyłącznie do wolnych rybosomów, występujących w cytoplazmie.

#### PRODUKCJA BIAŁEK WCZESNYCH WIRUSA

Genom wirusa po wnikięciu do komórki roślinnej i uwolnieniu z białek kapsydu działa jako matryca do produkcji białek. Koduje on 4—7 polipeptydów w zależności od wirusa. Białka otoczki powstają w końcowej fazie cyklu życiowego. Natomiast wczesnym i kluczowym białkiem dla dalszych etapów cyklu życiowego wirusa jest polimeraza RNA zależna od RNA. Indukowaną przez infekcję wirusową aktywność polimerazy stwierdzili Zaitlin i wsp. [72], Zabel i wsp. [73] i Le Roy i wsp. [77].

Cząsteczka polimerazy jest stosunkowo duża. Jej wielkość często przekracza pojemność informacyjną wirusowego RNA. Dlatego przypuszcza się, że tylko jeden z polipeptydów wchodzących w skład polimerazy jest kodowany przez genom wirusa, pozostałe zaś przez genom komórki [33]. Wyniki te korespondują z tym co wiemy o replikacji produkowanej przez RNA bakteriofagi, takie jak Q $\beta$  i MS2. Polimeraza tych wirusów jest heterooligomerem zbudowanym z czterech podjednostek. Trzy z tych polipeptydów kodowane są przez genom bakterii, jeden przez genom wirusa. Polipeptydy kodowane przez komórkę bakterii w niezakażonych komórkach spełniają zupełnie inną rolę. Jeden z tych polipeptydów jest białkiem rybosomowym, odpowiedzialnym za rozpoznanie przez rybosomy regionów inicjalnych mRNA. Dwa pozostałe białka to czynniki elongacyjne uczestniczące przy wydłużaniu łańcucha polipeptydowego.

Polimeraza RNA wirusów roślinnych związana jest z frakcją membranową komórki. Ten związek enzymu z błonami jest również charakterystyczny dla analogicznej polimerazy produkowanej przez wirusy zwierzęce — pikornawirusy. Fakt związania polimerazy z błonami sugeruje, że polipeptydy wchodzące w jej skład i kodowane przez roślinę są białkami błon komórkowych.

Produkcja białek na matrycy wirusowego RNA odbywa się z użyciem rybosomów cytoplazmatycznych, gdyż większość tego typu translacji jest podatna na cykloheksamid, a nie podatna na chloramfenikol.

Zostało jednak udowodnione w warunkach *in vitro*, że białka otoczki TMV mogą być syntetyzowane na rybosomach 70S pochodzących zarówno z *Escherichia coli* [29], jak i na rybosomach chloroplastów szpinaku [9].

W trakcie infekcji wzrasta produkcja rybosomów. Lafléthe i Bové [43] stwierdzili wzrost inkorporacji  $H^3$  tymidyny do jąderka komórek podlegających infekcji wirusem żółtej mozaiki rzepy (turnip yellow mosaic virus TYMV) i TMV. Wzrost ilości rybosomowego RNA przypada na okres przed powstaniem potomnych cząstek wirusa [24].

Wczesnymi zmianami zachodzącymi w komórkach roślin zainfekowanych przez większość wirusów roślinnych jest pojawienie się w cytoplazmie regionów bogatych w polisomy oraz w cysterny szorstkiego retikulum endoplazmatycznego.

#### REPLIKACJA WIRUSOWEGO RNA

Polimeraza RNA specyficzna dla replikacji wirusowego genomu jest enzymem związanym z błonami. Wiele grup wirusów roślinnych powoduje powstawanie w komórce pęcherzyków w wyniku inwaginacji błon różnych struktur komórkowych. Pęcherzyki te zawierają wewnątrz fibryllarny materiał. W niektórych wypadkach stwierdzono, że jest to jedno- i dwuniciowy RNA. Szczepy wirusa żółtej mozaiki rzepy (turnip yellow mosaic virus TYMV) powodują tworzenie się pęcherzyków będących wpukleniem zewnętrznych błon chloroplastu. Pęcherzyki te nie tracą kontaktu z błoną, z której powstały i otwierają się szyjką do cytoplazmy. Hattai i Matthews [36] proponują kolejne zmiany w komórkach chińskiej kapusty wywołane namnażaniem się TYMV: Najwcześniej tworzą się pęcherzyki w peryferycznych częściach chloroplastów. W cytoplazmie przylegającej do chloroplastów pojawiają się małe ilości błon o nieznanym pochodzeniu, prawdopodobnie retikulum endoplazmatycznego. W chloroplastach zwiększa się liczba pęcherzyków. Jednocześnie w cytoplazmie przylegającej do zmieniających się chloroplastów pojawiają się cysterny retikulum endoplazmatycznego, gładkie do strony chloroplastu i z rybosomami po stronie przeciwnej. W następnej fazie cysterny te zanikają, a pojawiają się przestrzenie cytoplazmy przepuszczalne dla elektronów. W przestrzeniach tych znajduje się białko otoczki wirusa. W dalszych etapach następuje skupianie się chloroplastów w większe agregaty, a w cytoplazmie pojawiają się cząstki wirusa. Autorzy sugerują, że do cytoplazmy wydostają się z pęcherzyków replikacyjnych potomne nici (+) wirusowego RNA. W trakcie przesuwania się RNA przez szyjkę pęcherzyka zostaje ono opłaszczane przez białka kapsydu zgromadzone w cytoplazmie. W ustawianiu podjednostek białkowych przy montażu cząstek uczestniczy błona tworząca szyjkę pęcherzyka.

Poniższa tabela obrazuje udział błon różnych struktur komórkowych w powstawaniu pęcherzyków.

Grupa wirusów	Występowanie wirusów i ich pochodzenie	
<b>cząstki o symetrii helikalnej</b>		
<i>genom wirusa zawarty w jednej cząsteczce RNA</i>		
<b>Tobamowirusy</b>		
długość cząsteczki 300nm to bacco mosaic virus MTV	Brak doniesień o pęcherzykach zawierających RNA	—
<b>Potexwirusy</b>		
długość cząsteczki 480—580nm potato virus X	Brak doniesień o pęcherzykach zawierających RNA	—
<b>Carlawirusy</b>		
długość cząsteczki 620—690nm potato virus M PVM potato virus Y PVS	Brak doniesień o pęcherzykach zawierających RNA	—
<b>Potywirusy</b>		
długość cząsteczki 680—900nm potato virus Y PVY	W cytoplazmie pojedyncze pęcherzyki niewiadomego pochodzenia	
<b>Closterowirusy</b>		
długość cząsteczki 1200—2000nm beet yellows virus BYV	Pęcherzyki w grupach otoczone zewnętrzną błoną. Pochodzenie ich nie jest jasne [17, 18]	+
<i>genom dwudzielny</i>		
<b>Tobrawirusy</b>		
długość cząsteczki 185 i 48nm (można znaleźć również cząsteczki o dł. 100nm) tobacco rattle virus TRV pepper ringspot virus PRV	Pęcherzyki pochodzące z błon mitochondriów [34]	+
<i>genom trójdzielny</i>		
<b>Hordeiwirusy</b>		
długość cząsteczki 110nm, 126nm i 148nm barley stripe mosaic virus BSMV	Pęcherzyki pochodzące z inwaginacji błon otaczających chloroplast [13, 53]	+
<b>cząstki o symetrii icosahedrycznej</b>		
<i>genom wirusa zawarty w jednej cząsteczce RNA</i>		
<b>Tombuswirusy</b>		
średnica cząstki 30nm tomato bushy stunt virus TBSV	Duże owalne, wielopęcherzykowe struktury pochodzące z peroksyzomów [58] i mitochondriów [59]	+
<b>tobacco necrosis virus</b>		
średnica cząstki 25—30nm	Brak doniesień o pęcherzykach zawierających RNA	—
<b>Sobemowirusy</b>		
średnica cząstki 30nm southern bean mosaic virus	Pęcherzyki pochodzące z retikulum endoplazmatycznego [69]	+
<b>velvet tobacco mottle virus virusoid</b>		
	Dwuniciowe RNA wirusa obserwowane w cytoplazmie, nie otoczone błonami [21]	
<b>Tymowirusy</b>		
średnica cząstki 30nm turnip yellow mosaic virus TYMV	Pęcherzyki pochodzące z zewnętrznej błony chloroplastu [45]	+

<b>Luteowirusy</b>		
średnica cząstki 25nm barley yellow dwarf v. BYDV beet western yellows v. BWYV potato leafroll virus PLRV	BYDV ma dwie podgrupy: 1. jednoblonowe pęcherzyki w cytoplazmie i cząstki wirusa najwcześniej obserwowane w cytoplazmie, 2. pęcherzyki dodatkowo otoczone błoną retikulum endoplazmatycznego [28] BWYV — pęcherzyki pochodzące z retikulum endoplazmatycznego [19]. PLRV — pęcherzyki otoczone pojedynczą błoną w cytoplazmie oraz otoczone błonami retikulum endoplazmatycznego i w przestrzeni perynuklearnej [62]	+
<b>maize chlorotic dwarf virus</b> średnica cząstki 30nm	Brak doniesień o pęcherzykach zawierających RNA	—
<i>genom dwudzielnny</i>		
<b>pea enation mosaic virus</b> średnica cząstek 29 i 34nm	Pęcherzyki pochodzące z wewnętrznej błony jądrowej przemieszczają się do cytoplazmy dodatkowo otoczone zewnętrzną błoną jądrową [7]	+
<b>Comowirusy</b> średnica cząstek 25nm broadbean true mosaic virus BBTMV cowpea mosaic virus CMV	Jednoblonowe pęcherzyki których, pochodzenie jest niepewne: diktiosomy, retikulum endoplazmatyczne lub zewnętrzna błona jądrowa [51]	+
<b>Nepowirusy</b> średnica cząstek 28nm	Pochodzenie pęcherzyków jak comowirusów	+
<i>genom trójdzielny</i>		
<b>Cucumowirusy</b> średnia cząstek 30nm cucumber mosaic virus CMV tomato aspermy virus TAV peanut strunt virus PSV	Pęcherzyki powstają przez wpuklenie się tonoplastu do wakuoli [35] CMV i TAV [41] PSV. Ponieważ obecne są również pęcherzyki jednoblonowe w cytoplazmie, możliwe jest, że powstają przez oderwanie się z retikulum endoplazmatycznego i migrują do tonoplastu, z którym się łączą. W dwóch wypadkach powstają z diktiosomów: TAV w <i>Chrysanthemum murifolium</i> [46] i CCMV w <i>Nicotiana glutinosa</i> [26]	+
<b>Bromowirusy</b> średnica cząstek 26nm brom mosaic virus BMV cowpea chlorotic mottle V CCMV	Pęcherzyki pochodzące z błon retikulum endoplazmatycznego i błony jądrowej, występujące z przestrzeni wewnątrz retikulum [8, 40]	+
<b>Ilarwirusy</b> średnica cząstek 27nm, 30nm, 35nm tobacco streak virus TSV	Jednoblonowe pęcherzyki pochodzące z diktiosomów lub retikulum endoplazmatyczne [10]	+
<b>alfalfa mosaic virus</b> cząstki pałeczkowate	Jednoblonowe pęcherzyki w cytoplazmie i na tonoplaście [15, 57]	+

Przegląd ten wskazuje, że właściwie wszystkie rodzaje błon występujące w protoplaście komórki mogą uczestniczyć w procesach replikacji wirusa. W dużej mierze jest to zależne od wirusa, gdyż obserwuje się, że ten sam wirus w różnych gatunkach roślin gospodarzy powoduje powstanie podobnych zmian cytologicznych. Jednak istnieją i takie przykłady, gdzie określony wirus w różnych gospodarzach powoduje proliferację różnych rodzajów błon komórki.

Pęcherzyki zachowujące ciągłość z błoną, z której powstały, mogą funkcjonować tak jak opisano dla TYMV. Otwierają się one kanalikiem do cytoplazmy, niezależnie od tego z jakich struktur pochodzą. Jest to logiczne ze względu na fakt translacji wirusowego RNA przez rybosomy cytoplazmatyczne. Jednak pęcherzyki wytwarzane przez luteowirusy podlegają licznym metamorfozom i ich mechanizm działania nie jest już tak oczywisty. Natomiast jednobłonowe pęcherzyki np. comowirusów, powstające przez oderwanie się fragmentu retikulum endoplazmatycznego lub od diktiosomu, stanowią zamkniętą przestrzeń ograniczoną ciągłą błoną. Wydaje się, że uwolnienie się z pęcherzyka produktów replikacji powinno się odbywać przez rozerwanie błony otaczającej pęcherzyk i co za tym idzie zniszczenie go. Dla pięciu grup wirusów roślinnych pęcherzyków w komórkach zainfekowanych nie znaleziono. Są to przede wszystkim wirusy o symetrii helikalnej i genomie zawartym w jednej nici. Przyczyny tego mogą być dwojakie. Najprostszym wytłumaczeniem tego byłaby niedostatecznie wnikliwa obserwacja lub niewłaściwy czas tej obserwacji. Z drugiej strony dla TMV nie opisano struktur pęcherzykowatych, a wirus ten był badany bardzo wnikliwie i przez wielu badaczy. Wiemy, że polimeraza indukowana przez TMV jest związana z błonami, na których występują rybosomy. Powodowane przez TMV zmiany w komórkach (poza agregatami cząstek wirusa) ograniczają się do powstania regionów cytoplazmy zawierających kompleks rybosomów, cystern retikulum endoplazmatycznego, małe pęcherzyki lub wakuole, białka wirusa w granularnej lub tubularnej formie oraz niewielkie ilości cząstek wirusa. Wśród struktur tych nie zaobserwowano pęcherzyków z fibryllarnym materiałem. W wypadku velvet tobacco mottle virus (VTMV) zaobserwowano jednoniciowy i dwuniciowy RNA występujący bezpośrednio w cytoplazmie, nie otoczony żadnymi błonami. Tak więc wydaje się, że nie dla wszystkich wirusów roślinnych mających ssRNA występuje model replikacji z pęcherzykami tworzonymi z błon komórek roślin gospodarzy.

#### PRZEMIESZCZANIE SIĘ WIRUSÓW W ROŚLINIE

Cykl wirusów zwierzęcych i bakteriofagów kończy się lizą komórki, w której się namnażały. Uwolnione do płynu ustrojowego lub podłoża cząstki wirusów są zdolne do infekowania następnych komórek. W cyklu życiowym omawianych wirusów roślinnych nie występuje ten etap. W całym okresie infekcji rośliny wirus nie opuszcza jej symplastu. Korzysta on z połączeń wewnątrzsymplastowych jako dróg transportu i inwazji następnych komórek. Przemieszczając się

z komórki do komórki, korzysta z istniejących pomiędzy komórkami plasmodesm. Taki typ rozprzestrzeniania się nazywamy transportem z komórki do komórki lub krótkodystansowym. Drugi rodzaj transportu to transport długodystansowy z wykorzystaniem tkanek przewodzących.

Najszerzej uznawaną i prawdopodobnie jedyną drogą translokacji wirusa z komórki do komórki są plasmodesmy. Liczba tych struktur w ścianie komórkowej oraz ich umiejscowienie wpływa na kierunek rozprzestrzeniania się infekcji. Ich średnica wynosi 25—100 nm. W najprostszym typie występuje tylko cytoplazma podstawowa. Zwykle budowa plasmodesmy jest bardziej złożona. Według jednego z modeli przez światło plasmodesmy przebiega desmotubula będąca przekształceniem siateczki retikulum endoplazmatycznego [56]. Powoduje to zawężenie światła. W wielu wypadkach średnica cząstki wirusa lub grubość cząstek nitkowatych przekracza szerokość przestrzeni wewnątrz plasmodesmy dostępnej do penetracji przez te cząstki. Wiele danych wskazuje ponadto, że proces przechodzenia substancji przez plasmodesmy nie jest mechaniczny, gdyż obserwacja struktury zwężonych części plasmodesmy wskazuje, że przy końcach występuje skomplikowany mechanizm przepustowy decydujący, jakiej wielkości i jakie cząstki mogą być transportowane przez światło plasmodesmy.

Cytologiczne obserwacje wskazują, że wiele grup wirusów zmienia strukturę plasmodesm. Comowirusy i nepowirusy powodują powstanie tubuli, wewnątrz których ułożone są cząstki wirusa. Kompleksy wirusowych cząstek i tubul znajdują się w sąsiedztwie plasmodesmy, wchodząc do jej środka jednym końcem i konfiguracji tej towarzyszy przerost ściany komórkowej. Następuje więc modyfikacja kształtu plasmodesmy. Również inne wirusy modyfikują kształt i wielkość plasmodesm, szczególnie powiększając przestrzeń znajdującą się w środkowej jej części. Łączy się to zwykle z występowaniem cząstek w ich świetle.

Jednak dla wielu wirusów, mimo licznych prac związanych z cytologicznymi zmianami powodowanymi przez te wirusy, nie zaobserwowano ich cząstek w plasmodesmach. Dobrym przykładem jest tutaj TMV.

Abstrahując od morfologii samych plasmodesm, coraz więcej mamy danych o tym, że transport wirusów jest związany ze specyficznymi białkami kodowanymi przez wirusa. Pierwsze sugestie dotyczące istnienia wirusowych białek transportowych dotyczyły badań nad mutantami wirusa mozaiki tytoniu TMV. Przemieszczanie się cząstek wirusa w roślinie było zależne od tego, w jakich temperaturach następował rozwój roślin. Wirus rozprzestrzeniał się na całą roślinę, gdy rośliny rosły w niskich temperaturach, a nie przemieszczał się, gdy wzrost roślin zachodził w wysokich temperaturach. Zależne to było od kodowanego przez genom wirusa białka, które było wrażliwe na temperaturę [55]. Mutanty mające upośledzony w wyższych temperaturach transport miały zmienioną sekwencję aminokwasów w białku 30Da w stosunku do szczepu dzikiego. Białku temu zaczęto przypisywać funkcje transportowe.

Oczyszczono i zbadano szereg różnych białek, którym przypisuje się funkcje transportowe. Są to: 30 kDa białko produkowane przez wirus mozaiki tytoniu (TMV), 32 kDa białko produkowane przez wirus mozaiki lucerny (ALMV, 48/58 kDa białka produkowane przez comowirusy, 35 kDa białko produkowane przez wirusa nekrotycznej mozaiki koniczyny czerwonej (red clover necrotic mosaic virus RCNMV) oraz 46, 42 i 38 kDa białka produkowane przez wirusa mozaiki kalafiora CaMV. (CaMV jest wirusem ds DNA, dane o białku transportowym tego wirusa przytaczane są tu ze względu na analogie z RNA wirusami). Porównawcze badania białek transportowych produkowanych przez ALMV, brome mosaic virus BMV i TMV, wskazują na brak homologii w sekwencji aminokwasów między tymi białkami, mimo ich zbliżonej wielkości [12]. Może to być wynikiem gatunkowej odrębności roślin gospodarzy dla wirusów produkujących te białka. Z drugiej jednak strony może również odzwierciedlać różnice w funkcjonowaniu białek transportowych. H u l l i A t a b e k o v i T a l i a n s k y [37] podzielili wirusy roślinne na szereg odrębnych grup biorąc pod uwagę właściwości białek transportowych.

Białko 30 kDa produkowane przez TMV lokalizowane jest specyficznie w świetle plasmodesm [66]. Białka transportowe produkowane przez comowirusy specyficznie lokalizowane są wokół tworzących się tubul z wirusami. Ponieważ tubule te wchodzą w kontakt z plazmodesmami, zasocjowane z nimi białko również znajduje się w plasmodesmach. 32 kDa białko produkowane przez CaMV lokalizowane jest w ścianie komórkowej dookoła zmodyfikowanych plasmodesm [49]. Białko transportowe 32 kDa produkowane przez ALMV lokalizowane są w blaszce środkowej, nie tworząc specyficznego zgrupowania przy plasmodesmach [30, 63]. Ponadto białko 30 K TMV i białko produkowane przez wirusa mozaiki ogórka (Cucumber Mosaic Virus CMV) lokalizowane jest na terenie jądra.

Mechanizm działania wirusowych białek transportowych w chwili obecnej jest nie w pełni zrozumiały. A t a b e k o v i D o r o k h o v [1] sugerowali dwa możliwe sposoby działania tych białek. Jeden z nich polegałby na stworzeniu przepustowości plasmodesm dla cząstek wirusa. Rzeczywiście białko 30 kDa produkowane przez TMV w roślinach transgenicznych zmienia przepuszczalność plasmodesm, pozwalając na przenikanie przez nie znacznie większych cząstek desktranów [71]. Drugi mechanizm polegałby na modyfikacji lub zahamowaniu reakcji komórki na wirusową replikację, reakcji zmierzającej do ograniczenia wirusa do jednej komórki. Lokalizacja białek transportowych w jądrze wskazuje na realność tej ewentualności. Niezależnie od mechanizmu działania samych białek transportowych kodowanych przez genom wirusa transport wirusa wymaga ekspresji dwóch genomów: wirusowego i roślinnego. Białka transportowe powinny znaleźć w roślinie pewne kodowane przez nią faktory po to, aby móc wypełnić swoją funkcję transportową.

Poszczególne wirusy mogą sobie wzajemnie pomagać w transporcie, nawet jeśli należą do odrębnych grup transportowych. Pomocniczy wirus wprowadzo-



ny do rośliny zmienia rodzaj infekcji, np. wirus X ziemniaka (potato virus X PVX) pomaga TMV przemieszczać się w roślinach pomidora mających gen odporności *m2* na wirusa mozaiki tytoniu.

Wydaje się ponadto, że w symplacie rośliny, mimo połączenia poszczególnych protoplastów plasmodesmami, istnieją pewne regiony wydzielone. *Cloris striate* mosaic virus CSMV namnaża się w liściach *Cloris* z wyjątkiem komórek epidermy [22]. Wirus liściozwoju ziemniaka PLRV jest wirusem ograniczonym do łyka. Namnaża się on w mających jądro komórkach łyka i może się przemieszczać w całej roślinie w obrębie łyka. Znaczy to, że jest on w stanie przechodzić przez plasmodesmy łączące komórki łyka. Znany jest również fakt, że PLRV namnaża się w protoplastach pochodzących z komórek miękiszu asymilacyjnego. Jednak w warunkach całej rośliny wirus ten nie namnaża się poza łykiem. Sądzi się [3, 4], że wspólna inokulacja wirusem Y ziemniaka (potato virus Y PYV) i PLRV powoduje przemieszczanie się PLRV do komórek mezofilu.

Drugim typem przemieszczania się wirusów jest transport na duże odległości. Istnieją dwie możliwe drogi tego transportu: przez elementy łyka i przez elementy drewna. Główną drogą tego typu transportu wydaje się łyko. W rurek sitowych obserwowano cząstki różnych wirusów. Raczej do rzadkości należą dane o przemieszczaniu się wirusów przez elementy drewna jak to ma miejsce przy wirusach przenoszonych przez chrząszcze. O ile transport w łyku odbywa się w obrębie symplastu rośliny, o tyle transport przez cewki i naczynia to transport apoplastowy. Nie ma jednak żadnych informacji jak wirusy dostają się do apoplastu i jak przemieszczają się z drewna do protoplastów komórek podtrzymujących ich replikację.

Dotychczas nie stwierdzono, co stanowi czynnik przemieszczany zarówno w trakcie transportu krótko- jak i długodystansowego. Najprościej jest założyć, że są to cząstki wirusa. Występowanie cząstek wirusa w plasmodesmach i w świetle rurek sitowych wydaje się potwierdzać to założenie. Jednak doświadczenia z TMV i ALMV wskazują, że infekcja sąsiednich komórek odbywa się zanim w komórce stanowiącej źródło infekcji pojawi się znacząco duża liczba cząstek wirusa. Ponadto mutanty wirusów, które nie mają zdolności tworzenia całkowitych cząstek, mogą przemieszczać się z komórki do komórki. W tej sytuacji przemieszczać się powinien nagi RNA wirusa. Jednak taki RNA jest bardzo podatny na trawienie endonukleazami znajdującymi się w komórce. Mutanty takie nie dają na ogół infekcji systemicznej, gdyż upośledzony jest ich transport na długie odległości. A t a b e k o v i D o r o k h o v [1] sugerowali, że transportowi podlegają wirusowo specyficzne rybonukleoproteidy inne niż cząstki wirusa.

Zagadnienia transportu wirusa w obrębie jednej rośliny są nadal jeszcze słabo poznane. Wiele faktów wskazuje jednak na to, że dwa rodzaje tego transportu — z komórki do komórki i transport na dalsze odległości podlegają innym uwarunkowaniom i stanowią dwa odrębne procesy.

## INKLUZJE BIAŁEK WIRUSOWYCH

W trakcie wirusowej replikacji pojawiają się inkluzje różnego rodzaju białek. Ze względu na specyficzne kształty tych inkluzji i miejsce ich odkładania stanowią one charakterystyczną cechę dla infekcji danym wirusem lub grupą wirusów [45]. Jednak obecnie nie wiadomo jaka jest funkcja tych białek.

Do najbardziej znanych należą inkluzje cylindryczne tworzone przez grupę potywirusów. Są to struktury utworzone z płaskich agregatów białkowych tworzących arkusze. Arkusze takie są nieco zgięte i w klasycznym wypadku przylegają krawędziami do siebie, tworząc strukturę na kształt koła statku parowego. Na przekrojach poprzecznych wygląda to jak rodzaj rozety. W innych wypadkach struktury te nie są tak regularne i tworzą różnego rodzaju zwitki lub płaskie struktury. Białka inkluzji cylindrycznych są kodowane przez genom wirusa, nie są jednak białkami kapsydu. Obserwowano kontakt inkluzji cylindrycznych z plazmolemą, do której inkluzje te przylegają jednym końcem. Obserwacja ta była przyczyną łączenia funkcji białek inkluzji z białkiem transportowym [44], co jednak dotychczas nie zostało potwierdzone.

Wirus X ziemniaka (potato virus X PVX) wywołuje powstawanie specyficznych utworów składających się z białkowych płaszczyzn, na których osadzone są lub nie kuliste granule. Białka te nie są spokrewnione z białkami otoczki, a funkcja ich nie jest znana. Inkluzje białkowe pojawiają się w protoplaście komórki później niż cząstki wirusa i to sugeruje, że nie są istotne dla procesu replikacji.

Inne wirusy należące do grupy potexwirusów (argentine plantago virus APV i boussingaulta mosaic virus BMV) powodują powstanie charakterystycznych inkluzji krystalicznych o regularnym wzorze i nieznanym składzie chemicznym [31]. Występują one nie tylko na terenie cytoplazmy, ale również w jądrze komórki. Powstawanie inkluzji białkowych na terenie jądra jest również charakterystyczne dla innych wirusów, np. potywirusów. Wtrąty te złożone są z ciemno barwiących się globularnych lub bezkształtnych złożeń zgrupowanych po kilkanaście razem. Rzadziej występują regularne układy tubul jak to ma miejsce przy inkluzjach jądrowych powodowanych przez wirusa żółtej mozaiki selera (celery yellow mosaic virus CYMV) i wirusa mozaiki selera (celery mosaic virus CMV).

Powyższy przegląd nie wyczerpuje różnorodnych form inkluzji powodanych przez infekcję wirusową, a nie będących zmienionymi organellami komórki i cząstkami wirusa. Niekiedy występowanie inkluzji białkowych towarzyszy określone etapowi namnażania się, np. ciemne pasma występujące pomiędzy skupiskami cystern retikulum endoplazmatycznego powodowanymi przez TMV. W innych wypadkach inkluzje białkowe gromadzą się w wydzielonych przestrzennie regionach protoplastu komórki. Czas pojawiania się ich jest również różny. Przeważnie jednak pojawiają się w późniejszych etapach cyklu życiowego wirusa.

Porażenie wieloma wirusami nie powoduje tworzenia żadnych inkluzji białkowych, np. carlawirusy.

Wiadomo, że inkluzje cylindryczne potywirusów są kodowane przez genom wirusa. Nie można jednak wykluczyć, że inkluzje towarzyszące infekcji wywołanej przez inne grupy wirusów mogą być kodowane przez genom komórki, a odkładanie ich jest efektem zaburzeń w procesach regulacji produkcji białek rośliny pod wpływem infekcji wirusem.

### INKLUZJE CZĄSTEK WIRUSA

W wyniku procesów namnażania się wirusa w cytoplazmie powstają białka kapsydu wirusa i do cytoplazmy uwalniane są nici pozytywowe wirusowego RNA. Z tych dwóch komponentów powstają gotowe cząstki wirusa. W bezpośrednim sąsiedztwie cytoplazmatycznych struktur związanych z poprzednimi etapami cyklu życiowego występują cząstki wirusa. Liczba cząstek wytworzonych w komórce zależna jest od izolatu wirusa oraz wzajemnych relacji roślina—wirus.

Dalszym etapem jest tworzenie się inkluzji zbudowanych z gotowych cząstek. Inkluzje takie mogą się składać z wielu cząstek i ich powstanie ma tylko jeden cel, jakim jest zgromadzenie cząstek potrzebnych do porażenia innych roślin. Proces eskalacji porażenia jest procesem związanym z przypadkowymi zdarzeniami takimi, jak żerowanie wektorów, uszkodzenia mechaniczne, ocieranie się sąsiednich roślin o siebie itp., doprowadzającymi do przeniesienia cząstek wirusa z uszkodzonych komórek na inne rośliny.

W protoplaście komórki wiele wirusów tworzy regularne układy jednakowo odległych od siebie cząstek, ustawionych równolegle w wypadku wirusów pałeczkowatych i nitkowatych lub tworzących regularny układ przestrzenny w wypadku wirusów kulistych. Przyjęto nazywać takie układy inkluzjami krystalicznymi, choć w rzeczywistości nie są to kryształy. Inkluzje krystaliczne mogą mieć pokaźne rozmiary. Obserwowane w mikroskopie świetlnym inkluzje krystaliczne cząstek TMV miały długość 300  $\mu\text{m}$ . W porównaniu z długością cząstki TMV (300 nm) jest to bardzo duża wartość, porównywalna w rzędzie wielkości z rozmiarami jądra komórkowego. Jednak większości inkluzji nie można zaobserwować z zastosowaniem mikroskopu świetlnego, gdyż ich wielkość ma wartość mniejszą od zdolności rozdzielczej tego mikroskopu.

Układ cząstek wirusa w inkluzji krystalicznej jest charakterystyczny dla danego wirusa. Inkluzje tworzone przez cząstki TMV składają się z warstw grubości jednej cząstki. Ułożenie cząstek w każdej następnej warstwie jest skośne w stosunku do poprzedniej i tworzy układ przypominający ości w szkielecie ryby. Dla carlawirusów charakterystyczne są inkluzje powstałe z pęczków cząstek ułożonych równolegle względem siebie. W sąsiedztwie może występować wiele takich inkluzji ustawionych jedna za drugą. Daje to efekt prążkowania, przy dużych inkluzjach jest on widoczny w mikroskopie świetlnym. Wirus mozaiki ogórka (CMV cucumowirus) tworzy układy krystaliczne cząstek stanowiące sześcioboczną strukturę.

Niektóre szczepy TMV nie formują regularnych inkluzji. Gromadzą się wtedy grupy bezładnie rozrzuconych cząstek.

Najczęstszym miejscem gromadzenia się cząstek jest cytoplazma komórki. W niej gromadzone są inkluzje cząstek takich wirusów jak carlawirusy, hordeiirusy, bromowirusy, i inne. Comowirusy i nepowirusy tworzą tubule, wewnątrz których występują kuliste cząstki wirusa, natomiast cząstki hordeiirusów gromadzą się przez przyłączanie się jednym końcem do błony zewnętrznej otoczki chloroplastów. Wirus M ziemniaka (PVM carlawirus) tworzy inkluzje, w których cząstki jednym końcem przylegają do tonoplastu. Niektóre potywirusy tworzą wąskie mostki cytoplazmatyczne na terenie wakuoli, w których pomiędzy tonoplastem występuje jedna warstwa wirionów.

Innym, częstym miejscem akumulacji cząstek jest wakuola. Wspomniany wirus mozaiki ogórka (CMV) powoduje powstawanie krystalicznych układów cząstek wirusa w wakuoli, podczas gdy w cytoplazmie cząstki CMV tworzą bezładny układ [59]. W niektórych wypadkach cząstki wirusa mogą być gromadzone w jądrze komórki, np. parakrystaliczne inkluzje cząstek hordeiirusów, tobamowirusów i luteowirusów. TMV tworzy agretaty cząstek w chloroplastach, a niektóre tombuswirusy w mitochondriach.

Wszystkie zmiany zachodzące w komórkach porażonych przez wirusy stanowią pewien wspólny zespół zjawisk. Wprawdzie w wielu wypadkach zmiany związane z wczesnymi etapami cyklu życiowego wirusa, jak np. wytworzenie regionu bogatego w rybosomy, zanikają w komórkach, w których występują już inkluzje cząstek wirusa. Jednak deformacje organelli komórkowych związane z pojawieniem się pęcherzyków replikacyjnych trwale zmieniają wygląd organelli. W komórkach są równocześnie rezultaty różnych etapów cyklu życiowego wirusów. Taki zmieniony wygląd komórki może być obserwowany w mikroskopie świetlnym i pierwsze doniesienia pochodzą z początków naszego wieku.

Dodatkowo na zmiany w strukturze komórek powstałe bezpośrednio z namnażania się w nich wirusa nakładają się takie, które są reakcją odpornościową rośliny na porażenie. Należą tu również zmiany w strukturze chloroplastów związane z reakcją chlorotyczną lub związane z powstawaniem nekrozy. W sumie wszystkie te zmiany składają się na cytopatologiczny obraz i sklasyfikowanie poszczególnych zmian jest trudnym zadaniem.

#### LITERATURA

1. A t a b e k o v J. G., D o r o k h o v Y. L. — *Plant virus-specific transport function and resistance of plants to viruses*. Adv. Virus Res. 29, 313—364, 1984.
2. A t a b e k o v J. G., T a l i a n s k y M. E. — *Expression of a plant virus coded transport function of different viral genomes*. Adv. Virus Res. 38, 201—248, 1990.
3. B a r k e r H. — *Invasion of non-phloem in Nicotiana clevelandii by potato leafroll virus is enhanced in plants also infected with potato virus Y potyvirus*. J. Gen. Virol. 68, 1223—1227, 1987.
4. B a r k e r H. — *Specificity of the effect of sap-transmissible viruses in increasing the accumulation of luteovirus in coinfecting plants*. Ann. App. Biol. 115, 71-78, 1989.

5. Brants D.H. — *The susceptibility of tobacco and bean leaves to tobacco mosaic virus infection in relation to the condition of ectodesmata*. Virology 23, 588—594, 1964.
6. Bukrinskaya A.A.G. — *Penetration of viral genetic material into host cell*. /Adv. Virus Res. 141—203, 1982.
7. Burges J.Motoyoshi F., Fleming E.N. — *The mechanism of infection of plant protoplasts by viruses*. Planta 112, 323—332, 1973.
8. Burges J., Motoyoshi F., Fleming E.N. — *Structural changes accompanying infection of tobacco protoplasts with two spherical viruses*. Planta 117, 133—144, 1974.
9. Camarino G., Savi A., Ciferri O. — *A chloroplast system capable to transport heterologous mRNAs*. FEBS Lett. 150, 94—98, 1982.
10. Christie R.G., Edwardson J.R. — *Light and electron microscopy of plant virus inclusions*. FLA Agric. Exp. Stn. Monogr. no. 9, 1977.
11. Cooking E.C. — *An electron microscope study of the initial stages of infection of isolated tomato fruit protoplasts by tobacco mosaic virus*. Planta 68, 206—214, 1966.
12. Cornelissen B.J.C., Bol J.F. — *Homology between the proteins encoded by tobacco mosaic virus and two tricornaviruses*. Plant Molecular Biology 3, 379—384, 1984.
13. Carroll T.W. — *Relation of barley stripe mosaic virus to plastids*. Virology 42, 1015—1022, 1970.
14. De Zoeten G.A. — *Early events in plant virus infection [w:] Plant Diseases and Vectors: 221—239* wyd. Maramorosch, K., Harris, K., F., New York, Academic Press, 1981.
15. De Zoeten G.A. — *Possibilities for inter- and intracellular translocation of some icosahedral plant viruses*. J. Cell. Biol. 40, 814—823, 1969.
16. Durham A.C.H. — *The roles of small ions especially calcium in virus disassembly takeover and transformation*. Biomedicine 28, 3307—313. 1978.
17. Esau K. — *Cytological and histological symptoms of beet yellows*. Virology 10, 73—77, 1960.
18. Esau K., Hoefert L.L. — *Development of infection with beet western yellows virus in the sugarbeet*. Virology 48, 724, 1972.
19. Esau K., Hoefert L.L. — *Ultrastructure of sugarbeet leaves infected with beet western yellows virus*. J. Ultrastruct. Res. 40, 556, 1972.
20. Esau K., Hoefert L.L. — *Cytology of beet yellows virus infection in Tetragonia. I. Parenchyma cells in infected leaves*. Protoplasma 72, 255, 1971.
21. Francki R.I.B. — *Encapsidated viroidlike RNA [w:] de Diener T.O. The viroids*, Plenum Press, 1987.
22. Francki R.I.B., Hattat, Grylls N.E., Grivell C.J. — *The particle morphology and some others properties of chloris striate mosaic virus*. Ann. Appl. Biol. 91, 51—59, 1979.
23. Francki R.I.B., Milne L.S., Hattat. — *Atlas of plant viruses*. Vols. I and II. CRC Press, Boca Raton, Fl., 1985.
24. Fraser R.S.S. — *The synthesis of tobacco mosaic virus RNA and ribosomal RNA in tobacco leaves*. J. Gen. Virol. 18, 267—279, 1973.
25. Gaard G., de Zoeten G.A. — *Plant virus uncoating as a result of virus-cell wall interaction*. Virology 96. 21—31, 1979.
26. Gerola F.M., Bassi M., Belli G. — *Some observations on the shape and location of different viruses in experimentally infected plant and on the fine structure of the host cells II. Nicotiana glutinosa systemically infected with cucumber mosaic virus strain y*. Caryologia 18, 587—597, 1965.
27. Gerola F.M., Bassi M., Favali M.A., Betto E. — *An electron microscope study of the penetration of tobacco mosaic virus into leaves following experimental inoculation*. Virology 68, 380—386, 1969.
28. Gill C.C., Chong J. — *Cytological evidence for the division of barley yellow dwarf virus isolates into two subgroups*. Virology 95, 59, 1979.

