

WSZECHŚWIAT

PISMO PRZYRODNICZE

Tom 121 Nr 10–12

Październik–Listopad–Grudzień 2020



Aktualności COVID-19 – Nadzieje na szczepionki

Znaczenie danio pręgowanego w badaniach nad epilepsją

Kleszcze w Polsce

Zmiany klimatu a rozmnażanie drzew

Lasy z próbówki

Czy powtarzalność badań jest możliwa



Zachód słońca. Dolina Nidy pod Wiślicą. Fot. Maciej Bonk.

WSZECHŚWIAT

Z POLSKIMI PRZYRODNIKAMI OD 3 KWIETNIA 1882

Zalecany do bibliotek nauczycielskich i licealnych od r. 1947 (pismo Ministra Oświaty nr IV/Oc-2734/47)

Wszechświat jest pismem punktowym w Index Copernicus International.

Treść zeszytu 10–12 (2682–2684)

ARTYKUŁY

Barbara Plytycz, Aktualności COVID-19. Druga fala pandemii w Polsce i nadzieje na szczepionki	302
Kinga Gawel, Tomasz K. Prajsnar, Marta Marszałek-Grabska, Waldemar A. Turski, Camila V. Esguerra, Znaczenie danio pręgowanego w badaniach procesów epileptogenezy oraz badaniach przesiewowych substancji przeciwdrgawkowych	314
Dorota Dwużnik-Szarek, Anna Bajer, Ach te kleszcze!	320
Tomasz A. Pawłowski, Globalne zmiany klimatu a rozmnażanie się drzew	332
Teresa Hazubska-Przybył, Lasy z próbki. Czy to możliwe?	337
Marta Dziedzicka-Wasylewska, Czy powtarzalność badań z wykorzystaniem zwierząt jest w ogóle możliwa?	347

DROBIAZGI

Skupieniec lipowy <i>Oxycarenus lavaterae</i> (Fabricius, 1787). Nowy inwazyjny pluskwiak na lipach w Krakowie (Mieczysław Kosibowicz)	354
Nieproszeni goście w moim mieszkaniu (Maria Olszowska)	357

WSZECHŚWIAT SPRZED WIEKU

Co wiedzieliśmy o planktonie słodkowodnym 113 lat temu? (oprac. Maria Śmiałowska)	363
---	-----

WSPOMNIENIA Z PODRÓŻY

Maria Olszowska, Śródleśne mszary Mazur cz. 2.	369
---	-----

PRACE UCZESTNIKÓW OLIMPIAD BIOLOGICZNYCH

Jan Bereda, Wpływ sildenafilu i kwasu giberelinowego na kiełkowanie ziarniaków jęczmienia zwyczajnego (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	378
---	-----

KRONIKA

Konkurs fotograficzny: drzewa (Elżbieta Pyza)	383
O tym jak „realny” marzec roku 2020 zamienił się w „wirtualny” październik, czyli o Dniu Mózgu dla dzieci w ramach Tygodnia Mózgu 2020 w Krakowie zrealizowanym w czasach pandemii COVID-19 (Irena Nalepa)	388

RECENZJE

Ina Sperl, Wildobst. Schlehe, Hagenbutte und Co. für meinen Garten (Dzikie owoce. Śliwa tarnina, dzika róża i in. dla mojego ogrodu) (Eugeniusz Kośmicki)	392
--	-----

Fotografia na okładce:

Jesienne liście buka. Fot. Maria Olszowska.

Od roku 2020 czasopismo *Wszechświat* będzie wydawane tylko w wersji cyfrowej w cenie 9 zł/numer, 36 zł/rok. Prenumeratorom będą wysyłane pliki .pdf.
W wersji papierowej będzie wydawany tylko pierwszy numer 1–3 w cenie 12 zł.
Członkowie Towarzystwa otrzymują zniżkę na roczną prenumeratę i płacą tylko 20 zł za roczną prenumeratę cyfrową.

W sprawach prenumeraty i zakupu wybranych numerów prosimy o kontakt z P. Aleksandrem Koralem, e-mail: biuro@ptpk.org, tel. 661 482 408.

Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika
Redakcja Pisma Przyrodniczego *Wszechświat*
31–118 Kraków, ul. Podwale 1
SANTANDER BANK POLSKA SPÓŁKA AKCYJNA, XXI Oddział Kraków
nr konta 81 1500 1142 1220 6033 9745 0000

Sponsorami *Wszechświata* są:

- Akademia Górniczo-Hutnicza
- Polska Akademia Umiejętności
- Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego



Rada Redakcyjna

Przewodnicząca: Irena Nalepa
Z-ca Przewodniczącej: Stanisław Knutelski
Sekretarz Rady: Agnieszka Zelek-Molik
Członkowie: Andrzej Kornaś, Michał Kozakiewicz, Ewa Krzemińska,
Elżbieta Pyza, Alina Stachurska-Swakoń, Alfred Uchman, January Weiner

Komitet redakcyjny

Redaktor Naczelna: Maria Śmiałowska
Z-ca Redaktora Naczelnej: Barbara Plytycz
Sekretarz Redakcji: Alicja Firlejczyk
Członek Redakcji: Katarzyna Stachowicz

Adres Redakcji

Redakcja Pisma Przyrodniczego *Wszechświat*
31–118 Kraków, ul. Podwale 1 m. 2, tel. 661 482 408
e-mail: redakcja@ptpk.org,
<https://wszechswiat.ptpk.org>

Wydawca

Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika, Kraków, ul. Podwale 1/2

Projekt i skład

Artur Brożonowicz, artur@ptpk.org



PISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA PRZYRODNIKÓW IM. KOPERNIKA

WYDAWANE PRZY WSPÓŁUDZIALE: AKADEMII GÓRNICZO-HUTNICZEJ,
MINISTERSTWA NAUKI I SZKOLNICTWA WYŻSZEGO, POLSKIEJ AKADEMII UMIEJĘTNOŚCI

TOM 121
ROK 138

PAŹDZIERNIK – LISTOPAD – GRUDZIEŃ

ZESZYT 10–12
2682–2684

ARTYKUŁY

AKTUALNOŚCI COVID-19 DRUGA FALA PANDEMII W POLSCE I NADZIEJE NA SZCZEPIONKI

(DANE ZEBRANE 30 LISTOPADA 2020)

COVID-19 UPDATES

The second wave of pandemic in Poland and vaccine-connected hopes
(data collected up to November 30, 2020)

Barbara Płytycz (Kraków)

Streszczenie

Pandemia COVID-19 wywołana przez koronawirus SARS-CoV-2 nadal rozprzestrzenia się na świecie. W Europie pierwsza fala pandemii (wiosenna) była najbardziej dotkliwa dla krajów zachodnich, o gigantycznych lotniskach międzynarodowych i olbrzymim ruchu turystycznym. Trwająca obecnie druga (jesienna) fala rozprzestrzeniła się szerzej, powodując najbardziej tragiczne skutki w Czechach i w Polsce. Choroba COVID-19 ma różne nasilenie, a jej ofiarami są głównie seniorzy z chorobami współistniejącymi. Zalecanymi środkami prewencyjnymi są dystans, higiena rąk oraz maseczki zasłaniające nos i usta. Na rok 2021 zapowiedziana jest dostępność różnych typów szczepionek przeciw SARS-CoV-2.

Abstract

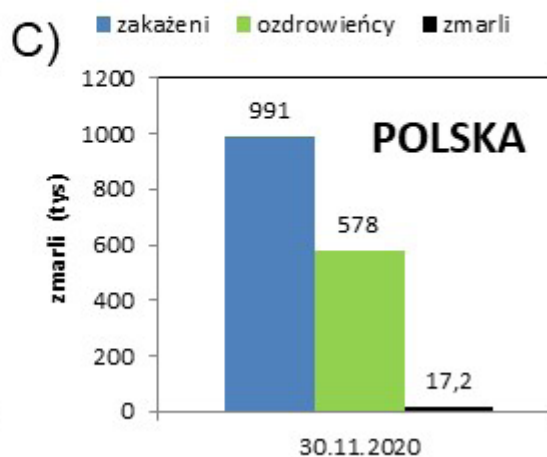
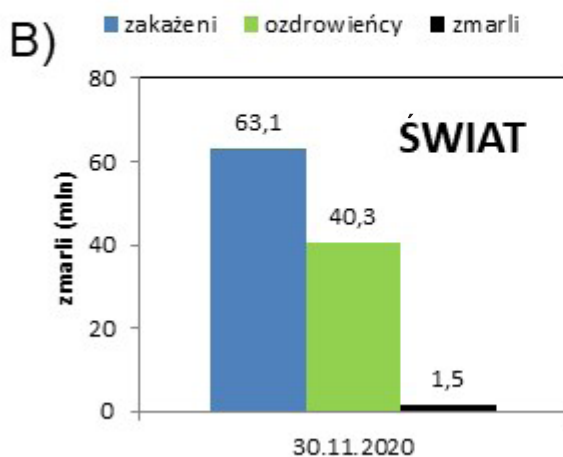
The COVID-19 pandemic caused by coronavirus SARS-CoV-2 is still spreading around the world. In Europe the first spring wave of the COVID-19 pandemic was most damaging to western countries with large international airports and high levels of tourism, while the ongoing second autumnal wave has spread more widely with most fatal outcomes in Czech Republic and Poland. The severity of COVID-19 varies; the main group of COVID-19 victims are the elderly with coexisting health problems. The commonly applied preventive measures include social distancing, hygiene and facial masks. Several types of vaccine against SARS-CoV-2 viruses are declared to be distributed worldwide in 2021.

Pandemia COVID-19 trwa nadal; dwie fale pandemii w Europie

We wrześniu bieżącego roku otrzymaliśmy kompendium wiedzy na temat pandemii wywołanej przez koronawirusa SARS-CoV-2 zatytułowane „Zrozumieć COVID-19”, przygotowane przez Zespół Ekspertów z Polskiej Akademii Nauk [5]. Książka ta zawiera wszechstronne omówienie faktów zgroma-

dzonych na temat pandemii do czerwca 2020 roku i oczekujemy kontynuacji tego dzieła w oparciu o wydarzenia i osiągnięcia z drugiego półrocza bieżącego roku. Niniejszy artykuł jest natomiast kontynuacją artykułu z czerwcowego zeszytu „Wszechświata” zatytułowanego „Pod panowaniem koronawirusa” [15], który to tytuł jest nadal aktualny. Dobowe liczby raportowanych do WHO przypadków nowych zakażeń i zgonów w różnych rejonach świata nadal rosną

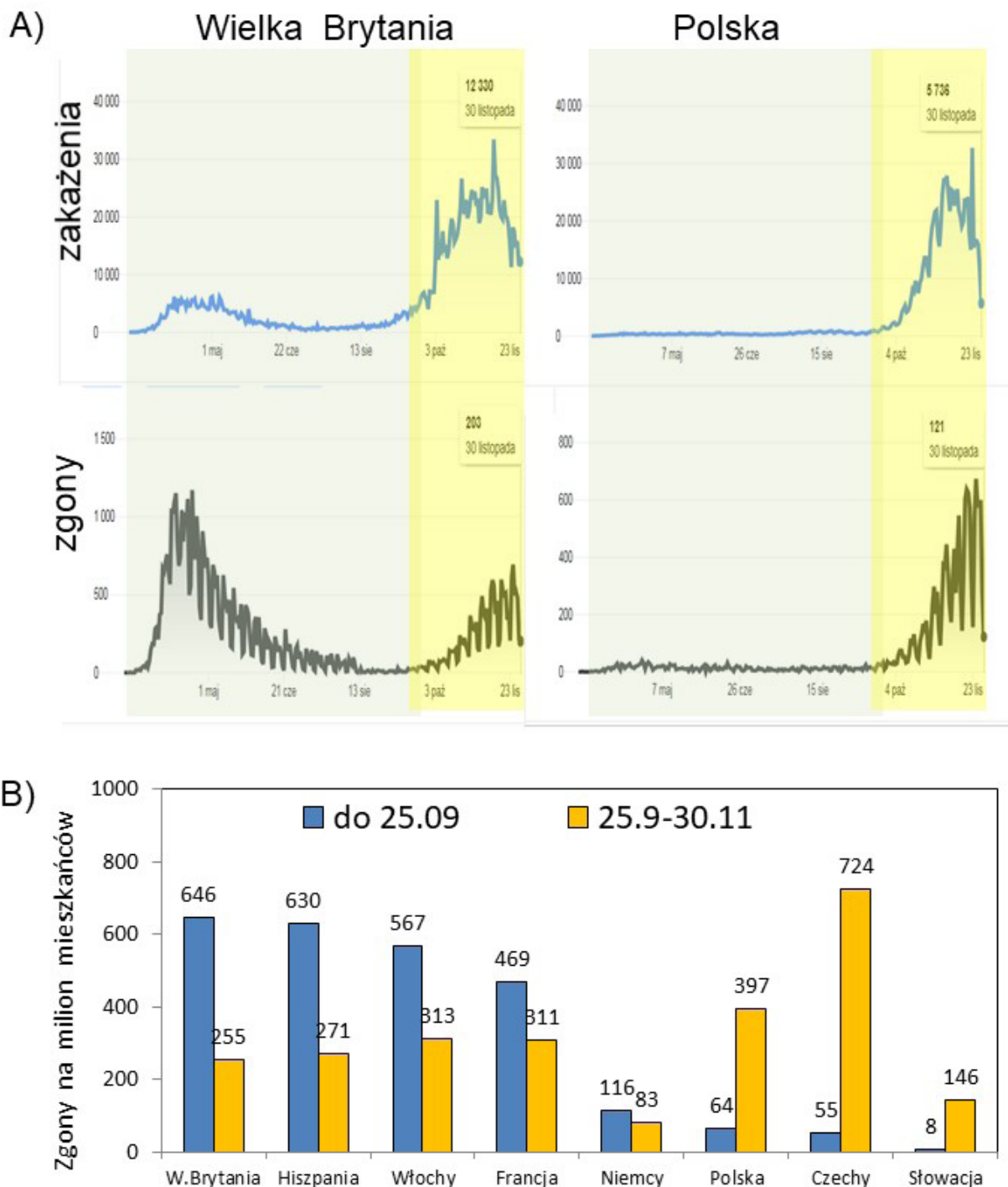
A) ŚWIAT dobowe statystyki od początku pandemii



Ryc. 1. Rozwój pandemii COVID-19 na świecie od stycznia do końca listopada 2020 roku. Dobowe liczby zakażeń i zgonów na świecie (A) i sumaryczna liczba zakażeń, ozdrowień i zgonów na świecie (B), w tym w Polsce (C).

(Ryc. 1A); do końca listopada 2020 r. liczba zakażeń na świecie przekroczyła 63 miliony (w tym w Polsce 991 tysięcy), a ofiar śmiertelnych było w świecie ponad 1,5 miliona (w tym w Polsce ponad 17 tysięcy) (Ryc. 1B, 1C). W niniejszym opracowaniu wszelkie dane liczbowe pochodzą z ogólnodostępnych materiałów internetowych Ministerstwa Zdrowia.

W Europie zarysowały się dwie fale pandemii, z których pierwsza (wiosenna) rozprzestrzeniła się głównie w krajach o najbardziej intensywnym ruchu turystycznym. W krajach tych, po okresie letniego wyciszenia, rozwinęła się druga fala zakażeń. Ta druga fala, jesienna, jest szczególnie dotkliwa dla krajów Europy Środkowej i Wschodniej, których oszczędziła



Ryc. 2. Pandemia COVID-19 w Europie do końca listopada 2020 roku. A) Dobowe liczby zakażeń i zgonów w Wielkiej Brytanii i w Polsce, z dwoma falami zakażeń: wiosenno-letnią (niebieskie tło) i jesienną (żółte tło). B) Liczby zgonów na milion mieszkańców w ośmiu wybranych krajach Europy. Dane do 25 września 2020 r. (niebieskie słupki) i między 25 września a 30 listopada 2020 r. (żółte słupki).

wczesna fala wiosenna ze względu na mniejszą wymianę turystyczną i wczesne decyzje o ograniczeniach w przemieszczaniu się ludności (*lockdown*). Wielka Brytania należy do krajów o dwóch wyraźnych falach pandemii COVID-19, wiosennej i jesiennej; w Polsce wyraźna jest tylko fala jesienna (Ryc. 2A).

W Wielkiej Brytanii liczba zdiagnozowanych przypadków zakażeń sięgała wiosną 6 000 dziennie, latem była bardzo niska, a jesienią przekraczała 30 000 dziennie. Liczba zgonów wiosną przekraczała tam 1000 dziennie, a po letnim spadku wzrastała jesienią do ponad 500 przypadków na dobę. W Polsce w okresie wiosenno-letnim liczba zakażeń i zgonów była bardzo niska, lecz zaczęła gwałtownie wzrastać jesienią, zbliżając się do 30 000 zakażeń i przekraczając 600 zgonów na dobę (Ryc. 2A).

Dla porównania nasilenia pandemii w różnych krajach za najbardziej obiektywne kryterium uznałam liczbę zgonów na milion mieszkańców, co przedstawiłam w odniesieniu do ośmiu krajów Europy, z podziałem na falę wiosenno-letnią (do 25 września) i początek fali jesiennej (25.09 do 30 listopada) (Ryc. 2B).

Liczba zgonów na milion mieszkańców podczas wiosennej fali pandemii była największa w Wielkiej Brytanii, w Hiszpanii, we Włoszech i we Francji (odpowiednio: 646, 630, 567, 469). Natomiast w Niemczech była stosunkowo niska (116), a w Polsce, Czechach i Słowacji miała wartości dwucyfrowe (odpowiednio, 64, 55 i 8) (Ryc. 2B, niebieskie słupki). Sytuacja zmieniła się radykalnie w okresie jesiennym (Ryc. 2B, żółte słupki). Liczba zgonów między 25 września a 30 listopada była najwyższa w Czechach (724), a najniższa w Niemczech (83). Dobrze radzi sobie Słowacja (146), a w Polsce liczba ta (397) przewyższa dane z Francji (311), Włoch (313), Hiszpanii (271) i Wielkiej Brytanii (255) (Ryc. 2B, żółte słupki). Konkludując, spośród porównywanych tu krajów europejskich na jesienną falę pandemii najlepiej przygotowali się Niemcy i Słowacy.