29. Glover J.F., Wilson T. M. A. — *Efficient translation of the coat protein cistron tobacco mosaic virus in a cell free system from Escherichia coli*. Eur. J. Biol. 122, 485—492, 1982.
30. Godefroy-Colburn T., Gagey M. J., Berna A., Stussi/Garand C. — *A non-structural protein of alfalfa mosaic virus in the walls of infected tobacco cells*. J. Gen. Virol. 67, 2233—2239, 1986.
31. Gracia O., Koenig R., Lasemann D. E. J. — *Properties and classification of a potyvirus isolated from three species in Argentine*. Phytopathology 73, 1488, 1983.
32. Gunning B.E.S., Steer M.W. — *The plasma membran [w:] Ultrastructure and the biology of plant cells*. Edward Arnold Ltd. London, 23—26, 1975.
33. Hariharasubramanian V., Hadidi A., Singer B., Fraenkel-Conrat H. — *Possible identification of protein in brom mosaic virus infected barley as a component of viral RNA polimerase*. Virology 54, 190—198, 1973.
34. Harrison B. D., Stefanl Z., Roberts I. M., — *Role of mitochondria in the formatin of X-bodies in cells of Nicotiana clevelandi infected by tobacco rattle virus*. J. Gen. Virol. 6, 127, 1970.
35. Hatta T., Francki R. I. B. — *Cytopathic structures associated with tonoplast of plant cells infected with cucumber mosaic and tomato aspermy viruses*. J. Gen. Virol. 53, 343—346, 1981.
36. Hatta T., Matthews R. E. F. — *The sequence of early cytological changes in chinies cabbage leaf cells following systemic infection with turnip yellow mosaic virus*. Virology 59, 383—396, 1974.
37. Hull R. — *The movement of viruses in plants*. Annu. Rev. Phytopath 27, 213—240, 1989.
38. Kassanis B., White R. F., Turner R. H., Woods R. D. — *The mechanism of virus entry during infection of tobacco protoplast with TMV*. Phytopathol. Z. 88, 215—228, 1977.
39. Kihō Y., Abe T., Ohashi Y. — *Dissassembly of tobacco mosaic virus by membrane lipid isolated from tobacco leaves and poly-L-ornotine*, Microbiology and Immunology 23, 1067—1076, 1979.
40. Kim K. S., — *An ultrastructural study of inclusions and disease development in plant cells infected by cowpea chlorotic mottle virus*. J. Gen. Virol. 35, 532—543, 1979.
41. Kraev V. G., Semernikova L. I., Vutenko S. I., Parembskaya N. V. — *Certain structural changes induced by peanut stunt virus in cells of host plants*. Mikrobiol. Zh. (Kiev) 37, 261—264, 1975.
42. Kurtz-Fritsch C., Hirth L. — *Uncoating of two spherical plant viruses*. Virology 47, 385—396, 1972.
43. Laflethe O., Bove J. M. — *Sites incorporation de uridine tritiee dans les cellules du parenchme foliare de Brassica chinensis, saines ou infectees par le virus de la mosaique jaune du navet*. C.R. Hebd.. Seances Acad. Sci. 266, 1839—1849, 1968.
44. Langenberg W. G., — *Virus protein association with cylindrical inclusions of two viruses that infect wheat*. J. Gen. Virol. 67, 1161—1168, 1986.
45. Lasemann D. E. — *Cytopathology [w:] The plant viruses Vol. 4, The filamentous plant viruses* (red. R., G., Millne) Plenum Press, 179—2335, 1988.
46. Lawson R.H., Hearon S. — *Subcellular localisation of chrysanthemum aspermy virus in tobacco and chrysanthemum leaf tissue*. Virology 41, 30—37, 1970.
47. Le Roy C., Stussi-Garand C., Hirth L. — *RNA-dependent RNA polimerases in uninfected and in alfalfa mosaic virus — infected tobacco plants*. Virology 82, 48—62, 1977.
48. Lese mann D. E. — *Virus group-specific and virus specific cytological alternations induced by the members of the tymovirus group*. Phytopath. Z. 90, 315, 1977.
49. Linstead P. J., Hills G. J., Plaskitt K. A., Wilson J. G., Harker C. L., Maule A. J., — *The subcellular location of the gene 1 product of cauliflower mosaic virus is consistent with a function associated with virus spread*. J. Gen. Virol. 69, 1809—1818, 1988.
50. Litz R. F. Kimmins W. C., — *Interpretation of ectodesmata in relation to susceptibility to plant viruses*. Can. J. Bot. 49, 88—90, 1971.

51. Martelli G. P., Russo M. — *Use of thin sectioning for visualisation and identification of plant viruses*. Methods in Virology VIII, 143—224, 1984.
52. Matthews R. E. F. — *The groups of plant viruses [w:] Plant Virology*. Academic Press, 715—732, 1981.
53. McMullen C. R., Gardner W. S., Myers G. A., — *Aberrant plastids in barley leaf tissues infected with barley stripe mosaic virus*. Phytopathology 68, 317—325, 1978.
54. Merckens W. S. W., de Zoeten G. A., Gaard G. — *Observations on ectodesmata and the virus infection process*, J. Ultrastruct. Res. 41, 397—405, 1972.
55. Nishiguchi M., Motoyoshi F., Oshima N. — *Behaviour of a temperature sensitive strain of tobacco mosaic virus in tomato leaves and protoplasts*. J. Gen. Virol. 39, 53—61, 1978.
56. Robards A. W. — *A new interpretation of plasmodesmal ultrastructure*, Planta 82, 200—210, 1968.
57. Rubio-Huertos M. — *Atlas on ultrastructure of plant tissue infected with viruses*. Consejo Superior De Investigaciones Científicas, Madrid, 1978.
58. Russo M., Di Franco A., Martelli G. P. — *The fine structure of cymbidium ringspot virus infections in host tissues III. Role of peroxisome in the genesis of multivesicular bodies*. J. Ultrastruct. Res. 82, 52, 1983.
59. Russo M., Martelli G. P., — *Ultrastructure of turnip crinkle and saguaro cactus virus — infected tissues*. Virology 118, 109.
60. Shaw J. C., — *In vivo removal of protein from tobacco mosaic virus after inoculation of tobacco leaves*. Virology 31, 665—675, 1967.
61. Shaw J. C., — *In vivo removal of protein from tobacco mosaic virus after inoculation of tobacco leaves II. Some characteristics of the reaction*. Virology 37, 109—116, 1969.
62. Shepardsen S., Esau K., McCrum — *Ultrastructure of potato leaf phloem infected with potato leafroll virus*. Virology 105, 379, 1980.
63. Stussi-Garaud C., Garaud J. C., Berna A., Godefroy-Colbum T. — *In situ location of an alfalfa mosaic virus non-structural protein in plant cell walls: correlation with virus transport*. J. Gen. Virol. 68, 1779—1784, 1987.
64. Takebe I. — *Protoplast in the study of plant virus replication*. Compr. Virol. 11, 237—283, 1977.
65. Thomas P. E., Fulton R. W. — *Correlatin of ectodesmata number with nonspecific resistance to initial virus infection*. Virology 34, 459—469, 1968.
66. Tomenius K., Clapham D., Meshi T. — *Localization by immunogold cytochemistry of the virus-coded 30K protein in plasmodesmata of leaves infected with tobacco mosaic virus*. Virology 160, 363—371, 1987.
67. von Wettstein D., Zech H. — *The structure of the nucleus and cytoplasm in hair cells during tobacco mosaic virus reproduction*. Z. Naturforsch., Feilb 17, 376—379, 1962.
68. Watts J. W., King J. M. — *The effect of change on infection of tobacco protoplasts by bromoviruses*. J. Gen. Virol. 65, 1709—1712, 1984.
69. Weintraub M., Ragetli H. W. J. — *Electron microscopy of the bean and cowpea stains of southern bean mosaic virus within leaf cells*. J. Ultrastr. Res. 32, 167, 1970.
70. Wilson T. M. A., — *Nucleocapsid disassembly and early gene expression by positive-strand RNA viruses*. J. Gen. Virol. 66, 1201—1207, 1985.
71. Wolf S., Deom C. M., Beachy R. N., Lucas W. J. — *Movement protein of tobacco mosaic virus modified plasmodesmal size exclusion limit*. Science 246, 337—339, 1989.
72. Zaitlin M., Duda C. T., Petti M., A. — *Replication of tobacco mosaic virus V. Properties of the bound and solubilized replicase*. Virology 53, 300—311, 1973.
73. Zabel P., Jongen-Neveh J., van Kammen A. — *In vitro replicatin of cowpea mosaic virus RNA. II. Solubilisation of membrane-bond replicase and the partial purification of the solubilized enzyme*. J. Virol. 17, 679—687, 1976.





## KRYSTYNA BRZEZICKA-SZYMCZYK

Wydział Rolniczy

Katedra Botaniki

SGGW

Warszawa

### GRZYBY RDZAWNIKOWE (*UREDINALES*) — PASOŻYTY ROŚLIN

Grzyby rdzawnikowe są bardzo popularnymi patogenami roślin. Porażając masowo rośliny uprawne wywołują epidemie przynoszące poważne straty materialne. Sprzyja temu niezwykła łatwość rozprzestrzeniania się przez zarodniki wytwarzane w ogromnych ilościach. Woda, zwierzęta, a głównie wiatr przenoszą zarodniki na odległość wielu setek, a nawet tysięcy kilometrów. W ten sposób grzyby dopasowują swoje cykle rozwojowe do faz rozwojowych roślin żywicielskich uprawianych w odległych rejonach i w różnych strefach klimatycznych.

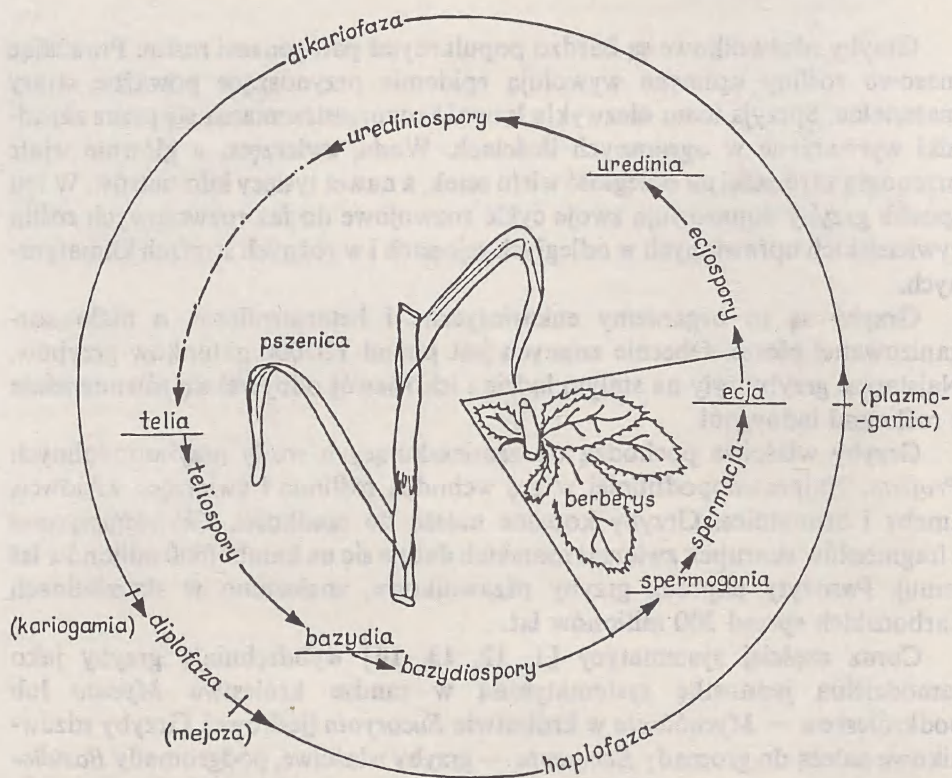
Grzyby są to organizmy eukariotyczne i heterotroficzne o mało zorganizowanej pleśze. Obecnie znanych jest ponad 120 000 gatunków grzybów. Najstarsze grzyby żyły na stałym lądzie i ich rozwój odbywał się równocześnie z roślinami lądowymi.

Grzyby właściwe pochodzą od zamieszkujących wody grzybopodobnych *Protista*. Najprawdopodobniej w grę wchodzi roślinne i zwierzęce wiciowce, ameby i brunatnice. Grzyby kopalne należą do rzadkości. *Chytridiomycetes* z fragmentów skorupki zwierząt morskich datuje się na kambr (600 milionów lat temu). Pasożyty paproci, grzyby rdzawnikowe, znaleziono w skamielinach karbońskich sprzed 300 milionów lat.

Coraz częściej systematycy [1, 12, 13, 14] wyodrębniają grzyby jako samodzielną jednostkę systematyczną w randze królestwa *Mycota* lub podkrólestwa — *Mycobionta* w królestwie *Eucaryota* (jądrowe). Grzyby rdzawnikowe należą do gromady *Eumycota* — grzyby właściwe, podgromady *Basidiomycotina* — podstawczaki, klasy *Teliomycetes* — teliozarodnikowe, rzędu *Uredinales* — rdzawnikowce.

Rdzawnikowce są pasożytami obligatoryjnymi paproci i roślin nasiennych. Rząd ten obejmuje ok. 5000 gatunków rozszczepiających się na szereg form specjalnych, mających określony zakres roślin żywicielskich. Specjalizacja biologiczna rdzawnikowców prowadzi do wytworzenia jeszcze mniejszych jednostek biologiczno-systematycznych zwanych biotypami lub rasami fizjologicznymi odznaczającymi się wysoką wybiórczością w stosunku do poszczególnych odmian roślin danego gatunku.

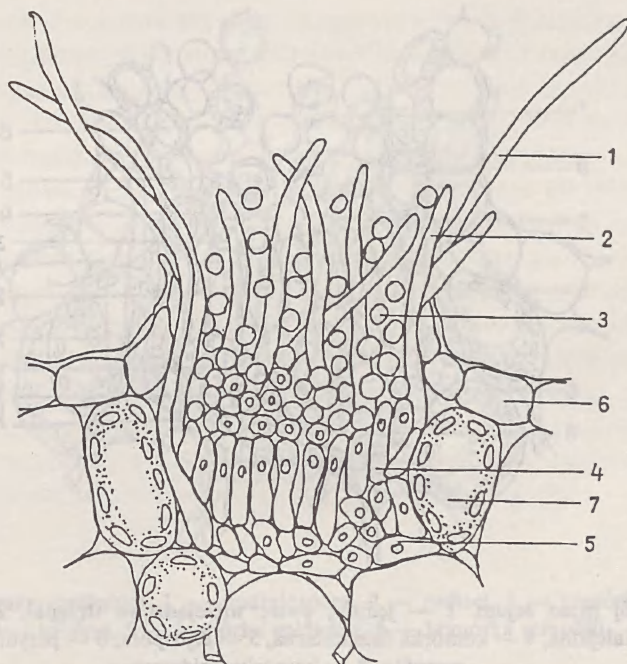
Cykl rozwojowy grzybów rdzawnikowych (zwłaszcza gatunków uważanych za pierwotniejsze) jest bardzo złożony [2, 6, 7, 10, 11, 12]. U gatunków tych występują trzy fazy kariologiczne grzybnia i zarodników, a mianowicie faza haploidalna, dikariotyczna i diploidalna. Wśród tych grzybów występuje zjawisko pleomorfizmu, polegające na wytworzeniu 5 różnych rodzajów zarodnikowania występujących po sobie w określonym porządku, tj. spermacja, ecjospory, urediniospory, teliospory i bazydiospory. Spośród tych pięciu typów zarodników pełnego cyklu życiowego, w haplofazie występują spermacja i bazydiospory. W dikariofazie — ecjospory, urediniospory oraz początkowo teliospory. W diplofazie — teliospory w końcowym stadium przed mejozą (rys. 1).



Rys. 1 Cykl rozwojowy rdzy żdźbłowej

Za początek cyklu życiowego grzybów rdzawnikowych można uznać zainfekowanie rośliny żywicielskiej haploidalną bazydiosporą. W wyniku infekcji rozwija się na żywicielu haploidalna, międzykomórkowa grzybnia tworząca pierwsze struktury zarodnikowe, tzw. spermogonia — pyknidia (rys. 2).

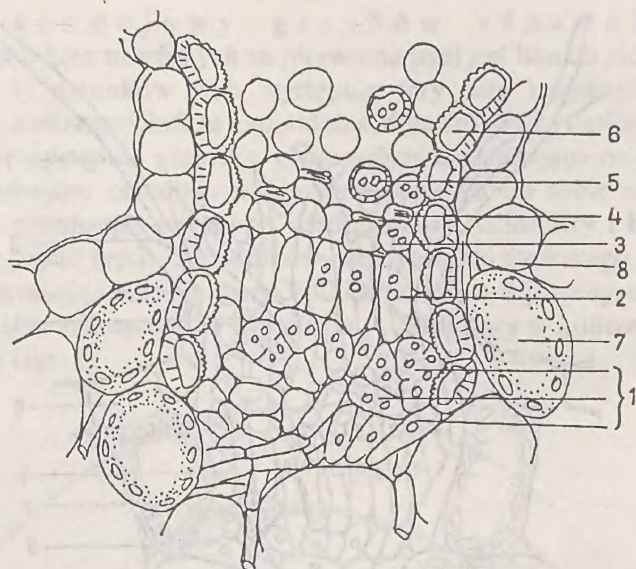
**Spermogonia** tworzą się pojedynczo lub w grupach pod górną epidermą lub w korze pierwotnej. Podstawę spermogonium stanowi warstwa



Rys. 2 Przekrój przez spermatogonium. 1 — strzępka receptorowa, 2 — parafyza, 3 — spermacjum, 4 — spermacjofor, 5 — pseudoparenchyma, 6 — komórka epidermy, 7 — komórka mezofilu

ciasno upakowanych komórek pseudoparenchymy, z której wyrastają spermacjofory, parafyzy i strzępki receptorowe. Zarodniki zwane spermacjami tworzą się przez nabrzmiewanie i odcinanie poprzeczną ścianą komórkową wierzchołkowych części spermacjoforu. Zarodniki te nie mogą bezpośrednio infekować żywiciela, natomiast biorą udział w procesie płciowym, zapoczątkowując dikariofazę. Spermacja przenoszona są przez wiatr lub owady zwabione słodką wydzieliną na długie, wiotkie, bezbarwne strzępki receptorowe, które w liczbie od 20 do 50 wyrastają u ujścia spermatogonium. Po zetknięciu się spermacjum (poprzez strzępkę łączącą) ze strzępką przyjmującą dochodzi do plazmogamii i utworzenia heterokarionu (pary jąder o przeciwnych znakach). Zdarza się, że powstanie dikarionu jest wynikiem somatogamii haploidalnych strzępek o przeciwnych znakach wewnątrz żywiciela lub pomiędzy grzybnią dikariotyczną a haploidalną strzępką innej grzybni.

Prawie równocześnie z powstawaniem spermatogonii, strzępki grzyba na dolnej powierzchni liścia tworzą zawiązki następnej formy zarodnikowania, tj. *ecjum* (rys. 3). Do tych zawiązków przesuwają się dikariotyczne jądra. Podstawę *ecjum* stanowią strzępki jedno- i wielojądrowe (powstałe w wyniku fuzji komórek). Tu też następuje zróżnicowanie zawiązków na część wytwarzającą zarodniki oraz na jednowarstwową ścianę *ecjum* — *perydium*. Z podstawy *ecjum* wyrastają dikariotyczne *ecjosporofory*, które tworzą *ecjos-*

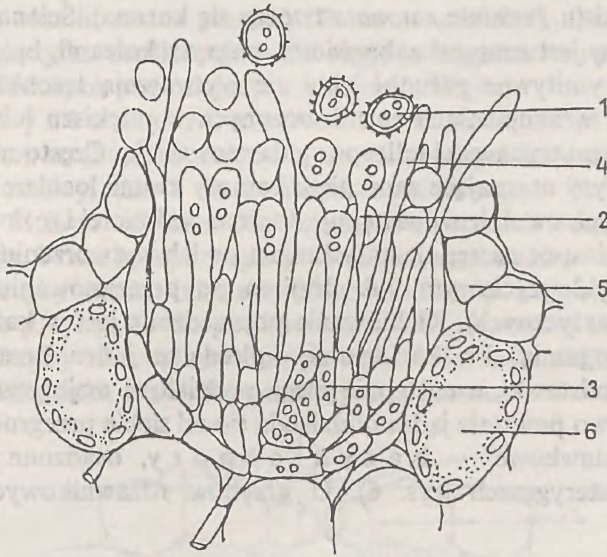


Rys. 3 Przekrój przez ecjum. 1 — jedno-, dwu-, wielojądrowe strzępki, 2 — ecjosporofor, 3 — ecjospora inicjalna, 4 — komórka interkalarna, 5 — ecjospora, 6 — perydium, 7 — komórka mezofilu, 8 — komórka epidermy

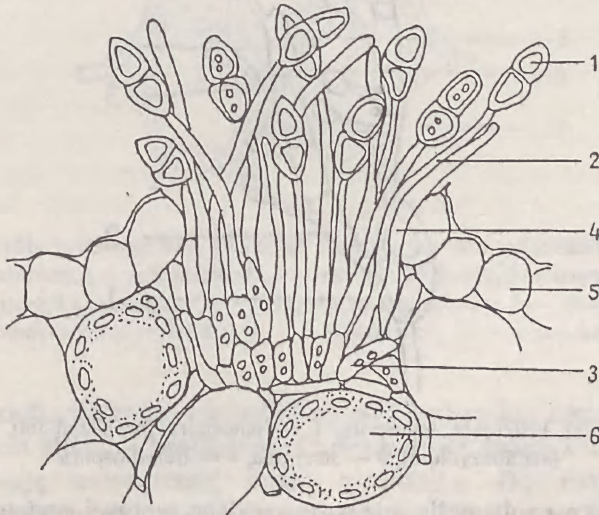
porę inicjalną, i następnie przez podział tej ostatniej powstaje komórka interkalarna i ecjospora. W czasie dojrzewania ecjospor komórki interkalarne degenerują. Ecjospory zwane zarodnikami wiosennymi są jednokomórkowe, dikariotyczne, bezbarwne, pokryte brodawkami różnego kształtu lub wyrostkami o kształcie zębów. Niektóre gatunki rdzy, oprócz typowych ecjów zwanych pierwotnymi, wytwarzają ecja wtórne, do których zaliczamy ecja uredinialne i ecja telialne. Produkują one zarodniki odpowiadające urediniosporom i teliosporom. Ecjospory infekują tego samego żywiciela w przypadku gatunków jednodomowych lub żywiciela z innej grupy systematycznej w przypadku dwudomowości, wytwarzając grzybnię dikariotyczną, z której powstają następne formy zarodnikowania, tj. uredinia (rys. 4).

**U r e d i n i a** tworzą się bezpośrednio pod skórką, czasami otoczone są perydium. Posiadają parafyzy (urofyzy). Podstawę uredinium stanowią ciasno upakowane komórki sporogenne. Z nich wyrastają pedicela (trzonki), na których szczycie tworzą się urediniospory o bardzo urozmaiconej ornamentacji w postaci regularnie rozmieszczonych kolców. Urediniospory (zarodniki letnie) są jednokomórkowe. W ciągu okresu wegetacyjnego może pojawić się kilka generacji tych zarodników powodujących masowe porażenie roślin. U gatunków nie wytwarzających ecjów i teliów mogą powstawać uredinia ecjalne i telialne pełniące ich funkcje.

**T e l i a i t e l i o s p o r y** (zarodniki zimowe) są następnym typem zarodnikowania. Telia tworzą się z tych samych grzybni co uredinia pod koniec



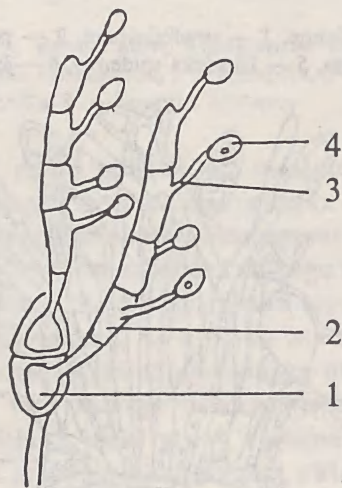
Rys. 4 Przekrój przez uredinium. 1 — uredinospora, 2 — pedicel, 3 — komórka sporogenna, 4 — urofyza, 5 — komórka epidermy, 6 — komórka mezofilu



Rys. 5 Przekrój przez telium. 1 — teliospora, 2 — pedicel, 3 — komórka sporogenna, 4 — teliofyza, 5 — komórka skórki, 6 — komórka mezofilu

okresu wegetacyjnego i wytwarzają zarodniki przetrwalnikowe (rys. 5). Podstawą telium są także dwujądrowe komórki sporogenne. Wydłużają się one, dzielą i odcinają na szczycie pierwotną teliosporę i bazalną komórkę tworzącą pedicel. Pierwotna teliospora przechodzi podział i tworzą się dwie dwujądrowe teliospory (mogą tworzyć się też teliospory wielokomórkowe). Cechą charakterystyczną teliospor jest wyraźne zgrubienie ściany komórkowej w wierz-

chołkowej części (u *Puccinia coronata* tworzy się korona). Ściana komórkowa tych zarodników jest czasami zabarwiona, pokryta kolcami, brodawkami lub wyrostkami. Prymitywne gatunki rdzy nie wytwarzają trzonka. Mogą być pojedynczo lub w skupieniach rozmieszczonych w miększu lub pod skórką żywiciela. Czasami trzoneczki teliospor galaretowacieją. Często między teliami występują teliofyzy otaczające zamknięte komory zwane loculami, zawierające teliospory, których uwolnienie następuje dopiero po śmierci i rozłożeniu rośliny. Kielkowanie teliospor następuje natychmiast po ich wytworzeniu (u gatunków o niepełnym cyklu życiowym) lub dopiero po przezimowaniu (w naszych warunkach klimatycznych). Kielkowanie poprzedzone jest w każdej komórce teliospory kariogamią. Po kariogamii diploidalne jądro przesuwają się do tworzącej się podstawki, a następnie ulega podziałowi mejotycznemu. Cztery haploidalne, nowo powstałe jądra oddzielają się od siebie przegrodami tworząc zarodniki podstawkowe — b a z y d i o s p o r y, osadzone na krótkich trzonkach — sterygmach (rys. 6). U grzybów rdzawnikowych teliospory



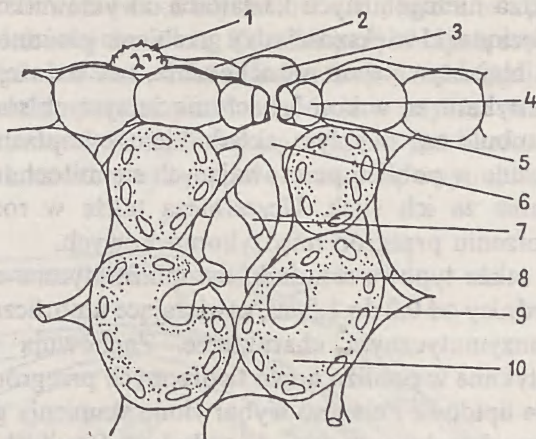
Rys. 6 Przekrój przez kielkującą teliosporę. 1 — teliospora (probazydium), 2 — podstawka (metabazydium), 3 — sterygma, 4 — bazydiospora

opisywane są jako probazydia, nie wytwarzające typowej podstawki, tylko po kariogamii i mejozie tworzące m e t a b a z y d i u m (promycelium, przedgrzybnie) podzielone poprzecznymi przegrodami na cztery komórki, z których na sterygmach wyrastają bazydiospory. Metabazydia mogą rozrastać się na powierzchni liści wynoszone przez rozciągające się pedicel teliospor. Bazydiospory mają różne kształty, często owalne. Powodują zakażenie rośliny żywicielskiej.

W wyniku długotrwałej koewolucji, niektóre rdze wyeliminowały ze swojego cyklu rozwojowego pewne typy zarodnikowania, a także zrezygnowały z dwudomowości, ograniczając się tylko do jednego gospodarza. Przykładem takiej

adaptacji jest rdza brunatna pszenicy (*Puccinia recondita*), u której praktyczne znaczenie mają tylko urediniospory. W ciągu jednego sezonu pojawia się wiele pokoleń urediniospor powodujących kolejne infekcje.

Cykł życiowy rdzawnikowych [3, 5, 11] związany jest z wytworzeniem struktur infekcyjnych umożliwiających im wniknięcie zarówno do wnętrza rośliny, jak i do komórek żywiciela (rys. 7). Naniesione na powierzchnię liścia zarodniki, w odpowiednich warunkach temperatury i wilgotności, kiełkują. Przez specjalne pory rostkowe z zarodnika wyrasta strzępka kielkowa. Grzyby wydzielają specjalną substancję klejącą, umożliwiającą strzępce ściśle przyleganie do powierzchni liścia i równocześnie swobodną ich penetrację. Grzyby rdzawnikowe mogą wnikać do rośliny albo bezpośrednio przez komórki skórki, albo przez aparaty szparkowe.



Rys. 7 Schemat cyklu życiowego rdzy brunatnej *Puccinia recondita* od kiełkowania zarodnika do wytworzenia haustorium. 1 — urediniospora, 2 — strzępka kielkowa, 3 — appresorium, 4 — aparat szparkowy, 5 — strzępka infekcyjna, 6 — pęcherzyk podszparkowy 7 — strzępka intercellularna, 8 — komórka macierzysta ssawki, 9 — haustorium, 10 — komórka mezofilu

Strzępka kielkowa może rozrastać się po powierzchni liścia we wszystkich kierunkach. Jest gładka i bezbarwna. Otoczona jest ścianą komórkową, która jest kontynuacją wewnętrznej ściany zarodnika. Do strzępki kielkowej przewędrowuje z zarodnika cały jego protoplast. Nad aparatem szparkowym wytwarzana jest przycistka (appresorium). Appresorium oddzielone jest od strzępki kielkowej ścianą komórkową. Wytworzenie appresorium pociąga za sobą wakuolizację protoplastu strzępki kielkowej. Pokonanie aparatu szparkowego odbywa się przez wytworzenie strzępki infekcyjnej o kształtach dopasowanych do szparki, która w komorze podszparkowej przekształca się w pęcherzyk podszparkowy. Przemieszczanie protoplastu z appresorium do pęcherzyka podszparkowego spowodowane jest wzrostem ciśnienia osmotycznego powiększającej się wakuoli (do wakuoli wprowadzane są substancje

osmotycznie czynne magazynowane w mikrociałach cytoplazmatycznych). W ten sposób powstają „wakuole przepychające”, które później wypełniają appressorium. Po wytworzeniu pęcherzyka podszparkowego, zewnętrzne struktury infekcyjne (zarodniki, strzępki kielkowe, appressoria) degenerują. Z pęcherzyka podszparkowego wyrasta pierwotna grzybnia międzykomórkowa. Zadaniem intercellularnych strzępek jest odnalezienie właściwych komórek mezofilu i wytworzenie na ich powierzchni komórek macierzystych ssawek.

Jak zbudowana jest grzybnia międzykomórkowa? Zależy to przede wszystkim od fizjologicznego stadium rozwojowego strzępki. Najaktywniejsze są szczytowe komórki rosnącej strzępki. Mają one gęsty protoplast z bardzo licznymi, wolnymi rybosomami. Rzadko występuje szorstkie retikulum endoplazmatyczne, częste są natomiast kanały gładkiego ER. Mitochondria są wydłużone, o bardzo nieregularnych kształtach, zwykle nitkowate. Mogą być wygięte lub rozgałęzione. U większości rdzy grzebienie ułożone są w równoległe, spłaszczone stopy. Najaktywniejsze mitochondria, tzn. o dużej liczbie grzebieni i gęstej matrix, spotykane są w komórkach macierzystych ssawek i w samych ssawkach. Mikrotubule są zwykłym składnikiem cytoplazmatycznym rdzy. Zwykle zlokalizowane w pobliżu przesuwających się mitochondriów i jąder są współodpowiedzialne za ich ruch. Uczestniczą także w rozbudowie ściany komórkowej i tworzeniu przegród międzykomórkowych.

Mikrociała to także typowe składniki cytoplazmatyczne rdzy. Są to małe, kuliste ciała o średnicy od 0,2 do 1,5  $\mu\text{m}$ , zawierające amorficzny lub krystaliczny materiał o enzymatycznym charakterze. Zachowują łączność z ER. Najczęściej są spotykane w pobliżu nowo tworzonych przegród. W cytoplazmie znajdują się krople lipidowe i ciemno wybarwione skupienia granul glikogenu. Drobne wakuole są charakterystyczne dla młodych komórek. Mogą zawierać inkluzje opisywane jako polifosforany. W starszych komórkach pojawiają się duże wakuole wypełniające, powstające z połączenia drobnych. U grzybów brak typowych diktiosomów, występują natomiast pojedyncze cysterny. Pęcherzyki, pochodne cystern, włączane są w plazmolemę, a ich zawartość wbudowywana w ścianę komórkową.

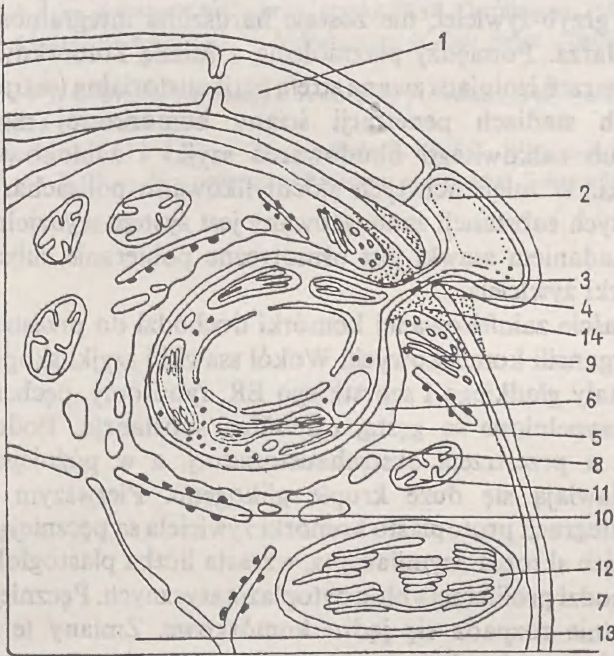
Strzępki grzybni mogą być mono- lub dikariotyczne. Jądra są zwykle różnego kształtu: owalne, nitkowate lub rozgałęzione, o różnej średnicy. W strzępkach międzykomórkowych są to typowe jądra interfazowe, ze słabo widoczną, rozproszoną chromatyną, zwykle z jednym jąderkiem. Mają dwuwarstwową otoczkę z porami o strukturze charakterystycznej dla roślin wyższych. Zewnętrzna membrana otoczki może łączyć się z kanałami ER. Z jądrami związane są mikrotubule opisywane jako NAO (nucleus associated organelle) — organelle związane z jądrem, odpowiedzialne za prawidłowy przebieg mitozy. W wierzchołku rosnącej strzępki, poza rybosomami i kanałami retikulum endoplazmatycznego, brak innych organelli. Skupione są tam najczęściej drobne pęcherzyki uczestniczące w tworzeniu ściany komórkowej. Rosnące strzępki kompartmentowane są przez poprzeczne ściany komórkowe lub przez prze-



grody. W przegrodach mogą występować pory. Zwykle jest to jeden por centralny wysłany plazmolemą i otoczony aparatem porowym. Por taki, o średnicy ok. 30—150 nm, zamknięty jest diafragmą rozciągającą się na plazmolemę i otoczony elektronogęstą cytoplazmą pozbawioną organelli. Na obrzeżu tej strefy występują mikrociała z krystalicznymi inkluzjami, mogące łączyć się z ER. Mikrociała te mogą być wprowadzane do cytoplazmy przyporowej.

Strzępki międzykomórkowe otoczone są zewnętrzną i wewnętrzną ścianą komórkową [4, 8, 9]. W zewnętrznej ścianie komórkowej wyróżnia się trzy warstwy, w wewnętrznej dwie. Zewnętrzna ściana komórkowa zawiera głównie glikoproteidy, wewnętrzna natomiast także chitynę. Przegrody międzystrzępkowe są kontynuacją wewnętrznych ścian komórkowych.

Komórki macierzyste ssawek — (rys. 8) tworzą się przy ścianie komórkowej żywiciela. Komórkę macierzystą ssawki otacza dodatkowa wewnętrzna warstwa ściany komórkowej rozciągająca się także na przegrodę. Komórka macierzysta ssawki jest zwykle mniejsza od innych komórek wegetatywnych strzępki, a jej protoplast jest bardzo gęsty. W miejscu penetracji ściany komórkowej żywiciela tworzy się uwypuklenie przekształcone



Rys. 8 Fragment komórki mięksiszowej z haustorium. 1 — strzępka międzykomórkowa, 2 — komórka macierzysta ssawki, 3 — szyjka, 4 — kołnierzyk, 5 — haustorium, 6 — strefa periaustorialna, 7 — ściana komórkowa, 8 — plazmolema, 9 — diktiosom, 10 — szorstkie retikulum endoplazmatyczne, 11 — mitochondrium, 12 — chloroplast, 13 — jądro komórkowe, 14 — zgrubiała ściana komórkowa

w strzępkę penetracyjną. Jest ona otoczona zgrubiałą zewnętrzną warstwą ściany komórkowej. Miejsce styku komórki macierzystej ssawki i komórki żywiciela zapelniane (uszczelniane) jest substancją będącą najprawdopodobniej produktem komórki roślinnej. Wrastająca w ścianę strzępka penetracyjna otoczona jest już tylko wewnętrzną ścianą komórkową komórki macierzystej ssawki. W miejscu penetracji występują pektynazy i celulazy rozkładające ścianę komórkową żywiciela. Dodatkową siłą przepychającą protoplast jest wakuola tworząca się w komórkach macierzystych ssawki i rozrastająca się od strony przegrody. W tym czasie aparat porowy pomiędzy komórką macierzystą ssawki a innymi komórkami strzępki zostaje zamknięty. Po przejściu przez ścianę komórkową żywiciela komórka macierzysta ssawki wytwarza ssawkę (haustorium) — strzępkę o ograniczonym wzroście. Haustorium może być wydłużone (monokariotyczne) lub banieczkowate (dikariotyczne). Połączone jest ono z komórką macierzystą ssawki — szyjką. Na niektórych szyjkach obserwowany jest kołnierzyk — obrączka ciemnej substancji otaczająca szyjkę, a także wypełniająca na tym odcinku jej ścianę komórkową. W strefie tej zlokalizowano aktywną peroksydazę. Miejsce to być może jest odpowiedzialne za przerwanie apoplastowego transportu między komórką macierzystą ssawki a haustorium.

Całą ssawkę otacza plazmolema komórki żywiciela. Nigdy więc, w normalnym układzie grzyb-żywiciel, nie zostaje naruszona integralność protoplastu rośliny gospodarza. Pomiędzy plazmolemą a ścianą komórkową ssawki wytwarza się przestrzeń izolująca zwana strefą perihaustralną (extrahaustorialną). We wczesnych stadiach penetracji ściany komórkowej może dojść do częściowego lub całkowitego obudowania szyjki i zablokowania dalszego rozwoju ssawki. W miejscach tych zidentyfikowano polisacharydy i kallozę. W produkcję tych substancji zaangażowany jest system wydzielniczy komórki gospodarza. Zadaniem ssawki jest osmotyczne pobieranie substancji odżywczych z komórki żywiciela.

W protoplaście zainfekowanej komórki dochodzi do przestrzennego przemieszczenia organelli komórkowych. Wokół ssawki i szyjki skupiają się przede wszystkim kanały gładkiego i szorstkiego ER, rybosomy, pęcherzyki i tubule. Struktury te wypełnione są gęstą, osmofilną substancją. Podobny materiał widoczny jest w przestrzeni ekstrahaustralnej, a w późniejszych stadiach w ssawce pojawiają się duże krople glikogenu. Pierwszym zauważalnym objawem dezintegracji protoplastu komórki żywiciela są pęczniejące chloroplasty. Zanika w nich skrobia asymilacyjna, wzrasta liczba plastoglobul, rozpadają się grana. Zachodzi proliferacja błon cytoplazmatycznych. Pęcznieją mitochondria. Jako ostatnie rozpada się jądro komórkowe. Zmiany te są najczęściej nieodwracalne i prowadzą do śmierci komórki. Natomiast, kosztem uzyskanych substancji, grzyb wytwarza grzybnię wtórną, której strzępki nie tylko infekują nowe komórki, ale mogą także uczestniczyć w formowaniu struktur zarodnikowych związanych z cyklem życiowym charakterystycznym dla danego gatunku pasożyta.

## LITERATURA

1. Ainsworth G. C., Sussman A. S. — *The Fungi An Advanced Treatise*. Academic Press, New York 1965.
2. Borecki Z. — *Nauka o chorobach roślin*, PWRiL, Warszawa 1987.
3. Brzezicka-Szymczyk K., Golinowski W., Gąsowski A. — *Zmiany cytologiczne kilku odmian pszenicy jarej porażonej rdzą brunatną*. Biul. IHAR t. 32, z. 3/4; 79—93, 1988.
4. Chong J., Harder D. E., Rohringer R. — *Cytochemical studies on Puccinia graminis f. sp. tritici in a compatible wheat host. I. Walls of intercellular hyphal cells and haustorium mother cells*. Can. J. Bot. Vol. 63, No 10: 1713—1724, 1985.
5. Golinowski W., Gąsowski A. — *Dynamika rozwoju rdzy brunatnej (Puccinia recondita Rob. ex. Desm., f. sp. tritici) w okresie inkubacji i sporulacji na pszenicy ozimej oraz cytologiczna ocena reakcji mezofilu liścia flagowego na obecność patogena*. Biul. IHAR 1158: 11—32, 1985.
6. Harder D. E. — *Developmental Ultrastructure of Hyphe and Spores*. The Cereal Rusts. Vol. 1: 333—373, 1984.
7. Hughes S. J. — *Ontogeny of spore forms in Uredinales*. Can. J. Bot. 48: 2147—2157, 1970.
8. Jacobs Th. — *The occurrence of Cell Wall Appositions in Flag Leaves of Spring Wheats Susceptible and Partially Resistant to Wheat Leaf Rust*. J. Phytopath. 127: 239—249, 1989.
9. Jacobs Th. — *Haustrorium Formation and Cell Wall Appositions in Susceptible and Barley Seedlings Infected with Wheat Leaf Rust*. J. Phytopath. 127: 250—261, 1989.
10. Kochman J. — *Zakażenie roślin przez grzyby*. Wyd. Ossolineum, 1980.
11. Littlefield L., Heath H. — *Ultrastructure of Rust Fungi*. Academic Press, London 1979.
12. Majewski T. — *Grzyby (Mycota) rdzawnikowe (Uredinales) cz. I, t. IX, 1977; cz. II, t. XI, PWN, Warszawa—Kraków 1979*.
13. Müller E., Loeffler W. — *Zarys mikologii*. PWRiL, Warszawa, 1987.
14. Whittaker R. H. — *New concepts of kingdoms of organism*. Science 163: 150—160, 1969.



*ADAM DUBAS*Zakład Hydrobiologii  
Uniwersytetu Adama Mickiewicza  
Poznań

## BIOMANIPULACJA W EKOSYSTEMACH JEZIORNICH. O PEWNYM PRZYKŁADZIE DZIAŁAŃ PRAKTYCZNYCH W BIOLOGII

### Wstęp

Postępująca eutrofizacja wód śródlądowych stanowi w Polsce, a także na całym świecie, problem, nad rozwiązaniem którego głowi się wielu naukowców z różnych dziedzin. Jezioro jest ekosystemem wyraźnie izolowanym [10], przez co nadmierny dopływ pierwiastków biofilnych, głównie fosforu i azotu, zwiększa produkcję glonów planktonowych i zmienia strukturę ich zespołów, powodując zjawisko powszechnie zwane jako „zakwity wody”. Zwiększona produkcja glonów nie może być w pełni użytkowana przez konsumentów ani rozłożona przez bakterie, co prowadzi do zakłóceń normalnego funkcjonowania ekosystemów wodnych. Efektem tych zmian jest taka jakość wody, która uniemożliwia użytkowanie jej do celów konsumpcyjnych, rekreacyjnych, a nawet przemysłowych. Stosowane obecnie techniki odnowy jezior polegają głównie na mechanicznym usuwaniu osadów dennych i przydennych warstw wody, mieszaniu wody w celu likwidacji stratyfikacji, a także na aeracji (napowietrzaniu). Wymienione metody są pracochłonne i kosztowne, a stosowane w większych zbiornikach nie zawsze dają oczekiwany efekt.

Dopiero w ostatnim okresie rozwinęło się nowe podejście do problemu eutrofizacji, które można określić jako podejście biologiczne. Polega ono na oddziaływaniu na poszczególne elementy struktury biotycznej ekosystemów wodnych w celu osiągnięcia pożądanego stanu całego systemu, czyli poprawy jakości wody i występuje pod nazwą biomanipulacja. Tradycyjne zapobieganie przeżyźnieniu wody pozostaje domeną dotychczasowych metod ochrony i rekultywacji jezior. Zadaniem biomanipulacji byłoby osiągnięcie takiej struktury biocenozy, w której presja roślinożerców na fitoplankton jest dostatecznie silna, by utrzymać jego niską biomasę i to niezależnie od zasobów fosforu i azotu [2].

### RYBY JAKO CZYNNIK BIOMANIPULACYJNY

Jest wiele elementów struktury biotycznej ekosystemów wodnych, które oddziałują na populację glonów planktonowych. Ryby wydają się najłatwiej-

szym obiektem bezpośrednich manipulacji, ponieważ znacznie łatwiej sterować składem i zagęszczeniem ichtiofauny w jeziorze niż fito- czy zooplanktonem. Wpływ ryb na fitoplankton może być bezpośredni lub pośredni.

#### WPLYW BEZPOŚREDNI

Od czasu wprowadzenia do wód Europy i Ameryki azjatyckich ryb roślinożernych u wielu badaczy wyłoniły się nowe nadzieje związane z wykorzystaniem ryb w celu przeciwdziałania eutrofizacji. Oczekiwania zwolenników uproszczonej idei użycia ryb w biomanipulacji ożywiła tołpyga biała, która odcedza fitoplankton z toni wodnej. Ma ona dobrze rozwinięty aparat filtracyjny, którego wyrostki rozmieszczone są niezwykle gęsto. Ustalono, że tołpyga o masie 250 g filtruje średnio 32 l wody na godzinę. Zwolennicy użycia tołpygi białej jako "biomanipulatora" twierdzą, że może ona okazać się przydatna jako czynnik kontrolujący obfitość fitoplanktonu. Można zatem oczekiwać polepszenia jakości wody wskutek eliminowania przez tołpygę biomasy glonów i deponowania fosforu w osadach wraz z szybko sedymentującymi fekaliami [3]. Wprowadzenie tołpygi do zbiornika mogłoby zmniejszyć ilość glonów przynajmniej o 25% [9]. Jest jednak wielu badaczy, którzy polemizują z tymi danymi. Jak wykazały badania [12], im większe jest zagęszczenie tołpygi, tym gwałtowniej nasila się eutrofizacja. Jest to spowodowane małą efektywnością wyjadania glonów na skutek odżywiania się ryb unoszącym się w toni wodnej detrytusem, szybszym obiegiem pierwiastków biofilnych i pogorszeniem stopnia wykorzystania pokarmu w miarę ich zagęszczania. Gatunek ten jest w stanie wykorzystać zaledwie 1% produkcji pierwotnej glonów, z czego 0,1% zostaje zakumulowane, a pozostała część wraca do środowiska w zmineralizowanej formie [3]. Mimo wszystko definitywne zrezygnowanie z tołpygi jako gatunku przydatnego do biomanipulacji byłoby przedwczesne. Zdaniem wielu naukowców gatunek ten, jeśli nawet nie powoduje wyraźnej poprawy jakości wody, to przynajmniej nie jest dla czystości wód szkodliwy, a jego utrzymanie daje wymierne korzyści gospodarcze.

#### WPLYW POŚREDNI

Wiadomo, że zooplankton jest jednym z głównych konsumentów glonów planktonowych, a jego intensywność żerowania jest decydującym czynnikiem kontrolującym populację fitoplanktonu [7]. Skuteczność wyżerania zależy od biomasy i struktury zooplanktonu. Drobne zwierzęta planktonowe, takie jak wrotki i gatunki małe skorupiaków, nie potrafią odcedzić większych cząstek fitoplanktonu. Ponadto szybkość filtracji dodatnio koreluje z wielkością ciała organizmów zooplanktonowych, podczas gdy wydzielanie fosforu koreluje ujemnie. Oznacza to, że im większe są zwierzęta, tym większa jest konsumpcja fitoplanktonu i tym mniejsze uwalnianie fosforu do wody. Zooplankton występujący w typowych jeziorach eutroficznych jest pod stałą presją bytujących tam

ryb. Istnieje więc proporcjonalna zależność między obfitością ichtiofauny w jeziorze a biomasa glonów planktonowych, którą potwierdzają obserwacje wielu autorów [7, 14, 15]. Nie należy jednak sądzić, by zagęszczenie ryb w zbiorniku wodnym miało bezpośrednio decydujące znaczenie dla wielkości biomasy glonów planktonowych. Niewątpliwie jednak zachodzą tu oddziaływania pośrednie, z których najważniejsze wydaje się uwalnianie fosforu z osadów dennych i z materii organicznej, stającej się pokarmem ryb, oraz redukcja liczebności i przebudowa składu gatunkowego zespołu filtrujących zwierząt bezkręgowych, odżywiających się glonami planktonowymi. Wzrost obfitości ryb bentosożernych jest jednoznaczny ze wzrostem i intensywnością uruchamiania wewnętrznego ładunku fosforu zdeponowanego w osadach dennych. Natomiast liczna populacja ryb planktonożernych może drastycznie zmniejszać obfitość zooplanktonu, zmieniając jednocześnie strukturę jego zespołu w kierunku dominacji gatunków o małych wymiarach. Ryby planktonożerne są drapieżnikami posługującymi się wzrokiem, wybierają zatem ofiary największe, dobrze widoczne. Dlatego też łatwiej im jest wytropić osobniki duże i zabarwione (np. noszące jaja w komorze łęgowej, mające przewód pokarmowy wypełniony glonami, czy duże ciemne oko), a także poruszające się w charakterystyczny sposób, niż zwierzęta przezroczyste lub nieruchomo zawieszane w toni wodnej. Są one praktycznie niewidoczne dla ryb, a więc zupełnie niedostępne [11, 16, 17]. Selekcjonowanie największych osobników tłumaczy się teorią optymalizacji zdobywania pokarmu [13]. Duże organizmy niosą większą porcję energii niż małe, zatem pochwycenie i pożarcie dużej ofiary jest korzystniejsze energetycznie. Z tego względu zrozumiałe jest, że spośród gatunków zooplanktonu zamieszkującego jeziora europejskie najczęściej ofiarą padają duże wioślarki filtrujące z rodzaju *Daphnia*. One to właśnie są w stanie skutecznie kontrolować zakwity glonów [4], lecz zgodnie z wyżej wymienioną koncepcją są najintensywniej usuwane przez ryby planktonożerne. Duża masa ryb oddziaływać więc może pośrednio (poprzez zooplankton) zarówno na wzrost i rozwój glonów planktonowych (wzrost rozrodu poprzez uruchomienie zasobów fosforu), jak też na ich śmiertelność (spadek śmiertelności przez zredukowanie liczebności wydajnych filtratorów). W obu przypadkach efektem obfitości ryb jest obfitość glonów planktonowych. Niepożądany pośredni wpływ żerowania ryb planktonożernych na glony planktonowe można zmniejszyć pozbywając się ryb lub obniżając ich zagęszczenia i zmieniając strukturę zespołu ichtiofauny.

Pierwsze rozwiązanie może polegać na użyciu środka toksycznego (rotenon), którego zastosowanie skutecznie usuwa ryby ze zbiornika wodnego. Choć zabieg ten, w rozumieniu ekologicznym, mógłby budzić sprzeciw, to jednak pierwsze próby tego rodzaju przeprowadzone w latach pięćdziesiątych [6] wykazały zdecydowaną poprawę czystości wody wskutek licznego pojawienia się dużych wioślarek.

Drugie rozwiązanie może się wiązać z intensyfikacją odłowów ryb planktonożernych, w tym od dawna u nas zaniechanych odłowów stynki i uklei.

Odpowiednia gospodarka rybacka może wydatnie wpłynąć na poprawę jakości wody w jeziorze poprzez odpowiednią wybiórczość i efektywność odłowów. Współpracując z rybakami można stworzyć dogodne warunki do rozwoju licznych populacji ryb drapieżnych, np. szczupaka i sandacza, które to gatunki spełniają rolę regulatora pogłowia ryb planktonożernych. Dzięki tym zależnościom ryby drapieżne ograniczają pogłowie ryb planktonożernych, przez co presja na zooplankton zmniejsza się, a populacja fitoplanktonu gwałtownie spada. To teoretyczne podejście zostało wielokrotnie potwierdzone doświadczeniami w mniejszej lub większej skali.

Sztuczne jezioro, powstałe w wyrobisku po eksploatacji kamienia, zasiedlone było przez populację drobnych ryb planktonożernych, głównie słonecznicy. Silna presja ryb wykluczyła obecność dużych form zooplanktonu — wśród skorupiaków dominowały osobniki drobne o mało efektywnym współczynniku filtracji. W trakcie doświadczenia kilkakrotnie wprowadzano do jeziora ryby drapieżne. W wyniku tej operacji introdukowane ryby spowodowały bardzo szybko załamanie się liczebności słonecznicy. W rezultacie presja ryb na zooplankton osłabła, a jego struktura w nowych warunkach uległa szybkim zmianom. Miejsce drobnych skorupiaków planktonowych zajęły liczne populacje dużych filtratorów z rodzaju *Daphnia* i *Eudiaptomus*. Intensywność filtracji zooplanktonu wzrosła, co z kolei spowodowało radykalne zmiany w składzie fitoplanktonu. Całkowita biomasa planktonu roślinnego zmniejszyła się oraz nastąpiła przebudowa jego składu gatunkowego. Spowodowało to wzrost przezroczystości wody średnio o 1,2 m w stosunku do okresu poprzedzającego manipulację rybami [1].

W silnie zeutrofizowanym jeziorze Round w USA dokonano przekształceń struktury zespołu ryb w celu poprawienia jakości wody. Rodzima ichtiofauna tego zbiornika zdominowana była przez gatunki planktonożerne; stosunek ich liczebności do liczebności gatunków drapieżnych wynosił 165:1. Jesienią całkowicie wytruto ryby rotenonem, a w dwa miesiące później dokonano ponownego zarybienia jeziora rybami planktonożernymi i drapieżnymi, ale w stosunku 2,2:1,0. W ciągu dwu lat po tego rodzaju biomanipulacji obserwowano mniejsze niż poprzednio zagęszczenie zooplanktonu, ale na skutek zastąpienia drobnych wioślarek przez zespół kilku dużych gatunków *Daphnia* intensywność filtracji zooplanktonu wzrosła co najmniej dwukrotnie. Efektem tego był spadek zagęszczenia fitoplanktonu i ponad dwukrotny wzrost przezroczystości wody — średnio z 2,1 do 4,8 m. Dodatkowym efektem biomanipulacji było zmniejszenie się koncentracji azotu i fosforu w wodzie, wskutek wynoszenia zawartych w pokarmie pierwiastków biofilnych przez *Daphnia* migrujące na dzień do głębszych warstw wody [15].

Kształtowanie odpowiedniej obsady ryb w zbiornikach nie jest oczywiście jedynym prawdopodobnym sposobem pośredniego oddziaływania na biomasę glonów planktonowych. Wydaje się, że wiele potencjalnych możliwości tkwi zarówno w sterowaniu procesami pochłaniania i wydzielania fosforu przez



roślinność litoralną, jak też w faworyzowaniu tych osiadłych zwierząt filtrujących, u których bilans funkcji negatywnych (przyżyciowe wydzielanie fosforu) i pozytywnych (usuwanie zawiesiny z wody) jest korzystny.

#### ZAGĘSZCZENIE RYB PLANKTONOŻERNYCH A PROCESY BIOMANIPULACYJNE

Aby procesy biomanipulacyjne były skuteczne i aby efekty tych zabiegów wiązały się z poprawą trofii jeziora, niezbędna jest znajomość rzeczywistego zagęszczenia ryb planktonożernych w tym zbiorniku. Zagęszczenie ryb oraz ich dzienna racja pokarmowa (zależna od temperatury wody) decyduje ostatecznie o sile presji na zooplankton, w szczególności na intensywność wyżerania dużych wioślarek z rodzaju *Daphnia*, które są w stanie skutecznie kontrolować zagęszczenie glonów planktonowych. Główna trudność, przed przystąpieniem do biomanipulacji w interesującym nas jeziorze, polega na określeniu, z jakim zagęszczeniem ryb mających wpływ na zooplankton mamy do czynienia w stadium wstępnych badań. Większość tego rodzaju danych otrzymujemy z połowów rybackich, nie obejmujących (poza sielawą) roczników odżywiających się zooplanktonem, lecz z roczników starszych, zwykle pobierających inny pokarm. Zatem jest oczywiste, że planowanie eksperymentów biomanipulacyjnych należałoby zacząć od zorientowania się w zagęszczeniu młodocianych stadiów ryb gatunków dominujących w zbiorniku, a także określenia miejsc ich przebywania [8].

#### EKONOMICZNE UWARUNKOWANIA BIOMANIPULACJI

Zabiegi biomanipulacyjne, mimo widocznej przydatności, nie mogą zastąpić całego zakresu różnych działań w interesie ochrony wód. Nie można przecież wykluczyć, że nawet przy udanych posunięciach gospodarki rybackiej, gwarantujących całoroczne występowanie w zbiorniku licznych populacji dużych wioślarek, znajdują się wśród glonów także gatunki, które oprą się skutecznie największym i najbardziej efektywnym zwierzętom filtrującym. Skupiając się w wielkie kolonie staną się one niejadalne albo otaczając się impregnowanymi błonami staną się niestrawne, bądź też produkując substancje toksyczne spowodują zanieczyszczenie środowiska. Z tego właśnie względu profilaktyka musi pozostać główną metodą ochrony jakości wód. Profilaktyka jest jednak metodą szalenie kosztowną. Powstrzymanie dopływu fosforu do słynnego już dziś z tego właśnie zabiegu jeziora Washington [5] kosztowało 130 mln dolarów USA, choć sam zabieg nie był zbyt skomplikowany. W porównaniu z kosztami profilaktyki i rekultywacji, koszty biomanipulacji wydają się bardzo niewielkie. Działając od podstawy eltonowskiej piramidy troficznej mamy do czynienia z tonami masy organicznej glonów. Działając od szczytu piramidy mamy do czynienia z kilogramami. Jeśli działamy na poziomie ryb drapieżnych i założymy, że siła oddziaływań wyższych poziomów troficznych na niższe jest ekwiwalentna

w stosunku do dziesięcioprocentowych lindemanowskich wydajności ekologicznych, to 1 kg masy dodanego sandacza czy szczupaka winien przynieść 10 kg redukcji masy ryb planktonożernych, co z kolei powinno spowodować 100 kg przyrostu żywej masy zooplanktonu filtrującego i w konsekwencji redukcję masy glonów planktonowych o 1000 kg. Zamiast olbrzymich nakładów ponoszonych na usuwanie fosforu wystarczającego do wyprodukowania tony fitoplanktonu, płacimy za introdukcję 1 kg ryb drapieżnych, a resztę nakładów zdobywa sobie sam system z puli energii promieniowania słonecznego. Jest to oczywiście rozumowanie oparte na bardzo uproszczonym rachunku, ale dobrze oddaje istotę sprawy: sterowanie zawsze angażuje niewielką ilość energii w stosunku do tej ilości, która jest zużywana lub uwalniana w procesach sterowanych.

#### UWAGI KOŃCOWE

Głównym czynnikiem kształtującym niekorzystnie strukturę zooplanktonu, ze względu na czystość wody, jest presja ryb. Wiele eksperymentalnych prac biomanipulacyjnych postuluje całkowite usunięcie ryb planktonożernych ze zbiornika [2] lub bardziej subtelne metody biomanipulacji np. poprzez regulację struktury gatunkowej ryb. Zanim jednak podejmie się działania zmierzające do osłabienia presji ryb na zooplankton należy zdać sobie sprawę, jakie gatunki zasiedlające zbiornik oraz w których stadiach rozwojowych odżywiają się planktonem, jak również kiedy i gdzie żerują, jak duże jest ich zagęszczenie i jak intensywnie usuwany jest zooplankton. Przykładowo, znajomość rozmiarów planktonożernych stadiów ryb pozwala na planowanie optymalnej struktury wieku ryb drapieżnych, tak aby te ostatnie odżywiały się rybami, które szczególnie nas interesują. Największą zaletą podejścia biomanipulacyjnego wydaje się powrót do zasad biologii, w której ekolog może wykorzystać swoje kompetencje bardziej skutecznie niż w jakiegokolwiek innej dziedzinie.

Właśnie na gruncie zasad rządzących biologią organizmów, a nie na gruncie ekologii systemowej, następuje w ostatnich latach żywiłowy rozwój teorii ekologicznej wyjaśniającej tajemnice przyrody w zgodności z podstawową teorią biologii, jaką jest teoria doboru naturalnego. Sądzić należy, iż koncepcja badań biomanipulacyjnych może sprzyjać połączeniu wysiłków w celu uzyskania pewnych rozwiązań praktycznych w dziedzinie ochrony i kształtowania środowiska z pracami nad poszerzaniem naszego rozumienia przyrody.

#### LITERATURA

1. Benndorf J., Kneschke H., Kossatz K., Penz E. — *Manipulation of the pelagic food web by stocking with predacious fishes* — Int. Rev. gesamten Hydrobiol. 69: 407–428, 1984.
2. Dawidowicz P. — *Biomanipulacja. II. Oddziaływanie na fitoplankton poprzez przekształcanie struktury troficznej biocenozy wodnych*. Wiad. Ekol. 32: 381–401, 1986.

3. D a w i d o w i c z P. — *II symposium na temat „biomaniplulacji”* (Warszawa, 11 XII 1987 r.) Wiad. Hydrobiol. 34: 240–242, 1988.
4. D a w i d o w i c z P., G l i w i c z Z. M. — „*Biomaniplulacja*” III. *Rola bezpośrednich i pośrednich zależności pomiędzy fitoplanktonem i zooplanktonem.* Wiad. Ekol. 33: 259–277, 1987.
5. E d m o n d s o n W. T., L e h m a n J. T. — *The effect of changes in the nutrient income on the condition of Lake Washington.* Limnol. Oceanogr. 26:1–29, 1981.
6. H r a b a c e k J. — *Species composition and amount of the zooplankton in relation to the fish stock.* Rozpr. Cesk. Akad. Ved, Rada Mat. Prier. Ved. 10: 1–116, 1962.
7. H r a b a c e k J., D v o r a k o v a M., K o r i n e k V., P r o h a z k o w a L. — *Demonstration of the effect of the fish stock on the species composition of zooplankton and the intensity of metabolism of the whole plankton association.* Verh. Int. Verein. Limnol. 14: 192–195, 1961.
8. J a c h n e r A. — „*Biomaniplulacja*”. IV. *Zagęszczenie i aktywność pokarmowa ryb planktonożernych.* Wiad. Ekol. 34: 143–159, 1988.
9. L e v e n t e r H. 1981 — *Biological control of reservoirs by fish.* Bamidgeh, 33: 3–23, 1981.
10. Ł a s t o w s k i K. — *On the investigation of the lakes as the relatively stable ecosystems. A theoretical approach.* International Symposium "Evolution of Freshwater Lakes" Seria biologia 43: 37–44, 1990.
11. O' B r i e n W. J., E v a n s B., L e u c k e C. — *Apparent size choice of zooplankton by bluegill sunfish: exception to the rule.* Environ. Biol. Fishes, 13: 225–233, 1985.
12. O p u s z y ń s k i K. — *Silver carp, Hypophthalmichthys molitrix (Val.), in carp ponds. III Influence on ecosystem.* Ekol. Pol. 27: 117–133, 1979.
13. P y k e G. H., P u l l i a m R., C h a r n o v I. — *Optimal foraging: A selective review of theory and tests.* Ann. Rev. Biol. 52: 137–155, 1977.
14. S c h i n d l e r D. W., C o m i t a G. W. — *The dependence of primary production upon physical and chemical factors in a small senescing lake, including the effects of complete water oxygen depletion.* Arch. Hydrobiol. 69: 413–451, 1972.
15. S h a p i r o J., W r i g h t D. I. — *Lake restoration by biomaniplulation — Round lake, Minnesota.* Freshwat. Biol. 14: 371–383, 1984.
16. W r i g h t D. J., O' B r i e n W. J. — *Model analysis of the feeding ecology of a freshwater planktivorous fish [W:] Trophic interactions within aquatic ecosystems* (red. W. M e y e r s, R. S t r i c k e r): 243–267, 1984.
17. Z a r e t T. — *Predation and freshwater communities.* Yale University Press, New Haven, London, ss. 187, 1980.



ZOFIA RUDEK

Instytut Systematyki  
i Ewolucji Zwierząt PAN  
KrakówCYTOGENETYCZNA OCENA SKUTKÓW SKAŻENIA ŚRODOWISKA  
PRZEZ KOMBINAT METALURGICZNY W KRAKOWIE

DANE Z BADAŃ EPIDEMIOLOGICZNYCH W PRZEMYSŁE HUTNICZYM NA ŚWIECIE

W niniejszym artykule zebrano dane z badań epidemiologicznych wykonanych w kraju i na świecie w przemyśle hutniczym, aby przybliżyć czytelnikowi fakty dotyczące zagrożeń genetycznych spowodowanych emisją związków toksycznych przez te zakłady, z tym że najwięcej uwagi poświęcono analizom cytogenetycznym wykonanym u pracowników największego zakładu przemysłowego w Polsce, tj. w Kombinacie Metalurgicznym w Krakowie im. Sendzimira (dawniej Huta im. Lenina). Roczna emisja dwutlenku siarki wyniosła w tym kombinacie w latach 1981/82 ponad 33 tysiące ton, 22 tysiące ton tlenków azotu i ponad 400 tysięcy ton tlenku węgla [7], a sąsiadujący z nim Kraków został uznany za miasto ekologicznie zagrożone, co przyczyniło się do podjęcia działań o charakterze badawczym i zapobiegawczym. Kombinaty Metalurgiczny im. Sendzimira nie jest jedynym zakładem stwarzającym zagrożenia dla zdrowia pracowników. Zakłady przemysłowe produkujące stal i żelazo zatrudniają około 2 miliony robotników na świecie. W 1984 roku Międzynarodowa Agencja do Badań nad Rakim opierając się na danych epidemiologicznych wydała opinię, że środowisko tych zakładów jest kancerogenne dla ludzi, co manifestuje się głównie wzrostem zachorowań na raka płuc [14]. Spośród ogromnej liczby związków chemicznych emitowanych przez fabryki żelaza i stali znaczną ich część stanowią związki o charakterze mutagenno-kancerogennym. Do najgroźniejszych z nich należy zaliczyć: tlenki siarki, azotu, węgla, związki arsenu, amoniak, węglowodory aromatyczne i cjanowodór. Szkodliwy wpływ tych związków na zdrowie ludzi pracujących w hutach żelaza został udowodniony przez liczne obserwacje epidemiologiczne, jak i badania z zastosowaniem krótkoterminowych testów biologicznych. W badaniach epidemiologicznych pracowników fabryki żelaza w Kanadzie (DOFASCO Inc., Hamilton, Ontario) w latach 1967–1977 zaobserwowano wzrost zachorowań na raka płuc w porównaniu z kontrolną populacją [6]. W innych badaniach, na terenie tej samej fabryki, zastosowano test Ames do identyfikacji czynników mutagennych czy potencjalnie kancerogennych. Autorzy analizowali liczbę rewertantów szczepów *Salmonella* TA98 i TA100 powstałych pod wpływem działania ekstraktów

uzyskanych z próbek powietrza zebranych z różnych stanowisk pracy. Badania wykazały różną aktywność mutageną ekstraktów, która była skorelowana z zachorowalnością na raka płuc na tych stanowiskach [2]. Testy bakteryjne służą także do oceny mutagenności ekstraktów moczu ludzi narażonych [4]. Wykazano, stosując tę metodę, podwyższoną aktywność próbek moczu u robotników narażonych na emisje koksochemiczne w dwóch hutach żelaza, we Francji [9] oraz w Stanach Zjednoczonych [15].

Spośród wszystkich działów hut żelaza, ze względu na ilość i jakość emitowanych związków chemicznych, za najbardziej szkodliwe uważane są te, które związane są bezpośrednio z procesami odgazowania węgla, czyli koksochemie. Większość policyklicznych związków aromatycznych, a w szczególności węglowodory aromatyczne, pochodzi ze smoły pogazowej, której używa się do wytwarzania form z piaskiem. W wyniku kontaktu formy z rozrzużonym metalem lub węglem dochodzi do pirolizy związków zawartych w smole i powstania związków mutagennych [14]. Analiza ekstraktów z płwociny pracowników przeprowadzona z zastosowaniem testów bakteryjnych jednoznacznie wykazała mutagenny charakter powietrza z działu koksochemii [8].

Większość chemicznych kancerogenów wiąże się wiązaniem kowalentnym z DNA, powodując uszkodzenie jego struktury i funkcji, co może być przyczyną mutacji i ewentualnie kancerogenezy. Istnieją testy wykorzystujące zdolność do tworzenia adduktów z DNA izolowanym z limfocytów oraz możliwość ich stwierdzenia przy pomocy znakowanego fosforu. I tak, stwierdzono wyższy poziom adduktów węglowodorów aromatycznych z kwasem dezoksyrybonukleinowym (PAH-DNA) u ludzi pracujących w koksochemii w porównaniu z innymi grupami pracowników [14, 19].

Testy cytogenetyczne są również obecnie stosowane do wykrywania genotoksyczności w środowisku hut żelaza. I tak, w dwu różnych grupach pracowników koksochemii w Stanach Zjednoczonych zastosowano testy cytogenetyczne i wykazano: w pierwszej — wzrost wymian siostrzanych chromatyd [10], w drugiej — zarówno wzrost wymian siostrzanych chromatyd, jak i aberracji chromosomowych w stosunku do ludzi nieeksponowanych [1].

#### TESTY CYTOGENETYCZNE U PRACOWNIKÓW HUTY IM. SENDZIMIRA ORAZ MIESZKAŃCÓW NAJBLIŻSZYCH OKOLIC

W Polsce wykonano dotychczas trzy serie badań opartych na testach cytogenetycznych mających określić wpływ środowiska na materiał genetyczny ludzi zatrudnionych w kombinacie metalurgicznym lub zamieszkujących najbliższe okolice kombinatu. Wszystkie prace zostały wykonane w Zakładzie Zoologii Doświadczalnej Instytutu Systematyki i Ewolucji Zwierząt PAN w Krakowie przy współpracy Przemysłowego Zespołu Opieki Zdrowotnej „Nowa Huta” oraz Katedry Medycyny Pracy i Chorób Zawodowych AM w Krakowie. Chociaż wyniki badań opublikowano [16, 17, 18], to ze względu na

coraz szersze zainteresowanie społeczeństwa zagadnieniami ekologii wydaje się celowe podanie w skondensowanej formie danych uzyskanych z badań przeprowadzonych w największej hucie żelaza w kraju.

Ponieważ przyjmuje się obecnie, że wzrost aberracji chromosomowych ujawniony dzięki zastosowaniu testów cytogenetycznych wskazuje na zwiększone ryzyko zachorowalności dla całej populacji ekspozowanej na czynniki szkodliwe, a nie tylko dla badanych osób [5, 20, 21], badania tego typu mają szczególnie duże znaczenie właśnie w dużych aglomeracjach przemysłowych, takich jak huta im. Sendzimira.

Obecnie powszechnie stosowane są trzy testy cytogenetyczne do oceny ryzyka genetycznego związanego z ekspozycją na czynniki mutagenne lub kancerogenne, a mianowicie test aberracji chromosomowych, test wymian siostrzanych chromatyd oraz test mikrojądrowy.

**A b e r r a c j e c h r o m o s o m o w e**, polegające na złamaniach i pęknięciach chromosomów, najczęściej powstają pod wpływem czynników bezpośrednio uszkadzających strukturę DNA, takich jak promieniowanie jonizujące czy związki promieniotwórcze. Przyczyną mutacji typu chromatydowego zachodzących w fazie S jest także znaczna część chemicznych mutagenów.

**W y m i a n a s i o s t r z a n y c h c h r o m a t y d**, polegająca na pęknięciu nici DNA w obu chromatydach i wzajemnej wymianie odcinków chromatyd, również zachodzi w fazie S. Najbardziej efektywnie jest indukowana przez substancje tworzące kowalentne addukty z DNA, które zniekształcają helisę DNA, zakłócają metabolizm prekursorów DNA bądź też procesy reparacyjne. Zwiększenie częstości wymian siostrzanych chromatyd zachodzi pod wpływem chemicznych mutagenów, niemniej jednak molekularne podłoże ich powstawania jest jeszcze nieznanne.

**M i k r o j ą d r a** powstają z fragmentów chromosomów, które nie zostały włączone do jąder potomnych w czasie podziału komórkowego. Przyczyną ich powstawania są zarówno czynniki klastogeniczne, czyli powodujące pęknięcia chromosomów, jak również czynniki uszkadzające wrzeczono kariokinetyczne. Ocena ilości komórek z mikrojądrami, której dokonuje się w interfazie I podziału komórkowego, jest również coraz powszechniej stosowana jako test cytogenetyczny w biomonitoringu [20].

Spośród trzech omówionych wyżej testów, do oceny genetycznych zmian u pracowników Kombinatu Metalurgicznego w Krakowie stosowano dwa, a mianowicie test wymian siostrzanych chromatyd i test aberracji chromosomowych. Od każdej z 220 przebadanych osób pobierano krew obwodową, po uprzednio przeprowadzonym wywiadzie na temat przebytych chorób, zwłaszcza wirusowych, naświetleń promieniami rentgena, ewentualnej bezpłodności, wad genetycznych u potomstwa, jak również palenia papierosów i picia alkoholu. Preparaty chromosomowe wykonywane były po hodowli limfocytów. Aberracje chromosomowe oceniano w 150–220 płytkach metafazalnych, a wymiany siostrzanych chromatyd były analizowane w 50 metafazach po zastosowaniu różnicującego barwienia chromosomów. Zmiany w chromosomach oceniano

zgodnie z ustaleniami Międzynarodowej Komisji Zapobiegania Środowiskowym Mutagenom i Kancerogenom (ICPEMC) [3]. Etapy badań przeprowadzonych w latach 1981–1989 przedstawiają się następująco:

#### 1981–1984

Przebadano 53 pracowników z wydziału koksochemii i 21 z innych wydziałów. W grupie „inne wydziały” mieszczą się robotnicy zatrudnieni między innymi jako mechanicy i elektrycy, którzy zgodnie ze swoim zawodem wykonywali pracę w różnych wydziałach kombinatu. Grupę kontrolną stanowiło 16 mężczyzn nowo przyjętych do pracy [16].

#### 1985–1986

Grupę pracowników eksponowanych stanowiło 30 pracowników z wydziału wielkich pieców, a grupę kontrolną 30 mężczyzn nowo przyjętych do pracy [17].

#### 1986–1989

Pracownicy Katedry Medycyny Pracy i Chorób Zawodowych AM w Krakowie wraz z Przemysłowym Zespołem Opieki Zdrowotnej „Nowa Huta” przeprowadzili kompleksowe badania w tzw. strefie ochronnej kombinatu, bezpośrednio otaczającej ten zakład w promieniu kilku kilometrów, a obejmującej miejscowości: Pleszów, Kościelniki, Wyciążę, Mogiłę, Ruszczę, Przylasek Rusiecki, Nową Hutę i Luboczę. Badania polegały na pomiarach dwutlenku siarki i pyłów w powietrzu oraz na ocenie stanu zdrowia mieszkańców. Podobne badania przeprowadzono w dwóch kontrolnych punktach, tj. w centrum Krakowa oraz w Tokarni, wsi położonej ok. 40 km na południe od Krakowa [7]. Równoległe z tymi pomiarami, wykonano testy cytogenetyczne u 30 osób zamieszkujących strefę ochronną, 20 osób z centrum Krakowa oraz 20 osób z Tokarni [18].

### OMÓWIENIE WYNIKÓW PRZEPROWADZONYCH TESTÓW CYTOGENETYCZNYCH

Wyniki z badań cytogenetycznych wykonanych w ciągu dziewięciu lat (1981–1989) zebrano w tabelach 1–3. W tabelach 1 i 2, dotyczących grup zawodowo eksponowanych, wszyscy badani zostali podzieleni na grupy w za-

Tabela 1

Aberracje chromosomowe u pracowników różnych wydziałów kombinatu metalurgicznego w Krakowie

Wydział koksochemii		Wydział wielkich pieców		Inne wydziały	
(staż pracy)	% aberracji	(staż pracy)	% aberracji	(staż pracy)	% aberracji
1–10 lat	5,47	10–20 lat	1,07	1–10 lat	5,0
10–20 lat	6,5			10–30 lat	4,6
20–30 lat	7,4				
grupa kontrolna	1,7				



Tabela 2

Wymiana siostrzanych chromatyd (SCE) u pracowników różnych wydziałów kombinatu metalurgicznego w Krakowie

Wydział koksochemii		Wydział wielkich pieców		Inne wydziały	
(staż pracy)	$\bar{x}$ SCE/komórkę	(staż pracy)	$\bar{x}$ SCE/komórkę	(staż pracy)	$\bar{x}$ SCE/komórkę
1—10 lat	10,20			1—10 lat	8,33
10—20 lat	12,30	10—20 lat	10,41	10—20 lat	12,00
20—30 lat	15,15			20—30 lat	11,6
grupa kontrolna	7,95				

leżności od stażu pracy. Procent aberracji chromosomowych w każdej z grup jest wysoki, statystycznie istotny w porównaniu z grupą kontrolną (tab. 1), z wyjątkiem pracowników wydziału wielkich pieców, u których uzyskane wartości są zbliżone do grupy kontrolnej. Nie zaobserwowano korelacji pomiędzy ilością strukturalnych zmian chromosomów a stażem pracy. Poziom wymian siostrzanych chromatyd u pracowników koksochemii (tab. 2) wzrasta natomiast proporcjonalnie do stażu pracy i w każdej z grup jest wyższy w stosunku do grupy kontrolnej. U trzydziestu pracowników wydziału wielkich pieców (grupa była jednolita pod względem wieku i stażu pracy) stwierdzono także statystycznie istotny wzrost poziomu wymian siostrzanych chromatyd, chociaż jest on nieco niższy niż w odpowiedniej grupie z koksochemii. Podobnie przedstawia się poziom wymian siostrzanych chromatyd w grupie „inne wydziały”, gdzie wprawdzie jest on zależny od stażu pracy, ale nie osiąga tak wysokich wartości jak w przypadku pracowników koksochemii.

Podsumowując można powiedzieć, że genotoksyczny wpływ środowiska hut żelaza, a zwłaszcza wydziałów koksochemicznych, został potwierdzony zarówno przez dane z literatury światowej, jak i badania cytogenetyczne przeprowadzone w krakowskim kombinacie.

Tabela 3

Wymiana siostrzanych chromatyd (SCE) i aberracje chromosomowe u mieszkańców strefy ochronnej kombinatu, Krakowa i Tokarni

Grupa	Wymiana siostrzanych chromatyd, $\bar{x}$ SCE/komórkę	Aberracje chromosomowe		
		% przerw	% innych aberracji	
I Strefa ochronna kombinatu	dzieci	10,7	1,74	1,20
	dorosli	10,4	1,14	0,79
II Centrum Krakowa	dzieci	7,4	0,60	0,89
	dorosli	7,9	0,59	0,65
III Tokarnia	dzieci	6,5	0,42	0,55
	dorosli	6,0	0,28	0,50

Interpretacja wyników badań cytogenetycznych przeprowadzonych u mieszkańców strefy ochronnej kombinatu, centrum Krakowa i Tokarni (tab. 3) jest trudna ze względu na złożony charakter tych środowisk. W każdej z omawianych grup oddzielnie analizowano dane dotyczące ludzi dorosłych (wiek ponad 50 lat) i dzieci (7–15 lat).

Mieszkańcy strefy ochronnej to rolnicy, którzy nigdy nie pracowali w przemyśle. W uprawach stosowali środki ochrony roślin i nawozy sztuczne oraz spożywali produkty rolne i hodowlane wytworzone przez siebie.

Grupę mieszkańców Krakowa stanowią emeryci, którzy nigdy nie pracowali w przemyśle ani w rolnictwie i nie byli narażeni na inne środowiskowe zagrożenia poza tymi, które wpływają z faktu zamieszkiwania w Krakowie.

W trzeciej grupie znajdują się mieszkańcy Tokarni, rolnicy, którzy podobnie jak grupa pierwsza stosowali środki ochrony roślin i nawozy sztuczne oraz spożywali wytworzone przez siebie produkty.

Jak wykazują oznaczenia stężeń pyłów i dwutlenku siarki, najwyższe koncentracje tych parametrów uzyskano w Krakowie, średnie w strefie ochronnej, a najniższe w Tokarni [7], podczas gdy najwyższy poziom zmian cytogenetycznych zaobserwowano u mieszkańców strefy ochronnej. Można przypuszczać, że przyczyna tych rozbieżności leży w innych związkach mutagennych emitowanych przez kombinat, np. w węglowodorach aromatycznych rozprzestrzeniających się w najbliższych okolicach. Na uwagę zasługuje fakt, że wiek nie wpływa w sposób istotny na poziom obserwowanych zmian. U dzieci w każdej z grup jest on zbliżony do dorosłych, ponadto w Tokarni poziom tych zmian jest wyjątkowo niski zarówno u dorosłych, jak i u dzieci.