Zgony z powodu COVID-19 w Polsce

W Polsce, w okresie wiosenno-letnim, liczba śmiertelnych ofiar COVID-19 była niska w porównaniu z krajami Europy Zachodniej. W marcu zmarły 33 osoby, a od kwietnia do września śmiertelność osiągała wartości trzycyfrowe, za wyjątkiem czerwca, gdy wyniosła 1 064 osoby. Nagły wzrost liczby zgonów rozpoczął się dopiero w październiku, gdy zmarło 3 119 osób, a szczególnie gwałtownie zaznaczył się w listopadzie, gdy zmarło 11 519 osób (Ryc. 3A).

Narastanie jesiennej fali zgonów z powodu COVID-19 wyraźnie widać na wykresie tygodniowych

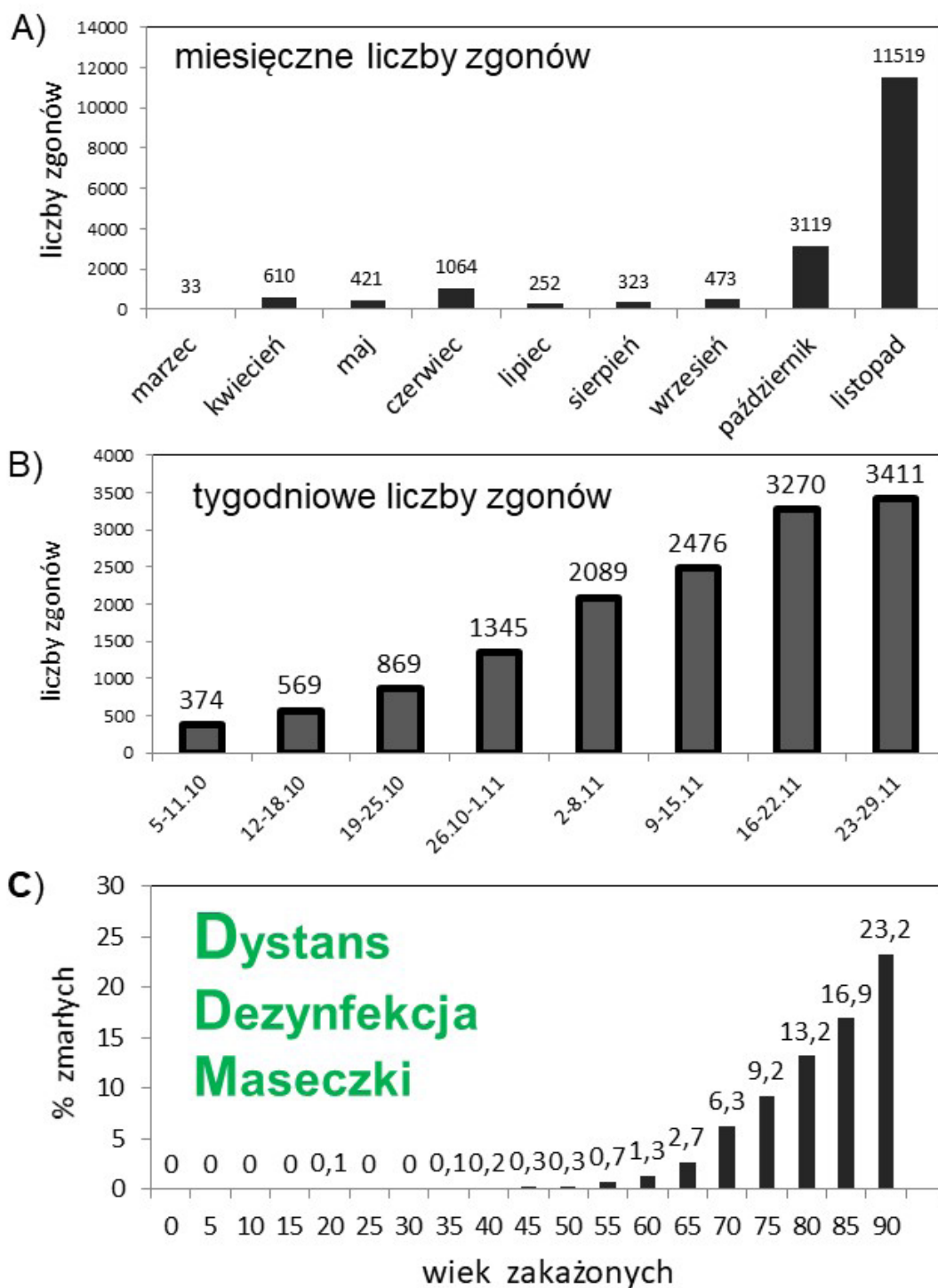
liczb osób zmarłych, od 374 (w tygodniu od 5 do 11 października) do 3 411 (w tygodniu od 23 do 29 listopada) (Ryc. 3B). Zgony są rzadkie u dzieci i młodzieży oraz u osób w wieku średnim, a ich procentowy udział w rozkładzie wiekowym wzrasta u seniorów, przekraczając 23% u osób w wieku podeszłym (ponad 90 lat) (Ryc. 3C). Większość zmarłych to osoby z chorobami współistniejącymi, spośród których dotyczy to głównie cukrzycy, chorób sercowo-naczyniowych, chorób nerek i otyłości.

Profilaktyka i przebieg choroby

Dostępna profilaktyka to rekomendowane przez wszelkie środki masowego przekazu zasady DDM, czyli Dystans, Dezynfekcja (higiena rąk), Maseczki (Ryc. 3C). Te proste środki chronią każdego z nas przed potencjalnym zakażeniem, a równocześnie – chronią przed nami otaczające nas osoby, gdy sami przechodzimy chorobę nawet w sposób bezobjawowy. Co więcej, te same środki chronią przed wszelkimi chorobami rozprzestrzeniającymi się w sezonie jesienno-zimowym drogą kropelkową, a więc przed grypą i przeziębieniami. Zalecenia te są zgodne ze zdrowym rozsądkiem, bo mniej wirusów uwolnimy z ust lub nosa lub wchłonimy przy oddychaniu zachowując większe odległości między ludźmi, zasłaniając nos i usta oraz pamiętając o myciu rąk po styczności z przedmiotami potencjalnie skażonymi wirusem. Te zdroworozsądkowe zasady znajdują potwierdzenie naukowe [13]. Eksperymentalne zwierzęta narażone na większe dawki wirusa chorują ciężiej niż po niskiej dawce wirusa [16]; statystycznie większa liczba wyścieżkowiczów zachorowała podczas kwarantanny na statku bez rygoru sanitarnego, niż na innym, na którym przestrzegano noszenie maseczek [10,12].

Zakażenie koronawirusem SARS-CoV-2 ma przebieg bezobjawowy lub skąpoobjawowy u większości osób (81%), lecz 19% zakażonych wymaga hospitalizacji, gdyż są w stanie ciężkim (14%) lub bardzo ciężkim (5%). U ozdrowieńców z każdej z tych grup wykrywa się obecnie skutki odległe przebytego zakażenia, co dotyczy wielu narządów (np. serca, nerek) i określa się jako Zespół Po-Covid-19 (Ryc. 4A). Może się to wiązać z obecnością receptorów ACE-2 nie tylko na powierzchni pneumocytów, lecz i w komórkach innych narządów [8, 17, 21,22].

Osoby w stanie ciężkim lub bardzo ciężkim wymagają leczenia szpitalnego, gdyż pojawia się u nich niewydolność oddechowa, którą można łagodzić podawaniem tlenu (do czego niezbędne są łóżka z dostępem do źródła tlenu), a w najcięższych przypadkach są podłączani do respiratorów wymagają-

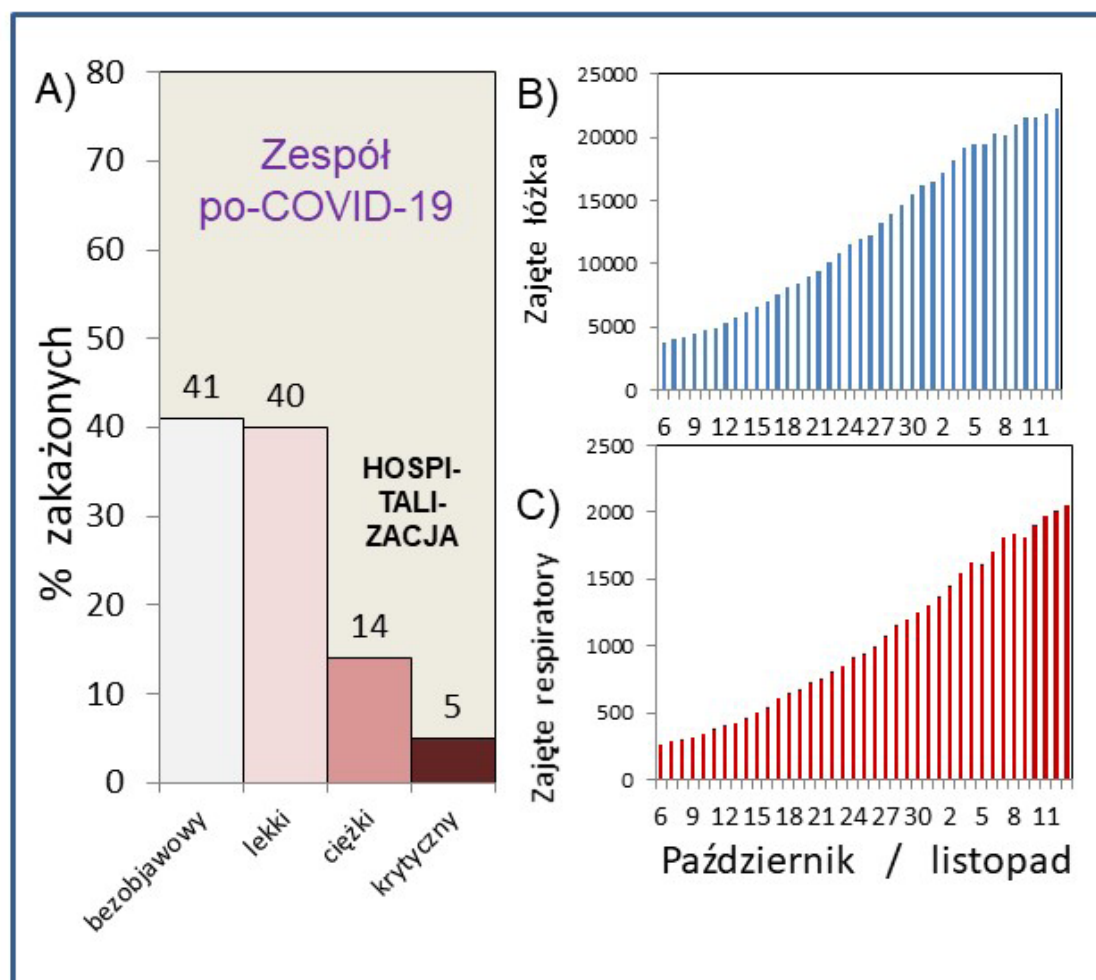


Ryc. 3. Zgony w powodu COVID-19 w Polsce. A) miesięczne przypadki zgonów od marca do listopada 2020 r. B) tygodniowe przypadki zgonów w październiku i listopadzie 2020 r. C) Procentowy udział zgonów w kolejnych grupach wiekowych; inset: środki ochronne przed zakażeniem wirusem SARS-CoV-2.

cych specjalistycznej obsługi. Nic więc dziwnego, że liczba zajętych łóżek COVID-owych i respiratorów gwałtownie rosła w październiku i listopadzie 2020 roku, od około 4 000 do 20 000 łóżek COVID-owych i od około 300 do 2 000 respiratorów, czyli co dziesiąty hospitalizowany pacjent wymaga najbardziej specjalistycznej opieki (Ryc. 4B, 4C).

Wirus a odporność

Po wchłonięciu patogenu, w tym przypadku wirusa SARS-CoV-2, organizm człowieka inicjuje odporność wrodzoną z udziałem fagocytów, które uczestniczą w lokalnych reakcjach zapalnych oraz uruchamiają wysoce specyficzną odpowiedź z udziałem



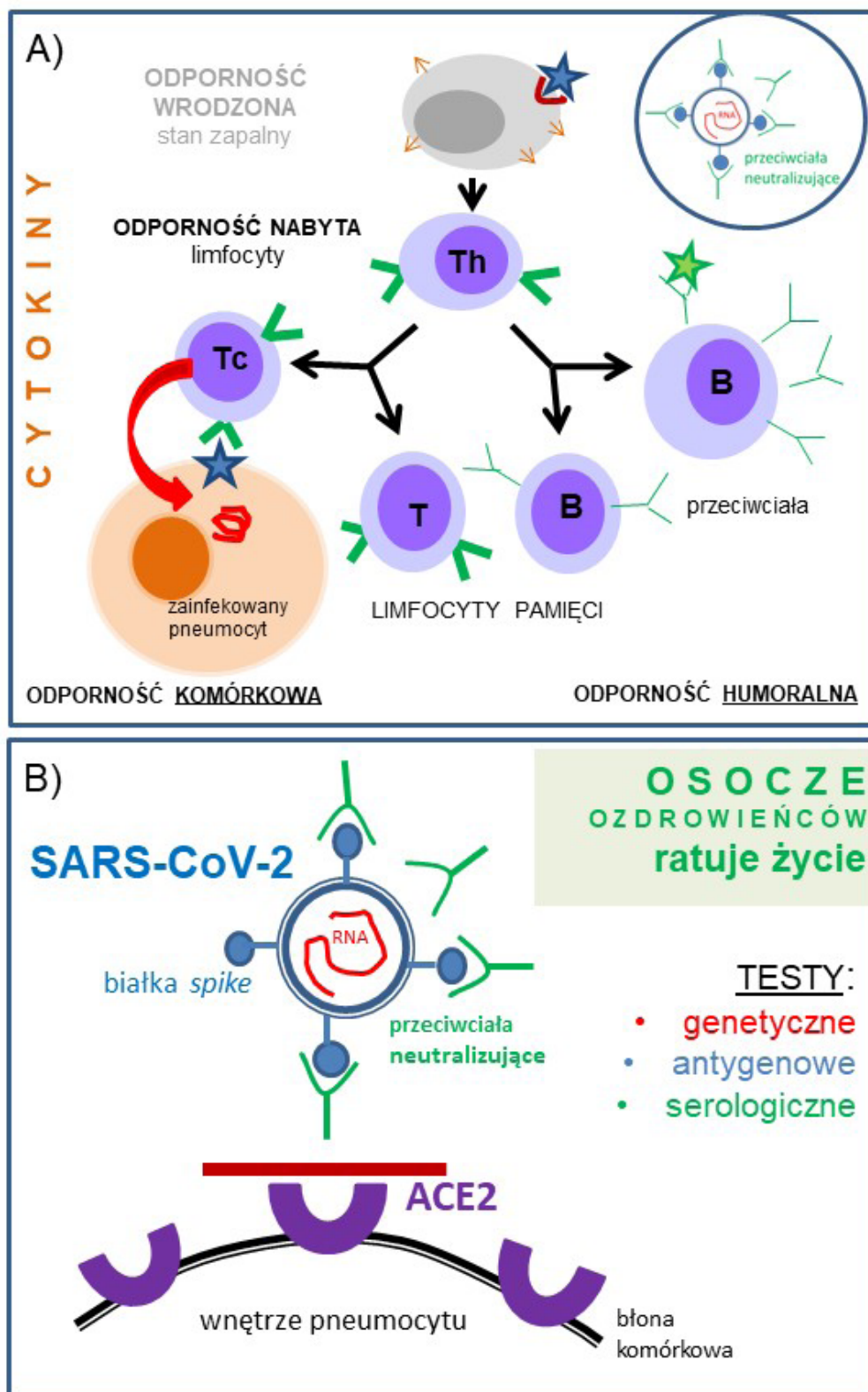
Ryc. 4. Przebieg zachorowań na COVID-19. A) procent zakażonych przechodzących chorobę bezobjawowo i lekko oraz hospitalizowanych w stanie ciężkim lub krytycznym. U części ozdrowieńców z każdej z tych grup może rozwinąć się zespół po-COVID-19. Wzrastające liczby zajętych łóżek COVID-owych (B) i respiratorów (C) podczas jesiennej (październik-listopad) fali pandemii w Polsce.

łem specyficznych dla niego limfocytów, szybko proliferujących w najbliższych węzłach chłonnych. Nadrzędną rolę pełnią wśród nich limfocyty Th, ukierunkowujące reakcje w stronę odpowiedzi komórkowej (z udziałem limfocytów T) lub humoralnej (z udziałem limfocytów B oraz uwalnianych przez nie przeciwciał). Komórki zainfekowane przez wirusa są atakowane i niszczone przez limfocyty T cytotoksyczne (Tc), a wolne wirusy są otaczane i neutralizowane przez przeciwciała. Przed kolejnym zachorowaniem na tę samą chorobę chronią limfocyty pamięci, szybko uruchamiające specyficzną dla tego patogenu odporność nabytą oraz przeciwciała. Te ostatnie, otaczając patogen, uniemożliwiają wniknięcie wirusa do wnętrza komórki. Co więcej, patogen otoczony przeciwciałami staje się bardzo łatwym celem ataku przez komórki fagocytarne, co stanowi kolejne powiązanie specyficznej odporności nabytej z wrodzoną. W całości odpowiedzi uczestniczą czynniki rozpuszczalne – cytokiny [15] (Ryc. 5A).

Zainfekowane komórki, na przykład pneumocyty

(komórki płuc) z wirusami SARS-CoV-2, są niszczone zarówno przez wirusa, jak i przez układ odpornościowy człowieka, głównie limfocyty T cytotoksyczne (co jest swego rodzaju „wylewaniem dziecka razem z kąpielą”). Szczątki zabitych komórek inicjują lokalny odczyn zapalny, a więc znowu do akcji wkracza odporność wrodzona, a całość interakcji kontrolują limfocyty regulatorowe i skomplikowana sieć cytokin. Jeśli zawiodą mechanizmy regulacyjne może dojść do groźnej dla organizmu „burzy cytokinowej” [11, 18, 20, 22]. Strategie leczenia COVID-19 zmierzają do wczesnego zahamowania replikacji wirusa (np. przez lek Remdesivir), a na dalszym etapie – na wyciszeniu reakcji immunologicznych, np. przez Dexametazon hamujący odczyn zapalny.