Istotnym czynnikiem mającym wpływ na podniesienie wartości liczbowych w stosowanych testach jest palenie papierosów. Dym tytoniowy, zawierający między innymi węglowodory aromatyczne, wykazuje działania genotoksyczne, należy więc do tej grupy czynników, które powodując zmiany w samym DNA, a więc na poziomie molekularnym, w krańcowych przypadkach mogą inicjować proces nowotworowy. Naukowym problemom związanym z paleniem papierosów z punktu widzenia mutagenyzy poświęcono wiele publikacji, a w roku 1989 nawet cały zeszyt *Mutation Research* (Vol. 222 No 2).

Również w omawianych trzech seriach badań uwzględniono w wywiadzie pytanie dotyczące palenia papierosów, ponieważ nawyk ten jest, zwłaszcza w środowiskach robotniczych, powszechny. W pierwszej, znacznej liczbowo grupie dotyczącej pracowników wydziału koksochemii, wszyscy badani byli palący, ponieważ przy powszechności tego zjawiska, selekcja w tym kierunku była łatwiejsza. Można w świetle tych faktów założyć, że w omawianej grupie zaszło zjawisko synergicznego oddziaływania mutagennego związków chemicznych pochodzących z dymu tytoniowego oraz czynników środowiskowych [16].

W pracy dotyczącej grupy ludzi zamieszkujących strefę ochronną kombinatu nieliczne osoby były palaczami i nie zauważono u nich podwyższonego poziomu

wymian siostrzanych chromatyd ani aberracji chromosomowych w stosunku do niepalących [18].

W trzeciej z opracowywanych grup, złożonej z robotników z wydziału wielkich pieców, u palących stwierdzono wyższy poziom wymian siostrzanych chromatyd niż u niepalących, natomiast w grupie kontrolnej stosunki liczbowe przedstawiały się odwrotnie [17]. Należy wyjaśnić, że pomimo iż podkreślano czynnik palenia papierosów w omawianych grupach dotyczących pracowników huty im. Sendzimira, nie był to problem, któremu poświęcono w tych pracach główną uwagę.

W okresie, w którym przeprowadzono opisane badania, w kraju panował jeszcze niekorzystny klimat dla zagadnień ekologicznych i wyniki uzyskane z dotychczasowych badań mają charakter pilotowy. Obecnie planuje się dalsze prace cytogenetyczne w Kombinacie Metalurgicznym z zastosowaniem poszerzonej baterii testów. Konieczne wydaje się również zainteresowanie powyższymi zagadnieniami pracowników z innych dyscyplin (chemików, biochemików, lekarzy). Niezbędne wręcz dla całościowej oceny ryzyka genetycznego związanego ze środowiskiem pracy czy miejscem zamieszkania jest uzyskanie kompleksowych, wiarygodnych oznaczeń chemicznych w powiązaniu z wynikami uzyskanymi z badań cytogenetycznych. Powietrze regionów wysokoprzemysłowionych i wielkomiejskich zawiera bowiem aktywne mutageny, o czym świadczą niezbicie wyniki kilkuletnich badań prowadzonych w Instytucie Onkologii w Gliwicach [11, 12, 13]. Wykorzystując ekstrakty próbek powietrza pobranego w różnych miejscowościach z regionu Katowic, wykazano ich mutagenną aktywność w testach bakteryjnych, a także podwyższony poziom aberracji chromosomowych w komórkach linii V 79. Wykazano również, że istnieje duże zróżnicowanie tej aktywności nie tylko w zależności od miejsca pobrania materiału, ale także i od pory roku.

Cytowane w artykule wyniki badań nakazują podjęcie jak najpilniejszych działań prewencyjnych mających na celu zmniejszenia ryzyka genetycznego i ochraniającego środowisko.

#### LITERATURA

1. Bender M. A., Leonard R. C., Ir O. W., Constantino J. P., Redmond C. K. — *Chromosomal aberrations and sister-chromatid exchanges in lymphocytes from coke oven workers*. Mutat. Res. 206: 11–16, 1988.
2. Bryant D. W., McCalla D. R. — *Mutagenicity and lung cancer in a steel foundry environment*. W: "Mutagenicity New Horizons in Genetic Toxicology" (J.A. Heddle, red.). Academic Press, New York, London 1982.
3. Carrano A. V., Natarajan A. T. — *Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques*. Mutat. Res. 204: 379–406, 1988.
4. Clonfero R., Zordan M., Venier P., Peleologo M., Levis A. G., Cottica D., Pozzoli L., Jongeneelen F. J., Bos R. P., Anzion B. M. — *Biological monitoring of human exposure to coal tar. Urinary excretion of total polycyclic*

- aromatic hydrocarbons, 1-hydroxypyrene and mutagens in psoriatic patients. *Int. Arch. Occup. Environ Health* 61: 363–368, 1989.
5. Forni A., Bertazzi P. A.: *Epidemiology in protection and prevention against environmental mutagens/carcinogens. Examples from occupational medicine.* *Mutat. Res.* 181: 289–297, 1987.
  6. Gibson E. S., Martin R. H., Kockington J. N. — *Lung cancer mortality in a steel foundry.* *J. Occup. Med.* 19: 807–812, 1977.
  7. Kieć E., Gałuszka Z., Kolarzyk E., Jodłowski J. — *Ocena stanu zdrowia mieszkańców strefy ochronnej kombinatu metalurgicznego. I. Częstość występowania niektórych schorzeń.* *Folia Med. Crac.* (in press).
  8. Krójkje A. — *Mutagenicity of expectorate from workers in a coke plant.* *Mutat. Res.* 223: 213–219, 1989.
  9. Méo M. P., Dumenil G., Botta A. H., Laget M., Zabaloueff V., Mathias A. — *Urine mutagenicity of steel workers exposure to coke oven emission.* *Carcinogenesis* 8: 363–367, 1987.
  10. Miner J. K., Rom W. N., Livingston G. K., Lyon J. L. — *Lymphocyte sister chromatid exchange (SCE) frequencies in coke oven workers.* *J. Occup. Med.* 25: 30–33, 1983.
  11. Motykiewicz G., Mańka G., Cimander B., Chorąży M. — *Mutagenic activity in air-borne particulate pollutants at industrial district of Silesia.* *Bull. Pol. Acad. Sci.* 33: 1–6, 1985.
  12. Motykiewicz G., Michalska J., Szeliga J., Cimander B. — *Mutagenic and clastogenic activity of direct-acting components from air pollutants of the silesian industrial region.* *Mutat. Res.* 204: 289–296, 1988.
  13. Motykiewicz G., Szeliga J., Cimander B., Chorąży M. — *Seasonal variations in mutagenic activity of air pollutants at an industrial district of silesia.* *Mutat. Res.* 223: 243–251, 1989.
  14. Phillips D. H., Hemminki K., Alhonen A., Hewer A., Grover P. L. — *Monitoring occupational exposure to carcinogens: detection by <sup>32</sup>P-postlabelling of aromatic DNA adducts in white blood cells from iron foundry workers.* *Mutat. Res.* 204: 531–541, 1988.
  15. Recio L., Enoch H. G., Hannan M. A., Hill R. H. — *Application of urine mutagenicity to monitor coal liquefaction workers.* *Mutat. Res.* 136: 201–207, 1984.
  16. Rudek Z. — *Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in workers of a metallurgical plant.* *Folia Biol. (Kraków),* 33: 123–132, 1985.
  17. Rudek Z. — *Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in workers of the blast furnace division of a metallurgical plant.* *Folia Biol. (Kraków),* 36: 203–212, 1988.
  18. Rudek Z. — *Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in the inhabitants of an area surrounding a large metallurgical plant.* *Folia Biol. (Kraków),* 38: 75–81, 1990.
  19. Savela K., Hemminki K., Hewer A., Phillips D. H., Putman K. L., Randerath K. — *Interlaboratory comparison of the <sup>32</sup>P-postlabelling assay for aromatic DNA adducts in white blood cells of iron foundry workers.* *Mutat. Res.* 224: 485–492, 1989.
  20. Sorsa M.: *Monitoring of sister chromatid exchange and micronuclei as biological endpoints,* Reprinted from: *Monitoring human exposure to carcinogenic and mutagenic agents* (A. Berlin, M. Draper, K. Hemminki, H. Vainio eds.) Lyon, International Agency for Research on Cancer, 1984.
  21. Sorsa M., Yager J. W.: *Cytogenetic surveillance of occupational exposures, Cytogenetics,* (G. Obe, A. Basler red.) Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 1987.

PIOTR PŁONKA

Zakład Ochrony Przyrody  
i Zasobów Naturalnych PAN  
KrakówODŁOWY ZWÓJEK W PUŁAPKI FEROMONOWE  
W DRZEWOSTANACH DĘBOWYCH PUSZCZY NIEPOŁOMICKIEJ

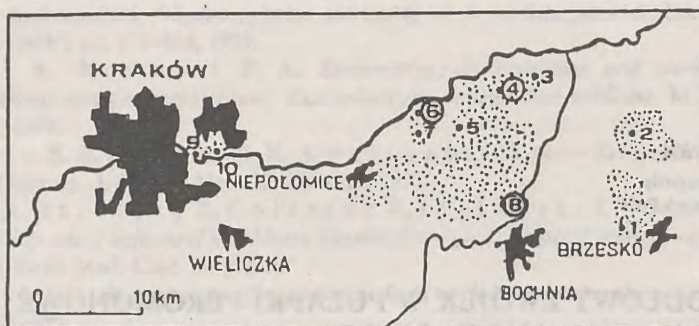
Obszary położone w okolicach Krakowa (w tym również usytuowana na wschód od niego Puszcza Niepołomicka) należą do najbardziej zanieczyszczonych terenów w Polsce. Zakłady przemysłowe Krakowa, wyrzucają do atmosfery w ciągu roku więcej niż 120 tys. t pyłów i 550 tys. t związków gazowych [1].

Od 1987 roku, Zespół Doc. dr hab. Zbigniewa Witkowskiego z Zakładu Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk w Krakowie (którego jestem członkiem) prowadzi badania na wpływem emitowanych przez aglomerację krakowską pollutantów na funkcjonowanie ekosystemów leśnych w tym rejonie.

W roku 1991, dzięki uprzejmości Doc. dr hab. A. Króla — dyrektora OZLP w Krakowie, który udostępnił nam pułapki feromonowe na motyle z rodziny zwójkowatych, przeprowadzono na badanym terenie jednorazowy odłów zwójek dębowych — głównie zwójki zieloneczki (*Tortrix viridana* L.).

Badania przeprowadzono na, poddawanych obserwacjom od roku 1987, 10 grądowych (*Tilio-carpinetum*) powierzchniach badawczych — 7 użytkowanych gospodarczo i 3 zlokalizowanych na obszarze rezerwatów przyrody. Wszystkie powierzchnie położone były w stosunkowo niewielkiej odległości (2,8–39,5 km) od huty im. T. Sendzimira — głównego źródła emisji zanieczyszczeń w rejonie Krakowa i jednego z najbardziej uciążliwych dla środowiska zakładów przemysłowych Polski południowej.

Powierzchnie najbliższe emitatorów (IX — Las Łęgowski i X — Las Mogilski) umiejscowiono na zachód od huty, w odległości 2,8 i 2,9 km. Dwie następne powierzchnie — VI (rezerwat przyrody „Koło”) i VII umieszczono w leśnym uroczysku „Koło” Puszczy Niepołomickiej, w odległości 18,7 i 18,9 km na wschód od Krakowa. Kolejne dwie powierzchnie — V (las w miejscowości Chobot) i IV (rezerwat przyrody „Lipówka”) położone były w uroczysku „Grobla” Puszczy Niepołomickiej, 22,5 i 23,4 km w kierunku wschodnim od źródeł emisji. Powierzchnię III zlokalizowano w uroczysku leśnym „Grobelczyk” (23,9 km na wschód od huty), a na powierzchnię VIII wybrano teren rezerwatu „Dębina”, leżący w głównej części puszczy (25,4 km w kierunku wschodnim od źródeł zanieczyszczeń). Dwie najdalsze powierzchnie — las Bratucice (II) i Dąbrówka (I) położone były na wschód od emitatorów, w odległości odpowiednio 37,1 i 39,5 km (rys. 1).

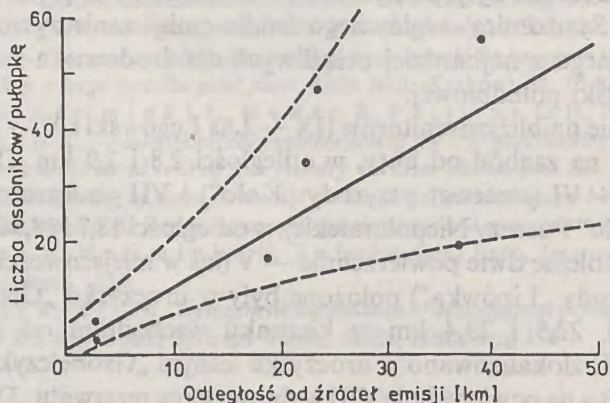


Rys. 1. Lokalizacja powierzchni badań (kółkami zaznaczono powierzchnie na terenie rezerwatów przyrody)

25 czerwca 1991 r. na powierzchniach tych wyłożono po 1 pułapce feromonowej i po 26 dniach ekspozycji, pułapki zebrano. Rezultaty przeprowadzonego doświadczenia obrazują tabele (tab. 1–4).

W trakcie przeprowadzonego doświadczenia schwytano ogółem 360 bezkręgowców (348 owadów i 12 pajęczaków) — (por. tab. 1 i 2), z czego przeważającą większość, bo aż 55% stanowiły ćmy z rodziny zwójkowatych (*Tortricidae*). Wśród gatunków należących do tej rodziny wyraźnie dominowała (68% osobników) zwójka zieloneczka (*Tortrix viridana* L.) — (por. tab. 3, 4), która na obszarach Puszczy Niepołomickiej jest spotykana powszechnie, a co kilka lat pojawia się tam masowo [3, 4, 6].

W świetle uzyskanych danych (rys. 2, tab. 1, 3), za główny czynnik limitujący liczbę chwytych zwójek w ekosystemach użytkowanych gospodarczo należy uznać odległość od Krakowa, w jakiej położone były powierzchnie badań. Zaobserwowano bowiem, że ich liczebność bardzo istotnie dodatnio ( $p = 0,006$ ) koreluje z dystansem od aglomeracji (rys. 2).



Rys. 2. Korelacja pomiędzy odległością powierzchni badań od źródeł emisji zanieczyszczeń [km] a liczbą schwytanych zwójkowatych (wliczając zwójkę zieloneczkę).  $r = 0,898$ ,  $p = 0,006$ ,  $Y = e^{0,285} x^{0,930}$

Tabela 1

## Wyniki odłowu owadów do pułapek w lasach gospodarczych

Nr powierzchni	Zwójka zielon.		Zwójkowate		Inne motyle		Błonkoskrzydłe		Mszyce		Inne owady		Pajęczaki		Razem	
	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%
I	8	9,88	48	59,26	1	1,23	9	11,11	9	11,11	5	6,17	1	1,23	81	100
II	8	25,00	11	34,37	1	3,13	3	9,37	4	12,50	3	9,37	2	6,25	32	100
III	47	64,38	0	—	0	—	3	4,11	8	10,96	14	19,18	1	1,37	73	100
V	34	69,39	0	—	0	—	5	10,20	9	18,37	1	2,04	0	—	49	100
VII	17	60,71	0	—	0	—	4	14,29	6	21,43	1	3,57	0	—	28	100
IX	2	18,18	0	—	0	—	3	27,27	5	45,45	1	9,09	0	—	11	100
X	4	16,66	2	8,33	0	—	13	54,16	4	16,66	0	—	1	4,16	24	100
Razem	120	—	61	—	2	—	40	—	45	—	25	—	5	—	298	100

Tabela 2

## Wyniki odłowu owadów do pułapek w rezerwatach przyrody

Nr powierzchni	Zwójka zielon.		Zwójkowate		Inne motyle		Błonkoskrzydłe		Mszyce		Inne owady		Pajęczaki		Razem	
	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%	liczba/ pułapkę	%
VIII	0	—	0	—	0	—	3	15,79	5	26,32	6	31,58	5	26,32	19	100
IV	5	26,32	1	5,26	0	—	5	26,32	5	26,32	2	10,53	1	5,26	19	100
VI	10	41,66	0	—	0	—	2	8,33	10	41,66	1	4,16	1	4,16	24	100
Razem	15	—	1	—	0	—	10	—	20	—	9	—	7	—	62	100

Tabela 3

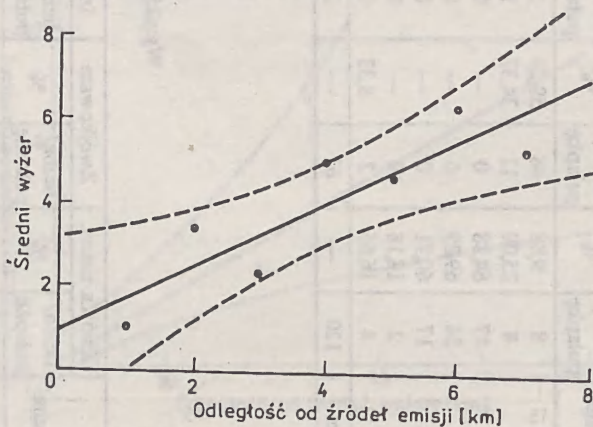
Wyniki odłowu zwójki zieloneczki (*Tortrix viridana* L.) i innych zwójkowatych (*Tortricidae*) do pułapek feromonowych w lasach gospodarczych

Nr powierzchni	Zwójka zieloneczka		Zwójkowate		Razem	
	liczba/pułapkę	%	liczba/pułapkę	%	liczba/pułapkę	%
I	8	14,29	48	85,71	56	100
II	8	42,11	11	57,89	19	100
III	47	100,00	0	—	47	100
V	34	100,00	0	—	34	100
VII	17	100,00	0	—	17	100
IX	2	100,00	0	—	2	100
X	4	66,66	2	33,33	6	100
Razem	120	—	61	—	181	100

Tabela 4

Wyniki odłowu zwójki zieloneczki (*Tortrix viridana* L.) i innych zwójkowatych (*Tortricidae*) do pułapek feromonowych w rezerwatach przyrody

Nr powierzchni	Zwójka zieloneczka		Zwójkowate		Razem	
	liczba/pułapkę	%	liczba/pułapkę	%	liczba/pułapkę	%
VIII	0	—	0	—	0	—
IV	5	83,33	1	16,66	6	100
VI	10	100,00	0	—	10	100
Razem	15	—	1	—	16	100



Rys. 3. Korelacja pomiędzy odległością powierzchni badań od źródeł emisji zanieczyszczeń [km] a średnim żerem gąsienic na liściach dębów w latach 1987–1989 (wszystkie wartości wyrangowane).

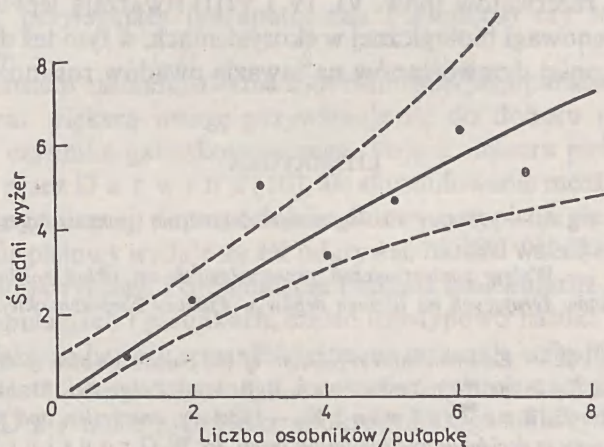
$$r = 0,882, p = 0,008, Y = 0,761x + 0,951$$



W badaniach prowadzonych wcześniej (por. [2, 5]), kiedy to oceniano uszkodzenia liści powodowane przez owady o gryzącym aparacie gębowym, stwierdzono istotny ( $p = 0,008$ ) wzrost nacisku gąsienic różnych gatunków motyli na omawiane drzewostany dębowe (por. rys. 3).

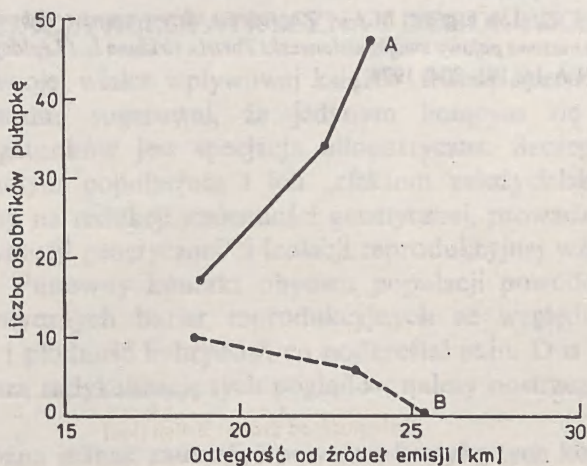
Zestawiając wyniki odłowy zwójek do pułapek feromonowych w 1991 r. ze średnim procentem wyżerów w liściach dębów z lat 1987–1989 (rys. 4), uzyskano silną ( $p = 0,003$ ) dodatnią korelację. Korelacja ta wskazuje, że w grupie gąsienic żerujących na liściach dębów, zwójki należą do dominujących.

Powyższe badania i obserwacje doprowadziły nas do następującej ogólnej konkluzji: wzrost odległości od źródeł emisji powoduje zmniejszanie się napływu



Rys. 4. Korelacja pomiędzy liczbą schwytanych zwójkowatych (wliczając zwójkę zieloneczkę) a średnim żerem gąsienic na liściach dębów w latach 1987—1989 (wszystkie wartości wyrangowane).

$$r = 0,927, p = 0,003, Y = e^{0,186} x^{0,869}$$



Rys. 5. Porównanie wyników odłowy zwójkowatych (wliczając zwójkę zieloneczkę) w (A) drzewostanach gospodarczych (pow. VII, V i III) i (B) w rezerwach przyrody (pow. VI, IV i VIII)

zanieczyszczeń, a z naszych badań (por. [2, 5]) wynika, że konsekwencją tego są zmiany w składzie metabolicznym liści drzew. To z kolei powoduje ich niejednakową odporność na atak owadów roślinożernych [2]; w przypadku liściożernych gąsienic, im dalej od źródła emisji, tym większy jest nacisk tej grupy foliofagów na drzewostany. Wyniki przedstawione w niniejszej pracy potwierdzają powyższe uogólnienia.

Interesujące wydaje się też zestawienie i porównanie wyników przeprowadzonego doświadczenia w drzewostanach gospodarczych i rezerwach przyrody. Na powierzchniach chronionych odłowiono znacznie mniej zwójek (por. tab. 3, 4), niż na leżących w ich pobliżu terenach lasów gospodarczych (rys. 5). Wydaje się, że obszary rezerwatów (pow. VI, IV i VIII) stwarzają lepsze warunki dla utrzymania równowagi biologicznej w ekosystemach, w tym też dla zachowania większej odporności drzewostanów na inwazje owadów roślinożernych.

#### LITERATURA

1. Kassenberg A. — *Obszary Ekologicznego Zagrożenia — nowa kategoria planistyczna*. Kosmos 35 (1): 153–160, 1986.
2. Płonka P. — *Wpływ zanieczyszczeń przemysłowych na układ roślina-roślinożerca na przykładzie owadów żerujących na liściach dębów w Puszczy Niepolomickiej*. Kosmos, 39 (4): 365–371, 1990.
3. Witkowski Z. — *Environmental regulation of the population size of the oak roller moth (*Tortrix viridana* L.) in the Niepolomice Forest*. Bull. Acad. Polon. Sci. 23: 513–519, 1975.
4. Witkowski Z., Borusiewicz K. — *Ecology, energetics, and the significance of phytophagous insects in deciduous and coniferous forest*. In: W. Grodzinski, J. Weiner and P.F. Maycock (eds.): *Forest ecosystems in industrial regions*. Berlin, p. 103–112, 1984.
5. Witkowski Z., Grzybek J., Płonka P. — *Effect of air pollution on oak leaf biochemistry and herbivorous insects abundance in Niepolomice Forest*. Ekologia (Bratisl.), Vol. 11, no 1: 59–77, 1992.
6. Witkowski Z., Langer M. — *Zagrożenie drzewostanów dębowych Puszczy Niepolomickiej przez masowe pojawy zwojki zieloneczki *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera, Tortricidae)*. Studia Nat. PAN A 14: 191–204, 1978.

PAWEŁ MICHALAK  
Instytut Biologii Środowiskowej  
Uniwersytet Łódzki

## SPECJACJA A DOBÓR PŁCIOWY

Za główne kryterium klasyfikacji mechanizmów specjacji uważa się to, czy rozszczepiające się populacje są geograficznie odizolowane (specjacja allopatryczna), przylegające (parapatryczna i kłinalna) czy też wymieszane (sympatryczna).

Wraz ze wzrostem zainteresowania modelami specjacji parapatrycznej i sympatrycznej coraz większą uwagę przywiązuje się do doboru płciowego jako potencjalnego czynnika gatunkotwórczego. Pojęcie doboru płciowego zostało wprowadzone przez D a r w i n a [10], ale sformułowanie możliwości specjacji (bez izolacji geograficznej) poprzez dobór płciowy przypisuje się F i s h e r o - w i [14]. Dobór płciowy wydaje się też odgrywać bardzo ważną rolę w przypadku specjacji allopatrycznej. Porównawcze badania molekularne przeprowadzone na wielu populacjach i gatunkach, często fenotypowo bardzo się różniących, potwierdzają fakt, że bariery reprodukcyjne nie powstają wskutek zasadniczych reorganizacji materiału genetycznego, lecz zmian w preferencjach seksualnych. Spostrzeżenie D a r w i n a, że blisko spokrewnione gatunki zwierząt różnią się najbardziej drugorzędowymi cechami płciowymi samców, można łatwo wyjaśnić przyjmując udział doboru płciowego w ewolucji.

## SPECJACJA ALLOPATRYCZNA I DOBÓR PŁCIOWY

M a y r w swojej wielce wpływowej książce *Animal Species and Evolution* [27] jednoznacznie sugerował, że jedynym liczącym się mechanizmem powstawania gatunków jest specjacja allopatryczna. Szczególne znaczenie nadawał tu małym populacjom i ich „efektom założycielskim”. Efekty te polegać miałyby na redukcji zmienności genetycznej, prowadzącej w konsekwencji do „rewolucji genetycznej” i izolacji reprodukcyjnej względem populacji wyjściowej. Ponowny kontakt obydwu populacji powodowałby wzmacnianie przygotowanych barier reprodukcyjnych ze względu na obniżoną przeżywalność i płodność hybrydów, co podkreślał m.in. D o b z h a n s k y [11]. Jako dalszą radykalizację tych poglądów należy postrzegać punktualizm [7].

Ostatnio można jednak zauważyć poważną krytykę tych koncepcji, a co za tym idzie wzrost zainteresowania parapatrycznymi i sympatrycznymi modelami specjacji [1, 3, 13, 22]. W r i g h t [32] stwierdził, że nawet populacje hodowlane

pochodzące w całości od jednej zapłodnionej samicy nie wykazują zmian fenotypowych ani śladów izolacji reprodukcyjnej. Modele matematyczne genetyki ilościowej potwierdzają fakt, że  $M$  a  $y$  r przeceniał znaczenie efektu założyciela, albowiem w ciągu jednego pokolenia dryf genetyczny może spowodować utratę heterozygotyczności lub  $V_A$  addytywnej wariancji genetycznej cechy ilościowej) jedynie o  $1/2 N_e$  ( $N_e$  to tzw. efektywna wielkość addy-populacji) [22, 31].

Krytyka ta okazała się zgodna z wynikami ostatnich molekularnych badań genetycznych, jakim poddano naturalne populacje zwierząt. Spektakularne okazały się zwłaszcza badania szybko mutującego DNA mitochondrialnego [30].

Jednym z chętniej przytaczanych przykładów na specjację alopatryczną i radiację adaptacyjną jest 14 gatunków zięb Darwina (*Geospizinae*), które ewoluowały w ciągu ostatniego miliona lat [17]. Badania molekularne wykazały, że międzygatunkowa zmienność allozymatyczna — w przeciwieństwie do morfologicznej — jest znikoma. Dwudziestoletnie niemal obserwacje *G r a n t ó w* [16, 17] ujawniły różny stopień „szczelności” barier reprodukcyjnych populacji tych ptaków. Grupy reprodukcyjnie izolowane mogą występować w obrębie jednego gatunku [16, 18], a z drugiej strony bariery reprodukcyjne istniejące między gatunkami nie zawsze są szczelne. Dlatego płodne mieszańce międzygatunkowe zięb Darwina nie należą do rzadkości. Zatem bariery te mają zwykle charakter behawioralny, a wydają się opierać głównie na śpiewie samców i preferencjach seksualnych samic.

W sposób bardzo dynamiczny musiała następować specjacja pielęgnic afrykańskich (*Cichlidae*) [15]. Zróżnicowanie morfologiczne i ekologiczne tych ryb jest tak duże, że skłaniało systematyków do wyróżniania nawet odmiennych rodzajów czy podrodzin. Przebadanie DNA mitochondrialnego dało wynik kuriozalny: zmienność genetyczna w obrębie tej grupy ryb okazała się mniejsza niż w populacji ludzkiej [28].

Mała zmienność genetyczna ponad 300 gatunków hawajskich much *Drosophila* jest znana od dość dawna. Wcześniej też dostrzegano tu potencjalny udział doboru płciowego w specjacji [29], jako że taksonomiczne różnice dotyczą przede wszystkim drugorzędowych cech płciowych samców. *C a r s o n* [5] wykazał zmienność genetyczną zarówno cech płciowych samców, jak i seksualnych preferencji samic. Sugeruje on też [4, 6], że takie zaburzenia demograficzno-populacyjne, jak np. tzw. „wąskie gardło” liczebności (bottleneck) czy hybrydyzacja, powodują w pierwszym rzędzie przeformowanie w genetycznym podłożu cech płciowych, co staje się głównym źródłem barier rozrodczych i specjacji. Model specjacji sympatrycznej *K o n d r a s h o v a* [21], który ukazuje, że poligeniczne podłoże ułatwia ewolucję izolacji reprodukcyjnej, zdaje się potwierdzać tezę *C a r s o n a*, bowiem cechy behawioralne (samicze preferencje) mają niewątpliwie charakter złożonej cechy ilościowej [2, 12].

Analiza przeprowadzona przez C o y n e ' a i O r r a [8] na 119 parach blisko spokrewnionych gatunków D r o s o p h i l a znacząco ujmuje ważność wzmocnienia barier przygotycznych, tj. twierdzeniu, że izolacja przygotyczna powinna być poprzedzona postzygotyczną [11].

Powyższe przedstawienie kilku zaledwie „podręcznikowych” przykładów na specjację allopatryczną, w których to dobór naturalny ma odgrywać decydującą rolę, *explicito* uświadamia dotychczasowe niedocenianie roli doboru płciowego w specjacji. W tym miejscu łatwo już sobie wyobrazić odwrócenie natężeń doborów w czasie specjacji na korzyść doboru płciowego, zwłaszcza dla przykładów ze słabą izolacją przestrzenną lub jej brakiem. Przykładem takim mogą być formy jaszczurki *Anolis marmoratus* z Gwadelupy (Małe Antyle), które ze względu na różnicowanie morfologiczne można traktować jako odrębne gatunki [24].

Wszystko to uświadamia przy okazji jeszcze jedno: iluzoryczność koncepcji gatunku i złożoność adaptacyjnego krajobrazu Wrighta.

## MODELE SPECJACJI POPRZEZ DOBÓR PŁCIOWY

Darwin już w 1871 r. [10] przedstawił teorię doboru płciowego, a jej zarys można nawet znaleźć w *The Origin of Species* [9]. Jednak dopiero F i s h e r [14] w roku 1930 opisał dobór płciowy na gruncie genetyki, co umożliwiło wchłonięcie tego pojęcia przez neodarwinizm. Koncepcja doboru płciowego, którego mechanizm sprowadza się do różnicowania efektywności kojarzenia par (mating success) i związanego z tym sukcesu reprodukcyjnego, została wykorzystana głównie do wyjaśniania ewolucji dymorfizmu płciowego.

F i s h e r w swoich teoretycznych rozważaniach posunął się znacznie dalej. Zasugerował mianowicie możliwość specjacji na drodze doboru płciowego. Kluczową rolę odgrywają, zdaniem F i s h e r a, zmiany w strukturze genetycznej: „Oczywista jest właściwość stanów niestabilnych polegająca na tym, że minimalne wpływy powodują nieproporcjonalnie duże zmiany; dlatego przy rozważaniu możliwości rozszczepiania się gatunków bez izolacji geograficznej wystarczy znajomość natury tych czynników, które warunkują genetyczną niestabilność” [14 rozdz. 6]. F i s h e r, mimo swoich gradualistycznych poglądów, postulował „żywiolowe” działanie („runaway” process) doboru płciowego, przerywane długimi okresami względnej stabilności. Takie operowanie doboru płciowego szybko obejmowałoby całą populację i powodowałoby wykładniczo wzrastające tempo ewolucyjnych zmian drugorzędowych cech płciowych samców wraz z seksualnymi preferencjami samic. Byłby to, według F i s h e r a, w konsekwencji skuteczniejszy mechanizm powstawania barier reprodukcyjnych — a także klinalnej dywergencji cech — od selekcji przeciw hybrydyzacji.

Słuszność wniosków F i s h e r a została potwierdzona m.in. przez Lande'a, który przedstawił matematyczną interpretację mechanizmu „żywiolowe-

go” doboru płciowego [23], jak też rozwinięcie tego modelu [24, 25, 26]. Podstawowym założeniem modelu F i s h e r a - L a n d e'a jest sprzężenie genetyczne samiczych preferencji w wyborze partnera z drugorzędowymi cechami płciowymi samców. Sprzężenie takie może powstać dzięki plejotropii, choć w przypadku cechy behawioralnej z jednej strony (samice) i cech morfologicznych z drugiej (samce) bardziej prawdopodobną przyczyną wydaje się asortatywne kojarzenie partnerów, które z kolei jest warunkowane wariacją genetyczną preferencji seksualnych. Na skutek tego sprzężenia zadziałanie selekcji na jedną cechę, np. samicze preferencje seksualne, powoduje skorelowaną odpowiedź cechy drugiej. Udział doboru naturalnego w ewolucji samiczych preferencji mógłby być ograniczony do zainicjowania odnośnej asocjacji genetycznej, która dalej ulegałaby zmianom — „samowzmacnianiu” — pod wyłącznym wpływem doboru płciowego. Tym wyjaśnia się ewolucję morfologicznych cech samców ponad poziom, w którym przestały mieć wartość dostosowawczą [19, 20].

Powyższy model dotyczy gatunku poligamicznego, u którego samce nie mają żadnego wkładu rodzicielskiego, a następnym pokoleniom przekazują jedynie materiał genetyczny. Liczba potomstwa wyprodukowanego przez samice natomiast nie zależy od wyboru partnera i dlatego samicze preferencje seksualne są tu cechą selekcyjnie neutralną. Niezależnie od tego, jak bardzo średni fenotyp samców będzie odbiegał od optimum przystosowawczego, dobór naturalny będzie balansowany przez natężenie samiczych preferencji. Między średnimi preferencjami samic a średnimi cechami samców wytwarza się linia lub punkt równowagi, których stabilność zależy od parametrów genetycznych populacji, jak również interakcji doboru (naturalnego i płciowego) z dryfem genetycznym.

Opisany model nie czyni założeń dotyczących warunków przestrzennych. Oznacza to, że dobór płciowy może izolować reprodukcyjnie populacje allopatriczne, ale równie dobrze „rozrywać” populacje ciągłe. Rozszczepienie to może być zapoczątkowane stromym podnoszeniem się kliny zmienności cechy reprodukcyjnej [24]. L a n d e i K i r k p a t r i c k [26] rozwinęli model specjacji poprzez dobór płciowy dla populacji, która ma wolne nisze ekologiczne. Okazuje się, że dobór płciowy umożliwia skuteczne pokonywanie dolin krajobrazu adaptacyjnego.

#### LITERATURA

1. B a r t o n N. H., C h a r l e s w o r t h B. — *Genetic revolutions, founder effects, and speciation*. Annu. Rev. Ecol. Syst. 15: 133–164, 1984.
2. B r o w n J. L. — *The Evolution of Behavior*. Norton, New York, 1975.
3. B u s h G. L. — *Modes of animal speciation*. Ann. Rev. Ecol. Syst. 6: 339–364, 1975.
4. C a r s o n H. L. — *Speciation and sexual selection in Hawaiian Drosophila*. [W:] P. F. B r u s s a r d (red.), *Ecological Genetics: The Interface*. s. 93–107, Springer-Verlag, New York, 1978.
5. C a r s o n H. L. — *Genetic variation in a courtship-related male character in Drosophila silvestris from a single Hawaiian locality*. Evolution 39: 678–686, 1985.

6. Carson H. L. — *Sexual selection and speciation*. [W:] S. Karlín & E. Nevo (red.), *Evolutionary Processes and Theory*. s. 391–409, Academic Press, New York, 1986.
7. Charlesworth B., Lande R. & Slatkin M. — *A neo-Darwinian commentary on macroevolution*. *Evolution* 36: 474–498, 1982.
8. Coyne J. A., Orr H. A. — *Patterns of speciation in Drosophila*. *Evolution* 43: 362–381, 1989.
9. Darwin K. — *O powstawaniu gatunków drogą doboru naturalnego*. PWRiL, Warszawa 1859 (oryg. 1859).
10. Darwin K. — *Dobór płciowy*. PWRiL, Warszawa 1960 (oryg. 1871).
11. Dobzhansky Th. — *Genetics and the Origin of Species*. Columbia Univ. Press, New York 1937.
12. Ehrman L. & Parsons P. A. — *The Genetics of Behavior*. Sinauer, Sunderland, MA 1976.
13. Endler J. A. — *Geographic Variation, Speciation, and Clines*. Princeton Univ. Press, Princeton 1977.
14. Fisher R. A. — *The Genetical Theory of Natural Selection*. Clarendon Press, Oxford 1930.
15. Fryer G. & Iles T. D. — *The Cichlid Fishes of the Great Lakes of Africa. Their Biology and Evolution*. Oliver & Boyd, Edinburgh 1972.
16. Grant B. R., Grant P. R. — *Evolutionary Dynamics of a Natural Population: The Large Cactus Finch of the Galapagos*. Univ. of Chicago Press, Chicago 1989.
17. Grant P. R. — *Ecology and Evolution of Darwin's Finches*. Princeton Univ. Press, Princeton 1986.
18. Grant P. R., Grant B. R. — *Sympatric speciation and Darwin's Finches*. [W:] D. Otte & J. A. Endler (red.), *Speciation and its Consequences*. s. 433–457, Sinauer Associates, Massachusetts 1989.
19. Kirkpatrick M. — *Sexual selection and the evolution of female choice*. *Evolution* 36: 1–12, 1982.
20. Kirkpatrick M. — *Evolution of female choice and male parental investment in polygynous species: the demise of the "sexy son"*. *Amer. Nat.* 125: 788–810, 1985.
21. Kondrashov A. S., Mina M. V. — *Sympatric speciation: when is it possible?* *Biol. J. Linn. Soc.* 27: 201–223, 1986.
22. Lande R. — *Genetic variation and phenotypic evolution during allopatric speciation*. *Amer. Nat.* 116: 463–479, 1980.
23. Lande R. — *Modes of speciation by sexual selection on polygenic traits*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 3721–3725, 1981.
24. Lande R. — *Rapid origin of sexual isolation and character divergence in a cline*. *Evolution* 36: 213–223, 1982.
25. Lande R. — *Genetic correlations between the sexes in the evolution of sexual dimorphism and mating preferences*. [W:] J. W. Bradbury & M. B. Andersson (red.), *Sexual Selection: Testing the Alternatives*, s. 83–94, J. Wiley & Sons, New York 1987.
26. Lande R., Kirkpatrick M. — *Ecological speciation by sexual selection*. *J. Theor. Biol.* 133: 85–98, 1988.
27. Mayr E. — *Animal Species and Evolution*. Harvard Univ. Press, Cambridge 1963.
28. Meyer A., Kocher T. D., Basasibwaki P. & Wilson A. — *Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences*. *Nature* 347: 550–553, 1990.
29. Templeton A. R. — *Once again, why 300 species of Hawaiian Drosophila*. *Evolution* 33: 513–517, 1979.
30. Wilson A., Cann R. L., Carr S. M., George M., Gyllensten U. B., Helm-Bychowski K. M., Higuchi R. G., Palumbi S. R., Prager E. M., Sage R. D. & Stoneking M. — *Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics*. *Biol. J. Linn. Soc.* 26: 375–400, 1985.
31. Wright S. — *Evolution in Mendelian populations*. *Genetics* 16: 97–159, 1931.
32. Wright S. — *Modes of speciation*. *Paleobiology* 4: 373–379, 1980.





POGLĄDY NA FILOGENEZĘ I SYSTEMATYKĘ NICIENI  
(*NEMATODA* RUDOLPHI, 1808)

Nicieńie są jedną z najliczniejszych grup świata zwierzęcego. Według M a l a c h o w a i wsp. [14] do roku 1982 opisano około 20 000 gatunków, wśród których mniej więcej 12 000 to nicienie swobodnie żyjące w wodach morskich, słodkich i glebie, prawie 5 000 gatunków stanowią pasożyty zwierząt i około 2 000 pasożyty roślin; w dalszym ciągu opisywane są nowe gatunki.

Do roku 1961 do typu *Nemathelminthes* S c h n e i d e r, 1873 (obleńce) zaliczano następujące gromady (klasy): *Gastrotricha* (brzuchorzęski), *Kinorhyncha* s. *Echinodera* (szczotkoryjce s. szczotkogłowy), *Rotatoria* (wrotki), *Nematoda* (nicieńie) i *Nematomorpha* s. *Gordiacea* (nitnikowce s. drucieńce). Z upływem czasu, nagromadzone nowe dane dotyczące pokrewieństwa wymienionych gromad zmieniły systematykę obleńców. Wyodrębniono wrotki jako typ *Rotifera* oraz połączono gromadę brzuchorzęsków i szczotkoryjców również w nowy typ *Nematorhyncha*. Ze względu na brak rzęsek były próby wydzielenia nicieni w odrębny typ nazywany *Nematoda*, *Nemata* lub *Nematoidea* [3, 5, 17] należący do nadtypu *Aschelminthes*. Jednak badania R a s k i e g o i wsp. [18] z użyciem mikroskopu elektronowego wykazały obecność rzęsek w kieszonkach narządów nabocznych (amphidia) w przedniej części ciała nicieni; rzęski występują także u innych obleńców, wobec tego nicienie traktuje się jako gromadę tego typu. Tak więc obecnie do typu *Nemathelminthes* należą dwie gromady: nicienie (*Nematoda*) i nitnikowce (*Nematomorpha*).

O rodowym pochodzeniu *Nematoda* wysunięto co najmniej kilkanaście mniej lub bardziej udokumentowanych hipotez. Próbowano wyprowadzać nicienie z wirków (*Turbellaria*), wrotków, ze szczecioszczękich (*Chaetognatha*) i z różnych grup stawonogów (*Arthropoda*), np. z neotenicznych larw muchówek. Wyrażano też pogląd, że nicienie i pozostałe niższe, niesegmentowane bezkręgowce tworzą zwartą grupę *Scolecida* (miąsżniaki), wewnątrz której nie da się ustalić bliższych pokrewieństw, a wszystkie *Scolecida* pochodzą od wspólnego przodka. Uważano również, że nicienie są blisko spokrewnione z pierścienicami (*Annelida*) lub ze szkarłupniami (*Echinodermata*). Hipotezy te nie wytrzymały próby czasu i mają już dzisiaj znaczenie tylko historyczne.

Wyższe bezkręgowce mające twarde zewnętrzny szkielet wapienny lub chitynowy pozostawiły liczne ślady w pokładach dawnych epok geologicznych. Natomiast na zachowanych z eocenu i oligocenu nielicznych szczątkach kopalnych nicieni, szczególnie morfologiczno-anatomiczne nie dają się odczytać i niewiele wnoszą do rozważań o ich pochodzeniu. Dlatego ewolucję nicieni

i ustalenie ich filogenezy można odtwarzać opierając się tylko na teoretycznym wnioskowaniu, na dowodach pośrednich z anatomii porównawczej, fizjologii i embriologii.

Większość współczesnych badaczy uważa, że nicienie są najbliższej spokrewnione z brzuchorzęskami. Próbowano więc wyprowadzać nicienie bezpośrednio z brzuchorzęsków. Przeważa jednak pogląd, że obydwie te grupy mają wspólnego przodka, który miał przypominać dzisiejsze, najprymitywniejsze morskie wirki prostojelitowe (*Rhabdocoela*). Szczegółowej analizie dowodowej doczekała się koncepcja P a r a m o n o w a [15]. Według niego dla wyjaśnienia filogenezy nicieni duże znaczenie miały badania nad brzuchorzęskami morskimi z rzędu *Macrodasyoidea*. Paramonow podaje warunki, które doprowadziły do ewolucji prymitywnych przodków brzuchorzęsków i nicieni w kierunku dzisiejszych nicieni. Za pierwotne środowisko, w którym powstawały nicienie, uważa dno morskie bogate w osady piasku i szczątki organiczne. Przodkami brzuchorzęsków i nicieni były małe organizmy, poruszające się za pomocą rzęsek. Dobór naturalny preferował powstanie form o efektywnym sposobie poruszania się, co umożliwiło zwiększenie rozmiarów ciała, przy zachowaniu zdolności przemieszczania się w osadzie dennym lub na jego powierzchni. Tendencję taką można zaobserwować również u współczesnych brzuchorzęsków. Przodkowie nicieni zaczęli poruszać się „węzowatym” ruchem, wyginając ciało na boki, a konsekwencją tego był rozwój silnej muskulatury. Wystąpiło zjawisko tzw. polaryzacji tkanek, tj. ujednoczenia orientacji komórek w tkance, co podniosło sprawność tkanek. Dzisiejsze nicienie mają bardzo sprawne mięśnie, czego dowodem jest ich wysokie zapotrzebowanie tlenowe. Równocześnie dobór naturalny preferował rozwój elastycznego oskórka i zanik przydatków na jego powierzchni, co było korzystne przy poruszaniu się między ziarnkami piasku i szczątkami organicznymi. Preferował również wysoki turgor ciała i powiązania mięśni z oskórkiem, a także wydłużony, obły kształt ciała. Wszystkie te procesy umożliwiały coraz sprawniejsze poruszanie się w środowisku i doprowadziły w końcu do powstania pierwotnych nicieni.

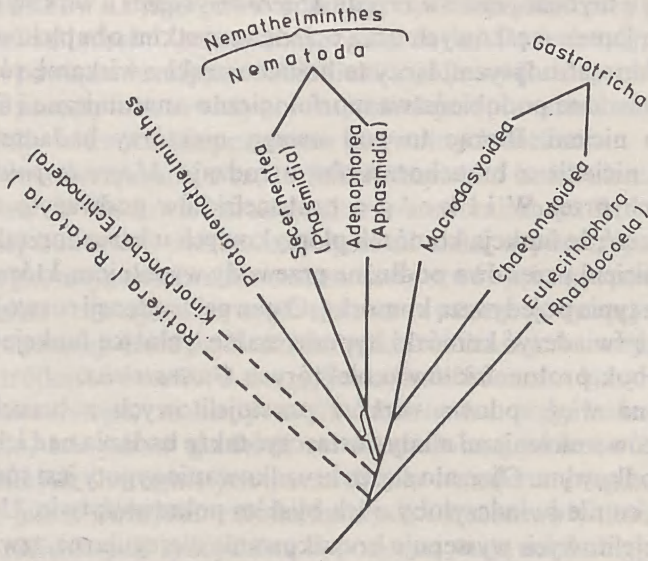
Między brzuchorzęskami z rzędu *Macrodasyoidea* i nicieniami istnieją duże podobieństwa w budowie morfologiczno-anatomicznej. Są to organizmy o wydłużonej budowie i dwubocznej symetrii ciała, w przekroju poprzecznym zwykle okrągłe, mają terminalnie umieszczony otwór gębowy, podobną budowę gardzieli i jelita oraz ogonową część ciała za otworem odbytowym, położonym po stronie brzusznej. Gardziel brzuchorzęska i nicienia jest umięśniona promieniście i ma trójkątne światło. Jama gębowa brzuchorzęska łączy się z gardzielą kształtu walcowatego, niekiedy u *Chaetonotoidea* przy końcu rozszerzoną buławkowato, tak jak w gardzieli rabsitopodobnej nicienia. Jelito przednie i tylne u jednych i drugich jest pochodzenia ektodermalnego, środkowe zaś zbudowane jest z komórek entodermalnych i nie ma wici ani rzęsek. Brzuchorzęski i nicienie pod syncytialną hypodermą mają mięśnie gładkie, ułożone podłużnie. Jednak u brzuchorzęsków nie tworzą one jednolitej warstwy, lecz przebiegają jako oddzielne, cienkie pęczki, wskutek tego brzuchorzęski nie mają

zwartego wora powłokowo-mięśniowego, tak jak nicienie. U brzuchorzęsków i nicieni podobny jest również układ nerwowy, chociaż brzuchorzęski mają tylko dwa podłużne pnie nerwowe odchodzące od obrączki nerwowej ku tyłowi ciała. Natomiast u nicieni układ nerwowy zbudowany jest z pierścienia okołogardzielowego, odchodzących od niego nerwów do warg i narządów czuciowych oraz sześciu pni nerwowych, od których odchodzą nieliczne odgałęzienia. Na tylnym końcu ciała u brzuchorzęsków otwierają się gruczoły lepne. Również wiele gatunków swobodnie żyjących nicieni ma gruczoły ogonowe, wytwarzające lepką wydzielinę, za pomocą której zwierzęta te przyczepiają się do podłoża.

Między brzuchorzęskami i nicieniami istnieją także podobieństwa fizjologiczne. Brzuchorzęski są zwierzętami mającymi stałą dla każdego gatunku liczbę komórek (eutelia). Każda część ich ciała zbudowana jest z określonej liczby komórek i według stałego wzoru. U *Chaetonotoidea* na przykład jelito składa się z czterech rzędów komórek, a u *Macrodasyoidea* przynajmniej z ośmiu. Podobnie jest i u nicieni, u których w rozwoju postembrionalnym nie zwiększa się liczba komórek, z wyjątkiem jelita i układu rozrodczego. W miarę wzrostu zwiększają się znacznie tylko wymiary komórek mięśniowych i wydalniczych oraz tworzy się syncytium komórkowe w hypodermie. Podziały komórek ustają, więc wraz z zakończeniem rozwoju embrionalnego, wzrost i regeneracja zarówno u brzuchorzęsków jak i u nicieni są niemożliwe. Podobieństwo można również zauważyć między czynnością urzęsionych amfidiów u nicieni a jamkami rzęskowymi niektórych morskich brzuchorzęsków. W obu przypadkach pełnią one rolę zmysłowych narządów chemoreceptyjnych i reoreceptyjnych, wrażliwych na bodźce chemiczne środowiska zewnętrznego i na kierunek prądu wody. Występowanie u brzuchorzęsków z rzędu *Macrodasyoidea* i u wirków rzęskowego pokrycia ciała, jamek rzęskowych oraz przede wszystkim obupłciowego układu rozrodczego (hermafrodytyzm) łączy te brzuchorzęski z wirkami, równocześnie jednak przedstawione podobieństwa morfologiczno-anatomiczne i fizjologiczne zbliżają je do nicieni. Biorąc to pod uwagę, niektórzy badacze próbowali wyprowadzać nicienie z brzuchorzęsków z rodzaju *Macrodasyoidea*. Jednak odkrycie u nich przez W i l k e ' g o protonefridiów podważyło tę hipotezę. Należy nadmienić, że funkcja komórek płomykowych u brzuchorzęsków została zastąpiona u nicieni przez dwa podłużne przewody wydalnicze, które są w swym podstawowym typie pojedynczą komórką. O pewnej tendencji rozwojowej w tym kierunku mogą świadczyć komórki hypodermalne, pełniące funkcje wydalnicze występujące obok protonefridiów u niektórych *Gastrotricha*.

Dowodów na więź rodową wirków prostojelitowych z brzuchorzęskami i brzuchorzęsków z nicieniami miały dostarczyć także badania nad ich wczesnym rozwojem zarodkowym. Okazało się, że bruzdkowanie zygoty jest różne dla tych grup zwierząt, co nie świadczyłoby o ich bliskim pokrewieństwie. U niektórych wirków prostojelitowych występuje bruzdkowanie nieregularne, tzw. „anarchistyczne” o charakterze wtórnym, ale uważane jest za odchylenie od typowego dla tego rzędu bruzdkowania spiralnego. Natomiast sposób bruzdkowania brzu-

chorzęsków nie jest jeszcze dostatecznie poznany. Wiadomo tylko, że w początkowych stadiach jest ono zupełne i równomierne. Dlatego też próbowano wyprowadzać nicienie od słodkowodnych wirków prostojelitowych, ale poprzez wrotki, u których bruzdkowanie jest bilateralne (dwubocznie symetryczne), tak jak u nicieni. Ponadto wrotki i nicienie mają stałą liczbę komórek ciała i dobrze rozwiniętą pierwotną jamę ciała (pseudoceloma) wypełnioną płynem surowiczym, w odróżnieniu od słabo wykształconej jamy ciała brzuchorzęsków. Ostatecznie z porównania budowy narządów i ich czynności u obu tych grup zwierząt można wnioskować z dużym prawdopodobieństwem o bliższym pokrewieństwie nicieni z brzuchorzęskami niż wrotkami, tym bardziej że wrotki mają protonefridia, a rozwój znamionują swoiste właściwości. Tak więc w świetle przedstawionych faktów najbardziej prawdopodobny wydaje się pogląd przyjmujący pochodzenie brzuchorzęsków od morskich wirków prostojelitowych *Eulecithophora* (wirki zaliczane dawniej do rzędu *Rhabdocoela*) i odszczepienie się nicieni od podstawy ich pnia rodowego, a więc od hipotetycznej grupy *Protonemathelminthes*. Rodzaj *Pro-rhynchopsis* stanowiłby formę pośrednią między wirkami prostojelitowymi a brzuchorzęskami. Przyjmując, że nicienie rozwinęły się ze wspólnego dla nich i brzuchorzęsków przodka, którego można upatrywać w dawnych organizmach zbliżonych do dzisiejszych wirków prostojelitowych, na ryc. 1 przedstawiono schemat ewolucyjnych powiązań w obrębie typu *Nemathelminthes* i z innymi spokrewnionymi taksonami. Ze schematu wynika, że od wspólnego pnia rozwojowego najpierw oddzieliły się *Rotifera* i *Kinorhyncha*, a dopiero później *Nematoda*.



Rys. 1. Schemat powiązań filogenetycznych w obrębie typu *Nemathelminthes* i innych spokrewnionych z nim taksonów, wywodzących się z *Eulecithophora* (*Rhabdocoela*)

Wyjątkami w zgodnej opinii współczesnych autorów o bliskim pokrewieństwie nicieni i brzuchorzęsków są poglądy K a e s t n e r a [12] i A n d r a s s y ' e g o [1]. K a e s t n e r wyprowadza nicienie z przodków *Protostomia* (pierwouste), tzw. *Archispiralia*. Wydaje się jednak, że hipoteza ta jest spekulatywna, a na jej poparcie brak konkretnych dowodów. Natomiast A n d r a s s y zakłada bliskie pokrewieństwo nicieni z nitnikowcami, uważając, że nicienie rozwinęły się wprost z prymitywnych *Metazoa* (wielokomórkowce), poprzez *Protonemathelminthes*. Zestawia on cechy upodabniające i różniące nicienie od innych grup bezkręgowców i oblicza procent prawdopodobieństwa (P) poszczególnych grup do nicieni, według wzoru:

$$P = \frac{\text{liczba wspólnych cech}}{\text{ogólna liczba badanych cech}} \cdot 100.$$

Wyniki tych badań sugerują istnienie bliskiego pokrewieństwa nicieni z nitnikowcami, stosunkowo bliskiego z niezmogowcami (*Priapulida*), brzuchorzęskami i szczotkoryjcami oraz znaczenie dalszego z innymi grupami bezkręgowców. Teoria ta jest interesująca, gdyż jest pierwszą próbą ściślejzego, nie opartego na spekulatywnych rozważaniach wyjaśnienia stosunków filogenetycznych nicieni z innymi bezkręgowcami. Stanowisko A n d r a s s y ' e g o spotkało się z krytyką C o o m a n s a [7], który sądzi, że nie można przyjmować za miarę podobieństwa tylko liczby wspólnych i różnych cech. Uważa on, że podobieństwa mogą być wynikiem konwergencji, a tym samym nie mogą być świadectwem pokrewieństwa filogenetycznego. Również sam dobór i liczba uwzględnionych cech są w znacznym stopniu zależne od badacza, co może mieć wpływ na ostateczny wynik.

Podobne trudności, jakie występują przy ustaleniu pochodzenia nicieni jako grupy, mają też miejsce przy ustalaniu pokrewieństwa między samymi nicieniami. Przyczyną tego stanu jest fakt, że nicienie stanowią bardzo liczną grupę zwierząt i wykazują dużą jednorodność morfologiczną mimo ogromnej różnorodności trybu życia, co przy odmiennej interpretacji przez różnych badaczy znaczenia poszczególnych cech morfologicznych powoduje, że nie można przedstawić systemu, który w pełni odzwierciedlałby poglądy wszystkich badaczy. Dlatego zdarzają się przypadki występowania tzw. gatunków fizjologicznych, nie różniących się cechami morfologicznymi. Wiele nicieni jest przy tym pasożytami, co prowadzi do powstania specyficznych przystosowań i redukcji szczegółów budowy ciała. Jednak na ogół istnieją różnice anatomo-morfologiczne pozwalające na wyróżnienie poszczególnych taksonów, lecz niedostateczne poznanie całej grupy nie zawsze pozwala na ocenę znaczenia poszczególnych cech z ewolucyjno-fizjologicznego punktu widzenia. Toteż obok cech morfologicznych cenne są informacje o sposobie i środowisku życia nicieni a także przebiegu ich cykli rozwojowych. Na znaczenie filogenetyczne znajomości cykli rozwojowych w klasyfikacji pasożytów zwróciła uwagę J a n i -

s z e w s k a [11] z zastrzeżeniem, że do tego zagadnienia należy podchodzić bardzo ostrożnie, bo niejednokrotnie nicienie należące do bliskich jednostek taksonomicznych wykazują zróżnicowanie biologiczne, a przebieg cykli rozwojowych wielu gatunków nicieni dotychczas jest jeszcze niezany.

Podwaliny pod systematykę nicieni położył badacz amerykański C h i t - w o o d [3, 5], który nadał im rangę typu i dokonał podziału na dwie gromady: *Phasmidia* i *Aphasmidia*. Później okazało się, że nazwa *Phasmidia* jest preokupowana dla określenia jednego z rzędów owadów i dlatego C h i t w o o d [6] i zanim inni zaczęli używać nazwy *Secernentea* Linstow, 1905 i odpowiednio *Adenophorea* Linstow, 1905 dla *Aphasmidia* [13]. Zasadniczą cechą diagnostyczną i jednocześnie systematyczną pozwalającą mu podzielić nicienie na dwie gromady (od czasu odkrycia rzęsek w amfidiach traktowane jako pogromady s. podklasy) jest występowanie narządów czuciowo-wydzielniczych, tzw. gruczołów przyogonowych (*phasmidia*) i brak właściwych gruczołów ogonowych u *Secernentea*, natomiast brak gruczołów przyogonowych i zazwyczaj występowanie gruczołów ogonowych u *Adenophorea*. Nie są to jednak cechy, na podstawie których B. C h i t w o o d wydzielił obie gromady. Ich przedstawiciele różnią się również budową kutikuli, amfidów, otworu gębowego, gardzieli, układu wydalniczego, rozrodczego i głowowych narządów czuciowych. W swoim podziale zauważył jednak wiele wyjątków dlatego też zaliczanie poszczególnych gatunków nicieni do *Phasmidia* i *Aphasmidia* było możliwe na podstawie przewagi cech jednego z taksonu. Bardziej szczegółowe badania wykazały, że istnieje wiele form, które trudno zaliczyć w zdecydowany sposób do którejkolwiek z podgromad. G o o d e y [10] nie uznaje w związku z tym podziału na podgromady i dzieli od razu gromadę N e m a t o d a na rzędy. C h i t w o o d B. i C h i t w o o d M. [4] wyróżnili w gromadzie *Phasmidia* dwa rzędy: *Rhabditida* (nicienie swobodnie żyjące i pasożyty zwierząt) oraz *Spirurida* (wyłącznie formy pasożytnicze), a w gromadzie *Aphasmidia* również dwa rzędy — *Chromadorida* (swobodnie żyjące) i *Enoplida* (głównie swobodnie żyjące i nieliczne pasożytnicze). Również P e a r s e [17] przyjął podział nicieni na dwie gromady: *Phasmidia* (= *Secernentea*) i *Aphasmidia* (= *Adenophorea*), ale rzędy C h i t w o o d ó w traktował jako podgromady, zmieniając im końcówki — *ia*: *Rhabditia*, *Spiruria*, *Chromadoria* i *Enoplia*. Podział C h i t w o o d ó w na *Phasmidia* i *Aphasmidia* przyjęli także autorzy radzieccy S k r j a b i n i S z u l c [19], lecz w podgromadzie *Phasmidia* wyodrębnili trzeci rząd *Ascaridia* zawierający pasożyty kręgowców i stawonogów, oraz de C o n i n c k [8], który zaproponował, żeby w podgromadzie *Adenophorea* wyróżnić dwa nadrzędy: *Chromadoria* i *Enoplia*. Według opinii C h i t w o o d ó w [4] w ewolucji nicieni wcześniej miały się oddzielić *Phasmidia*. Gatunki z tej podgromady występują przeważnie w glebie i wodach słodkich lub są pasożytami zwierząt i roślin, natomiast przedstawiciele z podgromady *Aphasmidia* przeważnie żyją w wodach

slonych, a tylko niektóre zasiedlają gleby i wody słodkie lub są pasożytami zwierząt i roślin. Według nich form najprymitywniejszych należy szukać wśród nicieni w podrzędzie *Rhabditina*. Przodkowie o „rabditoidalnej” budowie ciała przystosowali się do saprobiontycznych warunków życia i z takich wyjściowych, swobodnie żyjących rabditopodobnych form mają wywodzić się współczesne, swobodnie żyjące i pasożytnicze nicienie zwierząt. Podział systematyczny B. C h i t w o o d a na *Phasmidia* i *Aphasmidia* ma swoje potwierdzenie w rozwoju ontogenetycznym *Nematoda*. U nicieni z grupy pierwszej z reguły inwazyjną dla żywiciela ostatecznego jest larwa III stadium ( $L_3$ ), a dla pośredniego — larwa I stadium ( $L_1$ ), podczas gdy u nicieni z grupy drugiej dla żywiciela ostatecznego inwazyjne są larwy I stadium. Ponadto C h a u b a u d [2] zwrócił uwagę, że istnieje korelacja między typem cyklu rozwojowego nicieni a cechami morfologicznymi, na podstawie których oparta jest systematyka. Natomiast D r o z d o w s k i j [9] zauważył, że istnieją różnice w rozwoju embrionalnym u przedstawicieli *Adenophorea*. U nicieni z rzędu *Chromadorida* w stadium dwóch blastomerów entoderma usytuowana jest w tylnym blastomerze, a u *Enoplida* w przednim. Autor uznał tę cechę jako diagnostyczną na szczeblu podgromad.

Pogląd C h i t w o o d ó w kwestionuje P a r a m o n o w [16] i de C o n i n c k [8], którzy wysunęli hipotezę, że bardziej prymitywne i starsze filogenetycznie są *Aphasmidia*, natomiast *Phasmidia* mają pochodzenie wtórne. Według nich *Aphasmidia* rozwinęły się jako organizmy zasiedlające wody słone, a następnie słodkie i glebę. Natomiast *Phasmidia* po opanowaniu lądowego środowiska, bogatego w rozkładającą się substancję organiczną, przeszły do pasożytnictwa w roślinach, zwierzętach bezkręgowych i kręgowych. P a r a m o n o w, podobnie jak i de C o n i n c k skłaniają się ku pogładowi, że jeżeli w ogóle można mówić o „prototypie” nicieni, to należy szukać wśród morskich gatunków z rzędu *Chromadorida*, u których nie stwierdzono organizmów pasożytniczych.

Innego zdania jest badacz węgierski A n d r a s s y [1], który oparł nową systematykę nicieni na matematycznej analizie cech anatomo-morfologicznych, wyróżniając nie dwie, ale trzy podgromady *Nematoda*: *Torquentia*, *Secernentia* i *Penetrantia*. *Torquentia* (odpowiednik *Chromadorida*) i *Penetrantia* (odpowiednik *Enoplida*) zostały wyodrębnione przez podział dotychczasowej podgromady *Adenophorea*. *Secernentia* natomiast jest odpowiednikiem podgromady *Secernentea* ze zmienioną końcówką. Uzasadnieniem zmian nazewnictwa były najbardziej charakterystyczne cechy grup: u *Torquentia* występowanie spiralnych narządów nabocznych, a u *Penetrantia* występowanie kieszonkowatych narządów nabocznych wnikających w głąb hypodermy. A n d r a s s y po zestawieniu cech diagnostycznych dotychczasowych podgromad *Secernentea* i *Adenophorea* zauważył, że *Secernentea* są grupą o wiele bardziej jednolitą morfologicznie niż *Adenophorea*. Proporcje stałych, niezmiennych cech wynoszą 17:4, tzn., że w pierwszej grupie wykryto 17 stałych cech, a w drugiej tylko 4. *Adenophorea* wykazują dużą zmienność morfologiczną i ekologiczną. Należą tu

nicienie swobodnie żyjące morskie, słodkowodne, glebowe oraz pasożytnicze. Również ta różnorodność wskazuje, że *Adenophorea* nie mogą stanowić jednorodnej grupy. Analizując z kolei cechy charakterystyczne *Chromadorida* i *Enoplida* — na które według C h i t w o o d ó w [4] dzieli się *Aphasmidia* = *Adenophorea* — można zauważyć, że *Chromadorida* mają 10 stałych cech, a *Enoplida* 7. Zestawiając natomiast cechy charakterystyczne dla trzech jednostek systematycznych: *Secernentea*, *Chromadorida* i *Enoplida*, otrzymujemy 21 stałych cech u *Secernentea*, 16 u *Chromadorida* i 14 u *Enoplida*. Cechy te dotyczą narządów sensorycznych, rozrodczych i gruczołów gardzielowych. Na tej podstawie A n d r a s s y doszedł do wniosku, że *Secernentea*, *Chromadorida* i *Enoplida* różnią się od siebie zbliżoną liczbą cech charakterystycznych i w związku z tym *Chromadorida* i *Enoplida* mogą być awansowane i uważane za taksony tej samej rangi co *Secernentea*, czyli podgromady. Okazało się, że należące przedtem do *Adenophorea* grupy *Chromadorida* i *Enoplida* nie są bardziej spokrewnione niż *Secernentea* i *Chromadorida* i że najbardziej jednolitą jest podgromada *Secernentea*, a najmniej *Enoplida*. A n d r a s s y na podstawie analizy serii ewolucyjnych nicieni (tzn. gatunków wykazujących stopniowy rozwój lub wtórną utratę danej cechy), również doszedł do wniosku, że *Torquentia* (*Chromadorida*) mogą być uważane za najprymitywniejsze, ponieważ wykazują najwięcej cech prymitywnych i ze względu na brak u nich gatunków pasożytniczych. Większość z nich żyje w wodach słonych i śródlądowych, tylko nieliczne zasiedlają biotopy glebowe. Autor sądzi, że tworzą one pień *Nematoda*, podczas gdy *Secernentia* i *Penetrantia* (*Enoplida*) stanowią młodsze odgałęzienia, wśród których występują gatunki swobodnie żyjące, pasożyty roślin, bezkręgowców i kręgowców. Za najmłodszą filogenetycznie i najbardziej jednorodną grupę A n d r a s s y uważa natomiast *Secernentia*.

Następną propozycję nowej systematyki nicieni przedstawili badacze radzieccy M a l a c h o w i wsp. [14], którzy gromadę *Nematoda* podzielili także na trzy podgromady: *Enoplia*, *Chromadoria* i *Rhabditia*. Według tej systematyki zakres *Enoplia* i *Chromadoria* pokrywa się z wprowadzonymi przez P e a r s a [17] podgromadami o tej samej nazwie. Podgromada *Rhabditia* zawiera natomiast nicienie, które we wcześniejszych podziałach systematycznych należały do podgromady *Phasmidia* (= *Secernentea*). Czyli podział M a l a c h o w a i wsp. na podgromady odpowiada podziałowi zaproponowanemu przez A n d r a s s y ' e g o, tzn. *Enoplia* = *Penetrantia*, *Chromadoria* = *Torquentia* i *Rhabditia* = *Secernentia*. Ich zdaniem w rozwoju rodowym nicieni wylaniają się dwie filogenetyczne linie, jedna z nich daje początek nicieniom podgromady *Enoplia*, a druga — *Chromadoria*. Podgromada *Chromadoria* zawiera swobodnie żyjące morskie, rzadziej słodkowodne i glebowe nicienie. Nie występują w niej pasożyty, co jest jednym z dowodów wskazujących na prymitywność grupy; najprymitywniejsze formy występują w rzędzie *Monhysterida*. Natomiast podgromada *Rhabditia* powiązana jest filogenetycznie z *Chro-*



*madoria*, na co wskazuje występowanie szeregu wspólnych cech, a obie grupy pochodzą od słodkowodnych lub glebowych przodków rzędu *Plectidida*.

Z przedstawionych rozważań wynika, że zasadnicza myśl systemu B. Chitwooda przetrwała, a obecne systemy nicieni są mniej lub bardziej zmodyfikowanymi wersjami układu zaproponowanego przez tego nematologa. Należy nadmienić, że i na niższych szczeblach systematycznych panuje podobna niezgodność poglądów jak przy samym podziale nicieni na podgromady. Jest to zrozumiałe ze względu na podane wcześniej trudności napotymane przy klasyfikacji nicieni. Sprawiają one, że zagadnienia filogenezy i systematyki nicieni są do dziś sporne, a proponowane rozwiązania ciągle są mniej lub bardziej subiektywne. Z drugiej jednak strony, zaproponowane nowe podziały gromady *Nematoda* na trzy podgromady, w obecnym stanie wiedzy, zdają się najbardziej zbliżone do systemu naturalnego.

## LITERATURA

1. Andrassy I. — *Evolution as a basis for the systematization of nematodes*. Akad. Kiado, Budapest 1976.
2. Chaubaud A. G. — *Essai d'Interpretation Phyletique des Cycles Evolutifs Chez les Nematodes Parasites de Vertebres, Conclusions Taxonomiques*. Ann. Parasit. Hum. Comp. 30: 83–126, 1955.
3. Chitwood B. G. — *A revised classification of the Nematoda*. J. Parasitol. 20, 2: 131–137, 1933.
4. Chitwood B. G., Chitwood M. B. — *The characters of a protonematode*. J. Parasitol. 20: 130–131, 1933.
5. Chitwood B. G. — *A revised classification of the Nematoda*. Papers Helminth, Moscow, 67–79, 1937.
6. Chitwood B. G. — *The designation of official names for higher taxa of invertebrates*. Bull. Zool. Nomenclat. 15: 660–695, 1958.
7. Coomans A. — *Evolution as a basis for the systematization of nematodes — a critical review and expose*. Nematologica 23: 129–136, 1977.
8. De Coninck L. — *Système des Nématodes. Sous — classe des Adenophorea*. [W:] *Traité de Zoologie*. P. Grassé (red.), Masson et Cie, Paris, 4, 4: 586–731, 1965.
9. Drozdowski E. M. — *Droblenje jaja u widow Eudorylaimus i rol droblenija w opredelenii sostawa podklassow nematod*. Dokl. AN SSSR. 222, 4: 1102–1108, 1975.
10. Goodey T. — *Soil and freshwater nematodes*. Butler and Tanner Ltd, London 1963.
11. Janiszewska J. — *Parasitogenetic rules. Janicki rule*. Zool. Pol. 5, 3: 31–34, 1949.
12. Kaestner A. — *Lehrbuch der speziellen Zoologie. Band I Wirbellose*. Gustav Fischer Verlag, Jena 1965.
13. Linstow O. — *Neue Helminthen*. Arch. Naturg. Berl. Jg. 71, 1, 3: 267–276, 1905.
14. Malachow W. W., Ryżikow K. M., Sonin M. D. — *Sistema krupnych taksonow nematod: podklassy, otrjady, podotrjady*. Zool. Żurnal. 61, 8: 1125–1134, 1982.
15. Paramonow A. A. — *Osnowy fitogelmintologii*. T.I. AN SSSR, Moskwa 1962.
16. Paramonow A. A. — *Niekotoryje woprosy filogenii Rhabditida (Oerly, 1880) Chitwood, 1933*. Tr. GELAN. 16: 101–108, 1965.

17. Pearse A. S. — *An introduction to parasitology*. Ch. Thomas, Baltimore 1942.
18. Raski D. J., Jones N. O., Roggen D. R. — *On the morphology and ultrastructure of the esophageal region of Trichodurus allius Jensen*. Proc. of Helminth. Society of Washington. 36, 1: 106–118, 169.
19. Skrjabin K. I., Szulc R. S. — *Osnovy obszecznej gelmintologii*. Moskwa 1940.

KRZYSZTOF JAKUBOWSKI

Muzeum Ziemi PAN  
Warszawa

## MUZEUM ZIEMI — W POSZUKIWANIU NOWEGO WYRAZU POPULARYZACJI WIEDZY PRZYRODNICZEJ

Wystawy muzealne pozostają wciąż ważnym instrumentem upowszechniania wiedzy przyrodniczej. Ten zdawałoby się oczywisty fakt jest w praktyce często niedoceniany wobec ogromnej fascynacji nowoczesnymi formami przekazu. Rolę szczególną spełniają rozmaite środki audiowizualne, a wśród nich coraz bardziej atrakcyjne filmy popularnonaukowe korzystające z najnowszych zdobyczy współczesnej techniki w prezentacji najbardziej nawet złożonych procesów i zjawisk przyrodniczych. Rozpowszechniane masowo przez telewizję, utrwalane w zapisie magnetowidowym spełniają niekwestionowane funkcje edukacyjne.

Podstawowym wyróżnikiem wystaw muzealnych jest możliwość wydobycia niezastąpionych walorów poznawczych oryginalnego obiektu. W popularyzacji nauk przyrodniczych jest to czynnik szczególnie istotny. Zdobytą bowiem w ramach procesu edukacji szkolnej i pozaszkolnej wiedza o przyrodzie obejmuje



Fot. 1. Wystawa kamieni budowlanych Polski na terenach ekspozycyjnych Muzeum Ziemi PAN.  
Fot. L. Dwornik

przede wszystkim sferę znajomości podstawowych faktów przekazywanych drogą informacji pośredniej, niezależnie od tego, czy będzie to żywe słowo wykładu, dobra, nawet znakomicie ilustrowana książka, czy obraz filmowy lub audycja telewizyjna. Stosunkowo rzadko istnieją szersze możliwości oddziaływania na wyobraźnię poprzez bezpośredni kontakt z obiektem przyrodniczym. Tymczasem głębsze zrozumienie przyrody wymaga owej bezpośredniej konfrontacji. Takie właśnie możliwości stwarza wystawa muzealna. Stąd też wynika szczególnie i w pewnym zakresie niezastąpiona rola muzeów w procesie edukacji przyrodniczej<sup>1</sup>. Znajduje to potwierdzenie w działalności wielu renomowanych muzeów przyrodniczych w świecie, które — odpowiadając na zapotrzebowanie społeczne — przeżywają swoisty renesans wyrażający się m.in. we wzroście liczby nowoczesnych ujęć wystawienniczych. Coraz częściej, oprócz zasadniczej przebudowy tradycyjnych wystaw stałych, pojawiają się czasowe ekspozycje problemowe, które zyskują rangę wydarzeń muzealnych porównywalnych z głośnymi ekspozycjami artystycznymi. Odnosi się to przede wszystkim do tendencji obserwowanych w muzealnictwie światowym, jak chociażby w krajach Europy Zachodniej czy w Stanach Zjednoczonych AP, gdzie istnieje rozbudowana sieć muzeów przyrodniczych i istnieją określone tradycje ich wykorzystania w systemie edukacji powszechnej<sup>2</sup>. Rażący niedorozwój muzealnictwa przyrodniczego w Polsce (czego wyrazem jest m.in. fakt, że mimo nieustannych starań Warszawa jest wciąż jedyną stolicą europejską pozbawioną wielodziałowego muzeum przyrodniczego) nie pozwala na uzyskiwanie znaczących osiągnięć w tej dziedzinie. Tym bardziej interesujące wydawać się mogą inspiratorskie próby warszawskiego Muzeum Ziemi PAN organizowania wystaw w ostatnich latach na szerszą skalę zarówno w kraju, jak i za granicą.

Głównym założeniem poszukiwań odpowiedniej koncepcji wystawienniczej jest świadomość znaczenia zarówno właściwego doboru tematyki ekspozycji, jak i formy jej prezentacji. W upowszechnianiu treści poznawczych będą to z reguły ujęcia interdyscyplinarne, odpowiadające trendom rozwojowym współczesnej nauki. W zakresie formy odwołują się one do nie zawsze docenianego faktu, że muzealne obiekty przyrodnicze mogą być nie tylko nośnikiem informacji, ale również źródłem przeżyć emocjonalnych poruszających sferę wyobraźni, ukazujących piękno i harmonię świata przyrody.

Posłużmy się kilkoma przykładami zaczerpniętymi z działalności Muzeum Ziemi i odnoszącymi się jedynie do wystaw czasowych. Szeroki rezonans zyskała wystawa pt. „Asocjacje krzemowe w świecie minerałów i mikroelektroniki” (1990), przygotowana przez Muzeum Ziemi we współpracy z Instytutem

<sup>1</sup> Jakubowski K. — *Rola muzeów w upowszechnianiu wiedzy przyrodniczej*. Ziemia 84: 59–66, 1989.

<sup>2</sup> Przegląd tendencji rozwojowych współczesnego muzealnictwa por. m.in. Hudson K. — *Museums of Influence*, Cambridge 1987; Jakubowski K. — *Muzea przyrodnicze w obliczu przemian i wyzwań współczesności*. Muzealnictwo 33: 22–37, 1990.

Technologii Elektronowej<sup>3</sup>. Była to pierwsza nasza próba przełamania stereotypowych podziałów w popularyzacji wiedzy o otaczającym nas świecie przyrody i techniki. Głównym przesłaniem ekspozycji stała się refleksja natury poznawczej, ukazująca charakter tych związków i przypominająca, że pierwotnym źródłem surowców umożliwiających wytwarzanie najbardziej nawet wyrafinowanych urządzeń współczesnej techniki jest wciąż sama Ziemia. „Asocjacje krzemowe” odniesione zostały do tego właśnie, najpospolitszego obok tlenu, pierwiastka na kuli ziemskiej, który jest podstawowym budulcem przeważającej części mas skalnych. Ten sam pierwiastek — krzem, wyodrębniony z substancji mineralnych i odpowiednio przetworzony, jest dziś także głównym materiałem wyjściowym współczesnej elektroniki, wykorzystywanym m.in. do produkcji układów scalonych, przyrządów półprzewodnikowych i optoelektronicznych. Na jednej tej wystawie ukazany został odwieczny, naturalny świat minerałów i skał oraz nowoczesny, syntetyczny świat najbardziej progresywnej dziedziny techniki. Okazało się, że żywe zainteresowanie, nie tylko poznawcze ale i estetyczne, mogą wywoływać zarówno bardzo urozmaicone formy i barwy naturalnych kryształów mineralnych, jak i kontrastujące z nimi sterylną niemal czystością srebrzyste polikryształy krzemu wytwarzane w laboratorium. Wystawa cieszyła się dużym powodzeniem wśród publiczności. Podkreślano niekonwencjonalny sposób ujęcia problematyki wystawy, który oprócz treści poznawczych zmuszał do szerszej refleksji, ukazującej odwieczne powinowactwa świata przyrody i techniki. Rzecz znamienna, iż treść i forma ekspozycji trafiały do przekonania bardzo różnych grup odbiorców. Oprócz widzów dorosłych szczególnie żywo reagowała młodzież, a także dzieci, nawet w wieku przedszkolnym. Dla zwiedzających o zainteresowaniach technicznych zaskakujące były odniesienia do świata przyrody, a z kolei miłośnicy minerałów zdumiewali się egzotycznymi dla nich tajemnicami zastosowań krzemu w elektronice. Trafność odbioru zasadniczej idei ekspozycji potwierdzały liczne komentarze zarejestrowane po obejrzeniu wystawy. Przykładowo: „... Fascynująca wystawa. Zwiedzanie jej otwiera człowiekowi oczy na niezwykle wprost możliwości współczesnej techniki i wykorzystanie bogactw Ziemi dla potrzeb człowieka — pokazuje przejście od przyrody do techniki...”. „... Dla człowieka zajmującego się humanistyką, takie przemysłowe zastosowanie krzemu jawi się jako science fiction. Dziękuję za nowe przeżycia... za pokazanie świata, którego trudno się domyśleć, że istnieje”.