Koronawirus SARS-CoV-2 to materiał genetyczny w postaci pojedynczej nici RNA zamknięty w kapsułce białkowej inkrustowanej białkowymi kolcami (*spikes*) [7]. Kolce te wiążą się z receptorami ACE2 (*angiotensine-converting enzyme 2*) obecnymi na powierzchni wielu komórek (Ryc. 5B), najobficiej



Ryc. 5. Obrona układu odpornościowego człowieka przed patogenem. A) odpowiedź wrodzona i nabyta, komórkowa i humoralna; B) Uniemożliwianie wnikania SARS-CoV-2 do wnętrza komórek. Opisy w tekście.

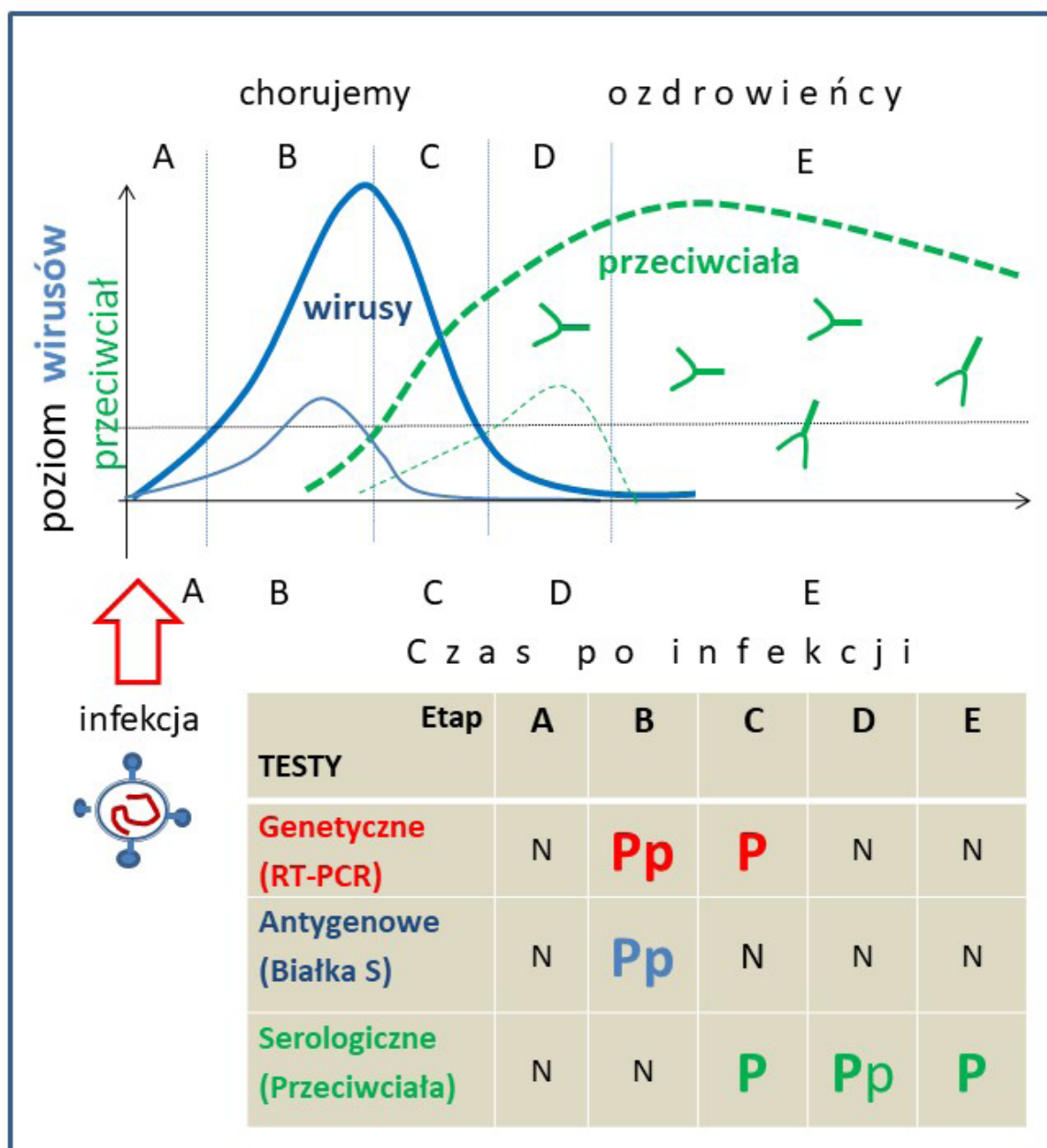
w komórkach płuc, pneumocytach, a także na komórkach naczyń krwionośnych, serca, nerek i jelit [7, 8]. Zakażeniu zapobiega zablokowanie wiązania między ACE2 i białkiem *slope*, do czego może dojść przez opłaszczenie wirusa przez specyficzne dla niego

przeciwciała wytwarzane przez organizm zainfekowany w sposób naturalny lub po szczepionce, albo też dostarczone wraz z osoczem krwi ozdrowieńców [2, 4, 23] (Ryc. 5B).

Testowanie

Obecność wirusa SARS-CoV-2 można wykryć w wymazach pobranych z nosogardzieli pacjenta przy pomocy testów genetycznych (wykrywających specyficzne fragmenty RNA wirusa) albo antygenowych (wykrywające białka *spike* wirusa), a obecność przeciwciał wykrywa się w surowicy krwi pacjenta testami serologicznymi (oznaczone odpowiednio

legającą na przepisaniu informacji z RNA na DNA i powielenie nici DNA dowolną liczbę razy, dzięki czemu można wykryć nawet śladowe ilości RNA wirusa w minimalnej próbce materiału biologicznego (technikę PCR stosuje się powszechnie w kryminalistyce i testach na ojcostwo). W trakcie testów antygenowych wykrywa się zazwyczaj kluczowe dla wirusa białka kolców *spike*, których nie da się powielić poza organizmem, należy więc pobrać więcej materiału



Ryc. 6. Zasady działania i przydatność testów na wykrywanie wirusów SARS-CoV-2 i skierowanych przeciw nim przeciwciał. Opis w tekście.

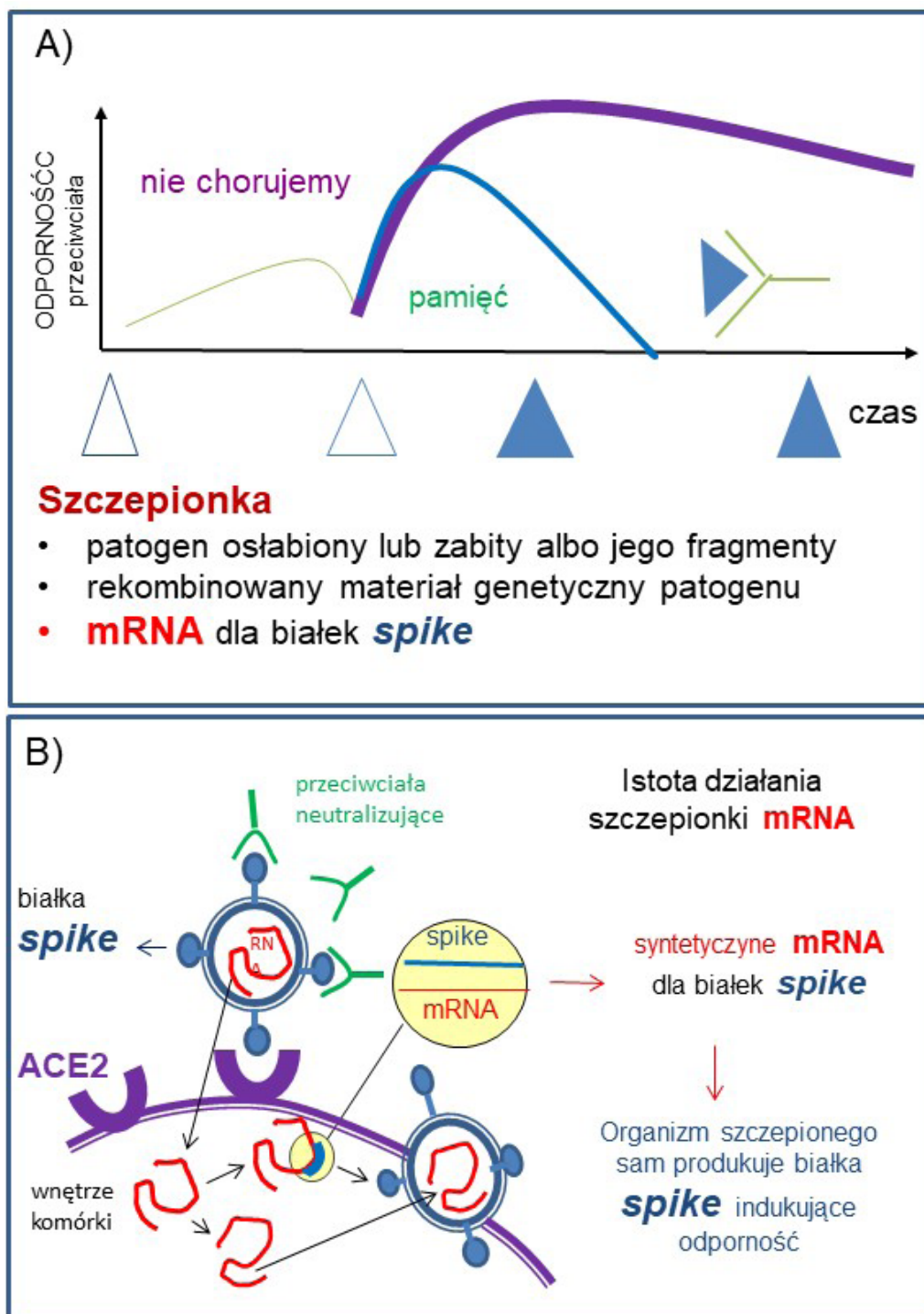
symbolami czerwonymi, niebieskimi i zielonymi na Ryc. 5B i Ryc. 6).

Najbardziej wiarygodne i zalecane przez WHO są testy genetyczne wykonane techniką RT-PCR, po-

z nosogardzieli człowieka, co nie zawsze jest możliwe, bo wirus przebywa w tym miejscu w dość krótkim przedziale czasu po zakażeniu, do którego dochodzi podczas oddychania lub mówienia. Przeciwciała po-

jawiają się w wykrywalnych ilościach dopiero kilka dni po zakażeniu i pozostają w krążeniu przez różny czas, zależnie od nasilenia reakcji.

Wynik każdego z testów uznaje się za pozytywny (P) dopiero po przekroczeniu pewnego poziomu oznaczonego linią poziomą równoległą do osi X na



Ryc. 7. Szczepionki przeciw COVID-19. A) zasady działania szczepionek ochronnych; B) istota nowatorskich szczepionek mRNA. Opisy w tekście.

Konkludując, każdy z rutynowo stosowanych obecnie testów dostarcza nieco innych informacji, a ich łączne (lub sekwencyjne) zastosowanie może dać wyobrażenie o procesach zachodzących w organizmie w odpowiedzi na patogen (Ryc. 6).

Ryc. 6. Linie pionowe umownie wskazują pięć kolejnych etapów po wchłonięciu do dróg oddechowych dużej lub małej dawki wirusa (odpowiednio oznaczone liniami grubymi i cienkimi). Na etapie A (np. w ciągu 4-5 dni od zakażenia) wszystkie testy dadzą

wyniki negatywne (N). Po wysokiej dawce wirusa (antygeny) genetyczny test RT-PCR będzie pozytywny na etapach B i C (czerwone duże 'P'), test antygenowy tylko w etapie B, a serologiczny w etapach C, D i E (duże zielone 'P'). Po małej dawce antygeny testy genetyczny i antygenowy będą pozytywne na etapie B (małe czerwone i zielone 'p'), a serologiczny tylko na etapie D (zielone małe 'p') (Ryc. 6).

Wiedza na temat interakcji wirusa SARS-CoV-2 z układem odpornościowym człowieka narasta lawinowo, a każde odkrycie stymuluje stawianie kolejnych pytań. Wiadomo, że około 40% populacji jest odporna na SARS-CoV-2 i poszukuje się przyczyn tego zjawiska. Czy przyczyną są przebyte wcześniej zachorowania na ten lub podobne koronawirusy? [9] Czy też bardzo wydajna odporność wrodzona, np. dzięki szczepionkom BCG? [1, 24]. Wiadomo już, że szczególnie podatne na COVID-19 są osoby o obniżonym poziomie interferonów stanowiących pierwszą linię obrony antywirusowej, co może mieć podłoże genetyczne albo być skutkiem autoimmunizacji [6]. Nadal nie wiadomo, jak długo trwa pamięć immunologiczna po przebytym zachorowaniu COVID-19. Coraz częściej notuje się przypadki kolejnego zakażenia ozdrowieńców, co niekiedy wiąże się z zainfekowaniem przez zmutowaną formę wirusa [3]. Badania nad ewoluowaniem zarazków i przewidywaniem przebiegu nowych chorób u człowieka wciąż trwają [14]. Najbardziej aktualne pytanie brzmi: czy i kiedy uda się wyprodukować szczepionki o długim okresie skuteczności? [25]. Te i inne aspekty interakcji SARS-CoV-2 z układem odpornościowym człowieka będą przedmiotem kolejnych opracowań.

Nadzieja na szczepionki

Szczepienie polega na podaniu do organizmu patogenu w formie nieszkodliwej (Ryc. 7A, puste trójką-

ty), co pobudza układ odpornościowy bez niszczenia tkanek i objawów choroby. Powtórna dawka szczepionki zapewnia dłuższe trwanie odporności, która chroni przed zjadliwymi formami patogenu (wypełnione trójkąty, Ryc. 7A).

Mówiąc w ogromnym uproszczeniu, szczepionką mogą być białka kolców patogenu lub ich fragmenty, albo też kodujące je geny wbudowane do różnych nośników, np. nieszkodliwych wirusów (zazwyczaj adenowirusów). Nowatorskim osiągnięciem będzie szczepionka składająca się z mRNA wirusa [19; 25–28] (Ryc. 7B).

Po wnikięciu do komórki wirus powiela własne RNA i na jego matrycy buduje własne białka, dzięki czemu formują się kapsułki i kolce wirusów potomnych zamykające nici RNA. „Wzięto pod lupę” fragment mRNA wirusa kodujący białka *spike*. Taki odcinek mRNA można syntetyzować, powielać poza organizmem na dużą skalę i – odpowiednio opakowany – podawać jako szczepionkę domięśniową. Na matrycy mRNA wirusowej komórki człowieka produkują białka *spike* stymulujące odpowiedź immunologiczną i zapewniające odporność na wirusa SARS-CoV-2 (Ryc. 7).

Kilkanaście firm pracuje obecnie nad produkcją szczepionek anty-SARS-CoV-2 [19]. Firma brytyjsko-szwedzka (AstraZeneca) kończy prace nad tradycyjną, łatwą do przechowywania oraz transportu szczepionką obejmującą materiał genetyczny SARS-CoV-2 wbudowany do nieszkodliwego adenowirusa małpiego. Dwie firmy (Pfizer-Biontech i Moderna) są na ostatnim etapie przygotowania nowatorskich szczepionek mRNA, których wadą (ze względu na labilność RNA) jest konieczność transportu i przechowywania w niskich temperaturach (Ryc. 8).

Ostatni etap przygotowania każdego typu szczepionki to przetestowanie jej na dużej liczbie ochotników żyjących w ognisku pandemii; połowa z nich

SZCZEPIONKI PRZECIWKO COVID-19			
Firmy	skuteczność	przechowywanie	Typ szczepionki
Pfizer-Biontech	95%	-70°C	mRNA
Moderna	94,5%	4-8°C – 30 dni -20°C – 6 miesięcy	mRNA
AstraZeneca	62-90%	4-8°C	Wektor adenowirus
Johnson&Johnson	W trakcie badań		

Ryc. 8. Najbliższe powszechnemu zastosowaniu szczepionki przeciw COVID-19. Opis w tekście.

otrzyma testowaną szczepionkę przeciw SARS-CoV-2, a połowa placebo, przy czym ani ochotnik ani lekarz prowadzący nie wiedzą, co zawiera zastrzyk. W ustalonym czasie po dwóch szczepionkach takim samym materiałem testuje się ochotników pod kątem zakażenia wirusem SARS-CoV-2, a dopiero później odkodowuje się, który z nich otrzymał testowaną szczepionkę, a który placebo. Wielkim sukcesem byłoby, gdyby wśród 100 zakażonych było 95

biorców placebo, a tylko pięć osób zaszczepionych przeciwko COVID-19.

Czas pokaże, czy bezpieczne i skuteczne szczepienia trzeba będzie powtarzać co rok (jak w przypadku szybko mutującego wirusa grypy), czy przeciwciała będą nas ochraniać przez czas dłuższy.

PODSUMOWANIE

- W Europie trwa druga fala pandemii COVID-19
- Fala wiosenna dotyczyła głównie krajów o nasilonym ruchu turystycznym, fali jesiennej najskuteczniej oparły się Niemcy i Słowacja
- Ofiarami pandemii są głównie seniorzy z chorobami współistniejącymi
- Chronić przed zakażeniem innych i siebie możemy przez DYSTANS, DEZYNFEKCJĘ i MASECZKI
- W 2021 będą dostępne różne rodzaje szczepionek przeciw SARS-CoV-2

Bibliografia

1. Berg M.K., Yu Q., Salvador C.E., Melani I., Kitayama S. (2020) Mandated Bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccination predicts flattened curves for the spread of COVID-19. *Science Advances* 6 (32), eabc1463; DOI: 10.1126/sciadv.abc1463
2. Casadevall A., Pirofski L.A. (2020) The convalescent sera option for containing COVID-19. *Journal of Clinical Investigations*, 130:1545-1548. doi: 10.1172/JCI138003.
3. Chen D., Xu W., Lei Z., Huang Z., Liu J., Gao Z., Peng L. (2020) Recurrence of positive SARS-CoV-2 RNA in COVID-19: A case report. *International Journal of Infectious Diseases*, 93:297-299. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.003.
4. Chen L., Xiong J., Bao L., Shi Y. (2020) Convalescent plasma as a potential therapy for COVID-19. *Lancet Infectious Diseases*, 20:398-400. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30141-9.
5. Duszyński J. et al. (2020) Zrozumieć COVID-19. Opracowane Zespołu ds. COVID-19 przy Prezesie Polskiej Akademii Nauk. PAN, 14 września 2020.
6. Hadjadj J., Yatim N., Barnabei L., et al. (2020) Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science*. 369(6504):718-724. doi: 10.1126/science.abc6027. Epub 2020 Jul 13. PMID: 32661059; PMCID: PMC7402632.
7. Kwiatek A. (2020) Properties and pathogenesis of coronaviruses. *Kosmos* 69 (2, 327): 277-298.
8. Li M-Y., Li L., Zhang Y., Wang X-S. (2020) Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infection Diseases of Poverty*, 9: 45. doi: 10.1186/s40249-020-00662-

9. Long Q., Tang X., Shi Q. et al. (2020) Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nature Medicine* 26, 1200–1204. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0965-6>
10. Mallapaty S. What the cruise-ship outbreaks reveal about COVID-19. *Nature*. 2020 Apr;580(7801):18. doi: 10.1038/d41586-020-00885-w. PMID: 32218546.
11. Merad M., Martin J. C. (2020) Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Natural Review of Immunology*, 6: 1–8. doi: 10.1038/s41577-020-0331-4
12. Mizumoto K, Chowell G. (2020) Transmission potential of the novel coronavirus (COVID-19) onboard the diamond Princess Cruises Ship, 2020. *Infect Dis Model.* 29;5:264-270. doi: 10.1016/j.idm.2020.02.003. PMID: 32190785; PMCID: PMC7068636.
13. Morawska L, Tang JW, Bahnfleth W, et al. (2020) How can airborne transmission of COVID-19 indoors be minimised? *Environ Int.* 142:105832. doi: 10.1016/j.envint.2020.105832. Epub 2020 May 27. PMID: 32521345; PMCID: PMC7250761.
14. Phan T. (2020) Genetic diversity and evolution of SARS-CoV-2. *Infections, Genetics and Evolution*, 81:104260. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104260.
15. Plytycz B. (2020) Pod panowaniem koronawirusa. *Wszechświat*, 121, (4-6):92-101.
16. Sia S.F., Yan L-M., Chin A.W.H. et al. (2020) Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamster. *Nature*, 583 (7818): 834-838. doi: 10.1038/s41586-020-2342-5
17. South A.M., Diz D.I., Chappell M.C. (2020) COVID-19, ACE2, and the cardiovascular consequences. *American Journal of Physiology, Heart and Circulation Physiol.* 318:H1084-H1090. doi:10.1152/ajp-heart.00217.2020.
18. Tay M.Z., Poh C.M., Rénia L., MacAry P.A., Ng L.F.P. (2020) The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nature Reviews Immunology*, 20: 363-374. doi:10.1038/s41577-020-0311-8.
19. Tregoning J.S., Brown E.S., Cheeseman H.M., et al. (2020) Vaccines for COVID-19. *Clin Exp Immunol.* 202(2):162-192. doi: 10.1111/cei.13517. Epub 2020 Oct 18. PMID: 32935331; PMCID: PMC7597597.
20. Ye Q, Wang B, Mao J. (2020) The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *Journal of Infection*, 80:607-613. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.037.
21. Zhang Y., Geng X., Tan Y., et al. New understanding of the damage of SARS-CoV-2 infection outside the respiratory system. *Biomedical Pharmacotherapy*, 28: 110195. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110195
22. Zhou M, Zhang X, Qu J. (2020) Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a clinical update. *Frontiers in Medicine*, 14:126-135. doi: 10.1007/s11684-020-0767-8.

Źródła internetowe

23. <https://www.termedia.pl/koronawirus/Jak-dziala-osocze-ozdrowiencow-,40512.html>
24. <https://www.termedia.pl/mz/Szczepionka-przeciwko-gruzlicy-moze-chronic-przed-SARS-CoV-2,40457.html>
25. <https://www.termedia.pl/mz/Szczepionka-przeciw-COVID-19-eksperci-zadaja-pytania,40267.html>
26. <https://www.termedia.pl/pulmonologia/Pozytywne-wyniki-probnej-szczepionki-przeciw-SARS-CoV-2,38932.html>
27. <https://www.termedia.pl/koronawirus/Szczepionka-oksfordzka-przebadana-w-grupie-osob-starszych,40511.html>
28. <https://www.termedia.pl/mz/Anna-Kowalczyk-o-szybkiej-ale-bezpiecznej-sciezce-rozwoju-szczepionki,40494.html>

Wszystkie prezentowane dane liczbowe pochodzą z ogólnie dostępnych opracowań Ministerstwa Zdrowia.

ZNACZENIE DANIO PRĘGOWANEGO W BADANIACH PROCESÓW EPILEPTOGENEZY ORAZ BADANIACH PRZESIEWOWYCH SUBSTANCJI PRZECIWDRGAWKOWYCH

The importance of zebrafish in the studies of epileptogenesis processes
and screening for anticonvulsants

Kinga Gawęł (Oslo, Lublin), Tomasz K. Prajsnar (Kraków), Marta Marszałek-Grabska,
Waldemar A. Turski (Lublin), Camila V. Esguerra (Oslo)

Streszczenie

Niniejsza praca omawia różne aspekty użycia ryby danio pręgowanego (*Danio rerio*, ang. zebrafish) w badaniach procesów epileptogenezy oraz badaniach przesiewowych substancji o działaniu przeciwdrgawkowym. W pierwszej części omówiono cechy danio, które czynią go atrakcyjnym organizmem modelowym w neurobiologii. Następnie scharakteryzowano model drgawek indukowanych pentylenetetrazolem u danio, a także jego zastosowanie w badaniach przesiewowych substancji o działaniu przeciwdrgawkowym. W drugiej części omówiono 3 modele genetyczne stosowane w badaniu procesów epileptogenezy. Na zakończenie przedstawiono perspektywy wykorzystania larw danio pręgowanego w medycynie personalizowanej, u chorych na epilepsję.

Abstract

This paper discusses several aspects of the use of zebrafish (*Danio rerio*) in epileptogenesis processes and in the screening for anticonvulsant/antiepileptic drugs. The first part briefly discusses the features of zebrafish that make it an attractive model organism in neuroscience. Next, an example of pentylenetetrazole-induced model of seizures in zebrafish is presented, as well as its application in screening for compounds with anticonvulsant activity. In the second part 3 genetic models of epilepsy are discussed, together with their role in the study of epileptogenesis processes. Finally, the prospects of using zebrafish larvae in personalized medicine in patients with epilepsy are briefly presented.

Podziękowania

Badania prowadzone przez Kingę Gawęł zostały sfinansowane przez Europejską Agencję ds. Badań Naukowych w ramach Stypendium Indywidualnego Marii Curie-Skłodowskiej. Tytuł projektu: „GEMZ-Genetic epilepsy models in zebrafish” (umowa nr: 798703 — GEMZ — H2020-MSCA-IF-2017).

Mała rybka, która „podbija” neurobiologię

Danio pręgowany (*Danio rerio*, ang. zebrafish) jest małą słodkowodną rybą z rodziny karpiowatych, występującą naturalnie w zbiornikach wodnych Indii, Nepalu i Pakistanu. Genom danio został zsekwencjonowany i obecnie wiadomo, że w 70% odpowiada

genomowi człowieka. W przypadku genów istotnych dla ośrodkowego układu nerwowego (OUN) ta wielkość wzrasta do 80%. Co istotne, w początkowych etapach rozwoju ciało larw danio jest przezroczyste, co pozwala na śledzenie dynamicznych zmian w rozwoju z użyciem mikroskopu świetlnego. Liczba potomstwa z jednej pary hodowlanej wynosi do 300 embrionów, w związku z czym badania z użyciem danio są dużo szybsze niż z użyciem gryzoni. Mózg dorosłego danio zawiera ok. 100 000 neuronów, a struktury mózgu odpowiadające strukturom mózgu człowieka zostały stosunkowo dokładnie zbadane i opisane. Ze względu na niewielkie rozmiary larw (ok. 4 mm długości u 5-dniowej larwy) możliwe jest prowadzenie efektywnych badań przesiewowych przy użyciu 96-dółkowych płytek mikrotitracyjnych.

Mimo różnic w budowie anatomicznej i odmienności wielu procesów fizjologicznych wynikających z przystosowania do bytowania w zasadniczo innym środowisku życia ryb i gryzoni, opracowano i zwalidowano podobne zachowania, które zostały uznane za wiarygodne testy behawioralne wykorzystywane w badaniach naukowych i przesiewowych. Między innymi testy oceniające lęk, pamięć czy uzależnienie u danio zostały zwalidowane i są już szeroko stosowane w wielu laboratoriach na świecie. Opisano także szereg zachowań socjalnych, które stanowią pole zainteresowania naukowców zajmujących się m.in. badaniem autyzmu, niekiedy współtowarzyszącemu padaczce [10]. Badania z użyciem larw danio, przeprowadzone na niespotykaną dotąd skalę przez badaczy z uniwersytetu Harvarda, pozwoliły także na wytypowanie genów o nieznannej funkcji biologicznej, które predysponują do wystąpienia schizofrenii [21].

Modele farmakologiczne drgawek u danio przegowanego i ich wykorzystanie w badaniach przesiewowych

W 2005 r. Scott Baraban wraz ze współpracownikami [3] po raz pierwszy opisał model drgawek chemicznych u 7-dniowych larw danio. Podanie pentylentetrazolu (PTZ), tj. związku hamującego przekazywanie dla kwasu γ -aminomasłowego (GABA), skutkowało dawkozależnym wzrostem aktywności lokomotorycznej u larw danio, które korelowało z liczbą i czasem wyładowań w obrazie EEG. Na poziomie molekularnym PTZ indukował wzrost ekspresji czynnika transkrypcyjnego *c-fos*, który jest markerem aktywności neuronalnej, a jego ekspresja wzrasta w mózgu chorych na padaczkę oraz u zwierząt, u których padaczkę indukuje się chemicznie, np. w modelu padaczki/drgawek indukowanych kwasem kainowym [16] czy pilokarpiną [4].

Scott Baraban [3] w swojej pionierskiej pracy wyróżnił 3 fazy zmian w zachowaniu larw pod wpływem PTZ. Faza I obejmuje bardzo duży wzrost aktywności lokomotorycznej larwy, która porusza się różnych kierunkach. Faza II polega na ciągłym, szybkim poruszaniu się larwy wzdłuż okrągłej ściany studzienki, co przypomina obroty wokół osi i dlatego została nazwana przez autorów „whirlpool-like”. W III fazie obserwuje się serię krótkotrwałych konwulsji prowadzących do utraty postawy, np. larwa upada na jeden bok i pozostaje w tej pozycji przez 1-3 sekund. Obecnie przyjmuje się, że opisane powyżej obserwowane u larw zmiany behawioralne odzwierciedlają drgawki toniczno-kloniczne u ludzi. Model ten jest dobrze zwalidowany i powszechnie stosowany w wielu labo-

ratoriach na świecie. Podobieństwo profilu działania przeciwdrgawkowego leków i substancji w modelu drgawek wywołanych PTZ u larw danio i u gryzoni [1, 7, 14] świadczy o wysokiej wartości translacyjnej tego modelu zwierzęcego.

Z technicznego punktu widzenia przeprowadzenie doświadczeń z użyciem PTZ do badań przesiewowych u larw nie nastręcza trudności. Obecnie istnieją specjalne aparaty rejestrujące ruch larw (m.in. Zebra-box Viewpoint czy Noldus), które umożliwiają jednoczesne śledzenie nawet 96 zwierząt w tym samym czasie. Larwy umieszcza się pojedynczo w studzienkach, dodając do wody różne stężenia PTZ. PTZ bardzo szybko przenika przez powłoki ciała larw i po 5 minutach od dodania PTZ rozpoczyna się badanie. Czas trwania całego eksperymentu jest ściśle zależny od zastosowanej dawki. Dawka 20 mM PTZ powoduje bardzo szybki wzrost aktywności lokomotorycznej larw, osiągając punkt szczytowy ok. 15. minuty trwania badania. Następnie obserwuje się szybki spadek aktywności na skutek osiągnięcia przez larwy fazy III drgawek. W przypadku, gdy zastosowane dawki są mniejsze (10 lub 15 mM), czas trwania badania należy wydłużyć nawet do dwóch godzin, gdyż czas osiągnięcia przez larwy maksymalnego wzrostu aktywności lokomotorycznej jest przesunięty do ok. 30–45 minut od dodania PTZ. W analizie wyników najczęściej stosowanym parametrem jest pomiar drogi przebytej przez larwę wyrażonej w milimetrach [12].

Wykorzystanie modelu PTZ w badaniach przesiewowych pozwoliło z sukcesem zidentyfikować różne nowe substancje o działaniu przeciwdrgawkowym izolowane z organizmów morskich [7], pochodzenia roślinnego [11, 17] oraz uzyskanych syntetycznie [14].

Chociaż pierwsza praca odnośnie wykorzystania modelu PTZ u larw danio ukazała się w 2005 r., dopiero 7 lat później po raz pierwszy wykorzystano ten model do badań przesiewowych na dużą skalę. Sarah Baxendale i wsp. [5] wykorzystali w tym celu bibliotekę leków (ok. 2000 substancji) zatwierdzonych przez Amerykańską Agencję Żywności i Leków (*Food and Drug Administration*, FDA). Badania przeprowadzili z użyciem testu aktywności lokomotorycznej oraz ocenili ekspresję czynnika transkrypcyjnego *c-fos* metodą hybrydyzacji *in-situ*. Na bazie wyników wytypowali 46 substancji z różnych grup leków o potencjalnym działaniu przeciwdrgawkowym. Wśród tych substancji znalazły się steroidy, niesterydowe leki przeciwzapalne czy leki przeciwgrzybicze.

Równie ciekawe badania z wykorzystania modelu PTZ u larw danio przeprowadził Leo Brueggeman

i wsp. [6]. Analiza próbek hipokampa pobranych od 6 pacjentów z padaczką skroniową (*mesial temporal lobe epilepsy*) wykazała zmiany w ekspresji 689 genów. Z tej grupy 148 genów było już wcześniej klasyfikowanych jako geny związane z wystąpieniem padaczki. Autorzy w swojej pracy podzielili je na 3 podgrupy, tj. odpowiadające za interakcję białko-białko, za ubykwytnację białek oraz za migrację neuronów. Na bazie tych informacji wyselekcjonowali z biblioteki leków FDA 184 substancje do dalszych testów z użyciem modelu indukowanych PTZ drgawek u larw danio. Co ciekawe, w zastosowanym przez autorów modelu skuteczne okazały się 3 leki z zupełnie różnych grup terapeutycznych: (1) pyrantel – lek przeciwpasożytniczy, (2) metformina – lek przeciwcukrzycowy oraz (3) nifedypina – stosowana w leczeniu choroby wieńcowej i nadciśnienia tętniczego. Uzyskane wyniki są interesujące ze względów medycznych, ale sugerują również przydatność larw danio w badaniach przesiewowych o wysokiej przepustowości.

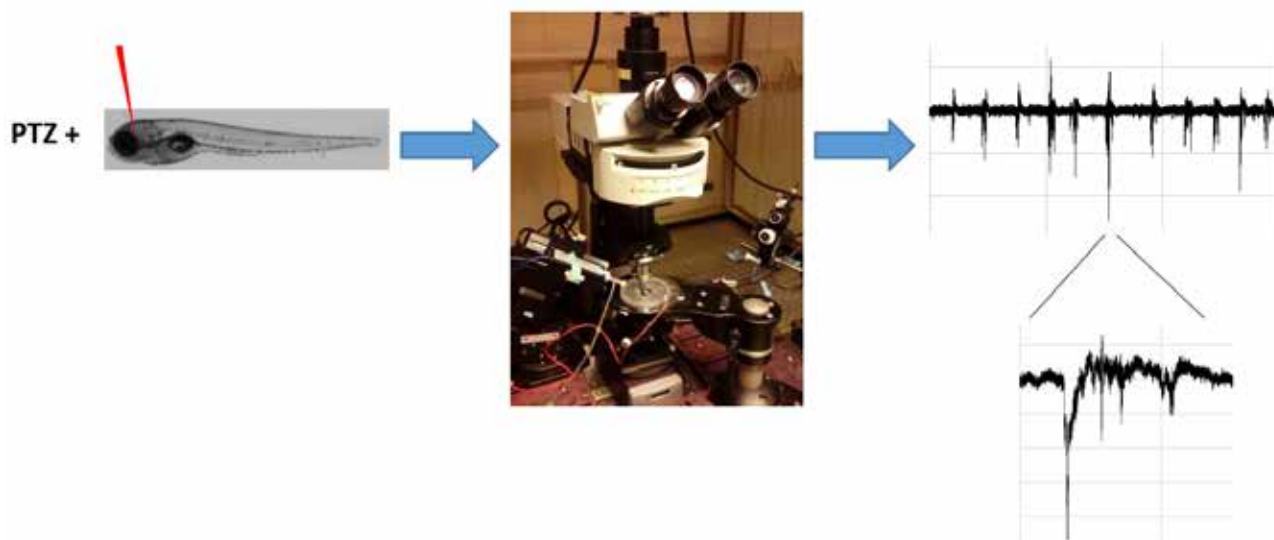
Modele genetyczne padaczki u danio przegowanego – ich wykorzystanie w badaniach procesów epileptogenezy oraz w badaniach przesiewowych

Epileptogeneza jest procesem, w którym dochodzi do utrwalonych zmian patologicznych w obrębie mózgu, których konsekwencją są okresowe, nawracające wyładowania padaczkowe. Istnieje wiele hipotez odnośnie mechanizmów epileptogenezy, ale należy

zaznaczyć, że większość tych hipotez bazuje na badaniach z użyciem zwierząt zdrowych, u których padaczkę indukowano chemicznie.