<sup>3</sup> Jaubowski K. — *Przyroda, technika, sztuka. Nowe wystawy Muzeum Ziemi PAN*. Nauka Polska 6: 137–140, 1990; Krumbiegel G. *Ausstellung Siliziumdioxid im Licht der Mineralogie und Mikroelektronik*. Fundgrube 3: 123, 1990.

Warto zwrócić uwagę, że ten sam bardzo interesujący problem roli związków krzemu w przyrodzie i technice został również przedstawiony na wielkiej wystawie czasowej pt. „L'âge du silicium” zaprezentowanej rok później (listopad 1991 — grudzień 1992) w słynnym *Museum National d'Histoire Naturelle* w Paryżu.



Fot. 2. Jeden z największych okazów amonitów znalezionych w Polsce (*Anapachidiscus Wittekindi*, kreda górna) prezentowany na wystawie „Z przeszłości geologicznej Ziemi”. Fot. L. Dwornik

Bliższa analiza sondaży i opinii zwiedzających wskazuje wyraźnie, że przyrodnicze odniesienia do technicznych zastosowań ukazywane na wystawie w sposób bezpośredni, mogą stanowić skuteczną drogę poznania i głębszego zrozumienia złożonych relacji człowiek — środowisko.

Odmienny nurt zainteresowań, bliski tradycyjnemu przyrodoznawstwu, podejmowała wystawa pt. „Rośliny lasu karbońskiego” udostępnienia publiczności od września 1991 r. Również i w tym przypadku próbowano wydobyć bardziej uniwersalne wątki wykraczające poza sferę informacyjną. Przewodnią myślą ekspozycji było przypomnienie odległych dziejów rozwoju roślinności w okresie karbońskim tj. sprzed blisko 350 mln lat, kiedy nastąpiła swoista „eksplozja” lądowych zbiorowisk roślinnych i pojawiły się pierwsze lasy na kuli ziemskiej. Demonstrowany na wystawie materiał poglądowy w postaci najrozmaitszych, często egzotycznych skamieniałości roślinnych — uzmysławiał wszakże nie tylko skomplikowane drogi ewolucji świata roślinnego<sup>4</sup>. Przypominając genezę największych złóż węgla kamiennego wystawa zasygnalizowała także utylitarne motywy poznawcze, potwierdzając zarazem głębokie uzależnienie współczesnej

<sup>4</sup> Poglądowe i dydaktyczne walory wystawy zostały wykorzystane w opracowaniach popularnonaukowych por. m.in. Z a r z y c k a Z. — *Rośliny lasu karbońskiego*. Problemy 3: 20–24, 1992; K r a j e w s k a K. — *Rośliny lasu karbońskiego*. Biologia w Szkole 1: 14–20, 1992.



Fot. 3. Doskonale zachowany okaz muchówki (*Diptera*) z kolekcji inkluzji zwierzęcych w bursztynie bałtyckim. Fot. M. Małachowska-Kleiber

cywilizacji od naturalnych procesów przyrodniczych zachodzących w odległej przeszłości geologicznej. Jednak generalne przesłanie ekspozycji zmierzało do pobudzenia całkiem już współczesnych rozważań o nieustannej zmienności świata przyrody. Ta właśnie, nadrzędna intencja wystawy została trafnie odczytana i przyczyniła się do rozszerzenia kręgów odbiorców. Po kilkumiesięcznej ekspozycji w Muzeum Ziemi, wystawę zaprezentowano w Muzeum Leśnictwa w Gołuchowie (lipiec-październik 1992), a na jej udostępnienie czeka w kolejności kilka innych muzeów regionalnych.

Szczególne renome zyskały organizowane przez Muzeum Ziemi wystawy poświęcone bogactwom mineralnym. Powodem szerokiego zainteresowania są — niezależnie od rozmaitych zastosowań praktycznych — walory estetyczne większości eksponowanych skał i minerałów, które zachwycają i intrygują niezwykłością kształtów i barw. Ten motyw fascynacji inspirował sposób ich ekspozycji. Spośród ostatnio organizowanych wymienić można głośne wystawy: „Opale australijskie” (1988), „Magia turkusu” (1989/90) lub „Poezja kamiennych kryształów” (1990/91). Należy podkreślić, że o powodzeniu tych wystaw decydowała nie tylko atrakcyjność materiału ekspozycyjnego, ale także świadomy zamysł osadzenia treści ściśle przyrodniczej w szerszym kontekście kulturowym. Pierwsza w Polsce monograficzna wystawa szlachetnych opali australijskich stała się jednocześnie okazją do zasygnalizowania egzotyki środowiska przyrodniczego Australii oraz nawiązywała do symboliki tego niezwykle kamienia wśród pierwotnych mieszkańców kontynentu — Aborygenów. Na tym tle ujawniły się dopiero w pełni źródła zainteresowań fenomenem australijskich opali wyczerpująco przedstawione w przyrodniczej części ekspozycji poświę-

conej charakterystyce procesów mineralizacji opalowej, genezie złóż, metodom wydobycia i obróbki opali<sup>5</sup>. Ten zapewne, niekonwencjonalny sposób ujęcia tematyki przyrodniczej sprawił, że wystawa „Opale australijskie” spotkała się z szerokim uznaniem i została wyróżniona Pierwszą Nagrodą Ministra Kultury i Sztuki w Ogólnopolskim Konkursie na Najciekawsze Wydarzenie Muzealne Roku 1988.



Fot. 4. Odciski liści rośliny z rodziny araliowatych (*Dewalquea pentaphylla*, kreda górna).

Fot. L. Dwornik

<sup>5</sup> Jakubowski K. — *Opale australijskie. Australian opals*. Katalog wystawy ed. pol., ang. Wydawnictwo Polonia, Lublin 1988. Tenże — *Opale australijskie*. Złotnik — Zegarmistrz 2: 33–39, 1988; Tenże — *Opale*. Wiedza i Życie 10: 74–77, 1991.



Do pierwotnych motywów wykorzystania minerałów w zdobnictwie i rzemiośle artystycznym nawiązywała ekspozycja pt. „Magia turkusów”. Rodowód niezwykle fascynacji tym kamieniem ozdobnym, słynącym od wieków ze szlachetnej urody i bogatej symboliki, ukazano dzięki możliwości prezentacji wymienionej kolekcji tradycyjnych ozdób i współczesnej biżuterii Indian Ameryki Północnej, pochodzącej ze zbiorów E.M. Kuster z San Francisco. Przygotowany przez Muzeum Ziemi scenariusz tej wystawy akcentował oczywiście przede wszystkim aspekty przyrodnicze związane z warunkami mineralizacji turkusów, występowania jego złóż oraz charakterystykę rozmaitych odmian tego kamienia. Przedstawione w ekspozycji główne nurty tradycyjnej i współczesnej sztuki zdobniczej indiańskich artystów i rzemieślników ilustrowały szczególną rolę turkusów w tym kręgu kulturowym. Dzięki odpowiedniej kompozycji wystawy zdołano ukazać bardzo złożoną drogę odwiecznych zainteresowań człowieka pięknem kamieni ozdobnych. Błękitnym turkusom bowiem, uznawanym przez Indian za święty dar niebios, przypisywano od dawna tajemne moce magiczne. Wiara, że turkusowe amulety chronią skutecznie przed złym losem przetrwała do czasów obecnych, stając się nie wyczerpanym źródłem inspiracji współczesnych artystów indiańskich. Jakże blisko tu do obecnej również w naszym życiu symboliki kamieni szlachetnych i ozdobnych. Może dlatego właśnie wystawa „Magia turkusów” cieszyła się tak dużym powodzeniem i po przedłużonej kilkumiesięcznej prezentacji w Muzeum Ziemi została również pokazana w Krakowie, Częstochowie Kazimierzu Dolnym i w Gdańsku<sup>6</sup>.

Nieco inne możliwości popularyzacji treści przyrodniczych ujawniła kolejna wystawa zatytułowana „Poezja kamiennych kształtów” (1990/91). Tym razem główna idea wystawy odwoływała się wprost do bliskich związków świata natury i sztuki. Zaprezentowane na wystawie naczynia dekoracyjne z rozmaitych kamieni ozdobnych, wykonane przez znanego rzeźbiarza Horsta Bühla z Norymbergi, pozwoliły na wyjątkowo ekspresyjną ilustrację tych relacji dzięki niezwykle wyczuleniu artysty na naturalne piękno kamienia. Akcenty te wydobyto, stosując odpowiednie zabiegi ekspozycyjne, polegające na zestawieniu surowych okazów kamieni ozdobnych, pochodzących z kolekcji Muzeum Ziemi i efekty ich artystycznej transformacji. Ogromna różnorodność kamiennego materiału zarówno pod względem struktury, jak i kolorystyki pozwoliła na szeroką charakterystykę niezliczonych możliwości wydobycia niepowtarzalnej urody minerałów i skał ozdobnych. Kompozycja wystawy, podkreślająca piękno kształtów i barw zarówno samych minerałów, jak i wykonanych z nich naczyń dekoracyjnych — świadomie ukierunkowana została na poruszenie wyobraźni widza. Komentarz informacyjny, dotyczący m.in. mineralogicznej charakterystyki prezentowanych odmian kamieni ozdobnych, przedstawiony został celowo

<sup>6</sup> Wystawa przyrodnicza pt. „Magia turkusów” ze względu na swój szeroki kontekst entograficzny i artystyczny była prezentowana z powodzeniem również w muzeach innego typu, m.in. w Muzeum Etnograficznym w Krakowie, Muzeum Sztuki Złotniczej w Kazimierzu Dolnym oraz w Muzeum Historii Miasta Gdańska.

bardzo dyskretnie. Tym samym stworzono szansę osobistego odbioru skojarzeń i relacji pomiędzy światem natury i sztuki. Z satysfakcją można podkreślić, że intencja ta została trafnie odczytana przez widzów<sup>7</sup>. Świadczy o tym nie tylko duże powodzenie wystawy, ale również bardzo interesujące i liczne komentarze odnotowane w księdze pamiątkowej. Najczęściej pojawiającym się motywem były odniesienia do piękna natury jako źródła inspiracji artystycznej, np.: „Wystawa zachwyca, bo pokazuje jak człowiek swoją pracą może uwypuklić to, co piękne w przyrodzie..., podziwiam kunszt wykonania i wydobywania nieprawdopodobnego piękna, kolorystyki i rysunku „martwe skały, które nabrały życia i ciepła...”.

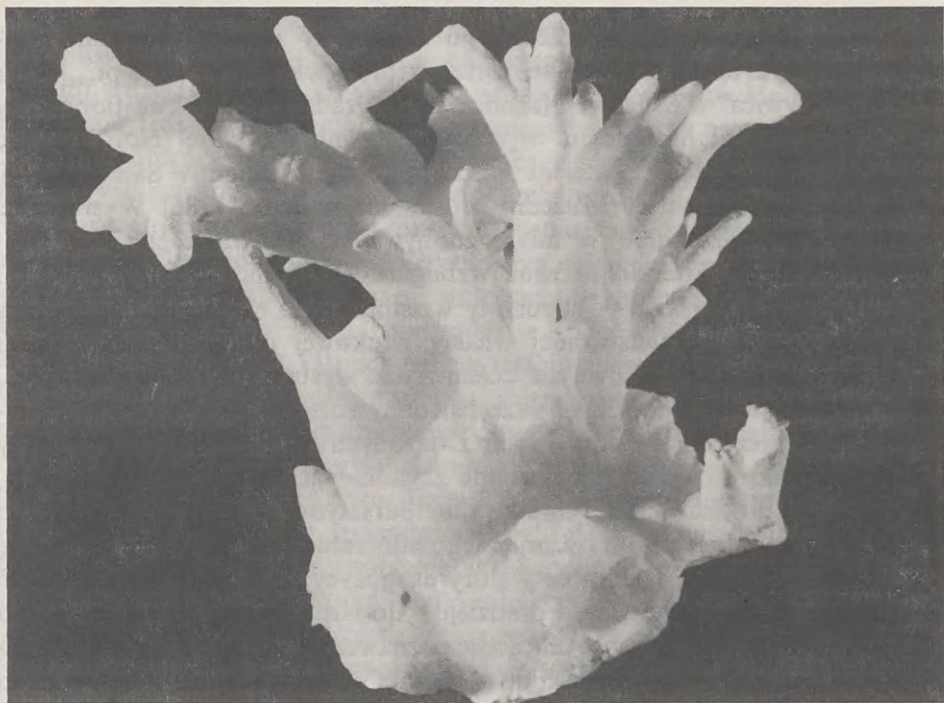
Często jednak demonstrowano również inne opinie: „... Natura jest najgenialniejszym artystą...”, „Człowiek to tylko kiepski naśladowca natury, jej piękno jest niepowtarzalne...”. Niekiedy sięgano do szerszych skojarzeń: „Idąc drogą życia jakże często potykamy się o kamienie z grymasem na twarzy. Czy wówczas dostrzegamy ich walory estetyczne? Osobiście stwierdzam, że do tej pory było z tym różnie, lecz od teraz zrozumiałam zakłętę, nie odkrytą, milczące piękno skalistego ogromu...” Najtrafniejsza synteza myśli przewodniej wystawy wyrażona została słowami Goethego przez widza z Francji: „...Artysta ujawnia ukryte prawa natury, które bez niego pozostałyby w ukryciu (J.W. Goethe). Ta piękna wystawa wspaniale ilustruje powyższe słowa”. Uwaga ta nabiera specjalnej wymowy, jeśli przypomnimy, że ten poeta niemiecki był również doskonałym znawcą minerałów i zamilowanym kolekcjonerem.

Wystawa znalazła również swój inspiratorski wyraz w powstaniu etudy filmowej pod tym samym tytułem „Poezja kamiennych kształtów”, zrealizowanej we współpracy z Polską Fundacją Upowszechniania Nauki PAN. Filmowa kompozycja prezentowanych na wystawie naturalnych minerałów i artystycznie przetworzonych kamieni ozdobnych została wzbogacona poetyckim komentarzem strof o kamieniach z utworów m.in. Wisławy Szymborskiej, Zbigniewa Herberta, Leopolda Staffa. Ulotny byt wystawy utrwalony został w filmowym zapisie stwarzając możliwość rozszerzenia jej funkcji popularyzatorskich<sup>8</sup>.

Wystawy wydobywające na plan pierwszy naturalne piękno i różnorodność świata minerałów i skał cieszą się niezmiennym powodzeniem. Wieloletnie doświadczenia Muzeum Ziemi wskazują, że ten sposób ujęcia oddziałuje z reguły jako silny impuls pobudzający głębsze zainteresowania wiedzą o pochodzeniu, warunkach występowania i zastosowania bogactw mineralnych. Natomiast aktualny stan naukowego rozpoznania zasobów określonych rodzajów surowców mineralnych przekazywany jest niejako w drugim planie, co w niczym nie ogranicza poznawczych treści ekspozycji. Do tego rodzaju ekspozycji należy

<sup>7</sup> Por. m.in. Wołska M. — *Kamienne naczynia w Muzeum Ziemi*. Przegląd Geologiczny 2: 124–125, 1991.

<sup>8</sup> Etiuda filmowa pt „Poezja kamiennych kształtów”, scenariusz — Jakubowski K., zdjęcia — Tarasin T., reżyseria — Wierzbiański K., realizacja Polska Fundacja Upowszechniania Nauki, Warszawa 1991.



Fot. 5. „Kwiat żelaza” — rzadkie, krzaczaste skupienie kryształów aragonitu

specjalna wystawa objazdowa pt. „Kamienie ozdobne Polski”, przygotowana przez Muzeum Ziemi na wyraźne zapotrzebowanie muzeów regionalnych. W latach 1988–92 była ona prezentowana w różnorodnych aranżacjach w kilkunastu miejscowościach na terenie kraju<sup>9</sup>.

Bardzo interesujące rezultaty poszukiwań nowych rozwiązań wystawieni-  
cznych przyniosły liczne ekspozycje poświęcone popularyzacji wiedzy o bursztynie<sup>10</sup>. Muzeum Ziemi dysponując bogatymi zasobami zbiorów bursztynu, które zaliczane są obecnie do największych kolekcji przyrodniczych tego mineralu w świecie, uzyskało w tej dziedzinie renomę międzynarodową<sup>11</sup>. Oprócz systematycznie nowelizowanych edycji wystaw stałych prezentowanych w Muzeum Ziemi (obecnie jest to ekspozycja pt. „Bursztyn w przyrodzie”), przygotowywane są wystawy czasowe, objazdowe, które odwiedziły już kilkadziesiąt

<sup>9</sup> Wystawa objazdowa „Kamienie ozdobne Polski” prezentowana była w różnorodnych aranżacjach w muzeach okręgowych i regionalnych w Kazimierzu Dolnym, Koninie, Częstochowie, Radomsku, Bielsku Podlaskim, Brodnicy, Sieradzu, Rogoźnie, Przemyślu, Gołuchowie. Ekspozycjom towarzyszyły katalogi lub foldery opracowane przez autorkę scenariusza T. H a n c z k e.

<sup>10</sup> Por. m.in. K o s m o w s k a-C e r a n o w i c z B. — *Problemy bursztynu na wystawach Muzeum Ziemi*. Przegląd Geologiczny 12: 651–653, 1982.

<sup>11</sup> Świadczą o tym m.in. liczne informacje w czasopismach specjalistycznych i popularnonaukowych. Por. m.in. obszerną relację przeglądową o zbiorach i wystawach bursztynu Muzeum Ziemi: S t r i p p D. — *Gold of the North*. Lapidary Journal 6: 65–84, 1991.

placówek muzealnych na terenie całego kraju<sup>12</sup>. W roku 1977 został zainaugurowany cykl ekspozycji zagranicznych, który otwierała wystawa pt. „Jantar — kopalna żywica” w Muzeum Narodowym w Pradze<sup>13</sup>. Jej niekwestionowany sukces zaowocował następnymi wystawami: „Ambra oro del Nord” (Pałac Dożów w Wenecji, 1978), „Ancient Amber” (Science Museum w San Francisco, 1984), „Tajemství jantaru” (Muzeum Morawskie w Brnie, 1986). Wystawy te, nieustannie modyfikowane, w miarę zdobywanych doświadczeń, stale uzupełniane nowymi materiałami oraz wzbogacane zróżnicowanymi środkami wystawienniczego wyrazu — stworzyły w istocie cykl ekspozycji stanowiący syntetyczny zarys aktualizowanej wiedzy naukowej o bursztynie i innych żywicach kopalnych<sup>14</sup>. Głównym celem tych wystaw było przedstawienie w sposób poglądowy i możliwie wszechstronny różnych problemów przyrodniczych, historycznych i kulturowych związanych z bursztynem. Szczególny nacisk położono na wciąż mniej znane zagadnienia dotyczące pochodzenia, warunków środowiskowych powstawania bursztynu, genezy złóż, przyczyn zmienności naturalnych form i odmian tego minerału. Równocześnie starano się maksymalnie wydobyć naturalne walory ekspozycyjne bursztynu tak dobrze znane z wyrobów ozdobnych od pradziejów do współczesności. W ten sposób „bursztynowe wystawy” oprócz celu ściśle poznawczego spełniały także znaczącą rolę w kształtowaniu umiejętności dostrzegania pełnej urody tego niezwykłego minerału i bliższego zrozumienia źródeł towarzyszącej mu od wieków fascynacji. Ta właśnie, swoista siła przyciągająca bursztynu sprzyja popularyzacji problemów wiedzy przyrodniczej w sposób wyjątkowo skuteczny, wykorzystuje bowiem naturalną atrakcyjność samego obiektu. Jest rzeczą znamionną, że taka właśnie forma ujmowania treści wystawy przyrodniczej spotyka się nie tylko z żywym odbiorem publiczności, ale wywołuje wielce charakterystyczne komentarze muzeologów. Jeden z recenzentów włoskich oceniając głośną wystawę „Ambra oro del Nord” w weneckim Pałacu Dożów pisał: „Czy wystawa może stanowić wkład zarówno do nauki, jak i sztuki? Należy podkreślić, że wystawa „Bursztyn złoto północy” uwieńczyła ten zamiar sukcesem. Po raz pierwszy we Włoszech jedno zagadnienie zostało ujęte w postaci wystawy mającej znaczenie zarówno naukowe jak i artystyczne...”<sup>15</sup>.

Przychylnie opinie z jakimi spotkały się wystawy poświęcone problematyce bursztynu skłoniły Muzeum Ziemi do przygotowania następnych ekspozycji zagranicznych. W latach 1988—1990 opracowano nową edycję wystawy pt.

<sup>12</sup> *Bursztyn w przyrodzie*. Przewodnik i katalog wystawy stałej. Wydawnictwa Geologiczne, Warszawa 1983; wersja angielska — *Amber in Nature*. Warszawa 1984.

<sup>13</sup> *Jantar — nerostne pryskiryce z polskich sbirek*. Katalog i przewodnik wystawy. Muzeum Narodowe w Pradze, 1977.

<sup>14</sup> *Ambra oro del Nord*. Katalog i przewodnik wystawy w Pałacu Dożów. Wydawnictwo Alfieri, Wenecja 1978; Jakubowski K. — *Bursztyn złoto północy*. Wystawa polskich bursztynów w Wenecji ze zbiorów Muzeum Ziemi. *Nauka Polska* 10: 107–110, 1978.

<sup>15</sup> Barbacini C. — *Mostra a Venezia sull'ambra del Nord*. *Gazetta di Parma* 7.7, 1978.

„Tajemnice i piękno bursztynu” (Geheimnisse und Schönheit des Bernsteins) prezentowaną w kilku muzeach na terenie Niemiec w Passau (1988), Norymberdze (1988/89), Düsseldorfie (1989) i Schwäbisch Hall (1989/90)<sup>16</sup>. Zdobyte w trakcie realizacji doświadczenia oraz efekty nawiązanej przy tej okazji współpracy badawczej i muzealniczej umożliwiły realizację kolejnej wersji wystawy bursztynowej pt. „Szlakami bursztynu” (Spuren des Bernsteins), przygotowanej według odrębnego scenariusza i w odmiennej aranżacji plastycznej<sup>17</sup>. Po premierowej ekspozycji w Naturkunde Museum w Bielefeld (22 X 1991–12 I 1992) została ona zaprezentowana w Natur und Umwelt Museum w Osnabrück (19 I–3 V 1992), a następnie w Bodensee Naturmuseum w Konstanz (22 V–20 IX 1992). Uzupełnieniem treści tej ekspozycji jest towarzyszący wystawie film popularnonaukowy pt. „Bursztyń w dziełach współczesnych mistrzów polskich” zrealizowany we współpracy z Polską Fundacją Upowszechniania Nauki na podstawie wystawy pod tym samym tytułem, zorganizowanej latem 1991 r. w salach Muzeum Ziemi<sup>18</sup>. Można śmiało powiedzieć, że trwałe powodzenie tych wystaw uzasadnione jest głównie oryginalną koncepcją interdyscyplinarnego ujęcia problematyki, podejmującą niemal wszystkie najważniejsze aspekty współczesnej wiedzy o bursztyń i nawiązującą do zainteresowań różnych grup odbiorców. Warto jednak podkreślić, że realizacja tak pomyślanych wystaw stała się możliwa dzięki urozmaiconemu profilowi gromadzonych kolekcji muzealnych, które stanowią podstawę wielostronnych, systematycznych studiów badawczych<sup>19</sup>.

Inicjatywy Muzeum Ziemi obejmujące cykl wystaw i innych działań w zakresie upowszechniania wiedzy o bursztyń w kraju i za granicą spotkały się z dowodami publicznego uznania ostatnio m.in. w postaci przyznania najwyższego wyróżnienia w Ogólnopolskim Konkursie na Najciekawsze Wydarzenie Muzealne roku 1991.

Jednym z ważniejszych zadań instytucji muzealnych jest podejmowanie ważnych problemów współczesności i reagowanie na zapotrzebowanie społeczne. Taką dziedziną są dziś zagadnienia związane z ochroną środowiska.

<sup>16</sup> *Sonderausstellung Geheimnisse und Schöneheit der Bernsteins*. Katalog i przewodnik wystawy. Oberhausmuseum Passau, 1988.

<sup>17</sup> Kosmowska-Ceranowicz B. — *Spuren des Bernsteins*. Katalog i przewodnik wystawy. Naturkunde Museum, Bielefeld 1991; Jakubowski K. — *Śladami bursztynu*. Zdarzenia Muzealne 3: 51–52, 1991.

<sup>18</sup> *Bursztyń w dziełach współczesnych mistrzów*. Katalog wystawy. Muzeum Ziemi, 1991. Na podstawie tej ekspozycji powstał film popularnonaukowy w wersji anglojęzycznej: *Amber in artistic wares of contemporary Polish masters* — scenariusz — Jakubowski K., zdjęcia — Tarsin T., reżyseria — Wierzbiański K., realizacja — Polska Fundacja Upowszechniania Nauki. Warszawa 1991.

<sup>19</sup> Bibliografia prac naukowych opartych na kolekcjach bursztynu Muzeum Ziemi, ogłaszanych w czasopiśmie krajowych i zagranicznych, jest bardzo obszerna. Por m.in. monograficzne tomy *Prac Muzeum Ziemi*: z. 37 — *Prace z zakresu badań nad bursztyńem bałtyckim*, Wydawnictwa Geologiczne, Warszawa 1985, z. 41 — *Prace z zakresu badań nad bursztyńem bałtyckim i innymi żywicami kopalnymi*, Ossolineum 1990.

Szczególną rolę mogą tu spełniać muzea przyrodnicze, co znajduje wyraz m.in. w obserwowanych tendencjach „ekologizacji” wystaw oraz rozbudowie w tym kierunku programów badawczych i popularyzatorskich. Muzealne wystawy przyrodnicze, jak wykazuje praktyka, mogą spełniać znaczącą rolę w edukacji ekologicznej. Oprócz walorów poznawczych służących wzbogacaniu wiedzy o przyrodzie, są one dogodną formą przekazu treści światopoglądowych kształtujących ideę ekorozwoju, współzycie człowieka z przyrodą, ochrony najcenniejszych wartości środowiska przyrodniczego. Ekspozowane na wystawach muzealnych unikatowe okazy przyrodnicze, ginące gatunki roślin i zwierząt, zanikające elementy przyrody nieożywionej lub sygnalizowane zjawiska zniszczenia całych ekosystemów są dramatyczną przestrogą skutków degradacji środowiska życia człowieka. Jest rzeczą znamionną, że coraz częściej dopiero w muzeach uświadomić sobie można pełniej, jak szybko postępuje proces niszczenia otaczającej nas przyrody, jak coraz uboższe stają się jej naturalne składniki.

Przesłanie to miała na celu prezentowana ostatnio w Muzeum Ziemi wystawa pt. „Ziemia jest jedna”, przygotowana we współpracy z Agencją Informacyjną Stanów Zjednoczonych (22 04–17 06 1992). Uniwersalistyczne ujęcie tematyki, sygnalizowane tytułem głównym oraz podtytułem ekspozycji: „Współczesne problemy ochrony środowiska” nawiązywało do przypadającego w dniu 22 kwietnia 1992 Międzynarodowego Dnia Ziemi oraz do wielkiego wydarzenia, jakim był „Ziemski szczyt” — „Earth Summit”, konferencja zorganizowana pod auspicjami ONZ w Rio de Janeiro w dniach od 1 do 12 czerwca 1992. Problemy globalizacji zagrożeń środowiska, stanowiące główny motyw wystawy, zaakcentowane zostały doбором materiałów informacyjnych, dających przegląd różnorodnych problemów przyrodniczych, społecznych i kulturowych. Rozmiary degradacji środowiska w skali całego globu podkreślały również tematy ekspozycji fotograficznych towarzyszących, dotyczących m.in. tzw. „efektu cieplarnianego”, przejawów zaniku warstwy ozonowej oraz wielkiego programu satelitarnych badań przekształceń środowiska ziemskiego znanego pod hasłem „Misja do planety Ziemia”.

Pełne wyrazu obrazy Ziemi z Kosmosu, zdumiewające wiernością rejestrowanych szczegółów i wszechstronnością informacji, uświadamiały, jak ogromne a nieosiągalne dotąd możliwości stwarzają badania kosmiczne dla poznania przemian planety na której żyjemy.

Złożony proces kształtowania świadomości ekologicznej wykracza daleko poza sferę elementarnej edukacji przyrodniczej. Obejmuje on zasadniczy problem zmieniających się relacji między człowiekiem i przyrodą wyrażający się dziś koniecznością ochrony całego dziedzictwa naturalnego i kulturalnego ludzkości. Przejawia się on także coraz częściej w różnych rodzajach twórczości artystycznej, m.in. w nurcie ekologicznym w sztuce współczesnej. Do tego wątku nawiązują podjęte przez Muzeum Ziemi próby organizacji specjalnych wystaw z cyklu natura — sztuka. W roku 1992 przygotowana została pierwsza tego typu

ekspozycja pt. „Impresje górskie”, poświęcona malarstwu Barbary Pszczółkowskiej-Kasten, a zgromadzone na niej obrazy były plonem pleneru pod hasłem „Dla ochrony krajobrazu tatrzańskiego”. W naszych planach przewidziana jest kontynuacja tego cyklu wystaw ukazujących różne formy wypowiedzi artystycznych (m.in. grafikę, rzeźbę, fotografię), inspirowane licznymi powiązaniem człowieka z przyrodą. Wydaje się, że może to być interesujący kierunek rozszerzenia działalności wystawienniczej towarzyszącej zasadniczemu programowi popularyzacji wiedzy przyrodniczej.

Podjęmowane przez Muzeum Ziemi próby przełamania stereotypowej formuły wystawy przyrodniczej przez wydobywanie różnorodnych związków z działalnością człowieka, postrzeganych bardzo szeroko — od historii kultury materialnej do twórczości artystycznej — owocuje nie tylko pogłębieniem treści poznawczych, ale także zdecydowanym powiększeniem kręgów odbiorców. Praktyka lat ostatnich i konkretne przykłady, zdają się potwierdzać przydatność przyjętej koncepcji wystawienniczej, łączącej walory czysto poznawcze i estetyczne w jedną organiczną całość<sup>20</sup>. Jest oczywiste, że zachowanie właściwych proporcji w zakresie treści popularnonaukowych i rozłożenia akcentów wzbogacających wyobraźnię zależy w znacznym stopniu od tematyki i celu wystawy. Rozwiązaniem optymalnym jest takie ujęcie scenariusza wystawy, by oba te wątki współgrały harmnonijnie. W praktyce nie jest to zadanie łatwe, gdyż może pojawić się tu niebezpieczeństwo przerostu formy nad treścią lub odwrotnie werbalny dydaktyzm. Pułapek tych można uniknąć pod warunkiem respektowania nadrzędnej zasady wystawiennictwa muzealnego przyznającej bezwzględny priorytet oryginalnemu obiektowi, eksponatowi. Wszelkie zabiegi techniczne, aranżacyjne powinny pozostawać jedynie środkiem wspomagającym. W tym sensie stosowane są one również szeroko na wystawach przygotowywanych przez Muzeum Ziemi. Z reguły każdej ekspozycji towarzyszą filmy popularnonaukowe lub projekcje video uzupełniające warstwę informacyjną wystawy, szczególnie wówczas, gdy chodzi o przedstawienie procesów i zjawisk przyrodniczych. Interesującym eksperymentem, dobrze przyjętym przez publiczność, jest wprowadzenie na wystawie specjalnie dobranego tła muzycznego. Ta innowacja w wystawiennictwie przyrodniczym okazała się skutecznym środkiem ułatwiającym odbiór treści ekspozycji. Niekiedy są to więc aranżacje dźwiękowe wykorzystujące naturalne „głosy przyrody” np. pomruk wybuchającego wulkanu, szum oceanu, pluskot płynącej wody lub też odpowiednie kompozycje muzyki konkretnej. W innych przypadkach są to nawiązujące do tematyki wystawy fragmenty utworów muzyki symfonicznej lub kameralnej, których głównym zadaniem jest stworzenie odpowiedniego nastroju. Znakomitym przykładem może tu być oprawa muzyczna wystawy „Bursztyn w dziełach mistrzów współczesnych”, ilustrowana szkicami symfonicznymi „Morze” C. Debussy'ego.

<sup>20</sup> Jakubowski K. — *Wystawy problemowe. Z doświadczeń Muzeum Ziemi PAN*. [W:] *Upowszechnianie nauki w świecie. Nowe doświadczenia i badania*, 245–258. Ossolineum, 1990.

\*

\*

\*

Rozważania na temat różnorodnych aspektów popularyzatorskich przyrodniczych wystaw muzealnych dotyczą zaledwie fragmentu działalności muzeów w dziedzinie upowszechniania nauki<sup>21</sup>. Specyficzne formy wizualnego przekazu wiedzy naukowej, jakimi dysponują instytucje muzealne, zasługują na większą niż dotychczas uwagę. W dobie ogromnego rozwoju nowoczesnych środków informacji, współuczestniczących w popularyzowaniu nauki, istnieje konieczność poszukiwania wiarygodnego, bezpośredniego kontaktu z autentycznym obiektem, dokumentem materialnym, przedmiotem naukowego poznania. Inaczej rzecz ujmując, pośredni przekaz, obarczony często „szumem informacyjnym”, rodzi swoistą tęsknotę za oryginalnym źródłem, dającym możliwość osobistej refleksji i głębszego zrozumienia postępu współczesnej nauki. Odnosząc te uwagi do oceny roli muzeów, warto przytoczyć słowa wybitnego muzeologa brytyjskiego I.G. Robertsona, który pisał: „... Muzea jako miejsca niezwykle i inspirujące pozostaną w przyszłości tak samo niezbędne, jak to było w przeszłości. Tak długo jak ludzie będą ciekawi świata, tak długo będą pragnąć bezpośredniego kontaktu z realną rzeczą...”<sup>22</sup>. Ta celna refleksja dotyka istoty rzeczy, bowiem intensywne przeobrażenia muzeów wyzwalały wiele dylematów, wśród których najważniejszym jest zachowanie tożsamości. Charakterystyczne zjawisko aktywniejszej działalności tradycyjnych instytucji kulturalnych w obliczu skutków rozwoju kultury masowej i agresywnej presji nowoczesnych form komunikacji rodzi bowiem niebezpieczeństwo przejmowania funkcji obcych takim instytucjom, jak muzea. Gorące spory wywołują m.in. zjawiska przekształcania niektórych muzeów w swoiste „fabryki wystaw”, centra rozrywkowe lub lawinowo narastające przejawy komercjalizacji. W tej sytuacji nie bez przyczyny powraca się do reinterpretacji podstawowych zadań instytucji muzealnych. Jej wymownym potwierdzeniem jest pełne wątpliwości hasło ostatniej XVI Konferencji Generalnej Międzynarodowej Rady Muzealnictwa (ICOM) w Quebec (19–26 IX 1992) — „Nowe rozważania na temat granic?” (Museés: ya-t-il des limites? — Museums: re-thinking the boundaries?).

<sup>21</sup> Jakubowski K. — *Muzeologiczne aspekty badań naukowych i upowszechniania wiedzy przyrodniczej*. Nauka Polska 1/2: 53–69, 1983.

<sup>22</sup> Robertson I. G. — *Reflecting on the Profound*. Museums Journal 4: 177–178, 1988.



## SESJA NAUKOWA W 160 ROCZNICĘ URODZIN WIKTORA GODLEWSKIEGO

(BOGUTY, 29 MAJA 1992 R.)

Wiktor Ignacy Godlewski urodził się 30 grudnia 1831 r. w Bogutach Wielkich (obecnie woj. łomżyńskie), jako syn Aleksandra i Karoliny z Ciołkowskich; pochodził ze szlachty zaściankowej. Ukończył gimnazjum w Łomży, a następnie pracował w administracji majątków; ponadto przez cały czas współpracował z Gabinetem Zoologicznym Warszawskim. Za udział w Powstaniu Styczniowym został w roku 1864 aresztowany i wywieziony za Bajkał do m. Pietrowskoje. W latach 1865–1868 zajmował się głównie preparowaniem ptaków i ssaków, które wysyłał do Gabinetu Zoologicznego Warszawskiego. Zetknął się wówczas z B. Dybowskim, który w końcu 1868 r. zaproponował mu współpracę i osiedlenie się w Kucuku nad Bajkałem.

Godlewski okazał się uzdolnionym konstruktorem przyrządów naukowych; m.in. opracował i zbudował przyrząd do pomiarów głębokości i poboru prób dna, zwany ołowianką. Dzięki zastosowaniu ołowianki skorygowano dotychczasową głębokość jeziora i rozpoznano bogactwo fauny dennej. Badania Bajkału przeciągnęły się do roku 1872, a wyniki wskazały na mylny dotychczas pogląd o ubóstwie fauny jeziora. Obaj badacze zostali odznaczeni małymi złotymi medalami Rosyjskiego Towarzystwa Geograficznego. W roku 1871 Godlewski wraz z A. Czekanowskim odbył wyprawę w góry Przybajkała, w latach 1872–1875 z B. Dybowskim i M. Jan-kowskim wziął udział w podobnej wyprawie Amurem do Władywostoku. Po powrocie zakończyli w latach 1875–1877 badania Bajkału i obaj powrócili do kraju; wydali 10 prac naukowych dotyczących jeziora Bajkał. W kraju W. Godlewski został dzierżawcą majątku Smolechy pod Ostrowią Mazowiecką, który nabył w roku 1899. Zmarł na tyfus 17 listopada 1900 r.; został pochowany opodal w Jasienicy.

Sesja naukowa poświęcona 160. rocznicy urodzin Wiktor Godlewskiego miała na celu przybliżenie jego postaci. Została ona zorganizowana przez Ośrodek Kultury Gminy Boguty-Pianki; na czele komitetu organizacyjnego stał dyrektor Ośrodka Roman Swierżewski. Sesję otworzył wójt Gminy Józef Bogucki; uczestniczyli w niej m.in. potomkowie rodziny Edward i Franciszka (z domu Drewnowska) Godlewscy oraz ich syn Andrzej Godlewski — przewodniczący Rady Gminy Boguty-Pianki. Z pobliskiego Ciechanowca przybył także dyrektor Muzeum Rolnictwa im. Krzysztofa Kluka, mgr Kazimierz Uszyński. Z okazji rocznicy wydano piękny medal Wiktor Godlewskiego, przy udziale Instytutu Zoologii PAN w Warszawie i Banku Spółdzielczego w Bogutach.

Pierwszym prelegentem na Sesji była prof. dr hab. Hanna Maria Małgowska (z Wyższej Szkoły Pedagogicznej w Olsztynie), która podjęła temat Bajkału w literaturze polskiej, zwłaszcza wśród polskich zesłańców na Syberii, dotyczący opisów Bajkału, zagadnień religioznawczych, kulturalnych i naukowych. Z kolei dr Wanda Grębecka z Instytutu Historii Nauki, Oświaty i Techniki PAN w Warszawie poświęciła swój referat polskim badaniom florystycznym Syberii; wśród nich szczególną uwagę zwraca postać dr. Józefa Łagowskiego, lekarza i botanika, badacza m.in. okolic Irkucka. Prof. dr hab. Zdzisław Mikulski (Uniwersytet Warszawski) przedstawił referat pt. „Dybowski i Godlewski a początki nowoczesnej limnologii”. Myślą przewodnią było omówienie roli, jaką obaj nasi badacze Bajkału odegrali w kształtowaniu się nowej wówczas dyscypliny naukowej

— limnologii, obejmującej szeroko pojętą wiedzę o jeziorach. W nauce światowej panuje pogląd, iż pionierem limnologii był szwajcarski lekarz i przyrodnik François Alphonse Forel (1841–1912), który rozwinął w roku 1870 na szeroką skalę badania Jeziora Genewskiego (Lemanu). Wspaniałe wyniki badań Bajkału, dokonane przez polskich uczonych, są niestety mało eksponowane, a tego rodzaju sesja — jak obecna — może przyczynić się do szerszego spopularyzowania naszych osiągnięć i podkreślić rolę Polaków w nauce światowej. Pogląd ten wywołał uznanie uczestników Sesji.

Miłym akcentem uroczystości było zorganizowanie zwiedzenia świetnie utrzymanego i prowadzonego Muzeum Rolnictwa im. Krzysztofa Kluka w Ciechanowcu. Muzeum zostało powołane do życia w roku 1963 przez Towarzystwo Przyjaciół Ciechanowca i mieści się w odbudowanym po wojnie klasycystycznym pałacu należącym uprzednio do rodziny Starzeńskich; obejmuje kilka działów oraz izbę pamięci Krzysztofa Kluka wraz ze zbiorem Jego dzieł. Na 25 ha znajduje się dobrze utrzymany skansen regionalnego budownictwa ludowego, a także wirydarz ze wszystkimi roślinami uprawianymi przez Kluka. Dyrektorem Muzeum jest mgr Kazimierz Uszyński, rodem z Bogut.

Wydaje się, że sesja poświęcona Wiktorowi Godlewskiemu, mimo skromnej obsady, spełniła swe zadanie, a jej organizatorom — z dyrektorem Gminnego Ośrodka Kultury Romanem Swierżewskim na czele — należą się słowa uznania i podziękowania.

*Zdzisław Mikulski*

## WRAŻENIA PRZYRODNIKA Z POBYTU W POŁUDNIOWEJ AFRYCE

Ostatni tydzień sierpnia i pierwsze dwa tygodnie września 1991 roku spędziłem w południowej Afryce. W tym czasie uczestniczyłem w naukowym Kongresie „Parasitology of Wildlife”, zwiedzałem południową część Parku Narodowego Krugera i górzyste partie Wschodniego Transwalu, a przez dwa tygodnie byłem gościem Zakładu Zoologii i Entomologii Uniwersytetu w Bloemfontein, gdzie prowadziłem wspólnie badania i dyskusje z bardzo dynamiczną grupą protozoologów.

Kongres „Parasitology of Wildlife” — poświęcony pasożytom dzikich zwierząt odbywał się od 26 do 30 sierpnia w Berg-en-Dal w południowej części Parku Narodowego Krugera. Organizatorem było Towarzystwo Parazytologiczne południowej Afryki. Towarzystwo istnieje od lat dwudziestu i ma charakter regionalny, grupując parazytologów Malawii, Namibii, Republiki Południowej Afryki, Zambezji i Zimbabwe. Od początku swego istnienia zapisało w swoim statucie, że zrzesza członków jedynie z uwagi na ich działalność naukową, bez względu na narodowość, przynależność rasową, religijną lub płeć. Towarzystwo skupia obecnie około 120 członków; większość stanowią pracownicy instytutów i wydziałów weterynarii, liczni są pracownicy instytucji działających w dziedzinie medycyny, dużą grupę stanowią także pracownicy naukowcy uniwersytetów. Towarzystwo organizuje coroczne zjazdy. Spotkanie, w którym uczestniczyłem miało charakter międzynarodowy i było kolejnym dwudziestym zjazdem. Towarzystwo Parazytologiczne południowej Afryki na swoich zjazdach nadaje dwa medale: Medal Esdom Dew, od nazwiska pierwszego prezydenta Towarzystwa, za osiągnięcia naukowe dla Afryki w dziedzinie parazytologii i Medal W. Neitz'a za najlepsze prace dyplomowe studentów.

Kongres zgromadził 110 uczestników — w większości z RPA (84 osoby), po kilka z USA, Wielkiej Brytanii, Francji, Zimbabwe i Australii; po jednej osobie z Kanady, Niemiec, Polski, Portugalii, Szwajcarii, Izraela, Kenii, Namibii i Transkei. Na Kongresie przedstawiono 51 komunikatów i 40 posterów. Komunikaty były przedstawiane na 11 Sesjach o charakterze plenarnym, a plakaty były prezentowane w czasie sesji plakatowej.

W materiałach Kongresu dominowała tematyka dotycząca kleszczy, będących niewątpliwie bardzo ważnymi pasożytami i przenosicielami wielu groźnych chorób w Afryce. Liczne opracowania poświęcono pierwotniakom, ale i tu także dominowały gatunki pasożytujące we krwi, często również przenoszone przez kleszcze. Spośród robaków najwięcej opracowań dotyczyło nicieni, w dalszej kolejności znajdowały się przywry digenetyczne, tasieńce i przywry monogenetyczne. Pojedyncze

opracowania dotyczyły pijawek, pasożytniczych *Copepoda*, owadów. Tylko kilka opracowań było poświęconych pasożytom bezkręgowców. Spośród kręgowców dominowały prace dotyczące pasożytów ssaków, przy czym większość z nich dotyczyła ssaków dzikich. Szczególnie liczne były opracowania o częstych w Afryce pasożytach zwierząt kopytnych, wyróżniały się także opracowania na temat pasożytów naczelnych, znacząca była także liczba prac dotyczących bydła i innych zwierząt hodowlanych. Wiele było także prac dotyczących pasożytów ryb i ptaków.

Większość przedstawionych komunikatów i plakatów dotyczyła faunistyki i omawiała mniej lub bardziej szeroko faunę pasożytów poszczególnych gatunków zwierząt lub ich grup, uzupełnianą danymi ekologicznymi lub epizooecologicznymi. Wiele komunikatów było, moim zdaniem, nawet nadmiernie ilustrowanych pięknymi przezroczymi zwierzętami, głównie żywicielami, lub widokami ich siedlisk. Zdarzało się, że ten materiał ilustracyjny był głównym walorem komunikatu. Również wiele plakatów było doskonale przygotowanych i zawierało bardzo ciekawy materiał ilustracyjny.

Należy podkreślić, że obrady Kongresu przebiegały niezwykle sprawnie, sesje były krótkie, obejmowały od 4 do 6 komunikatów. Obszerny hol, w którym w czasie przerw można było napić się herbaty lub kawy i zjeść biskopka, a także miłe otoczenie budynku, w którym odbywały się obrady, stwarzały przyjemną atmosferę dla wypoczynku i toczących się w kularach dyskusji. Do tego trzeba dodać uczestniczenie w odbywających się każdego wieczora spotkaniach towarzyskich, mających w Południowej Afryce charakter często odbywających się pikników.

W ogóle należy podkreślić bardzo miłą atmosferę Kongresu. Odbywał się on w niezbyt wielkim obozie wypoczynkowo-wycieczkowym Berg-en-Dal w południowej części Parku Narodowego Krugera, niedaleko Rzeki Krokodylowej (Crocodile River). Wszyscy uczestnicy byli zakwaterowani w niewielkich, ale bardzo wygodnych domkach, otoczonych bogatą w tym miejscu roślinnością sawanny południowej Afryki. Mimo śladów trwającej od kilku miesięcy suszy (mój pobyt w Afryce przypadł na koniec zimy i pierwsze dni wiosny) kwitło wiele drzew i krzewów. W połączeniu z bogactwem ptaków, wśród których licznie występowały piękne tukany i inne gatunki o barwnym upierzeniu, dawało to niezapomniane efekty. W czasie naszego pobytu w Berg-en-Dal panowała piękna pogoda, temperatura wahała się koło 24°C i tylko raz podniosła się do około 36°C, co przy zachmurzonym niebie było do wytrzymania.

Park Narodowy Krugera znajduje się w strefie tropikalnej i subtropikalnej nizinnego stepu południowo-afrykańskiego (Lowveld) w północno-wschodnim i wschodnim Transwalu, wzdłuż granicy z Mozambikiem. Park ma powierzchnię 19 485 km<sup>2</sup>, co można porównać do powierzchni niektórych państw europejskich. Ciągnie się on z północy na południe na przestrzeni 320 km, zaś ze wschodu na zachód ma 65 km w najszerszym miejscu. Tworzenie Parku rozpoczęto w końcu ubiegłego wieku. Obecnie jest to doskonale zorganizowany obszar, na którym zwierzęta znajdują dobre warunki życia i są skutecznie chronione; wspaniale zorganizowany turystycznie, z licznymi osadami — obozami, hotelami, szosami, trasami wycieczkowymi (ale bez osad tubylczych) zamieszkały tylko o przez pracowników i obsługę Parku oraz gości — turystów. Na terenie Parku występuje 147 gatunków ssaków, 507 gatunków ptaków, 114 gatunków gadów, 33 gatunków płazów i 49 gatunków ryb. Na tym obszarze zidentyfikowano około 2000 gatunków roślin. W Parku żyje kilkaset tysięcy antylop, w tym 130 000 antylop impala, 31 000 zebra, 27 000 bawołów, ok. 8 000 słoni, 6 000 żyraf, ok. 1 500 lwów, 900 panter i 250 gepardów.

Obóz Berg-en-Dal jest również bardzo interesujący pod względem przyrodniczym. Pozwalał na obserwację licznych gatunków ptaków, których pełno było na drzewach i na trawnikach. Teren obozu zamieszkiwała rodzina antylop kudu, z wyrosniętym cielakiem, którą można było obserwować nocą lub wczesnym rankiem, tuż obok domków. Obóz często odwiedzały stada koczokodanów, które bez trudności pokonywały ogrodzenie. Duże zwierzęta można było często obserwować w najbliższym terenie, a szczególnie za długim, wąskim stawem, który powstał na skutek zatamowania potoku, przylegającego do jednej z granic obozu. W tym miejscu, pełniącym funkcję wodopoju, obserwowałem słonie, żyrafy, liczne gatunki antylop i wiele innych zwierząt. Nad wodą stale występowało wodne ptactwo, a na otaczających drzewach przesiadywały wielkie ptaki drapieżne, wśród nich piękny i niezwykle charakterystyczny, biało-czarny orzeł rybołów (*Haliaeetus vocifer*).

Tu na marginesie chciałem podzielić się pewną uwagą. Otóż zaskoczyło mnie wielkie zainteresowanie przyrodą wśród mieszkańców Południowej Afryki, nie wyłączając uczestników Kongresu.

O każdej porze dnia, a szczególnie rano i wieczorem można było spotkać wielu z nich, z lornetkami i odpowiednią literaturą, obserwujących zwierzęta. Co zaś się tyczy literatury, to jest tu w czym wybierać, są piękne ilustrowane książki — klucze i przewodniki, dotyczące ptaków, ssaków, gadów i innych zwierząt, a także roślin, krzewów i drzew całej Afryki Południowej lub jej wybranych rejonów np. Parku Narodowego Krugera, wydane w języku afrykanerskim lub w języku angielskim. Można je kupić w każdej księgarni, a nawet w sklepie w obozie Berg-en-Dal. Są nawet specjalne wydania z twardymi, plastikowymi okładkami i uchwytami ułatwiającymi noszenie, miejscem na notatki i ołówki. Ten zapal do oglądania żywej przyrody, przejawiał się także w uczestniczeniu w licznych samochodowych wycieczkach w okoliczne rejony Parku, organizowanych dla uczestników Kongresu.

W czasie pobytu w Berg-en-Dal i w czasie weekendu po Kongresie miałem możliwość zapoznać się z południową częścią Parku Narodowego Krugera. W Parku turyści mogą poruszać się tylko samochodami i tylko po drogach i wyznaczonych trasach. Stanowi to niewątpliwie pewne ograniczenie, ale biorąc pod uwagę intensywność ruchu turystycznego i bezpieczeństwo zwiedzających jest ono konieczne. Ale nawet poruszając się w określony przepisami sposób można dużo zobaczyć i wiele przeżyć. Park Narodowy Krugera jest bardzo bogaty w zwierzęta. Zebry, antylopy, należące do różnych gatunków, a szczególnie zgrabne i ruchliwe antylopy impala, można spotkać prawie na każdym kroku. Często widzi się żyrafy, słonie i małpy. Niezapomnianym przeżyciem było wychowanie pomiędzy bawoły, które wielkim stadem przechodziły przez drogę; na szczęście nie wywołało to żadnej reakcji u tych zwierząt. W czasie tych wycieczek mogłem także obserwować, wędrujące w buszu, wielkie stado pawianów, na którego końcu szedł wielki i bardzo poważny samiec; duże stado hipopotamów, pławiących się w jednej z licznych sadzawek, zbudowanych w Parku, do którego woda jest wpompowywana przy pomocy wielkiego wiatraka, liczne guźce, pojedyncze nosorożce, szakale i inne zwierzęta.

Wspomnieć należy też o wielkich drapieżnikach. W Parku jest ich dużo, a wobec obfitości pokarmu mają one dość łatwe życie. Lwy można spotkać niekiedy w dużych stadach rodzinnych. Na jednej z wycieczek, niedaleko naszego obozu, obserwowano takie stado, składające się z 9 osobników. Ja widziałem tylko jedną, widocznie sytą, młodą lwicę, która udawała polowanie na antylopy impala, a także pięknego geparda i jedną śpiącą na drzewie panterę.

Wszędzie w Parku można spotkać ptaki, od kolorowego „drobiazgu”, niekiedy masowo występującego w koronach drzew, do drapieżników, zajmujących wierzchołki drzew lub ich wyekspozowane suche konary, oraz wielkie naziemne tukany (*Bucorvus leadbeateri*) i niekiedy strusie. Można było widzieć także ptaki siedzące na dużych ssakach, głównie na kopytnych, żyrafach, antylopach, bawołach — czyszczące je z pasożytów.

Po zakończeniu Kongresu w towarzystwie prof. dr. J. Van As'a, dr. L. Basson i kilku studentów z Zakładu Zoologii i Entomologii Uniwersytetu Wolnego Stanu Orange w Bloemfontein, odbyłem ostatnią wycieczkę po Parku Narodowym Krugera, przez osady Skukuza (centralna osada Parku) i Satara. Opuściliśmy go przez bramę Orpen, około 100 km na północ od południowego końca Parku, kierując się na zachód w stronę górzystych partii wschodniego Transwalu. Należy dodać, że do zachodniej granicy Parku Narodowego Krugera w wielu miejscach przylegają prywatne rezerwy łowieckie o powierzchni wielu setek kilometrów kwadratowych.

Niedzielę (pierwszego września) spędziliśmy w górzystej części wschodniego Transwalu. Już sam przejazd przez te okolice był bardzo interesujący. Droga prowadziła początkowo u podnóża gór, przez strefę tropikalną, z gęsto rozmieszczonymi plantacjami cytrusów, bananów i innych roślin tropikalnych. Same góry też mają zupełnie inny charakter niż młode góry europejskie. Są to wypiętrzone i spękane, ogromne płyty, tworzące obszerne płaskogóra, wyniesione niekiedy ponad 2000 m n.p.m., otoczone obrywami, tworzącymi głębokie kaniony. W jednym z takich niezwykle malowniczych kanionów płynie rzeka Blyde. W tych okolicach można także spotkać wiele innych bardzo ciekawych obiektów turystycznych: liczne skałki, wodospady, struktury erozyjne, np. Kotły Burke'go, noszące nazwisko jednego z poszukiwaczy złota, który spodziewał się, że tam będzie gromadził się złoty pył. Tu także można zobaczyć zabytki cywilizacyjne RPA, np. Pilgrims Rest — orestaurowane miasteczko poszukiwaczy złota z siedemdziesiątych lat XIX wieku. W tych

okolicach rozpoczynała się złota epopeja południowej Afryki, gdyż tu fragmenty złotonośnych warstw wychodzą na powierzchnię. Te same warstwy, eksploatowane obecnie przemysłowo w pobliżu wielkich miast, np. Johannesburga czy Bloemfontein znajdują się na głębokości kilku tysięcy metrów.

W czasie pobytu we wschodnim Transwalu nasza ekipa zajmowała się także poszukiwaniem bezkręgowców, które mogły być зараżone trichodinami. Nasze poszukiwania zostały uwieńczone powodzeniem i w jednym z potoków, na górnym poziomie wodospadu Lisbon, znaleźliśmy wyplawki зараżone tymi pasożytami. Ale o tym przekonaaliśmy się dopiero po przejrzeniu materiału w Bloemfontein.

Drogę ze wschodniego Transwalu przez Middelburg, Pretorię i Johannesburg do Bloemfontein o długości blisko 800 km odbyliśmy samochodem w ciągu jednego dnia. Niestety nie widzieliśmy zachodnich partii gór wschodniego Transwalu, gdyż od strony Oceanu Indyjskiego nadciągnęły chmury, które na tej wysokości przekształciły się w gęstą mgłę. Natomiast w czasie dalszej drogi można było obserwować pofalowane krajobrazy środkowego Transwalu, o charakterze stepowym (Highveld), położone na wysokości ponad 1500 m, a także monotonną równinę Wolnego Stanu Orange.

Bloemfontein, trzystutysięczne miasto, stolica burskiego Wolnego Stanu Orange, jest położone na wysokości 1427 m, w płaskim stepie, wymagającym częściowego nawadniania. Znajduje się tu uniwersytet, liczący ponad 8 600 studentów, w większości białych. Wykłady odbywają się tu w języku afrykańskim, który jest głównym językiem stanu, ale nigdy nie ma problemu z porozumiewaniem się w języku angielskim. Uniwersytet ma wiele nowych budynków, nowoczesne wyposażenie i piękną bibliotekę.

Zakład Zoologii i Entomologii, kierowany przez profesora dr. J.G. Van As'a, zatrudnia kilkudziesięciu pracowników naukowych, w tej liczbie 8 profesorów. Kierunkami badań w Zakładzie są: parazytologia środowiska wodnego, ze szczególnym uwzględnieniem pasożytów ryb i płazów, ekologia wód słodkich, wzajemne stosunki między kleszczami i ich żywicielami, etologia i ekologia owadów. Tutaj uformowała się znacząca na świecie grupa badaczy, pracującymi nad trichodinami — orzęskami, pasożytującymi u ryb, płazów i różnych bezkręgowców. Grupa ta której rzeń stanowią — prof. dr J.G. Van As i dr Linda Basson ma już wielkie osiągnięcia w badaniach nad trichodinami ryb, a ostatnio także płazów, występujących w Afryce Południowej. Opisali oni liczne nowe gatunki z rodzajów *Trichodina* i *Tripartiella*, i poczynili wiele ciekawych obserwacji dotyczących ich budowy i zachowania. Właśnie zapoznanie się z tą grupą i wspólne opracowania były główną przyczyną mego przyjazdu do Republiki Południowej Afryki.

Mój pobyt w Zakładzie Zoologii i Entomologii Uniwersytetu w Bloemfontein można uznać za bardzo udany. Miałem okazję poznać opisane przez moich południowo afrykańskich kolegów gatunki trichodin, pasożytujące u ryb z południowej Afryki, Tajwanu i innych okolic świata, gdzie prowadzili swoje badania. Równocześnie mogłem zapoznać ich z kilkoma klasycznymi gatunkami europejskimi, których znajomość jest niezbędna przy jakichkolwiek badaniach porównawczych trichodin. Miałem także możliwość zweryfikowania swoich oznaczeń z wcześniejszych prac opartych na materiałach afrykańskich z Kenii i Egiptu. Weryfikacja ta powinna zaowocować publikacją. Zapoznałem się także z bieżącymi pracami prowadzonymi przez prof. dr J.G. Van As'a, dr L. Basson i ich młodych współpracowników, a szczególnie przygotowującą swój doktorat panią J. Kruger, która pracuje nad morfologią trichodin, używając do swych badań ostatniego modelu elektronowego mikroskopu skaningowego. Przy okazji mogłem podziwiać niezwykle nowoczesne wyposażenie tego laboratorium. Pobyt w Bloemfontein łączył się także z licznymi dyskusjami, zarówno na tematy szczegółowe, dotyczące trichodin, ich systematyki, ekologii i pasożytnictwa, jak i bardziej ogólne, dotyczące orzęsków i pierwotniaków w ogóle.

Wspomniałem, że w czasie pobytu w Transwalu, prowadziliśmy poszukiwania bezkręgowców, na których mogły występować trichodiny. Nasze usiłowania zostały uwieńczone sukcesem. Na znalezionych wyplawkach stwierdziliśmy liczne okazy orzęsków, należące do rodzaju *Urceolaria*. Jest to pierwsze stwierdzenie obecności tych orzęsków w Afryce. Jednak sprawa nie jest tak prosta jak by się w pierwszej chwili wydawało. Po pierwsze nie będzie łatwo oznaczyć wyplawki, gdyż ta grupa

bezkęgowców nie była dotąd badana w południowej Afryce. Po drugie z wyjątków w Europie znany jest gatunek *Urceolaria mitra*, ale nie był on od dawna badany i nie ma jego nowoczesnego opisu, koniecznego do przeprowadzenia porównań. W tej sytuacji należy najpierw przebadać na współczesnym poziomie okazy z Europy, a dopiero po tym dokonać właściwych porównań i opisać gatunek z Afryki.

To prowadzi do pewnej refleksji. Stan poznania fauny dużych zwierząt Afryki jest bardzo dobry, być może tylko niewielka liczba gatunków, głównie drobnych ssaków i ptaków, będzie wymagać opisania. Ale już ryby, ze względu na wielką obfitość gatunków i obserwowaną zmienność mogą stwarzać problemy. Natomiast znajomość bezkręgowców, a szczególnie niższych typów jest wyraźnie niezadowalająca. Na to nakłada się druga trudność. Jeżeli grupy te były badane to robili to uczeni europejscy, rzadziej amerykańscy, tam też były publikowane prace, tam znajdują się kolekcje. I jeszcze jedna, chyba największa trudność: system świata zwierzęcego powstawał w Europie, na podstawie materiałów z palearktyki, ewentualnie holarktyki — stąd jest opisana większość gatunków typowych i stąd pochodzi większość materiału porównawczego. Materiał ten nie jest łatwo dostępny dla badaczy spoza tego regionu. Nie jest także zupełnie kompletny i nie zawsze był badany przy pomocy nowoczesnych metod. Powoduje to pewne trudności interpretacyjne, szczególnie wówczas, gdy konieczne jest porównywanie gatunków. Stawia to przed badaczami europejskimi zadanie uporządkowania istniejących materiałów i — tam gdzie jest to możliwe — ponowne opracowanie dotychczas opisanych gatunków nowoczesnymi metodami tak aby były porównywalne dla współczesnych autorów.

Stanisław L. Kazubski

## VI MIĘDZYNARODOWE SYMPOZJUM WROTKOWE

(Banyoles, 3–8 czerwca 1991)

W dniach 2–8 czerwca 1991 r. w małym miasteczku Banyoles, liczącym około 13 tysięcy mieszkańców, 115 km od Barcelony, 50 km od granicy francuskiej, odbyło się VI Międzynarodowe Sympozjum Wrotkowe. Tym razem organizatorem była Katedra Ekologii Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Walencji, a personalnie ciężar organizacji wzięli na siebie Maria Rosa Miracle i Eduardo Vicente. W sympozjum wzięło udział 101 osób z 25 krajów. Nie dojechało kilka osób ze Związku Radzieckiego i Argentyny. Najliczniejszą reprezentację miała Hiszpania — 29 osób, następnie Niemcy — 12, Belgia, Wielka Brytania, USA, Francja, Italia, Indie, Polska, Kanada, Jugosławia, Holandia, ZSRR po 3–6, pozostałe kraje 1–2 osób.

Referaty wygłaszano w 9 sesjach tematycznych (w nawiasach podano liczby posterów):

- biochemii i ekotoksykologii 7 (7)
- taksonomii, ewolucji, parazytologii i biogeografii 7 (4)
- biologii i reprodukcji 6 (2)
- genetyki i dynamiki populacji 9 (1)
- filogenezy 6
- wieku, rozwoju i behawioru 3
- żywienia i ogniw troficznych 9 (2)
- ekologii 18 (8)

oraz 2 referaty o historii badań wrotków w łączonej sesji ekologii i historii badań. Postery przedstawiono w 7 grupach o tematyce bardzo zbliżonej do sesji referatowych.

W pierwszej sesji bardzo interesujący był referat W. Kleinowa. Analizował on z zespołem biochemiczny charakter integumentu wrotków. Stwierdzono, że wrotki mają przynajmniej dwa biochemiczne typy integumentu. Główny komponent ma masę 43 000, a jego skład pozostaje nadal niejasny. Metodą analizy enzymatycznej wykazano, że mastaks ma ciężar właściwy 1,396 g/cm<sup>3</sup>, a w hydrolizacie występuje glukozamina i różne aminokwasy. Mastaks jest rozpuszczany przez chitynazę. Wszystko to świadczy, że zawiera chitynę.

R. Wallace zakomunikował o znalezieniu u embrionów 18 gatunków wrotków z 26 przebadanych, przezroczystych, anizotropowych krystalicznych struktur w przewodzie pokarmowym, które 24 godziny po wylęgu zanikają.

Grupa Norwegów z Centrum Akwakultury SINTEF analizowała zawartość 3 kwasów tłuszczowych w ciele *Brachionus plicatilis* w czasie głodowania. W temperaturze poniżej 10°C spadek całkowitej ilości kwasów tłuszczowych wynosi 2–3% dziennie. Poniżej 5°C praktycznie nie zużywają tego materiału. Obliczona wartość  $Q_{10}$  dla temperatur 10 do 18 stopni i tempa strat lipidów wynosi 4,9, podczas gdy różne prace podają dla respiracji wartości 1,8 do 3,8. Badano podatność *B. plicatilis* na środki znieczulające, np. benaktyzynę (bloker cholinergiczny), propranolol ( $\beta$ -adrenergiczny bloker). Nawet bardzo spokrewnione gatunki wykazywały specyficzne reakcje.

Podprogowe wartości koncentracji Cu powodują przy 0,012 mg/l redukcję szybkości pływania, a przy 0,02 mg/l redukcję tempa filtracji. Natomiast dodanie kobaltu (w postaci chlorku) do stawów w ilości 15 do 25  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  powoduje wzrost produkcji niektórych wrotków, wydłużenie okresu reprodukcyjnego i wzrost płodności. Testowano także na wrotkach działanie lindanu, 3,4-dwuchloroaniliny, pestycydu metyloparation, endosulfan, diazinon.

Sporo kłopotu mogą sprawić w masowych kulturach wrotków bakterie żyjące na wrotkach i wolno pływające. Bakterie te, to w 60–80% *Pseudomonas (Alcaligenes)* i w 10% *Cytophaga (Flavobacterium)*, rozwijające się na dodawanej do kultur mące z kałamarnic. W SINTEF w Norwegii powodowały masową śmiertelność larw skarpa (turbot), któremu podawano wrotki jako żywy pokarm.

Z ciekawszych informacji prezentowanych w drugiej sesji należy podać pierwsze doniesienie przez Bruno Menu o odkryciu wirusa *Birnavirus*, podwójnie skręconego, dwusegmentowego wirusa RNA o średnicy 60 nm, niszczącego często przemysłowe hodowle *Brachionus plicatilis*.

E. Hollowday podał szczegóły opisu nowego gatunku *Cephalodella edax* pasożytującego we wnętrzu koloni *Volvox*. Opis zilustrował pokazem filmu video. Nazwę gatunkową zasugerowała mu żarłoczność wrotka. Obserwował załamanie rozwoju populacji volvoksa spowodowane pasożytnictwem tego gatunku.

Systematycy opisali nowy gatunek *Filinia* z Nowej Zelandii, zbadali tereny Galapagos, Meksyku, Omanu, Jemenu, wschodniej Arabii Saudyjskiej, Kuwejt, archipelagu Balearów, Grenlandii (rejon Kangerlussuaq i Ammassalik). Do listy gatunków znanych z Nowej Zelandii dopisano 4 gatunki uważane za endemity z Australii. Wiele kontrowersji wzbudzał nowy gatunek *Proales* opisany z Namibii, tak bardzo podobny do *Lecane*, że część zebranych uważała to za pomyłkę wytrawnego systematyka W. Koste, który jednak podtrzymywał swoją opinię na temat. Claudia Ricci zaprezentowała badania 2 gatunków *Seison*, obu żyjących epizoicznie na skorupiaku *Nebalia*. Obserwacje w mikroskopie skaningowym pozwoliły poznać budowę integumentu, anatomię, aparat wrotny. Nadal nie wiadomo jak *Seison* przesiadła się na gospodarza w trakcie jego linienia.

W sesji trzeciej bez wątplenia najciekawszy był referat T. Snella o feromonach u wrotków. Seks-komunikacja działa u wrotków na dystansie 2–10 mm. Feromony podgrzane przez 30 s do temperatury 65 stopni tracą swe właściwości. Rozpoznawanie płci u *Brachionus plicatilis* odbywa się za pośrednictwem powierzchniowych glikoprotein. Autorzy wymywali je NaCl, Tris, EDTA i rozdzielali elektroforetycznie na 12% żelu SDS. Otrzymano 10 pasków odpowiadających ciężarom cząstkowym od 11 do 65 kD. Są to cząstki o podobnej wielkości do podawanej dla *Chlamydomonas* (100 000 kD), *Euplotes* (12 kD), *Blepharisma* (20 kD).

Kolejna sesja poświęcona genetyce wrotków wykazała, że z tego kierunku można spodziewać się wielu ciekawych informacji. Obecne nowoczesne techniki molekularne pozwalają zintegrować tradycyjne pola badań, tzn. genetykę fizjologii i rozwoju z lat 60., genetykę populacyjną lat 70. i badania relacji między liczbą chromosomów a cyklem życiowym z lat dwudziestych. Stosuje się najnowszą technologię PCR do wzmocnienia/rozwinienia rybosomalnego DNA do śledzenia ewolucyjnych zależności między wrotkami. Ch. King zajmował się odpowiedzią na pytanie, jak cykliczna partenogeneza wpływa na dryf genetyczny i powoduje stratę zmienności genetycznej. Zespół Indonezyjsko-Japoński obserwował kariotypy samic szczepu typu S. W porównaniu z kariotypem samic typu S ( $2n = 25$ ), szczepy były hypotriploidami. Wyizolowane z kultury

triploidalnej szczepki w dalszej hodowli powróciły do form diploidalnych. Autorzy na dość złożonych schematach wyjaśnili te przejścia.

E. Walsh i P. Starkweather używali metody PCR (polymerase chain reaction) do selektywnego wzmacniania genów rybosomalnych 18S u wrotków. Metoda ta pozwala uzyskiwać skoncentrowany preparat wybranych genów z mieszaniny jądrowych lub organellowych genomów. PCR pozwala milionkrotnie wzmocnić gen z bardzo małej próbki, np. komórki lub wrotka. Otrzymywali produkt zawierający 1,8 do 2,0 tys. par zasad. Produkt ten następnie cięli enzymami restrykcyjnymi po 4 i 6 zasad. Szczegółowa dalsza analiza prowadziła do różnicowania gatunków, grup gatunków i konstruowaniu wyraźnej molekularnej filogenezy wrotków. W tej samej sesji przedstawiano referaty ekologiczne. W. Hofmann przedstawił badania „nawozowe” przeprowadzone w foliowych miniaturowych (Ø około 70 cm) eksponowanych w jeziorze i nawożonych. Na wzrost rozpuszczonej materii organicznej bakterie odpowiedziały szybkim wzrostem, a w ślad za tym rozwinęły się wiciowce, *Protozoa* oraz wrotki *K. cochlearis* i *K. quadrata*.

W sesji szóstej bardzo ciekawy referat przedstawiła pani H. Enesco. Omówiła cztery teorie długości życia: teorię szybkości życia twierdzącą, że im organizm intensywniej wydatkuje energię, tym krócej żyje; teorię programowanego wieku, wiążącą długość życia z obecnością hormonów; teorię wolnych rodników twierdzącą, że wzrastająca z wiekiem ich ilość prowadzi do zniszczenia komórek; teorię wapnia proponującą jako powód śmierci utratę homeostazy wapnia. Za każdą z tych teorii przedstawiła argumenty za i przeciw.

Kooperacja polsko-holenderska (J. Ejsmont-Karabin, K. Siewertsen i R.D. Gulati) zaowocowała m.in. referatem przedstawiającym po raz pierwszy zmiany w ilości węgla w ciele wrotka *Euchlanis dilatata lucksiana* od narodzin do końca życia. Niejako przy okazji stwierdzono, że samica w czasie swego życia zużywa 1% zasymilowanego węgla na produkcję somatyczną, a około 16% na reprodukcję.

W sesji siódmej na uwagę zasługuje kilka referatów-posterów. H. Arndt interesowała rola wrotków w «microbial web». Doszedł do stwierdzeń, że preferencja wielkościowa pokarmu wrotków daje im możliwość konsumpcji pierwotniaków, heterotroficznych wiciowców i glonów. Właściwie nie są w stanie utrzymać populacji bakterii w ryzach w przeciwieństwie do koegzystujących pierwotniaków. Ich rola wydaje się polegać na promocji procesów degradacyjnych przez prowadzenie destrukcji glonów, pierwotniaków i dostarczanie ich do ogniw mikrobiologicznych.

Holendrzy (A. Wilms, G. Postema i R. Gulati) porównali trzy techniki pomiaru tempa filtracji, wszystkie bardzo wyrafinowane: — fluoryzujące polistyrenowe mikrokulki o średnicy 0,51 µm, — znakowane fluoryzującym barwnikiem bakterie, — znakowane metyl <sup>3</sup>H tymidyną bakterie o wielkości poniżej 1,2 µm. Metoda mikrosfer dawała dwukrotnie wyższe wyniki niż pozostałe techniki: 0,404 µl/indiv./godz. w porównaniu z 0,162 i 0,179.

D. Ronneberger przedstawił pozytywne skutki biomanipulacji w jeziorze Haussee, do którego wprowadzono 12 000 szczupaków i okoni rocznie od roku 1985. W czasie wiosennego maximum, biomasa populacji wrotków osiąga 600 mg C/m<sup>3</sup>. W czasie kolejnych lat redukcja była następująca: 400 (1987), 350 (1988) i 220 (1990). Zmieniła się struktura zbiorowiska — ustąpiła *K. cochlearis*, a wzrosła rola *C. natans*, *C. unicornis*, *S. pectinata*. Wzrosła ilość skorupiaków, spadła fitoplanktonu.

Sesja 8 miała najwięcej referatów. Główne tematy ósmej sesji to menu *Asplanchna sieboldi*, *Synchaeta*, wybór substratu, migracje pionowe, sukcesje sezonowe, dominacja a różnorodność, próba klasyfikacji zbiorników wodnych Wielkiej Brytanii w oparciu o zbiorowiska wrotków, taka sama próba dla 103 zbiorników zaporowych Hiszpani (z wynikiem w zasadzie negatywnym), zbadanie zbiorowiska psammonowego plaży na Florydzie (czyżby wreszcie znalazł się następca Wierzejskiego?). Badano wrotki z mchów i kopalne m.in. z 6-metrowej długości rdzenia z torfowiska.

Uczestnicy sympozjum mieli do dyspozycji dwa stare IBM-y XT i praktycznie jeden edytor tekstu Lotus. J. Langley przegrał na twardy dysk do skopiowania przez zainteresowanych 3 programy Cornell University: TWINSPAN, DECORANA i COMPCPLUS. Najmodniejszym gatunkiem wydaje się *Brachionus plicatilis*. E. Lubzens zorganizowała nawet spotkanie wielbicieli tego gatunku.



Referujący wyposażeni byli w miniaturowe mikrofony wpinane w klapę marynarki lub kołnierzyk koszuli, sprzęgnięte bezprzewodowo ze wzmacniaczem. Do demonstracji filmów video używano 41-calowego telewizora.

Organizatorzy zaserwowali uczestnikom wieczorny pokaz tańców ludowych, przejażdżkę po jeziorze Banyoles, spacer nad jeziorko zamieszkałe przez *Triops cancriformis*, zwiedzanie pięknego zabytkowego miasteczka Besalu, a na zakończenie całodniową wycieczkę do Girony, romańskich monasterów San Pedro de Roda i potem na moczary parku narodowego przy ujściu rzek Muga i Fluvia.

Symposium miało fantastyczną, familijną atmosferę obrad — praktycznie było spotkaniem starych przyjaciół w klubie pod nazwą N-te Międzynarodowe Symposium Wrotkowe.

Roman Żurek

SYMPOZJUM „EKOLOGICZNA GENETYKA SSAKÓW  
— BADANIA WSPÓŁCZESNE I PERSPEKTYWY”  
(Łódź, 3–5 IX 1992)

Zorganizowane na Uniwersytecie Łódzkim sympozjum rozpoczęło cykl spotkań biologów zajmujących się genetyką populacyjną ssaków. Zamysłem jego organizatorów jest, by spotkania takie odbywały się co 2 lata. Inicjatorami i jednocześnie osobami, na których spoczął główny ciężar zadań organizacyjnych byli dr hab. J. Markowski z Katedry Ekologii i Zoologii Kręgowców UŁ oraz dr G.B. Hartl z Forschungsinstitut für Wildtierkunde und Ökologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien. W obradach wzięło udział 25 badaczy z 9 krajów, którzy zaprezentowali 16 referatów i 2 poster. Uczestnicy przedstawili swoje wystąpienia w czterech kolejnych sesjach tematycznych:

- 1) Zmienność genetyczna i homeostaza rozwojowa (6 wystąpień),
- 2) Genetyka konserwacyjna (3),
- 3) Genetyka populacyjna ssaków (6),
- 4) Zmienność genetyczna, systemy kojarzenia i organizacja socjalna (3).

Pierwszą z sesji rozpoczął M.H. Smith (USA) wygłaszając przeglądowy referat o powiązaniach między zróżnicowaniem genetycznym (heterozygotycznością) i morfologiczną asymetrią u ssaków. Następnie J.M. Novak (USA) mówił o różnicach w poziomie asymetrii fluktuującej u północnoamerykańskich gryzoni z rodzaju *Sigmodon* wynikających z zastosowania różnych metod analizy, a R. Villing (Austria) o procedurze testowania sekwencyjnego w analizach genetycznych. Następne dwa referaty na temat zająca *Lepus europaeus* wygłosili G.B. Hartl i J. Markowski; dotyczyły odpowiednio związków pomiędzy heterozygotycznością i homeostazą rozwojową tego gatunku oraz zależności między parametrami biochemicznymi i asymetrią cech niemetrycznych, na przykładzie populacji z Polski. W ostatnim referacie F. Suchentrunk (Austria) przedstawił wyniki badań nad asymetrią czaszki i zróżnicowaniem genetycznym u dzikiego królika *Oryctolagus cuniculus* i jego udomowionej formy. Sesja popołudniowa zatytułowana w oryginale „Conservation genetics” objęła trzy referaty: K. Scribnera (W. Brytania) na temat wpływu działań ludzkich na strukturę genetyczną kilku gatunków kopytnych, w którym oparł się na rezultatach długoletnich badań ekologiczno-genetycznych koziorożca *Capra ibex*, jelenia wirginijskiego *Odocoileus virginianus* i mulaka *Odocoileus hemionus*; R.C. Bigalke z RPA o wynikach badań biochemiczno-genetycznych szpringboka *Antidorcas marsupialis* oraz A. Schreiber (Niemcy) o zastosowaniu technik molekularnych w określaniu dystansów genetycznych pomiędzy małymi ilościowo próbkami osobników, co stanowi często trudność w przypadku badania populacji gatunków zagrożonych wyginięciem. Dzień zakończyła wizyta w Łódzkim Ogrodzie Zoologicznym, w którym goście mogli zobaczyć m.in. krzyżówkę niedźwiedzia brunatnego *Ursus arctos* i polarnego *Thalartos maritimus*. Jest to jedno z największych osiągnięć hodowlanych tej placówki, która może poszczycić się posiadaniem osobników pochodzących z kolejnych pokoleń.

W drugim dniu sympozjum jego uczestnicy udali się na wycieczkę do rezerwatu hodowlanego żubrów w Smardzewicach koło Tomaszowa Mazowieckiego. Obecny na spotkaniu Z. Pucek, w zaimprovizowanym wykładzie zapoznał wszystkich z podstawowymi faktami z historii hodowli i restytucji żubra. Stało się to okazją do żywej dyskusji na temat tego gatunku jak i hodowli ginących gatunków ssaków w ogóle.