Dynamiczny rozwój badań i w jego konsekwencji dostępność metod manipulacji w genomie danio (m.in. metoda CRISPR/Cas9 czy TALEN) wraz ze spadkiem kosztów oraz walidacją tych metod przyczyniły się w bardzo krótkim czasie do powstania wielu różnych modeli padaczek wczesnodziecięcych o podłożu genetycznym. Użycie larw danio, zwłaszcza na wczesnych etapach rozwoju, kiedy larwy są przezroczyste, pozwala na ocenę zmian w mózgu przy użyciu mikroskopu konfokalnego. Istnieje obecnie kilka linii transgenicznych danio pozwalających na wizualizację w 3D m.in. neuronów GABA- lub glutaminianergicznych [12].

Najpowszechniej obecnie stosowanym modelem genetycznym padaczki jest model choroby Draveta [2, 19, 22], w którym zahamowanie ekspresji genu *scn1lab* (odpowiednik genu *SCN1A* u ludzi) kodującego kanały sodowe typu Nav1.1 skutkuje wystąpieniem w obrazie elektroencefalograficznym (EEG) wyładowań o charakterze toniczno-klonicznym (Ryc. 1). Cechą charakterystyczną tego syndromu u ludzi jest to, że pierwsze napady drgawek indukowane są u niemowląt pod wpływem wysokiej temperatury. Następnie obserwuje się zahamowanie rozwoju intelektualnego oraz nasilenie, a niekiedy zmianę charakteru napadów. Szczególną trudnością w leczeniu tego syndromu jest wysoka lekooporność i niewielka liczba dostępnych opcji terapeutycznych.



Ryc. 1. Rycina przedstawia schemat analizy EEG u danio na przykładzie drgawek wywołanych PTZ. Larwy są inkubowane przez 5 min w 20 mM roztworze PTZ, a następnie unieruchamiane w 2% żelu agarowym na szkiełku. Szklana elektroda wypełniona sztucznym płynem mózgowo-rdzeniowym zostaje umieszczona w mózgu (*optic tectum* lub przodmózgowie) – panel po lewej stronie. W środku stanowisko do zapisu aktywności elektrycznej mózgu larwy (sprzęt firmy Scientifica, UK). Czas trwania badania wynosi 20 min. Panel po prawej stronie przedstawia przykład 10-minutowego zapisu EEG u larw danio po ekspozycji na działanie PTZ, z odpowiednim powiększeniem typowego wyładowania o charakterze toniczno-klonicznym. Autor zdjęć: Kinga Gawęł.

Podobnie jak w przypadku modelu drgawek wywołanych PTZ, po raz pierwszy model choroby Draveta u danio opisał Scott Baraban i wsp. [2]. Mutacja nonsensowna, prowadząca do zahamowania ekspresji *scn1lab*, powoduje u kilkudniowych (3–7 dni) mutantów nasiloną aktywność lokomotoryczną, która w połączeniu z dużą liczbą wyładowań w obrazie EEG świadczy o występowaniu drgawek toniczno-klonicznych. Co ciekawe, we wspomnianej pracy autorzy zbadali bibliotekę FDA zawierającą 320 różnych leków i z nich wytypowali klemizol (lek przeciwhistaminowy) jako lek potencjalnie skuteczny w leczeniu pacjentów z syndromem Draveta. Jego weryfikacja pod kątem leczenia syndromu Draveta u ludzi wymaga dalszych badań.

Na uwagę zasługuje praca Jo Sourbrona i wsp. [19]. W niniejszej pracy autorzy zbadali różne leki oddziałujące na układ serotoninoergiczny w modelu choroby Draveta u danio. Z kilku przetestowanych leków tylko lizuryd, stosowany w leczeniu choroby Parkinsona, okazał się być skuteczny w tym modelu. Wydaje się, że lizuryd może być nowym kandydatem w leczeniu syndromu Draveta.

Bardzo ciekawe badania odnośnie mechanizmów epileptogenezy leżących u podłoża wystąpienia choroby Draveta zostały przeprowadzone przez naszą grupę pod przewodnictwem prof. Camili Esguerra [22]. W naszej pracy wykazaliśmy, że u larw z wyłączoną funkcją genu *scn1lab* (mutacja missensowna) dochodzi do zmiany w liczbie dendrytów w neuronach GABA-ergicznych. Już u 3-dniowej larwy obserwuje się zmniejszenie liczby dendrytów w stosunku do larw kontrolnych. U 6-dniowych homozygot ich liczba spada o 40% w stosunku do kontroli, co skutkuje znaczącą przewagą układu glutaminianergicznego nad układem GABA. Zmiany w ilości dendrytów korelują w czasie ze zwiększającą się liczbą wyładowań w obrazie EEG. Co ciekawe, fenfluramina (agonista receptorów serotoninoergicznych typu 2A i 2B), będąca obecnie w III fazie badań klinicznych w syndromie Draveta, podawana przewlekłe larwom odwraca wspomniane defekty. Chociaż nasze wyniki po raz pierwszy wskazują na możliwość modyfikowania przebiegu choroby przez fenfluraminę, wymaga to dalszej weryfikacji.

Stwardnienie guzowe (*tuberous sclerosis complex*, TSC) jest rzadką, lekooporną chorobą, u podłoża której leżą mutacje w genach *TSC1* (kodujący białko hamartynę) lub *TSC2* (kodujący białko tuberynę), skutkujące zahamowaniem funkcji tych genów. Wspomniana jednostka choroby charakteryzuje się występowaniem zmian wielonarządowych, a u ponad 90% chorych obserwuje się również zaburzenia neu-

rologiczne – różne typy napadów padaczkowych oraz stany lękowe. TSC jest klasyfikowane jako choroba lekooporna, chociaż część chorych odpowiada na leczenie wigabatryną (analog GABA).

Bardzo ciekawe badania odnośnie mechanizmów epileptogenezy w modelu TSC przeprowadziła grupa polskich badaczy pod kierunkiem prof. Jacka Jaworskiego i dr Justyny Zmorzyńskiej. W swojej pracy wykorzystali larwy danio z wyłączoną funkcją genu *tsc2* [15], którego produkt jest negatywnym modulatorem kompleksu mTOR1 (*mammalian target of rapamycin complex 1*). W tym badaniu autorzy stwierdzili, że wyłącznie genu *tsc2* u danio skutkowało heterotopią i hiperaktywacją szlaku mTOR1 w obrębie „pallium” - regionu mózgu danio, który jest homologiczny do kory ssaków. Ponadto u mutantów zaobserwowano rozrzedzenie spoidła wielkiego mózgu, które jest odpowiedzialne za rozłączenie półkul mózgu, co jest charakterystyczne dla chorych na TSC. Brak ekspresji *tsc2* opóźniał również rozwój aksonów i powodował nieprawidłowy rozwój dróg nerwowych w mózgu mutantów. U larw *tsc2^{-/-}* obserwowano napady padaczkowe o charakterze niemotorycznym oraz objawy lękowe. Wspomniane objawy były odwracane wskutek zahamowania receptora dla kinazy tyrozynowej B (TrkB). Ponadto autorzy wykazali, że w przeciwieństwie do wigabatryny (analog GABA) i rapamycyny (modulator mTOR1), hamowanie TrkB zapobiegało zmianom patologicznym w obrębie mózgu. Podsumowując, dane te ujawniły, że istnieje funkcjonalna zbieżność między ścieżkami spoidła mózgu a występowaniem lęku w modelu *tsc*, zapewniając mechanistyczny związek między anatomią mózgu a objawami choroby u ludzi. Ponadto wspomniana praca po raz pierwszy opisuje receptor TrkB jako nowy punkt uchwytu dla leków w syndromie TSC [15].

W 2013 r. po raz pierwszy opisano mutację w genie *DEPDC5* (domena DEP zawierająca białko 5) w rodzinnej padaczce ogniskowej [8, 9]. Od tego czasu mutacje w *DEPDC5* (prowadzące do przedwczesnego wystąpienia kodonu stop) zidentyfikowano w 12–37% wszystkich przypadków padaczki ogniskowych [13]. *DEPDC5* koduje białko, które jest członkiem kompleksu GATOR1 (Gap Activity Towards Rags), będące ujemnym regulatorem mTORC1. Używając technologii CRISPR/Cas9 Swaminathan i wsp. [20] zaprojektowali model padaczki u danio z utratą funkcji *depdc5*. U larw *depdc5^{-/-}* zaobserwowano zwiększoną fosforylację białka pS6, które jest markerem aktywności szlaku mTOR oraz spontaniczne wyładowania w obrazie EEG. Sekwencjonowanie mRNA mózgu larw *depdc5^{-/-}* ujawniło zmiany

w poziomie ekspresji wielu różnych genów, np. odpowiedzialnych za morfogenezę, aksonogenezę, tworzenie synaps lub przekazywanie sygnałów za pośrednictwem GABA. W odniesieniu do genów związanych z funkcją GABA barwienie immunologiczne Gad1/2 (enzymy dekarboksylazy kwasu glutaminowego 1 i 2, katalizujące reakcję przekształcania glutaminianu do GABA) ujawniło zmniejszoną liczbę projekcji Gad1/2 u larw *depdc5*^{-/-}. Ponieważ agoniści receptora GABA nie byli w stanie zapobiegać zmianom patologicznym u larw *depdc5*^{-/-}, podczas gdy wigabatryna, przynajmniej częściowo, odwracała te objawy, autorzy doszli do wniosku, że bardziej prawdopodobne jest, że efekt kompensacyjny GABA jest spowodowany przez GABA *per se*, a nie poprzez receptory GABA. To kompleksowe badanie wskazało na nowy, niezależny od mTOR, wpływ niedoboru *Depdc5* na sygnalizację GABA, której zaburzenia mogą leżeć u podstaw patogenezy padaczki ogniskowej [20].

Podsumowanie, czyli perspektywy wykorzystania danio przegowanego w medycynie personalizowanej

Omówione przez nas wyżej badania wskazują wysoki potencjał larw danio w badaniach genetycznego podłoża epilepsji. Wiele wskazuje również na to, że w niedalekiej przyszłości będzie można modele genetyczne wykorzystać również w medycynie personalizowanej, a więc indywidualizacji leczenia pod konkretnego pacjenta. Nastrzykując mutanty (homozygoty) wariantami ludzkimi sekwencjami kodującymi z określonymi mutacjami, możliwe jest określenie, który z wariantów ma charakter patologiczny i odpowiada za fenotyp choroby [8, 18]. Dzięki temu w przyszłości będzie można wykonywać badania przesiewowe biblioteki leków pod kątem ich skuteczności w mutacji, której nosicielem jest dany chory.

Bibliografia

1. Aourz N, Serruys AK, Chabwine JN, Balegamire PB, Afrikanova T, Edrada-Ebel R, et al. (2019). Identification of GSK-3 as a Potential Therapeutic Entry Point for Epilepsy. *ACS. Chem. Neurosci.* 10:1992-2003.
2. Baraban SC, Dinday MT, Hortopan GA (2013) Drug screening in *Scn1a* zebrafish mutant identifies clemizole as a potential Dravet syndrome treatment. *Nat. Commun.* 4:2410.
3. Baraban SC, Taylor MR, Castro PA, Baier H (2005). Pentylentetrazole induced changes in zebrafish behavior, neural activity and c-fos expression. *Neuroscience.* 131(3):759-768.
4. Barone P, Morelli M, Cicarelli G, Cozzolino A, DeJoanna G, Campanella G, DiChiara G (1993). Expression of c-fos protein in the experimental epilepsy induced by pilocarpine. *Synapse.* 14:1-9.
5. Baxendale S, Holdsworth CJ, Meza Santoscoy PL, Harrison MR, Fox J, Parkin CA, et al. (2012). Identification of compounds with anti-convulsant properties in a zebrafish model of epileptic seizures. *Dis. Model. Mech.* 5:773-784.
6. Brueggeman L, Sturgeon ML, Martin RM, Grossbach AJ, Nagahama Y, Zhang A, et al. (2019). Drug repositioning in epilepsy reveals novel antiseizure candidates. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 6:295-309.
7. Copmans D, Kildgaard S, Rasmussen SA, Ślęzak M, Dirkx N, Partoens M, et al. (2019). Zebrafish-Based Discovery of Antiseizure Compounds from the North Sea: Isoquinoline Alkaloids TMC-120A and TMC-120B. *Mar. Drugs.* 17, 607.
8. de Calbiac H, Dabacan A, Marsan E, Tostivint H, Devienne G, Ishida S, et al. (2018). *Depdc5* knockdown causes mTOR-dependent motor hyperactivity in zebrafish. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 5:510-523.
9. Dibbens LM, de Vries B, Donatello S, Heron SE, Hodgson BL, Chintawar S, et al. (2013). Mutations in *DEPDC5* cause familial focal epilepsy with variable foci. *Nat. Genet.* 45:546-51.
10. Gawel K, Banono NS, Michalak A, Esguerra CV (2019). A critical review of zebrafish schizophrenia models: Time for validation? *Neurosci. Biobehav. Rev.* 107:6-22.

11. Gawel K, Kukula-Koch W, Nieoczym D, Katarzyna Stepnik K, van der Ent W, Banono NS, Tarabasz D, Turski WA, Esguerra CV (2020). The Influence of Palmatine Isolated from *Berberis sibirica* Radix on Pentylenetetrazole-Induced Seizures in Zebrafish. 9:1233.
12. Gawel K, Langlois M, Martins T, van der Ent W, Tiraboschi E, Maxime Jacmin M, Crawford AD, Esguerra CV (2020). Seizing the moment: Zebrafish epilepsy models. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 116:1-20.
13. Ishida S, Picard F, Rudolf G, Noé E, Achaz G, Thomas P, et al. (2013). Mutations of DEPDC5 cause autosomal dominant focal epilepsies. *Nat. Genet.* 45:552-555.
14. Kamiński K, Socała K, Zagaja M, Andres-Mach M, Abram M, Jakubiec M, et al. (2020). N-Benzyl-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamide (AS-1) with Hybrid Structure as a Candidate for a Broad-Spectrum Antiepileptic Drug. *Neurotherapeutics.* 17:309-328.
15. Kedra M, Banasiak K, Kisielewska K, Wolinska-Nizioł L, Jaworski J, Zmorzynska J (2020) TrkB hyperactivity contributes to brain dysconnectivity, epileptogenesis, and anxiety in zebrafish model of Tuberous Sclerosis Complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 117:2170-2179.
16. Lin K-C, Chia-Chuan Wang C-C, Su-Jane Wang S-J (2013). Bupropion attenuates kainic acid-induced seizures and neuronal cell death in rat hippocampus. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 45:207-214.
17. Nieoczym D, Socała K, Gawel K, Esguerra CV, Wyska E, Wlaż P (2019). Anticonvulsant Activity of Pterostilbene in Zebrafish and Mouse Acute Seizure Tests. *Neurochem. Res.* 44:1043-1055.
18. Siekierska A, Stamberger H, Deconinck T, Oprescu SN, Partoens M, Zhang Y, et al. (2019). Biallelic VARS variants cause developmental encephalopathy with microcephaly that is recapitulated in vars knockout zebrafish. *Nat. Commun.* 10:708.
19. Sourbron J, Partoens M, Scheldeman C, Zhang Y, Lagae L, de Witte P (2019). Drug repurposing for Dravet syndrome in *scn1Lab^{-/-}* mutant zebrafish. *Epilepsia.* 60:e8-e13.
20. Swaminathan A, Hassan-Abdi R, Renault S, Siekierska A, Riché R, et al. (2018). Non-canonical mTOR-Independent Role of DEPDC5 in Regulating GABAergic Network Development. *Curr. Biol.* 28:1924-1937.
21. Thyme SB, Pieper LM, Li EH, Pandey S, Wang Y, Morris NS, et al. (2019). Phenotypic Landscape of Schizophrenia-Associated Genes Defines Candidates and Their Shared Functions. *Cell.* 177:478-491.
22. Tiraboschi E, Martina S, van der Ent W, Grzyb K, Gawel K, Cordero-Maldonado ML, et al. (2020). New insights into the early mechanisms of epileptogenesis in a zebrafish model of Dravet syndrome. *Epilepsia.* 61:549-560.

Dr Kinga Gawel – pracownik naukowy (researcher) w Centrum Medycyny Molekularnej, Uniwersytet w Oslo (Norwegia) oraz asystent w Katedrze i Zakładzie Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie. *Autor korespondencyjny: kingagawel@umlub.pl lub kingagawel@o2.pl

Dr Tomasz K. Prajsnar – adiunkt badawczy w Zakładzie Mikrobiologii Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. E-mail: tomasz.prajsnar@uj.edu.pl

Dr Marta Marszałek-Grabska – adiunkt w Katedrze i Zakładzie Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie. E-mail: marta.marszalek-grabska@umlub.pl

Prof. dr hab. Waldemar A. Turski – kierownik Katedry i Zakładu Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie. E-mail: waldemar.turski@umlub.pl

Prof. Camila V. Esguerra – lider grupy „Chemical Neuroscience” w Centrum Medycyny Molekularnej, Uniwersytet w Oslo, Norwegia. E-mail: c.v.esguerra@ncmm.uio.no

ACH TE KLESZCZE!

Oh those ticks!

Dorota Dwużnik-Szarek, Anna Bajer (Warszawa)

Streszczenie

Nikt nie lubi kleszczy. Te krwio pijne pajęczaki budzą nasz strach, zwłaszcza w okresie wiosenno-letnim, kiedy najłatwiej paść ich ofiarą. Spodziewamy się ich głównie w lasach, ale występują też w parkach miejskich i na łąkach. Dwa gatunki kleszczy powszechnie spotykane na terenie naszego kraju to kleszcz pospolity *Ixodes ricinus* i kleszcz łąkowy *Dermacentor reticulatus*. Te gatunki są najlepiej poznane i najczęściej badane przez naukowców. Jednak fauna kleszczy w Polsce obejmuje, wraz z gatunkami pojawiającymi się, aż 35 gatunków. Są wśród nich kleszcze, o których wiadomo niewiele, zwłaszcza o ich biologii czy udziale w rozprzestrzenianiu na ludzi i zwierzęta chorobotwórczych patogenów. Jednak w wyniku wzajemnego przenikania się terenów miejskich oraz wiejskich z obszarami naturalnymi, a także wraz ze zmianami klimatycznymi może dochodzić do częstszego kontaktu z mało znanymi gatunkami tych pajęczaków.

Abstract

Nobody likes ticks. We are afraid of these blood sucking arachnids, especially in the spring and summer, when we are most likely to become their prey. We expect them to occur mostly in forests, but ticks may occur in city parks or on meadows as well. The most common tick species in our country are *Ixodes ricinus* and the ornate dog tick *Dermacentor reticulatus*. These species are best known and thoroughly examined by scientists. However, 35 species of ticks may constitute tick fauna (including emerging species) in Poland. Among these, there are species poorly described in their biology or their role in spreading of pathogens on humans and animals. However, as a consequence of both mutual diffusion of urban, rural and natural areas and climate changes, more frequent encounters of little recognized tick species can be expected.

Wstęp

Na świecie występuje ok 900 gatunków kleszczy, zarówno na półkuli północnej, jak i południowej, w tym kleszcze miękkie (Argasidae) oraz kleszcze twarde (Ixodidae) [67]. Przedstawiciele Ixodidae są pasożytami, które rozprzestrzeniają mikroorganizmy patogenne dla wielu gatunków zwierząt, także człowieka [68]. Pajęczaki te mają złożone cykle życiowe. Po opiciu się krwią żywiciela samica kleszcza składa jaja, z których wylęgają się maleńkie larwy, najczęściej pasożytujące na małych ssakach, gadach czy ptakach. Znaczącą rolę w cyklu życiowym pełnią drobne gryzonie, które są także głównym rezerwuarem patogenów przenoszonych przez kleszcze. Nimfy

są jakby „miniaturkami” osobnika dorosłego, rosną gradacyjnie, liniejąc, aż osiągną postać dorosłą zdolną do rozmnażania się. Samice najczęściej żerują na większych zwierzętach. W zależności od gatunku danego kleszcza oraz warunków środowiskowych (np. temperatura, wilgotność, dostępność żywicieli) cykl życiowy może trwać od roku do kilku lat [68]. Wśród kleszczy można rozróżnić gatunki gniazdowo-norowe, których stadia rozwojowe zasiedlają nory swoich żywicieli [61] oraz gatunki egzofilne, których stadia rozwojowe żyją poza miejscem bytowania żywiciela, czekając na niego na roślinach [59].

Na terenie Polski występuje stale 19 gatunków kleszczy [40]. W naszym kraju najczęściej padamy ofiarami kleszcza pospolitego, *Ixodes ricinus*

(Ryc. 1). Natomiast nasi czworonożni towarzysze muszą uważać na kleszcza łąkowego, *Dermacentor reticulatus* (Ryc. 2).



Ryc. 1. Samica *Ixodes ricinus*, źródło: <https://www.mpcp.com/wp-content/uploads/2017/08/lyme-320x240.jpg>

Prawdopodobieństwo przenoszenia kleszczy pomiędzy zwierzętami dziko żyjącymi, hodowanymi oraz człowiekiem, a co za tym idzie, transmisji chorobotwórczych drobnoustrojów jest coraz większe [1]. Wynika to z kurczenia się naturalnych siedlisk dzikich zwierząt, stale zwiększającej się populacji ludzkiej oraz postępującej degradacji i urbanizacji środowiska. Duże znaczenie w rozprzestrzenianiu się kleszczy na nowe tereny i pojawianiu się nowych gatunków mają także szybko postępujące zmiany klimatyczne [18].

Omówiono tu rzadko spotykane gatunki kleszczy, występujące przede wszystkim w populacjach dzikich zwierząt w Polsce, ale mogące również atakować zwierzęta towarzyszące, gospodarskie oraz człowieka. Ponadto przedstawiono kilka egotycznych i niebezpiecznych gatunków kleszczy, pierwotnie zasiedlających Afrykę, które w wyniku zmian klimatycznych, zwiększonego ruchu turystycznego i wy-



Ryc. 2. Samica *Dermacentor reticulatus*, źródło: <https://www.biolib.cz/en/image/id139044/>

miany towarowej są zawlekane do Europy. Czy mogą one zadomowić się na naszym kontynencie? Ponadto poruszono niejasności dotyczące nazewnictwa tych stawonogów oraz niezwykle zjawisko, jakim są kleszcze występujące w tkankach podskórnych żywiciela [6, 15].

Dawny znajomy: *Haemaphysalis concinna*

Kleszcz *Haemaphysalis concinna* (Koch, 1844) (Ryc. 3) występuje na terenie Europy i Azji w izolowanych, ograniczonych lokalizacjach [46]. W miejscach występowania stanowi, obok *I. ricinus* i *D. reticulatus*, istotny element zespołu ektopasożytów zwierząt domowych (psów i kotów) oraz człowieka. Dorosłe kleszcze pasożytują na sarnach, jeleniach oraz na zwierzętach hodowlanych (bydło, kozy i owce). Larwy i nimfy żerują na drobnych gryzoniach, ptakach i gadach. Człowiek może być atakowany zarówno przez nimfy, jak i postaci dorosłe tego gatunku kleszcza [46].

Haemaphysalis concinna notowany był w wielu europejskich krajach. Jego obecność stwierdzono między innymi na Węgrzech, gdzie zaobserwowano jego najwyższą aktywność od maja do lipca, z najwyższym szczytem aktywności w czerwcu i brakiem aktywności między październikiem a marcem [55]. Kleszcza wykryto również na granicy pomiędzy Czechami a Słowacją, gdzie z roślinności zebrano 150 osobników [48]. W Austrii *H. concinna* należy do kleszczy często znajdowanych na psach [11]. Kleszcz ten jest również spotykany na terenie Niemiec [24].

Do 2018 roku na terenie Polski znaleziono jedynie jedną samicę *H. concinna* na krowie w województwie zachodniopomorskim, w okolicach Troszyna, w 1953 roku [33]. Dopiero w 2018 roku odkryto niespodziewanie nowe stanowiska tego kleszcza w Polsce zachodniej. Zespół z Wrocławia odkrył kilka stanowisk tego gatunku na Dolnym Śląsku [31]. W maju 2018 r. dwie opite samice *H. concinna* zostały znalezione na koniu ze stajni znajdującej się w województwie dolnośląskim [65]. Kolejne

Haemaphysalis concinna



Ryc. 3. Stadia rozwojowe *Haemaphysalis concinna*, autor: Dorota Dwużnik-Szarek.

pojawienie się *H. concinna* (6 osobników dorosłych i 1 nimfa) zanotowano 28 maja 2018 r. na terenie Ośrodka Szkolenia Poligonowego Wojsk Lądowych „Dęba” [66]. Podczas badań terenowych prowadzonych również w 2018 roku odkryto nowe miejsce występowania *H. concinna* w okolicach Wolsztyna, w województwie wielkopolskim. Łącznie zebrano tam aż 447 osobników *H. concinna* [13].

Nie ma wielu danych dotyczących patogenów przenoszonych przez *H. concinna*. Jest to spowodowane trudnościami w zbiorze tych kleszczy, nielicznymi stanowiskami i niskim zagęszczeniem populacji. Wiadomo, że kleszcz ten jest wektorem bakterii z rodzaju *Rickettsia*, czynników etiologicznych TIBOLA/DEBONEL (z ang. *tick-borne lymphadenopathy / Dermacentor Spp. -borne necrosis- erythema- lymphadenopathy*) [45]. Do głównych objawów chorób z grupy TIBOLA/DEBONEL należą: gorączka, martwica w miejscu ukłucia kleszcza, powiększone węzły chłonne, bóle głowy i mięśni, zmęczenie, poty, utrata apetytu, wysypka [45]. *Haemaphysalis concinna* jest też znany jako wektor pierwotniaków z rodzaju *Babesia*, w tym *Babesia canis* [46], czynnika etiologicznego babeszjozy psów. Babeszjoza przejawia się bledzią błon śluzowych i spojówek oczu. Występuje osłabienie, brak łaknienia, wysoka gorączka, nawet do 40,5°C. Innym charakterystycznym objawem jest mocz barwy ciemnego piwa (hemoglobinuria) [54]. Brak szybko postawionej poprawnej diagnozy i podania właściwych leków często prowadzi do śmierci zwierzęcia.

Z kolei na terenie Węgier u nimf *H. concinna* stwierdzono zakażenie krętkami *Borrelia afzelii*, *B. garinii* i *B. miyamotoi* [46]. U osobników *H. concinna* zebranych z gryzoni w okolicach Wolsztyna w województwie wielkopolskim również wykryto DNA *B. afzelii* [14]. Bakterie te, wraz z *B. burgdorferi sensu stricto* i *B. garinii*, są odpowiedzialne za rozwój boreliozy. Obraz kliniczny choroby może wiązać się z zajęciem skóry (rumień wędrujący – erythema migrans), stawów, układu nerwowego i serca [47]. U *H. concinna* zebranych w okolicach Wolsztyna wykryto również DNA bakterii *Rickettsia* [14].

W przytulnej norze, czyli kleszcze gniazdowo-norowe: *Ixodes canisuga* i *Ixodes hexagonus* (Ryc. 4 a, b)

Te dwa gatunki kleszczy są mało poznane. Występują rzadko, pasożytują głównie na zwierzętach dziko żyjących. Są zaliczane do gatunków gniazdowo-norowych, to znaczy, że nie można ich pozyskać za pomocą standardowych technik zbioru z roślinności, np. flagowania [36]. Do grona ich żywicieli zaliczamy ssaki drapieżne, takie jak lis rudy. W trakcie trzyletnich badań ektopasożytów występujących u lisów odławianych w różnych części Polski, kleszcze te stwierdzono u mniej niż 4% badanych zwierząt [15]. Kleszcze te były notowane w Serbii, Rumunii, Transylwanii, Hiszpanii, Słowacji czy Niemczech. [5, 10, 35, 50, 57, 60]. *Ixodes canisuga* i *I. hexagonus* występują również u lisów zamieszkujących aglomeracje miejskie, takie jak Warszawa czy Londyn [15, 25].

Kleszcze gniazdowo-norowe

A. Samice *Ixodes hexagonus*



B. Opita samica *Ixodes canisuga*



Ryc. 4. A. Głodne samice *Ixodes hexagonus*; B. Najedzona samica *Ixodes canisuga*, autor: Dorota Dwużnik-Szarek.

Obecność innych żywicieli *I. hexagonus* i *I. canisuga* w środowisku miejskim, takich jak jeź europejski (*Erinaceus europaeus*) [20], zwierzęta domowe [53] lub bezpańskie psy i koty, może pomóc w zamknięciu cyklu życiowego tych pasożytów w miastach. W Polsce te dwa gatunki kleszczy występują dość rzadko. W południowej części kraju ekstensywność zarażenia psów *I. hexagonus* wynosiła 10.6% [32]. W województwie mazowieckim w miejscowości Tłuszcz znaleziono 3 samice *I. hexagonus* na psie [37]. Nie ma wielu prac dotyczących roli tych gatunków w przenoszeniu patogenów chorobotwórczych dla ludzi i zwierząt. Do najnowszych odkryć należy powiązanie zarażenia lisów pierwotniakiem *Babesia vulpes* z infestacją kleszczami *I. hexagonus* [5]. W Niemczech u kleszczy *I. hexagonus* zebranych z lisów wykryto *Hepatozoon canis*, pierwotniaka wywołującego hepatozoonozę psów [38]. Zarażenie tym pasożytem przebiega zazwyczaj łagodnie, jednak może przejawiać się gorączką, anemią, błądnością błon śluzowych i bólami mięśni [69].

falistym (*Spermophilus undulatus*) schwytanym niedaleko granicy chińsko-kazachskiej [64]. Obecność *I. kaiseri* zaobserwowano w Niemczech i kilku innych europejskich krajach [28]. Niewiele wiadomo o patogenach przenoszonych przez ten gatunek. Szacuje się jednak, że ryzyko transmisji patogenów przez kleszcze z rodzaju *Ixodes*, do których należy *I. kaiseri*, wynosi 80% [63].

Egzotyczny przybysz: kleszcze z rodzaju *Hyalomma* (Ryc. 6)

Rodzaj *Hyalomma* obejmuje gatunki zamieszkujące południową Europę, Azję i Afrykę [18]. W przeciwieństwie do *Ixodes*, kleszcze z rodzaju *Hyalomma* nie stosują strategii zasadzki (czekanie na żywiciela na roślinności, jak kleszcz pospolity *I. ricinus* czy kleszcz łąkowy *D. reticulatus*), ale aktywnie go poszukują [17]. Po wykryciu obecności żywiciela potrafią bardzo szybko biec w jego stronę, są kilkukrotnie szybsze niż rodzime gatunki klesz-



Ryc. 5. Samica *Ixodes kaiseri*. Fot. Dorota Dwużnik-Szarek.

***Ixodes kaiseri* – rzadki gatunek**

Ixodes kaiseri jest kleszczem bardzo rzadko znajdowanym (Ryc. 5). W Polsce jedną samicę tego gatunku zidentyfikowano na młodym lisie w województwie wielkopolskim [15]. Kilka osobników zebrano również z jenotów [35, 62]. Larwy i nimfy stwierdzono ostatnio na lisie z Turcji [42] oraz na susłogonie

czy. Są to kleszcze preferujące gorący i suchy klimat, o dwużywielskim cyklu życiowym. Dorosłe pasożyty na zwierzętach dziko żyjących, gospodarskich i domowych. Mogą atakować ludzi [43]. Żywicielem larw i nimf są przede wszystkim drobne gryzonie oraz ptaki, które mogą przenosić kleszcze na bardzo duże odległości. W latach 2008–2012 z terenu Europy centralnej podczas migracji wiosennej na obecność

kleszczy przebadano łącznie 1172 ptaków wędrownych zimujących w Afryce, z których zebrano 30 kleszczy *H. marginatum* [3]. *Hyalomma marginatum* zebrano również z ptaków migrujących z Afryki przez Hiszpanię do Wielkiej Brytanii [16]. Podczas wiosennych migracji ptaków w Norwegii z 713 ptaków

zanotowano dwa pojawienia się kleszczy *Hyalomma* [70]. W Szwecji, w latach 2018-2019 z różnych żywicieli zebrano 11 dorosłych osobników *H. marginatum* i 9 *H. ruficeps* [21]. Gatunki z tego rodzaju obserwowane są coraz częściej na terenie Niemiec. W 2018 r. zebrano aż 35 kleszczy z rodzaju *Hyalomma*, głównie



Ryc. 6. Samica *Hyalomma marginatum*, źródło: https://fi.wikipedia.org/wiki/Hyalomma_marginatum#/media/Tiedosto:Hyalomma_marginatum.jpg

pozyskano 7 nimf *H. rufipes* [26]. To właśnie ptaki migrujące uważa się za główną przyczynę pojawiania się *Hyalomma* sp. w krajach środkowo- i północnoeuropejskich [6]. Ale we wrześniu 2011 r. na południu Węgier, podczas szeroko zakrojonych badań mających na celu poszukiwanie ciepłolubnych gatunków kleszczy, znaleziono na krowach dwa samce *Hyalomma* [27]. W październiku 2018 r. w Austrii, w rejonie Melk, z 10-letniej kłaczki usunięto jednego samca *H. marginatum* [12]. Z kolei w Holandii, w 2019 roku,

H. marginatum i *H. rufipes*. Gatunki te były obserwowane już w poprzednich latach, jednak rok 2018 był wyjątkowy ze względu na najwyższą średnią temperaturę wiosną od 1881 roku [71] oraz długą letnią suszę. Oba te czynniki prawdopodobnie przyczyniły się do lepszego przeżycia i rozwoju młodocianych kleszczy przywleczonych wiosną przez migrujące ptaki, gdyż wszystkie kleszcze zebrane latem były w stadium dorosłym. Na ptakach migrujących obserwuje się wiosną głównie larwy i nimfy, które praw-

dopodobnie giną w Europie w zbyt niskich dla nich temperaturach. Pojawienie się dorosłych *Hyalomma* oznacza, że larwy i nimfy znalazły odpowiednie warunki oraz żywicieli, aby ukończyć cykl życiowy. Połączenie wysokich temperatur i niewielkich opadów deszczu, a także dostępność kompetentnych żywicieli mogą spowodować, że obecność kleszczy z rodzaju *Hyalomma* będzie coraz częściej notowana [6].

Co ciekawe, kleszcze te zostały już opisane w Polsce. W czerwcu 1935 roku w Bytomiu na Dolnym Śląsku znaleziono jednego osobnika, a w czerwcu 1943 r. aż 3 osobniki *H. marginatum*. Są one częścią zbiorów kolekcji Muzeum Górnośląskiego w Bytomiu [8]. Siuda i Dutkiewicz znaleźli *H. marginatum* na pliszcze żółtej (*Motacilla flava*) w Popielnie (województwo warmińsko-mazurskie) [52]. Z kolei Nowak i Solarz znaleźli tego egzotycznego kleszcza na rokitnicze (*Acrocephalus schoenobaenus*) w Umianowicach (województwo świętokrzyskie) [39].

Kleszcze te są głównym wektorem wirusa krymsko-kongijskiej gorączki krwotocznej (CCHFV), niebezpiecznej dla ludzi choroby odkleszczowej. Choroba ma zazwyczaj ciężki przebieg, śmiertelność może wynosić od 15 do nawet 40%. Objawy występują dość szybko, bo już od 4 do 12 dni po ataku przez zakażonego kleszcza. Wirus może przenosić się także drogą kropelkową lub przez bezpośredni kontakt z materiałem zakaźnym, którym mogą być chore lub padłe zwierzęta hodowlane, a także ich mięso czy nawet płyny ustrojowe. Do zakażenia może dojść podczas rozniesienia kleszcza na skórze. Chorobę charakteryzuje gwałtowny przebieg, objawy grypopodobne pojawiają się jako pierwsze. Kolejnymi oznakami tego rodzaju zakażenia są światłowstręt i ból oczu, nudności i wymioty. Następnie dochodzą problemy ze świadomością oraz agresja, pojawiają się symptomy depresji i senność. W obrazie klinicznym obserwuje się także tachykardię (częstoskurcz serca), krwawe wybroczyny na ciele oraz krwawienia [72].

Kleszcz niejedno ma imię: *Ixodes canisuga* czy *I. crenulatus*?