Ostatniego dnia sympozjum w sesji „Genetyka populacyjna ssaków”, wystąpienia mieli: M. Gębczyński o elektroforetycznym zróżnicowaniu kilku populacji normicy rudej *Clethrionomys glareolus* i M. Wójcik o polimorfizmie chromosomów u ryjówek aksamitnych. *Sorex araneus* występujących w różnych siedliskach (habitatach). Dwa referaty dotyczyły zróżnicowania genetycznego sarny *Capreolus capreolus* — R. Lorenzini przedstawiła rezultaty badań populacji z Włoch, natomiast G. Markov (Bułgaria) saren pochodzących z terenu Europy środkowej i południowo-wschodniej. Ponadto przedstawione zostały dwa postery. J. Markowski ze współpracownikami przedstawili dane o biochemicznym zróżnicowaniu populacji zająca w Polsce, a M. Ratkiewicz dokonał porównania amylaz ślinowych i trzustkowych występujących u czterech gatunków gryzoni.

Kończąc sympozjum sesja zawierała referaty: R. Chessera (USA) o ewolucji organizacji socjalnej u ssaków, F. Kurta (Szwajcaria) o wpływie różnych strategii rozrodczych wynikających z odmiennej organizacji socjalnych na stopień zimbredowania kilku populacji sarny i M. Appolonio (Włochy), który starał się odpowiedzieć na pytanie, czy u dużych ssaków z rodzin *Cervidae*, *Bovidae* i *Canidae* zróżnicowanie biochemiczno-genetyczne, mierzone takimi wskaźnikami, jak udział loci polimorficznych czy heterozygotyczność, pozostaje w związku z ich systemem kojarzenia. Właściwie po żadnym z referatów nie zabrakło tego, co niewątpliwie jest solą tego typu spotkań, a mianowicie dyskusji. Z tego choćby względu można sympozjum ocenić jako udane i pożyteczne. Uczestnicy ustalili również, że przedstawione przez nich referaty, już w formie gotowych prac, zostaną wspólnie opublikowane jako suplement w „Acta Theriologica”.

Tak jak wspomniano, w przyszłości mają odbyć się następne sympozja podobne tematycznie. Organizatorzy planują, że najbliższe odbędzie się w Wiedniu, gdzie jego gospodarzami będą dr G.B. Hartl i Forschungsinstitut für Wildtierkunde und Ökologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien.

Tomasz Janiszewski, Janusz Markowski

DOC. DR HAB. ANTONI HOFFMAN  
(1950 — 1992)



Po długotrwałej, ciężkiej chorobie zmarł ANTONI HOFFMAN, docent doktor habilitowany, wybitny uczony w pełni sił twórczych. Był członkiem Komitetu Redakcyjnego *Kosmosu*.

Niespełna dwadzieścia lat Jego przedwcześnie przerwanej kariery naukowej przyniosło blisko setkę publikacji naukowych, dwie książki, liczne przekłady i recenzje oraz dwa tomy pod Jego redakcją, zyskując Mu szeroki światowy rozgłos i uznanie.

Zaczynał jako geolog. Magisterium a następnie doktorat (1977) uzyskał na Wydziale

Geologii Uniwersytetu Warszawskiego. Kolejne trzy lata były trudne — non-konformizm i bezkompromisowość zamknęły mu wówczas drogę do zatrudnienia w instytucjach naukowych. Nie były to jednak lata stracone dla poszerzania Jego horyzontów zawodowych. Tłumacząc na język angielski teksty publikacji dla periodyków naukowych (*Acta Geologica Polonica, Acta Geophysica Polonica, Acta Palaeontologica Polonica, Palaeontologia Polonica*) oraz uprzystępniając polskiemu czytelnikowi ważne pozycje zagraniczne z zakresu nauk przyrodniczych, znacznie rozszerzył obszar swych zainteresowań i wiedzy. Uczestniczył w życiu naukowym Warszawy i Krakowa, biorąc udział w seminariach i spotkaniach organizowanych przez profesorów Stefana Amsterdamskiego i Adama Łomnickiego.

W tym okresie Jego zainteresowania oscylowały między paleoekologią i biologią ewolucyjną. Jego ówczesne publikacje i zainteresowania umożliwiły Mu otrzymanie w roku 1980 prestiżowego stypendium Fundacji imienia Aleksandra Humboldta. Odtąd Jego kariera zaczęła postępować szybciej,

choć tempo jego publikacji wywoływało pewne kontrowersje: zamiast bowiem pogrążyć się w żmudnych analizach i pracy terenowej z młotkiem geologicznym w rękę, Antek pisał kolejne teoretyzujące lub krytyczne artykuły, osnute wokół zastanego stanu wiedzy paleontologicznej. Na tym uogólnionym poziomie, patrząc przez pryzmat metodologii i filozofii nauki, dostrzegł i ukazał nowe możliwości.

Sukces w Niemczech znalazł kontynuację po drugiej stronie Atlantyku, na University of Wisconsin i Columbia University w latach 1982—1985. W Stanach Zjednoczonych Toni, jak go nazywali amerykańscy koledzy, rzucił wyzwanie ówczesnie najmodniejszemu koncepcjom teoretycznym na polu paleobiologii: punktualistycznej teorii specjacji, neokatastrofizmowi i teorii zróżnicowania ewolucyjnego. Jego krytyka miała znaczący udział w sprowadzeniu rangi tych koncepcji do poziomu odpowiadającego ich realnemu potencjałowi poznawczemu. W tym samym czasie wniósł swój doniosły wkład w biologię ewolucyjną i teorię wielkich wymierań.

Mimo tak korzystnej pozycji w nauce światowej, jaką szybko zdobył, zawsze myślał o powrocie do kraju. W roku 1986 wrócił do Europy, pracując znów na Uniwersytecie w Tybindze, a wkrótce powrócił do Polski. Nie bez trudności — stwarzanych przez czynniki partyjne — został przyjęty do pracy w Zakładzie Paleobiologii Polskiej Akademii Nauk (dziś Instytut Paleobiologii PAN im. Romana Kozłowskiego), gdzie pracował już do końca. W roku 1987 habilitował się z nauk biologicznych na Uniwersytecie Warszawskim.

W roku 1989, nakładem Oxford University Press, ukazało się Jego najbardziej doniosłe dzieło: „Arguments on Evolution: A Paleontologist's Perspective”. Zawarł w nim dyskusję najważniejszych problemów z pogranicza współczesnej biologii i paleontologii, będącą dojrzałym podsumowaniem wątków naukowych, którymi zajmował się przez ostatnie lata. Książka ta zdobyła entuzjastyczne recenzje, m. in. w tak renomowanych periodykach, jak *Nature*, *Science*, *Bioscience*, *Paleobiology*, *Historical Biology*, *Evolution*, *Isis*.

W Instytucie Paleobiologii PAN, równoległe z kontynuacją dotychczasowych zainteresowań, włączył się do pracy stworzonego przez siebie zespołu badawczego w zupełnie nowej dziedzinie — rekonstrukcji historycznych zmian paleoegzosystemu Ziemi z wykorzystaniem badań stosunków izotopów trwałych w osadach i skamieniałościach. Prace tego zespołu zaowocowały szeregiem publikacji i nagrodą Polskiej Akademii Nauk w roku 1990.

Antek kierował dwoma projektami badawczymi, finansowanymi przez granty Komitetu Badań Naukowych. Planował napisanie kolejnej książki — o zastosowaniach badań izotopowych w paleobiologii, a ostatnio, mimo trwającej go ciężkiej choroby, przygotował cykl wykładów dla członków elitarnego Stowarzyszenia Mensa, które miał wygłosić w Szwajcarii.

Jego aktywność nie ograniczała się tylko do pola czystej nauki. Pełnił funkcję doradcy Ministerstwa Edukacji Narodowej i Sejmowej Komisji Nauki, uczestnicząc w pracach nad legislacyjnymi i organizacyjnymi ramami reformy nauki.

Co więcej, sam działał na polu oświaty — był współtwórcą Pierwszego Społecznego Liceum Ogólnokształcącego w Warszawie, dla którego ułożył autorski program nauczania biologii i sam — jako pedagog — realizował go. Wśród uczniów dał się poznać jako nauczyciel dobry i mądry, a także jako autorytet moralny.

Wśród współpracowników, kolegów i przyjaciół pozostawił po sobie pamięć człowieka wielkiej wiedzy i erudycji, a zarazem skromnego, przyjaznego ludziom i chętnie dzielącego się ze wszystkimi darem swych umiejętności. Jego osoba zapisała się w pamięci nie tylko środowiska, w którym żył i pracował, lecz także wśród chorych, spotykanych w ostatnim okresie życia w kolejnych szpitalach, w których przebywał. Miarę Jego człowieczeństwa, skierowanego w stronę bliźnich, wymownie ukazał artykuł, który napisał w ostatnich dniach życia, poświęcony walce o uwrażliwienie lekarzy w pierwszym kontakcie z chorym na wczesne rozpoznawanie nowotworów, co zwiększałoby szanse skutecznego leczenia tych chorych, u których rak jest jeszcze we wczesnym stadium i nie dał przerzutów. Artykuł ten ukazał się w „Gazecie Wyborczej” 27 listopada 1992 roku, już po ostatecznej porażce jego Autora w zmaganiach ze śmiertelną chorobą.

Straciliśmy w Nim wielkiego i bliskiego Człowieka, a zarazem autorytet na polu nauk przyrodniczych.

Krzysztof Malkowski  
Karol Sabath

Instytut Palcobiologii PAN

#### WYBRANE POZYCJE Z BIBLIOGRAFII ANTONIEGO HOFFMANA

- Hoffman A. — *Wokół ewolucji, PIW*, Warszawa 1983.
- Łomnicki A., Hoffman A. — *Poziom działania doboru naturalnego, koncepcja dobra dla gatunku, dobór gatunków i dobór grupowy*. Kosmos, 36: 433—456, 1987.
- Hoffman A. — *Punktualizm a gradualizm: obecny stan dyskusji*. Kosmos, 36: 517—528, 1987.
- Hoffman A. — *Synecology of macrobenthic assemblages of the Korytnica Clays, (Middle Miocene; Holy Cross Mountains, Poland)*. Acta Geologica Polonica 27: 227—280, 1977.
- Hoffman A. — *Community paleoecology as an epiphenomenal science*. Paleobiology 5: 357—379, 1979.
- Hoffman A. — *Stochastic versus deterministic approach to paleontology: The question of scaling or metaphysics*. Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie, Abhandlungen 162: 80—96, 1981.
- Hoffman A. — *Punctuated versus gradual mode of evolution: A reconsideration*. Evolutionary Biology 15: 411—436, 1982.
- Hoffman A. — *Paleobiology at the crossroads: A critique of some modern paleobiological research programs*, (w:) Grene, M. (red.) — *Dimensions of Darwinism*, Cambridge University Press, Cambridge: 241—271, 1983.
- Hoffman A., Kitchell J.A. — *Evolution in a pelagic planktic system: A paleobiologic test of models of multispecies evolution*. Paleobiology, 10: 9—33, 1984.

- Hoffman A., Nitecki M.H. — *Reception of the asteroid hypothesis of terminal Cretaceous extinctions*. *Geology* 13: 884—887, 1985.
- Hoffman A. — *Patterns of family extinctions depend on definition and geological timescale*. *Nature* 315: 359—362, 1985.
- Hoffman A. — *Neutral models of Phanerozoic diversification: Implications for macroevolution*, *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie, Abhandlungen* 172: 219—244, 1986.
- Hoffman A., Nitecki M.H. (red.) — *Problematic fossil taxa*. Oxford University Press, New York 1986.
- Hecht M. K., Hoffman A. — *Why not Neodarwinism? A critique of paleobiological challenges*. Oxford Survey of Evolutionary Biology, 3: 1—47, 1986.
- Hoffman A., Fenster E. J. — *Randomness and diversification in Phanerozoic: A simulation*, *Paleontology* 29: 655—663, 1986.
- Hoffman A. — *Neutral model of taxonomic diversification in the Phanerozoic: a methodological discussion*, (w:) Nitecki M. H., Hoffman A. (red.) — *Neutral models in biology*. Oxford University Press, New York: 133—146, 1987.
- Hoffman A., Reiff W.E. — *On methodology of the biological sciences: from a paleobiological perspective*. *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie, Abhandlungen* 177: 185—211, 1988.
- Hoffman A. — *Arguments on evolution: A paleontologist's perspective*. Oxford University Press, New York, 1989.
- Hoffman A. — *Mass extinctions: Review of a skeptic*. *Journal of Geological Society of London* 146: 21—35, 1989.
- Hoffman A. — *History of palaeontology: The last decade and the future*, (w:) Briggs D. E. G., Crowther P. R. — *Encyclopaedia of Palaeobiology*, Blackell Scientific, Oxford: 550—555, 1989.
- Hoffman A. — *What, if anything, are mass extinctions?* *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B*, 325: 253—261, 1989.
- Hoffman A. — *What can the fossil record tell us about macroevolution? A commentary*, (w:) Hecht M. K. (red.) — *Evolutionary biology at the crossroads*. Queen's College Press, Flushing, N. Y.: 80—84, 1989.
- Hoffman A. — *O ciągłości i nieciągłości kopalnego zapisu ewolucji*. *Przegląd Geologiczny*: 557—558, 1989.
- Hoffman A. — *Do we need a macroevolutionary theory of taxonomic diversification?* (w:) Maynard-Smith, J., Vida G. (red.) — *Organizational constraints on the dynamics of evolution*. Manchester University Press, Manchester: 423—430, 1990.
- Hoffman A., Gruszczynski M., Malkowski K., — *Oceanic delta-13-carbon values as indicators of atmospheric oxygene depletion*. *Modern Geology*, 14: 211—221, 1990.
- Hoffman A., Gruszczynski M., Malkowski K., — *On the interrelationship between temporal trends in  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  and  $\delta^{34}\text{S}$  in the world ocean*, *Journal of Geology* 99: 355—370, 1991.

Profesor dr WIRGILIUSZ ŻUROWSKI  
(1935—1992)



24 lipca 1992 roku zmarł w Rucianym Prof. dr WIRGILIUSZ ŻUROWSKI. Urodził się 15 stycznia 1935 roku w Sewerynowie, pow. Węgrów (obecnie woj. siedleckie). Zawieruchy wojenne sprawiły, że rodzice Żurowskiego przenieśli się pod Warszawę, gdzie w roku 1951 uzyskał maturę. Po maturze wstąpił na Wydział Zootechniczny SGGW i uzyskał dyplom magistra zootechniki w roku 1956. Zaraz po odbyciu odpowiednich praktyk i uzyskaniu dyplomu rozpoczął w roku 1956 pracę w Zakładzie Doświadczalnym Polskiej Akademii Nauk w Popielnie, który podlegał wówczas Zakładowi Hodowli Doświadczalnej Zwierząt PAN. Kierownikiem Zakładu Hodowli Doświadczalnej Zwierząt był członek korespondent PAN, prof. dr Mieczysław Czaja, który był pierwszym

mistrzem naukowym Żurowskiego i pod jego kierunkiem stawiał On swoje pierwsze kroki. W Popielnie prowadzono wówczas hodowlę konika polskiego, świni złotnickiej pstrej i bydła, a ponadto hodowlę jeleni szlachetnych i bobrów. W. Żurowski, który był wówczas młodym asystentem, przeszedł przez wszystkie te działy.

Autor tych wspomnień rozpoczął pracę w Popielnie w roku 1958 i od tego czasu datuje się moja znajomość i współpraca z Żurowskim, która z czasem przerodziła się w prawdziwą przyjaźń. Przyjaźń ta m.in. zaowocowała szeregiem wspólnie wykonanych prac badawczych, uznanych i cytowanych w literaturze światowej. Po moim przyjeździe do Popielna stopniowo zaczął się rozszerzać Dział Biologii i Hodowli Zwierząt Łownych. Żurowski szybko zaczął się koncentrować na badaniach nad zwierzętami nie udomowionymi. W roku 1965 uzyskał stopień naukowy doktora na podstawie pracy „Rozwój płodów jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus elaphus* L.) występującego na terenie Puszczy Piskiej”. Promotorem był prof. dr Władysław Herman.

Żurowski pracował w ZD PAN w Popielnie ponad 35 lat, czyli prawie od powstania Zakładu aż do śmierci. Należy tu się kilka słów wspomnień o tym pionierskim i odległym już okresie. Nie było wówczas w Popielnie wody bieżącej ani stałego prądu elektrycznego. Czasem rano i wieczorem funkcjonował agregat często psujący się i niejednokrotnie tygodniami nie było prądu. Wodę czerpało się ze studni lub z jeziora, a prace pisaliśmy przy świeczkach lub lampach naftowych. Ale tzw. Dział Naukowy, którego przez pewien czas byłem kierownikiem, miał do dyspozycji konia wierzchowego, bryczkę i sanki, czego dzisiaj nie ma, a ponadto atmosfera była zupełnie inna niż obecnie. Może to być związane z urokiem młodych lat, ale odnoszę wrażenie, że ludzie byli wówczas życzliwsi i mieli więcej zapału do pracy. Do stacji kolejowej w Rucianem jeździło się przeważnie końmi. Jako starszy kolega Żurowskiego od razu zauważyłem, że odznacza się on zapałem do pracy badawczej, wielką energią i pasją przyrodniczą. Przedwczesna śmierć Profesora Czaji w dniu 30 grudnia 1958 spowodowała, że zostaliśmy zdani głównie na własne siły, ponieważ następcy Profesora interesowali się głównie hodowlą zwierząt domowych, a badania nad zwierzętami nie udomowionymi (jeleniowate, bobry i dziki) były traktowane raczej po macoszemu.

Pomimo tych przeciwności Żurowski koncentrował się na badaniach zwierząt łownych i chronionych, a specjalnie na hodowli, ekologii i ochronie bobrów europejskich. Ukochał on przyrodę ojczystego kraju, specjalnie Pojezierza Mazurskiego i Suwalskiego. Wszystkie swoje siły i zdolności poświęcił ochronie przyrody i środowiska naturalnego, a szczególnie ochronie i biologii bobrów. W roku 1979 habilitował się na Wydziale Zootechnicznym SGGW na podstawie pracy „Rozmnażanie się bobrów europejskich w warunkach fermowych”. Tytuł profesora otrzymał dopiero w roku 1992, kilka miesięcy przed śmiercią.

Prof. Żurowski odznaczał się dużą odwagą cywilną i często w sposób bezkompromisowy wyrażał swoje opinie, co oczywiście hamowało Jego karierę



naukową. Zgodnie z łacińskim przysłowiem „veritas odium parit” musiał czekać przez 13 lat po habilitacji na awans na profesora. Lecz w walce o ochronę przyrody ojczystej odnosił czasem zwycięstwa. Warto tu przypomnieć projekt wybudowania na wyspie Szeroki Ostrów na Śniardwach luksusowego hotelu z lotniskiem dla helikopterów i całym zapleczem związanym z taką inwestycją. Żurowski, orientując się jak zgubne skutki ekologiczne przyniesie taka inwestycja, zaangażował się z całą energią przeciw temu projektowi, wciągnął do tej walki różnych sojuszników — batalię tę wygrał.

Prace Żurowskiego na temat hodowli, biologii i ekologii bobrów europejskich weszły do nauki światowej i są cytowane w krajach anglojęzycznych, w Niemczech i w literaturze byłego ZSRR. Wyhodowane przez Niego bobry były sprzedawane do reintrodukcji w RFN oraz w Austrii. Również restytucja bobra na terenie Polski (np. w Karpatach, w Puszczy Kampinowskiej, na Pojezierzu Brodnickim) odbywała się pod jego bezpośrednim kierownictwem. Dzięki Niemu bóbr przestał być w Polsce gatunkiem zagrożonym. Zostało to ocenione przez Towarzystwo Myśliwych Ziem Wschodnich, które wybiło specjalny medal na Jego cześć. Żurowski był członkiem Wojewódzkiego Komitetu Ochrony Przyrody w Suwałkach, członkiem Rady Koordynacyjnej Mazurskiego Parku Krajobrazowego (od roku 1982 — przewodniczącym), członkiem Komisji Zwierząt Łownych i Rzadkich Komitetu Ekologii PAN i od 1981 członkiem Komitetu Ochrony Przyrody PAN. Ostatnio został członkiem Państwowej Rady Ochrony Przyrody.

Reprezentował naukę polską na licznych międzynarodowych kongresach i sympozjach, m.in. na III Międzynarodowym Kongresie Teriologicznym w Helsinkach (1982) powierzono Mu zaszczytną funkcję otwarcia sympozjum na temat bobrów. Rozwiązał również wiele problemów związanych z hodowlą fermową bobrów. Był utalentowanym pracownikiem terenowym, praktykiem, a jednocześnie śledził bieżącą literaturę dotyczącą bobrów i znał wiele zagadnień teoretycznych.

Był doskonałym, cenionym myśliwym. Aktywnie działał w Polskim Związku Łowieckim. Był członkiem Naczelnej Rady Łowieckiej. Został odznaczony najwyższą łowiecką odznaką — Złom. Zasługi dla łowiectwa znalazły wyraz w czasie pogrzebu, gdy oddano salwy honorowe i odegrano sygnały na trąbce myśliwskiej.

Żurowski, niestety, nie zostawił po sobie uczniów. Przyczyniły się do tego z pewnością specyficzne warunki pracy w Zakładzie Doświadczalnym PAN w Popielnie. Zakład ten ma wprawdzie dość bogaty dorobek naukowy, ale zgodnie z obowiązującymi przepisami decydującą rolę odgrywa w nim administracja. Jednakże dzięki inicjatywie Żurowskiego, na materiale bobrów z Popielna dwie osoby uzyskały w Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie doktoraty z zakresu anatomii bobra europejskiego. Brak uczniów stanowi wielką lukę, gdyż specjalistę od bobrów tej klasy, którą reprezentował Żurowski, nielatwo będzie wykształcić.

Na zakończenie chciałbym dodać, że Profesor Wirgiliusz Żurowski zwany przez przyjaciół „Żukiem”, był dobrym kolegą i człowiekiem życzliwym dla ludzi. Przed wystąpieniem choroby odznaczał się wielką tężyzną fizyczną i psychiczną i działał krzepiąco na otoczenie.

Jego przedwczesna śmierć stanowi bolesną stratą dla całego (w dodatku nielicznego) zespołu pracowników naukowych Popielna.

Zbigniew Jaczewski

#### WYBÓR PUBLIKACJI WIRGILIUSZA ŻUROWSKIEGO

1962

*Regulation of blood pressure in the growing antlers of red deer (Cervus elaphus L.)* Trans. Vth Congress Inter. Union of Game Biol. Bologne Suppl. Ricerche di Zoologia Appl. Alla Caccia vol. IV: 115–139. (Wspólnie z Z. Jaczewskim i L. Zaniewskim).

Olaus J. Murie: *The elk of North America*. Przegląd Zoologiczny 6, 3: 235–236.

1963

*Wpływ nocnego oświetlenia lochy z miotem na częstotliwość ssania i rozwój prosiąt ssących*. Biul. ZHDZ PAN 4: 115–120. (Wspólnie z H. Kamińską).

*Wpływ okaleczeń na anormalny rozwój poroża u jeleniowatych*. Biul. ZHDZ PAN 4: 121–126.

*Observation on the circulation in the pedicle arteries of red deer (Cervus elaphus L.)* Trans. Vith Congress Inter. Union of Game Biolog. Bournemouth: 145–155. (Wspólnie z Z. Jaczewskim i L. Zaniewskim).

*Działanie na żubra (Bison bonasus L.) chlorku tubokuraryny podawanej przy pomocy wyrzucanej strzykawkii automatycznej*. Streszcz. referat. i komunik. IX Zjazdu Pol. Tow. Fizjol. Toruń 1963: 108. (Wspólnie z Z. Jaczewskim).

1965

*Effects of succinylcholine chloride on wild boars*. J. Wildl. Manag. 29, 3: 626–629. (Wspólnie z M. Sakowiczem).

1966

*Rozwój płciowy jelenia szlachetnego (Cervus elaphus L.) występującego na terenie Puszczy Piskiej*. Biul. ZHDZ PAN 9: 217–249.

*Próba określenia preferencji niektórych pasz używanych w dokarmianiu jeleni*. Biul. ZHDZ PAN 9: 251–257. (Wspólnie z M. Sakowiczem).

*Działanie na dziki (Sus scrofa L.) chlorku sukcinylcholinu*. Biul. ZHDZ PAN 9: 259–263. (Wspólnie z M. Sakowiczem).

1969

*The food of the Roe deer*. Acta Theriol. 14, 18: 247–262. (Wspólnie z A. Siudą i H. Siudą).

Zakład Doświadczalny PAN w Popielnie. Kosmos, Seria A, 18, 4: 436–444, (Wspólnie z S. Alexandrowiczem i J. Kossakowskim).

1970

*Zastosowanie trankwiliny przy kobarzeniu par i łączeniu w grupy bobrów europejskich (Castor fiber L.)* Medycyna Weterynaryjna 26, 2: 111–112.

*Wstępne wyniki próby udomowienia bobra europejskiego (Castor fiber L.).* Przegląd Nauk. Lit. Zootech. Zeszyt specjal. ze Zjazdu PTZ Warszawa: 149–153.

*Marking beavers.* Acta Theriol 15, 30: 520–523.

*Additional molar in European red deer.* Acta Theriol. 15, 30: 523–525.

*Effect of single pig's blood addition on the local wild boar (Sus scrofa) population.* Trans. IXth Inter. Congress of Game Biolog. Moscow: 235–238. (Wspólnie z H. Siudą i B. Gałką).

*IX Międzynarodowy Kongres Biologów Zwierząt Łownych (Moskwa 15–19 września 1969).* Nauka Polska 4: 129–134. (Wspólnie z Z. Jaczewskim).

1971

*Composition of milk of European beavers, Castor fiber Linnaeus, 1758.* Acta Theriol. 16, 25: 405–408. (Wspólnie z J. Kiszą i A. Krukiem).

*Experimental Department, Institute of Genetics and Animal Breeding, Polish Academy of Sciences, Popielno.* [W:] T. Jezierska R. Dzieciolowski, W. Jezierski, Z. Pielowski, J. Raczynski i W. Żurowski, Bibliography of Polish Publications on Wildlife Biology and Game Management covering years 1945–1970. Warszawa: 263–267.

1972

*Wstępne doświadczenia nad regulacją rozrodu bobrów.* XII Zjazd Pol. Tow. Fizjolog., Olsztyn 13–17 wrzesień 1972. Streszczenia komunikatów: 290–291.

1973

*O skuteczną ochronę bobrów.* Chrońmy Przyrodę Ojczystą 2: 30–39.

*Bobry v Polskoj Narodnoj Respublike.* Racionalnoje izpolzovane zapasov ręcznego bobra v CCCP. Tezisy dokladov 5-go vsesojuznogo soveszczena po bobru. Nojabr 1973. Voronezh: 137–139.

1974

*Observations on the releasing of the European beaver.* Acta Theriol. 19, 25: 367–370. (Wspólnie z Z. Jaczewskim).

*Lactation and chemical composition of milk of the European beaver (Castor fiber L.)* J. Mammal. 55, 4: 847–850. (Wspólnie z J. Kiszą, A. Krukiem i A. Rozkoszem).

1975

*Superfoetation in European beaver.* Acta Theriol. 20, 7: 97–104. (Wspólnie z T. Doboszyńską).

*Changes observed in the reproductive tract of a beaver female after high dosages of gonadotropic hormones.* Acta Theriol. 20, 8: 105–112. (Wspólnie z T. Doboszyńską).

1976

*Bobry v Polskoj Narodnoj Respublike.* Trudy Voronezh. Gos. Zap. 21, 2: 183–191.

*Vaginal smears during the sexual cycle of the beaver.* VIIIth Inter. Congress on Animal Repr. and Art. Insem. Cracow, July 12–16, 1976. Communication Abstract: 68. (Wspólnie z T. Doboszyńską).

*Induction of ovulation in the beaver outside the normal breeding season.* VIIIth Inter. Congress on Animal Repr. and Art. Insem. Cracow, July 12–16, 1976. Communication Abstract: 292. (Wspólnie z T. Doboszyńską).

*Czy powinno się meliorować doliny Biebrzy i Narwi.* Chrońmy Przyrodę Ojczystą 14: 58–61.

1977

*Vaginal smears during the sexual cycle of the beaver.* Acta Theriol. 22, 8: 153–155. (Wspólnie z T. Doboszyńską).

*Induction of ovulation in the beaver outside the normal breeding season.* Acta Theriol. 22, 8: 151–152. (Wspólnie z T. Doboszyńską).

*Cytologic indices and their application in evaluation of vaginal smears in the European beaver (Castor fiber L.). Folia Morphol.* 36, 3: 235–244. (Wspólnie z T. Doboszyńską).

*Rozmnażanie się bobrów europejskich w warunkach fermowych.* PAN Inst. Genetyki i Hodowli Zwierząt. Rozprawy habilitacyjne 7: 1–52.

1978

*Transplantation of beavers in Poland.* IInd Inter. Theriol. Congress 20–27 June, 1978. Brno Abstracts of Papers: 448.

1979

*Preliminary results of European beaver reintroduction in the tributary streams of the Vistula river.* Acta Theriol 24, 7: 81–87.

*Dziki (Sus scrofa L.)* Wszecławiat 6: 121–124.

1980

*Izuczone ekstrapolacjonno refleksa u jevropejskogo bobra (Castor fiber L.). Zhurnal Vysszej Nervnoj Dejatelnosti* 30, 1: 150–156. (Wspólnie z N.L. Kruszinska i I.L. Dmitrieva).

*Chromosomes of Eurasian beaver (Castor fiber. L.) from the Pasleka river (Poland).* IV Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim.: 432–436. (Wspólnie z P.S. Sysą).

*Wiederherstellung des Biber-Vorkommensgebietes in Polen.* Natur und Landschaft 55, 12: 454–458. (Wspólnie z E. Nowakiem).

1981

*Anatomical studies of the male genital organs of the European beaver.* Acta Theriol. 26, 20: 331–340. (Wspólnie z T. Doboszyńską).

*Czynniki motywujące podjęcie użytkowej hodowli bobrów europejskich w Polsce.* Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 259: 149–154.

*Bobry na jeziorze Śniardwy i przyległych akwenach.* Chrońmy Przyrodę Ojczystą 6: 23–31.

1982

*Carotenoid content in Mammals. IV. Castor fiber L. (Castoridae).* Zoologica Poloniae 29, 1–2: 129–136. (Wspólnie z B. Czczugą).

*Rozmieszczenie i ekologia bobra w pradolinie Biebrzy.* Chrońmy Przyrodę Ojczystą 1–2: 18–26.

*Reproduction of the European beaver.* IIIrd Intern. Theriol. Congress, Helsinki 15–20 August, 1982. Abstracts of papers: 56. (Wspólnie z T. Doboszyńską).

1983

*Rozmnażanie się bobrów europejskich w warunkach fermowych.* Roczniki Nauk Roln. Ser. D 193: 1–71.

*Bóbr europejski w dolinie Biebrzy.* Zesz. Probl. Pots. Nauk Roln. 255: 287–295.

*Reproduction of the European beaver.* Acta Zool. Fennica 174: 123–126. (Wspólnie z T. Doboszyńską).

*Reconstitution de la population de Castors europeens (Castor fiber L.) en Pologne.* Les Carnets de Zoologie 43, 4: 59–62.

*Castor fiber*, Linnaeus, 1758. [W:] Pucek Z., J. Raczyński: *Atlas rozmieszczenia ssaków w Polsce*. PWN Warszawa: 84, 91–93. (Wspólnie z Z. Puckiem).

*Rezerwat „Ostoja bobrów Stary Folwark”.* Chrońmy Przyrodę Ojczystą 3: 47–54.

*Inżynieria bobrów.* Problemy 12: 26–28, 37–39.

*Worldwide Beaver Symposium*, Helsinki 1982. Opening remarks. Acta Zool. Fennica 174: 85–86.

1984

*Odbudowa populacji bobra europejskiego (Castor fiber L.) w Polsce drogą reintrodukcji.* Symposium Łowieckie. Oddział PAN Kraków. 54–60.

## 1985

*chrona bobra w rejonie Kanału Mazurskiego*. Parki Narodowe i Rezerваты Przyrody 6, 2: 57–69. (Wspólnie z A. Siudą).

*Trzeci Międzynarodowy Kongres Teriologiczny, Helsinki 1982*. Przeg. Zool. 29, 1: 133–139. (Wspólnie z Z. Puckiem, Z. Jaczewskim i L. Ryszkowskim).

## 1986

*Bóbr Castor fiber Linnaeus, 1758 w krajobrazie rolniczym*. Przeg. Zool. 30, 2: 217–224. (Wspólnie z Z. Gulewiczem).

*Characteristics of an European beaver population in the Suwałki Lakeland*. Acta theriol. 31, 24: 129–143. (Wspólnie z B. Kasperczykiem).

*Jeszcze raz o pochodzeniu bobrów z doliny Pasłęki*. Chrońmy Przyrodę Ojczystą 1: 69–74. (Wspólnie z E. Nowakiem).

## 1987

*Norka amerykańska (Mustela vison Schreber, 1777) w stanowiskach bobrów*. Przeg. Zool. 31, 4: 113–121. (Wspólnie z J. Kammler).

*Differences in effects of the European beaver reintroduction into the lowland and mountainous tributaries of the Vistula river*. XVIIIth Intern. Congress of Game Biolog. Kraków 1987. Abstracts: 226.

## 1988

*Situation of the European beaver in the Vistula river watershed and north-east Poland*. Investigations on beavers Berne (Szwajcaria) 7: 7–14.

*Effects of reintroduction of European beaver in the lowlands of the Vistula basin*. Acta Theriol 33, 12–24: 483–496. (Wspólnie z B. Kasperczykiem).

## 1989

*Wiederaufbau des Biberstandes in Polen — Vorteile und Gefahren der Zucht*. [W:] Schneider E. Oelke H. i H. Gross: *Die Illusion der Arche Noah*. Echo Verlag: 219–235.

*Jenot — Nyctereutes procyonides (Gray, 1843)*. [W:] Krupka J., Dzieciolowski R., Fruziński B., Neugenbauer Z., Pielowski Z. i Z. Pucek: *Łowiectwo*. PWRiL, Warszawa: 215–218.

*Piżmak — Ondatra zibethicus (Linnaeus, 1766)*. [W:] Krupka J., Dzieciolowski R., Fruziński B., Neugenbauer Z., Pielowski Z. i Z. Pucek: *Łowiectwo*. PWRiL, Warszawa: 236–238.

*Bóbr europejski - Castor fiber (Linnaeus, 1758)*. [W:] Krupka J., Dzieciolowski R., Fruziński B., Neugenbauer Z., Pielowski Z. i Z. Pucek: *Łowiectwo*. PWRiL, Warszawa: 321–323.

*Dam Building activity on the mountainous streams*. Vth ITC Rome 1989. Abstracts of Papers and Posters 1: 316–317.

## 1990

*Result of beaver reintroduction in some Carpathian mountain streams*. Ochrona Przyrody 47: 201–213. (Wspólnie z B. Kasperczykiem).

*Piżmak Ondatra zibethicus Linnaeus, 1766 i norka amerykańska Mustela vison Schreber, 1777 w rezerwacie „Jeziro Drużno”*. Prz. Zool. 34, 2–3: 329–337. (Wspólnie z J. Balerstet, T. Balerstet i K. Wargackim).

## 1992

*Spring diet of the American mink Mustela vison in the Mazurian Brodnica Lakelands, Northern Poland*. Acta Theriol. 37, 1–2: 193–198. (Wspólnie z M. Brzeźnińskim).

*Bóbr europejski* [W:] Z. Głowaciński (red.) *Polska Czerwona Księga Zwierząt*. PWRiL Warszawa: 56–59.



## SPIS TREŚCI

<i>Adam Jankowski, Aleksandra Lewandowicz-Uszyńska</i> — Wolne rodniki w patologii chorób człowieka .....	147
<i>Zofia Kilińska</i> — Geny wirusa HIV. Charakterystyka i rola produktów ich ekspresji .	159
<i>Elżbieta Kuta</i> — Metody biologii molekularnej w biosystematyce roślin .....	179
<i>Anna Rudzińska-Langwald, Grażyna Garbaczewska</i> — Lokalizacja komórkowa cyklu życiowego wirusów roślinnych z jednoniciowym RNA .....	203
<i>Krystyna Brzezicka-Szymczyk</i> — Grzyby rdzawnikowe ( <i>Uredinales</i> ) — pasożyty roślin	223
<i>Adam Dubas</i> — Biomanipulacja w ekosystemach jeziornych. O pewnym przykładzie działań praktycznych w biologii .....	235
<i>Zofia Rudek</i> — Cytogenetyczna ocena skutków skażenia środowiska przez Kombinat Metalurgiczny w Krakowie .....	243
<i>Piotr Płonka</i> — Odłowy zwójek w pułapki feromonowe w drzewostanach dębowych Puszczy Niepołomickiej .....	251

### DYSKUSJE I KRYTYKA

<i>Paweł Michalak</i> — Specjacja a dobór płciowy .....	257
<i>Wiesław Soroczan</i> — Poglądy na filogenezę i systematykę nicieni ( <i>Nematoda</i> , Rudolphi, 1808) .....	263

### INSTYTUTY NAUKOWE

<i>Krzysztof Jakubowski</i> — Muzeum Ziemi — W poszukiwaniu nowego wyrazu popularyzacji wiedzy przyrodniczej .....	273
--	-----

### ZJAZDY I KONFERENCJE NAUKOWE

<i>Zdzisław Mikulski</i> — Sesja naukowa w 160 rocznicę urodzin Wiktora Godlewskiego (Boguty, 29 maja 1992 r.) .....	287
<i>Stanisław L. Kazubski</i> — Wrażenia przyrodnika z pobytu w Południowej Afryce ....	288
<i>Roman Żurek</i> — VI Międzynarodowe Sympozjum Wrotkowe (Banyoles, 3—8 czerwca 1991) .....	292
<i>Tomasz Janiszewski, Janusz Markowski</i> — Sympozjum „Ekologiczna genetyka ssaków — Badania współczesne i perspektywy (Łódź, 3—5 IX 1992) .....	295

### WSPOMNIENIA

<i>K. Malkowski, K. Sabath</i> — Doc. dr hab. Antoni Hoffman (1950—1992) .....	297
<i>Zbigniew Jaczewski</i> — Profesor dr Wirgiliusz Żurowski (1935—1992) .....	301

Tylko prenumerata zapewnia  
regularne otrzymywanie  
kwartalnika

---

---

# K O S M O S

---

---

## WARUNKI PRENUMERATY

Wpłaty na prenumeratę przyjmowane są na okresy kwartalne:

- na terenie kraju — jednostki kolportażowe „Ruch” i urzędy pocztowe właściwe dla miejsca zamieszkania lub siedziby prenumeratora,
- na zagranicę — „RUCH” S.A. Oddział Warszawa,  
00-958 Warszawa, konto PBK XIII Oddział Warszawa  
370044-1195-139-11.

Prenumerata ze zleceniem dostawy za granicę jest o 100% wyższa od krajowej.

### Dostawa zamówionej prasy następuje:

- przez jednostki kolportażowe „Ruch” — w sposób uzgodniony w zamawiającym,
- przez urzędy pocztowe — pocztą zwykłą na wskazany adres, w ramach opłaconej prenumeraty z wyjątkiem zlecenia dostawy za granicę pocztą lotniczą do odbiorcy zagranicznego, której koszt w pełni pokrywa prenumerator.

### Terminy przyjmowania wpłat na prenumeratę:

- krajową i zagraniczną — do 20 XI na I kw. roku następnego  
do 20 II na II kw.  
do 20 V na III kw.  
do 20 VIII na IV kw.

Bieżące numery można nabyć lub zamówić w Księgarni Wydawnictwa Naukowego PWN, ul. Miodowa 10, Warszawa. Również można je nabyć, a także zamówić (przesyłka za zaliczeniem pocztowym) we Wzorcowni Rozpowszechniania Wydawnictw Naukowych PAN, Pałac Kultury i Nauki, 00-901 Warszawa.

Subscription orders for all the magazines published in Poland available through the local press distributors or directly through the

Foreign Trade Enterprise

ARS POLONA

00-068 Warszawa, Krakowskie Przedmieście 7, Poland

Our bankers:

BANK HANDLOWY S.A. 201061-710-13100

---

---