Wśród akarologów pojawiają się dyskusje dotyczące nazewnictwa kleszczy. Tak jest w np. przypadku gatunków *I. crenulatus* i *I. canisuga*, które przez jednych taksonomów są uważane za odrębne gatunki, a dla innych – jako jeden zmienny gatunek. *Ixodes crenulatus* został po raz pierwszy opisany przez Kocha w 1844 roku na terenie Niemiec (Koch, 1844), zaś *I. canisuga* przez Johnsona w 1849 roku na terenie Wielkiej Brytanii (Johnson 1949). Oba opisy opierają

się na podstawowych cechach morfologicznych i są dość krótkie. Johnson znalazł *I. canisuga* na swoim psie i stwierdził, że ze względu na kolor oraz rozmiar jest on bardzo podobny do *I. hexagonus* (Johnson, 1949). Opis *I. crenulatus* podany przez Kocha zajmuje niewiele ponad 20 linijek tekstu (Koch, 1844). Porównując oba te opisy można jednak zauważyć, że są one do siebie podobne. Profesor Filippova w artykule przeglądowym dotyczącym m.in. *I. crenulatus* wskazuje, że w wielu krajach europejskich *I. crenulatus* jest mylony z innymi gatunkami z rodzaju *Pholeioxodes*. Niestety autorka nie przytacza konkretnych prac, w których doszło do błędnego oznaczenia [19]. Inni akarolodzy uważają, że *I. canisuga* jest synonimem *I. crenulatus* i zgodnie z Kodeksem Nomenklatury Zoologicznej (zasada priorytetu) ważną nazwą powinna być *I. crenulatus*, gdyż przez Kocha została nadana wcześniej (1844) niż przez Johnsona (1849). Obie nazwy zostały ujęte jako synonimiczne w opracowaniu „Ticks and Tick-borne Diseases: Geographical Distribution and Control” pod redakcją Mowafaka Salmana (2012) [49]. Również w kluczu do oznaczania kleszczy występujących na terenie Europy, sporządzonym przez University of Bristol, ujęto jedynie *I. canisuga* wraz ze zdjęciami, zarówno samca, jak i samicy, natomiast nie ma na liście gatunków *I. crenulatus* [73]. Są też sugestie, że *I. crenulatus* i *I. canisuga* są odrębnymi gatunkami. W książce „The Hard Ticks of the World: (Acari: Ixodida: Ixodidae)” podano obie nazwy oznaczające odrębność gatunkową. Jednakże jej autorzy zastrzegli, że są trudności w ich rozróżnieniu [22]. W kluczu do oznaczania kleszczy wydanym pod redakcją Estrada-Peña, Mihalca i Petney’a [17] widnieje obszerny opis *I. canisuga*, zawierający rysunki wskazujące na najważniejsze cechy morfologiczne wszystkich stadiów rozwojowych, zasięg występowania czy patogeny przez niego przenoszone. W tej samej książce opis gatunku *I. crenulatus* jest zdecydowanie uboższy w porównaniu z opisem *I. canisuga*. Dodatkowo w opisie cyklu życiowego i żywicieli *I. crenulatus* autorzy sygnalizują problemy z rzetelnym opisem gatunku, spowodowane być może błędnymi oznaczeniami wykonanymi przez poprzednich taksonomów. W artykule opisującym gatunki kleszczy występujących na terenie Niemiec wymieniane są *I. canisuga* i *I. crenulatus*, ale autorzy również sygnalizują problemy związane z nazewnictwem i jednoznacznym określeniem gatunku [44]. Z kolei przy opisywaniu innego gatunku kleszcza z rodzaju *Ixodes*, znalezionej w Chinach, stworzono klucz do oznaczania tych pajęczaków przy użyciu cech morfologicznych pozwalających odróżnić od siebie *I. crenulatus* i *I. canisuga* [23]. W najnowszej

pracy dotyczącej systematyki i filogenetyki rodzaju *Pholeioxodes* Hornok i wsp. [28] w opraciu o cechy morfologiczne i genetyczne wskazują, że *I. canisuga* i *I. crenulatus* są odmiennymi gatunkami. Obecnie w bazie GenBank NCBI (The National Center for Biotechnology Information) istnieją 142 zdeponowane sekwencje różnych genów *I. canisuga*. Do tej pory nie ma jednak żadnej sekwencji opisanej jako „*Ixodes crenulatus*” (dane z dn. 22.09.2020).

Problem nazewnictwa i rozróżniania gatunków *I. crenulatus* i *I. canisuga* dotyczy również badań prowadzonych w Polsce. W kluczu do oznaczania kleszczy Polski opisywany jest *I. crenulatus* [51]. Tą nazwą posługują się inni naukowcy [30, 40]. Doktor habilitowana Wodecka użyła jednak nazwy *I. canisuga* dla kleszczy znalezionych na borsukach [62]. Ostatnio na podstawie badań morfologicznych i genetycznych kleszczy zebranych z lisów z różnych regionów Polski zidentyfikowano *I. canisuga* [15]. W obszernym artykule dotyczącym problemu nazewnictwa kleszczy z rodzaju *Pholeioxodes* autor, pomimo wnikliwej analizy problemu, nie jest w stanie jednoznacznie określić, czy mamy do czynienia z jednym czy dwoma gatunkami [29].

Po niewłaściwej stronie: kleszcze w tkankach podskórnych

Coraz częściej notowane są przypadki nietypowego występowania kleszczy w tkankach podskórnych u różnych żywicieli, głównie u lisów (Ryc. 7). Są tam

znajdowane kleszcze martwe, nieopite, częściowo zresorbowane i ściśle otoczone tkankami żywiciela [7, 15, 34]. Jedno z pierwszych takich doniesień pochodzi z początku XX wieku z Wielkiej Brytanii (Walia) [41]. Odsetek drapieżników, u których znaleziono kleszcze w tkankach podskórnych, wyniósł 15,4% u 92 zwierząt przebadanych w Czechach i Rumunii [9], a w Polsce 38% u 366 zbadanych lisów; łącznie zebrano z nich 842 kleszcze [15]. Kleszcze podskórne wykryto też u jenotów z województwa wielkopolskiego, jednak były to tylko pojedyncze przypadki [34]. „Podskórne kleszcze” zauważono również u psa [7].

Do tej pory istnieje niewiele danych na temat kleszczy w tkankach podskórnych u ludzi. Jednym bardzo znanym jest przypadek opisany w Korei. W 2005 roku czteroletniemu chłopcu wycięto zmianę skórną w skórze głowy. Po wykonaniu rutynowego badania histologicznego i obejrzeniu preparatów pod mikroskopem okazało się, że w cyście znajdują się resztki kleszcza [4]. Za główną przyczynę wchodzenia kleszczy głęboko pod skórę, gdzie giną, podaje się silną reakcję immunologiczną na ukłucie pajęczaka [58]. W wyniku tego procesu kleszcz zostaje zaatakowany przez komórki układu odpornościowego żywiciela, następuje gwałtowne pojawienie się procesu zapalnego i ściśle przyleganie komórek odpowiedzi immunologicznej do ciała kleszcza [9]. Nie bez znaczenia jest też fakt, że najczęściej znajdowanymi kleszczami w tkankach podskórnych są kleszcze posiadające długi aparat gębowy (hypostom)



Ryc. 7. Kleszcze znalezione w tkankach podskórnych u lisa. Fot. Dorota Dwużnik-Szarek.

[9, 15]. Wśród tych kleszczy dominuje *I. ricinus*, gatunek kleszcza charakteryzujący się długim hypostomem, którym potrafi penetrować głębokie warstwy skóry żywiciela. Długi hypostom oraz szybka reakcja układu odpornościowego żywiciela mogą spowodować, że kleszcz nie ma możliwości uwolnienia się z tkanek żywiciela, co powoduje śmierć pajęczaka i jego zresorbowanie. Udowodniono, że kleszcze od dłuższych hypostomach wyrządzają dużo większe szkody w tkankach żywiciela, przez co reakcja układu odpornościowego jest znacznie bardziej intensywna niż w przypadku kleszczy o krótkim hypostomie [2]. Gatunkiem kleszcza, który najczęściej występował w tkankach podskórnych u lisów badanych w Polsce był również *I. ricinus*, zidentyfikowano tylko 5 kleszczy *D. reticulatus* [15]. Może to wynikać z róż-

nic w odpowiedzi immunologicznej żywiciela na dwa gatunki kleszczy. W badaniach eksperymentalnych wykazano, że odpowiedź immunologiczna u owiec wzrasta dopiero po siódmej infestacji *D. reticulatus*. Ponadto czas żerowania samic *D. reticulatus* jest krótszy w porównaniu do innych gatunków kleszczy [56]. Krótszy czas żerowania oraz krótki hypostom sprawiają, że ten kleszcz rzadziej bywa „uwięziony” w tkankach żywiciela [15]. Lisy, które w ciągu swojego życia są wielokrotnie narażone na infestacje przez kleszcze, prawdopodobnie rozwijają silną odpowiedź immunologiczną na ukłucie kleszcza. Tego typu mechanizm obronny doprowadza w konsekwencji do śmierci kleszczy i eliminacji samic z populacji, a także uniemożliwia ich dalszy rozród – a to stanowi korzyść dla populacji żywiciela.

Bibliografia

1. Baneth G. (2014) Tick-borne infections of animals and humans: A common ground. *International Journal for Parasitology*, 44: 591–596.
2. Buczek A., Kuśmierz A., Olszewski K., Buczek L., Czerny K., Łańcut M. (2002) Comparison of rabbit skin changes after feeding of *Ixodes ricinus* (L) and *Dermacentor reticulatus* (Fabr) In: Bernini F, Nannelli R, Nuzzaci G, de Lillo E (Eds) *Acarid phylogeny and evolution, adaptation in mites and ticks* Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 419–24.
3. Capek M., Literak I., Kocianova E., Sychra O., Najer T., Trnka A., Kverek P. (2014) Ticks of the *Hyalomma marginatum* complex transported by migratory birds into Central Europe. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 5(5): 489–93.
4. Chang S. H., Park J. H., Kwak J. E., Joo M., Kim H., Chi J. G., Hong S. T., Chai J. Y. (2006) A case of histologically diagnosed tick infestation on the scalp of a Korean child Korean. *Journal of Parasitology*, 44: 157–161.
5. Checa R., López-Beceiro A. M., Montoya A., Barrera J. P., Ortega N., Gálvez R., Marino V., González J., Olmeda A. S., Fidalgo L. U., Miró G. (2018) *Babesia microti*-like piroplasm (syn. *Babesia vulpes*) infection in red foxes (*Vulpes vulpes*) in NW Spain (Galicia) and its relationship with *Ixodes hexagonus*. *Veterinary Parasitology*, 252: 22–28.
6. Chitimia-Dobler L., Schaper S., Rieß R., Bitterwolf K., Frangoulidis D., Bestehorn M., Springer A., Oehme R., Drehmann M., Lindau A., Mackenstedt U., Strube C., Dobler G. (2019) Imported *Hyalomma* ticks in Germany in 2018. *Parasites & Vectors*, 12: 1–9.
7. Christensson D., & Zakrisson G. (2010) Ticks, *Ixodes ricinus* in the sub-cutaneous tissues of a dog and foxes. *Svensk Veterinärtidning*, 62: 25–27.
8. Cuber P. (2016) Ticks (Ixodida) from the collection of the Natural History Department, Museum of Upper Silesia in Bytom, Poland - a contribution to knowledge on tick fauna and the first record of *Hyalomma marginatum* presence in Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 23: 379–81.
9. D'Amico G., Juránková J., Tăbăran F. A., Frgelecová L., Forejtek P., Matei I. A., Ionică A. M., Hodžić A., Modrý D., Mihalca A. D. (2017) Occurrence of ticks in the subcutaneous tissue of red foxes, *Vulpes vulpes* in Czech Republic and Romania. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 8: 309–312.
10. Dumitrache M. O., D'Amico G., Matei I. A., Ionică A., Gherman C. M., Barabási S. S., Ionescu D. T., Oltean M., Balea A., Ilea I. C., Sándor A. D., Mihalca A. D. (2014) Ixodid ticks in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Romania. *Parasites & Vectors*, 7 (Suppl 1): P1.
11. Duscher G. G., Feiler A., Leschnik M., Joachim A. (2013) Seasonal and spatial distribution of ixodid tick species feeding on naturally infested dogs from Eastern Austria and the influence of acaricides/ repellents on these parameters. *Parasites & Vectors*, 6: 1–8.

12. Duscher G. G., Hodžić A., Hufnagl P., Wille-Piazzai W., Schötta A. M., Markowicz M. A., Estrada-Peña A., Stanek G., & Allerberger F. (2018) Adult *Hyalomma marginatum* tick positive for *Rickettsia aeschlimannii* in Austria, October 2018. Euro surveillance: bulletin Europeensur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin, 23: 1-3.
 13. Dwużnik D., Mierzejewska E. J., Alsarraf M., Bajer A. (2019) A new focus of the tick *Haemaphysalis concinna* in Western Poland. Experimental and Applied Acarology, 78: 93-112.
 14. Dwużnik D., Mierzejewska E. J., Alsarraf M., Bajer A. (2019) Occurrence and vector role of *Haemaphysalis concinna* in Western Poland. Annals of Parasitology 2019, 65, Supplement 178.
 15. Dwużnik D., Mierzejewska E.J., Kowalec M., Alsarraf M., Stańczak Ł., Opalińska P., Krokowska-Paluszak M., Górecki G., Bajer, A. (2020) Ectoparasites of red foxes (*Vulpes vulpes*) with a particular focus on ticks in subcutaneous tissues. Parasitology, 147: 1359-1368.
 16. England M. E., Philips P., Medlock J. M., Atkinson P. M., Atkinson B., Hewson R., Gale P. (2016) *Hyalomma* ticks on northward migrating birds in southern Spain: Implications for the risk of entry of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus to Great Britain. Journal of Vector Ecology, 41: 128-34.
 17. Estrada-Peña A., Mihalca, A. D., Petney T. N. (2017) Ticks of Europe and North Africa. A Guide to Species Identification. Springer, Cham. ISBN 978-3-319-63760-0, 137-145.
 18. Estrada-Peña A., Sánchez N., Estrada-Sánchez. (2012) An assessment of the distribution and spread of the tick *Hyalomma marginatum* in the western Palearctic under different climate scenarios. Vector-Borne and Zoonotic Diseases 12: 758-68.
 19. Filippova N. A. (2017). History of the species range of ixodid ticks, vectors of pathogens with natural nidality (Acari, Ixodidae), as a prerequisite of their intraspecific biodiversity. Entomological Review, 97: 255–275.
 20. Gern L., Rouvinez E., Toutoungi L.N., Godfroid E. (1997) Transmission cycles of *Borrelia burgdorferi* sensu lato involving *Ixodes ricinus* and/or *I. hexagonus* ticks and the European hedgehog, *Erinaceus europaeus*, in suburban and urban areas in Switzerland. Folia Parasitologica (Praha), 44, 309–314.
 21. Grandi G., Chitimia-Dobler L., Choklikitumnuey P., Strube C., Springer A., Albiñá A., Jaenson T. G. T., Omazic A. (2020) First records of adult *Hyalomma marginatum* and *H. rufipes* ticks (Acari: Ixodidae) in Sweden. Ticks and Tick-borne Disease, In Press, Corrected Proof.
 22. Guglielmone A. A., Robbins R. G., Apanaskevich D. A., Petney T.N., Estrada-Peña A., Horak I. G. (2014) The Hard Ticks of the World (Acari: Ixodida: Ixodidae). ISBN 978-94-007-7497-1. Springer.
 23. Guo T., Sun Y., Xu G., Durden L. A. (2017) *Ixodes kangdingensis* (Acari: Ixodidae), a new species from the Siberian weasel, *Mustela sibirica* (Carnivora: Mustelidae) in China. Parasitology Open, 3: 1-7.
 24. Hagedorn P. (2013) Untersuchung von Zecken als Marker für die Gefährdung durch von ihnen Übertragene Krankheiten. Dissertation
 25. Harris S., Thompson G. B. (1978) Populations of the ticks *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus* and *Ixodes (Pholeoixodes) canisuga* infesting suburban foxes, *Vulpes vulpes*. Journal of Zoology, London, 186: 83–93.
 26. Hasle G., Bjune G., Edvardsen E., Jakobsen C., Linnehol B., Røer J. E., Mehl R., Røed K. H., Pedersen J., Leinaas H. P. (2009) Transport of ticks by migratory passerine birds to Norway. Journal of Parasitology, 95(6): 1342-1351.
 27. Hornok S., Horváth G. (2012) First report of adult *Hyalomma marginatum rufipes* (vector of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus) on cattle under a continental climate in Hungary. Parasites & Vectors 5: 1-4.
 28. Hornok S., Sándor A. D., Beck R., Farkas R., Beati L., Kontschán J., Takács N., Földvári G., Silaghi C., Meyer-Kayser E., Hodžić A., Tomanović S., Abdullah S., Wall R., Estrada-Peña A., Duscher, G. G., Plantard O. (2017) Contributions to the phylogeny of *Ixodes (Pholeoixodes) canisuga*, *I. (Ph.) kaiseri*, *I. (Ph.) hexagonus* and a simple pictorial key for the identification of their females. Parasites & Vectors, 10: 1-12.
 29. Karbowski G. (2019) Kleszcze *Ixodes crenulatus* Koch, 1844 i *Ixodes canisuga* Johnson, 1849 – jeden czy dwa gatunki? 21 Międzynarodowe Sympozjum Stawonogi Pasożytnicze, Alergenne i Jadowite Znaczenie Medyczne i Sanitarne. Janowiec, 4-6 czerwca, 2019.
 30. Karbowski G., Stanko M., Miterpaková M., Hurníková Z., Víchová B (2020) Ticks (Acari: Ixodidae) ticks parasitizing red foxes (*Vulpes vulpes*) in Slovakia and new data about subgenus *pholeoixodes* occurrence. Acta Parasitologica 65: 636-643.
-

31. Kiewra D., Czulowska A., Dyczko D., Zieliński R., Plewa-Tutaj K. (2018) First record of *Haemaphysalis concinna* (Acari: Ixodidae) in Lower Silesia, SW Poland. *Experimental and Applied Acarology*, 77: 449–454.
32. Kilar P. (2011) Ticks attacking domestic dogs in the area of the Rymanów district, Subcarpathian province, Poland. *Wiadomości Parazytologiczne*, 57: 189–191.
33. Lachmajer J., Skierska B., Wegner Z. (1956) Kleszcze rodzaju *Haemaphysalis* Koch (Ixodidae) znalezione na terenie Polski. *Biuletyn Państwowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdańsku*, 7: 189–195.
34. Matysiak A., Wasielewski O., Włodarek J., Ondrejková A., Tryjanowski P. (2018) First report of ticks in the subcutaneous tissue of the raccoon dog *Nyctereutes procyonoides*. *Veterinarni Medicina*, 63: 571–574.
35. Meyer-Kayser E., Hoffmann L., Silaghi C., Pfister K., Mahling M., Passos L. M. (2012) Dynamics of tick infestations in foxes in Thuringia, Germany. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 3: 232–239.
36. Mierzejewska E.J., Estrada-Peña A., Alasarrat M., Kowalec M., Bajer A. (2016) Mapping of *Dermacentor reticulatus* expansion in Poland in 2012–2014. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 7: 94–106.
37. Mierzejewska E. J., Welc-Faleciak R., Karbowski G., Kowalec M., Behnke J. M., Bajer A. (2015) Dominance of *Dermacentor reticulatus* over *Ixodes ricinus* (Ixodidae) on livestock, companion animals and wild ruminants in eastern and central Poland. *Experimental and Applied Acarology*, 66: 83–101.
38. Najm N. A., Meyer-Kayser E., Hoffmann L., Pfister K., Silaghi C. (2014) *Hepatozoon canis* in German red foxes (*Vulpes vulpes*) and their ticks: molecular characterization and the phylogenetic relationship to other *Hepatozoon* spp. *Parasitology Research*, 113: 2679–85.
39. Nowak, M., Solarz, W. (2010) A new case of transfer to Poland of the tick *Hyalomma (Euhyalomma) marginatum* Koch, 1844 (Acari: Amblyomidae) on migratory birds. *Abstracts of XXII Congress of Polish Parasitological Society*, Puławy: 107.
40. Nowak-Chmura M., Siuda K. (2012) Ticks of Poland. Review of contemporary issues and latest research. *Annals of Parasitology*, 58: 125–155.
41. Nuttall G. H. F. (1914) Penetration of *Ixodes* beneath the Skin. *Parasitology*, 7: 258–259.
42. Orkun Ö., Karaer Z. (2018) First record of the tick *Ixodes (Pholeoixodes) kaiseri* in Turkey. *Experimental and Applied Acarology*, 74, 201–205.
43. Palomar A. M., Portillo A., Mazuelas D., Roncero L., Arizaga J., Crespo A., Gutiérrez Ó., Márquez F. J., Cuadrado J. F., Eiros J. M., Oteo J.A. (2016) Molecular analysis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus and *Rickettsia* in *Hyalomma marginatum* ticks removed from patients (Spain) and birds (Spain and Morocco), 2009–2015. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 7: 983–987.
44. Petney T. N., Pfäffle M. P., Skuballa J. D. (2012) An annotated checklist of the ticks (Acari: Ixodida) of Germany. *Systematic and Applied Acarology*, 17: 115–170.
45. Rieg S., Schmoldt S., Theilacker C., de With K., Wölfel S., Kern W. V., Dobler G. (2011) Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA) acquired in Southwestern Germany. *BMC Infection Diseases*, 11: 1–4.
46. Rubel F., Brugger K., Walter M., Vogelgesang J. R., Didyk Y. M., Fu S., Kahl O. (2018) Geographical distribution, climate adaptation and vector competence of the Eurasian hard tick *Haemaphysalis concinna*. *Ticks and Tick-borne Diseases* 9:1080–1089.
47. Rudenko N., Golovchenko M., Grubhoffer L., Oliver J. H. Jr. (2011) Updates on *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex with respect to public health. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 2: 123–8.
48. Rybarova M., Honsova M., Papousek I., Siroky P. (2017) Variability of species of *Babesia Starcovici*, 1893 in three sympatric ticks (*Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus* and *Haemaphysalis concinna*) at the edge of Pannonia in the Czech Republic and Slovakia. *Folia Parasitologica (Praha)*, 23: 1–6.
49. Salman M., Tarrés-Call J., Estrada-Peña A., Farkas R., Jaenson T. G. T., Koenen F., Madder M., Pascucci I., Salman M., de Sousa R., & Walker, A. R. (2012) Ticks and tick-borne diseases: Geographical distribution and control strategies in the Euro-Asia region. CABI Publishing.
50. Sándor A. D., D’Amico G., Gherman C. M., Dumitrache M. O., Domşa C., Mihalca D. A. (2017) Mesocarnivores and macroparasites: altitude and land use predict the ticks occurring on red foxes (*Vulpes vulpes*). *Parasites & Vectors*, 10: 1–9.
51. Siuda K., Dutkiewicz J. (1979) *Hyalomma marginatum* Koch, 1844 (Acarina: Ixodidae) in Poland – an example for transport of exogenous tick by migratory birds. *Wiadomości Parazytologiczne* 25: 333–338.
52. Siuda K. (1993) Kleszcze Polski. Warszawa: Polskie Towarzystwo Parazytologiczne.

53. Smith D. D., Frenkel J. K., Smith E. I. (1986) Intradermal infestation of a red fox (*Vulpes vulpes*) by the lone star tick (*Amblyomma americanum*). *Journal of Wildlife Diseases*, 22: 122–124.
54. Solano-Gallego L., Sainz A., Roura X., Estrada-Peña A., Miró G. (2016) A review of canine babesiosis: the European perspective. *Parasites & Vectors*, 9: 1–18.
55. Széll Z., Sréter-Lancz Z., Márialigeti K., Sréter T. (2006) Temporal distribution of *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus* and *Haemaphysalis concinna* in Hungary. *Veterinary Parasitology*, 141: 377–379.
56. Tharme A. P. (1993) Ecological studies on the tick *Dermacentor reticulatus*. *University of Wales, UK*.
57. Tomanović S., Radulović Ž., Čakić S., Mihaljica D., Sukara R., Penezić A., Burazerović J., Čirović D. (2013) Tick species (Acari: Ixodidae) of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Serbia. 2nd International Symposium on Hunting, »Modern aspects of sustainable management of game populations« Novi Sad, Serbia, 17 – 20. October, 2013.
58. Tugwell P., Lancaster J. L. (1962) Results of a tick-host study in northwest Arkansas. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 35: 202–211.
59. Uspensky I. (2002) Preliminary observations on specific adaptations of exophilic ixodid ticks to forests or open country habitats. *Experimental and Applied Acarology*, 28: 147–154.
60. Víchová B., Bona M., Miterpáková M., Kraljik J., Čabanová V., Nemčíková G., Hurníková Z., Oravec M. (2018) Fleas and ticks of red foxes as vectors of canine bacterial and parasitic pathogens, in Slovakia, Central Europe. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 18: 611–619.
61. Walker M. D. (2018) The hedgehog tick, *Ixodes hexagonus* (Leach, 1815) (Acari: Ixodidae); The natural history and ecology of a nest ectoparasite. *Systematic & Applied Acarology*, 23: 680–714.
62. Wodecka B., Michalik J., Lane R. S., Nowak-Chmura M., Wierzbicka A. (2016) Differential associations of *Borrelia* species with European badgers (*Meles meles*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in western Poland. *Tick and Tick-Borne Diseases*, 7: 1010–1016.
63. Yang L. H., Han B. A. (2018) Data-driven predictions and novel hypotheses about zoonotic tick vectors from the genus *Ixodes*. *BMC Ecology*, 18: 1–6.
64. Zhao S., Yang M., Jiang M., Yan B., Zhao S., Yuan W., Wang B., Hornok S., Wang Y. (2019) *Rickettsia raoultii* and *Rickettsia sibirica* in ticks from the long-tailed ground squirrel near the China–Kazakhstan border. *Experimental and Applied Acarology*, 77: 425–433.
65. Zieliński R., Kiewra D., Dyczko D. (2019) First record of *Haemaphysalis concinna* (Koch, 1844) ticks infesting horses in Poland. *Annals of Parasitology* 2019, 65, Supplement, 146
66. Zięba P., Nowakiewicz A., Michalski A., Wlizio-Skowronek B., Gawel J., Niemcewicz M., Gnat S., Łagowski D. (2019) A new locality of the *Haemaphysalis concinna* tick (Koch, 1844) in Poland and its role as a potential vector of infectious diseases. *Annals of Parasitology*, 65: 281–286.

Strony internetowe:

67. <https://en.wikipedia.org/wiki/Tick>
68. <https://www.cdc.gov/dpdx/ticks/index.html>
69. <http://www.cvbd.org/en/tick-borne-diseases/hepatozoonosis/clinical-signs/>
70. <http://outbreaknewstoday.com/netherlands-second-sighting-of-an-adult-hyalomma-marginatum-tick-this-year-43163/>
71. https://www.dwd.de/DE/Home/home_node.html
72. <https://medycynatropikalna.pl/choroba/krymsko-kongijska-goraczka-krwotoczna>
73. <http://www.bristoluniversitytickid.uk/>

Mgr Dorota Dwuznik-Szarek, Zakład Eko-Epidemiologii Chorób Pasożytniczych Instytut Biologii Rozwoju i Nauk Biomedycznych Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski. E-mail: dorota.dwuznik@biol.uw.edu.pl

Prof. dr hab. Anna Bajer, Zakład Eko-Epidemiologii Chorób Pasożytniczych Instytut Biologii Rozwoju i Nauk Biomedycznych Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski. E-mail: anabena@biol.uw.edu.pl

GLOBALNE ZMIANY KLIMATU A ROZMNAŻANIE SIĘ DRZEW

Global climate change and tree reproduction

Tomasz A. Pawłowski (Kórnik)

Streszczenie

Globalne zmiany klimatu stanowią zagrożenie dla przetrwania prowadzących osiadły tryb życia roślin, szczególnie wieloletnich, jakimi są drzewa. Zagrożenie występuje zarówno na poziomie gatunków oraz populacji, jak i pojedynczych osobników i dotyczy ono m.in. tak ważnego etapu w życiu rośliny jakim jest rozmnażanie generatywne. W toku ewolucji rośliny wykształciły różne mechanizmy umożliwiające przetrwanie niekorzystnych warunków środowiska, odpowiedzialne za prawidłowy rozwój i kiełkowanie nasion oraz wzrost siewki. Czynnikiem decydującym o prawidłowym przebiegu procesu rozmnażania jest plastyczność wynikająca z relacji genetyki i środowiska. Przystosowania mają podłoże genetyczne, jednak to środowisko jest czynnikiem decydującym, czy mechanizm adaptacyjny spełni swe zadanie i roślina wykształci zdrowe nasiona i siewki, czy przekroczone zostaną ramy tolerancji skutkując zaburzeniami w procesie rozmnażania. Pojawienie się prac badających zależności pomiędzy rozmnażaniem się drzew a ociepleniem klimatu przyczynia się do zrozumienia mechanizmów adaptacyjnych drzew.

Abstract

Global climate change is a threat to the survival of a settled organisms as are the plants, especially perennial trees. The threat occurs at the level of species, population and individuals and it concerns such an important stage in the life of the plant as generative reproduction. In the course of evolution, plants have developed various mechanisms enabling the survival in unfavourable environmental conditions, responsible for the proper seed development, germination and seedling establishment. The decisive factor in the correct course of the reproductive process is plasticity resulting from the relationship between genetics and the environment. Adaptations have a genetic basis but the environment determines whether the adaptation mechanism will fulfil its task and the plant will produce healthy seeds and seedlings or whether the tolerance limits will be exceeded, resulting in disturbances in the reproductive process. The emergence of studies investigating the relationship between tree reproduction and global warming contributes to understanding tree adaptation mechanisms.

Rozmnażanie się drzew z nasion zależne jest od wielu czynników związanych z właściwościami genetycznymi rośliny oraz środowiskiem. Nasiona pochodzące z roślin rosnących w miejscach różnych pod względem położenia, np. szerokości geograficznej czy wysokości nad poziomem morza, różnią się właściwościami fizjologicznymi, takimi jak głębokość spoczynku, żywotność, zdolność kiełkowania itd. Dłuższy czas bytowania w określonej strefie klimatycznej czy niszy ekologicznej powoduje adaptację

do jej warunków, co może rodzić trudności w sytuacji zmian środowiska, szczególnie o tak gwałtownym przebiegu, jakie są obserwowane obecnie. Mimo pewnej plastyczności populacji, ocieplenie klimatu i towarzysząca mu susza mogą spowodować zaburzenia w generatywnym rozmnażaniu się drzew. Opracowane do tej pory modele wpływu zmian klimatu na zasięgi występowania drzew w Polsce wskazują na zagrożenia, jakie mogą się pojawić dla ważnych gatunków lasotwórczych, takich jak świerk pospolity

czy sosna zwyczajna [4]. Negatywny wpływ dotyczy między innymi fazy generatywnej rozwoju drzew i objawia się zaburzeniami w powstawaniu prawidłowych gamet, zapyleń, rozwoju, spoczynku oraz kiełkowaniu nasion.

Rozwój nasion

Na formowanie się nasion, obfitość owocowania i kiełkowanie nasion mają wpływ warunki środowiskowe panujące podczas rozwoju nasion na roślinie rodzicielskiej. Zarówno temperatura, jak i opady atmosferyczne panujące podczas tych faz reprodukcyjnych kształtują jakość nasion. Plastyczność fenotypowa nasion jest czynnikiem decydującym o występowaniu danego gatunku, co z kolei może determinować jego trwałość w przyszłych warunkach klimatycznych w danej niszy ekologicznej. Zmiany temperatury podczas rozwoju nasion mogą znacząco wpłynąć na stan spoczynku nasion, kiełkowanie i jakość siewek. Zastosowanie w badaniach Dewan i wsp. [3] wyższej (o 10°C) temperatury oddziałującej na roślinę rodzicielską zmniejszyło sukces kiełkowania nasion topoli czarnej (*Populus nigra* L.), co pokazało, że warunki środowiska doświadczane przez roślinę rodzicielską wpływają na kiełkowanie nasion, a reakcje fenologiczne (wzrost i rozwój pąków) obserwowane u rocznych siewek sugerują istnienie pamięci o temperaturze panującej podczas dojrzwania nasion. Roczne siewki pochodzące z nasion pobranych z drzew rosnących w chłodnym środowisku były wyższe oraz wykazywały wcześniejsze pękanie i późniejsze zawiązywanie pąków niż siewki pochodzące z ciepłego środowiska.

Wpływ klimatu na roślinę rodzicielską ma znaczenie dla występowania lat obfitego owocowania drzew. Stwierdzono, że ocieplenie klimatu na przestrzeni ostatnich czterech dziesięcioleci spowodowało zwiększenie produkcji nasion buka zwyczajnego (*Fagus sylvatica* L.), przy jednoczesnym zmniejszeniu zmienności produkcji nasion między latami [2]. W badaniach prowadzonych w Instytucie Dendrologii PAN [10] stwierdzono zależność pomiędzy wielkością owocowania buka zwyczajnego, temperaturą powietrza i suszą panującą w roku poprzednim. W 2019 roku zaobserwowano bardzo obfite owocowanie buka zwyczajnego na północy Polski, natomiast bardzo małe na południu Polski. Jedną z możliwych przyczyn tego zjawiska mógł być wpływ warunków klimatycznych, tzn. niższej temperatury i wyższej sumy opadów notowanych na północy Polski w 2018 i 2019 roku w porównaniu z jej częścią południową. Z pewnością nie pozostało to bez

znaczenia dla wykształcenia części generatywnych drzew i tworzenia się nasion. Dane te są zbieżne z obserwacją mówiącą o tym, że ekstremalne letnie upały i susza prowadzą do zamierania zawiązków owoców u buka [8]. Obserwowano także, że wpływ na owocowanie drzew mają różnice temperatur między dwoma poprzedzającymi latami [6]. Wydaje się przy tym, że niewielki wzrost temperatur może być korzystny dla owocowania drzew. Chociaż buk wykazuje duże możliwości adaptacyjne oraz zdolność zmiany zasięgu, to prognozowane zmiany klimatu mogą zaburzyć prawidłowy rozwój i kiełkowanie nasion, a wówczas jego występowanie może być zagrożone. Wydaje się, że lepiej przystosowany do zachodzących zmian klimatycznych jest dąb szypułkowy (*Quercus robur* L.), który, jeśli chodzi o kiełkowanie nasion, wykazuje się dużą plastycznością w różnych warunkach środowiska [10].

Wpływ zmieniającego się klimatu, a dokładniej wpływ wzrostu częstotliwości występowania ekstremalnych susz, zaobserwowano w przypadku rozmnażania się sosny pinii (*Pinus pinea* L.) [7]. Stwierdzono znaczącą zależność między opadami deszczu i temperaturą w kluczowych okresach 4-letniego cyklu rozwojowego szyszek. Ograniczony dostęp wody wpłynął negatywnie na przetrwanie szyszek w pierwszych dwóch latach ich rozwoju oraz średni ciężar szyszki w ostatnim, trzecim roku dojrzwania, co spowodowało zmniejszenie liczby i jakości wyprodukowanych nasion. Zaobserwowany w ciągu ostatnich 40 lat trend spadku liczby prawidłowo wykształconych szyszek i nasion jest konsekwencją ocieplania się oraz coraz bardziej suchego klimatu.

Ilość prac opisujących reakcje drzew na zachodzące zmiany klimatu z roku na rok powiększa się, ale potrzebne są dalsze i szersze badania w celu lepszego zrozumienia mechanizmów tłumaczących wpływ środowiska na roślinę rodzicielską i w konsekwencji na nasiona i siewki.

Kiełkowanie nasion

Badanie zróżnicowania populacji w odniesieniu do kiełkowania nasion w odpowiedzi na gradienty środowiskowe i geograficzne jest ważnym narzędziem pozwalającym zrozumieć, w jaki sposób rośliny dostosowują się do warunków środowiskowych oraz przewidzieć sposób kształtowania się dynamiki populacji w różnych scenariuszach zmian klimatu. Z badań wynika, że pochodzenie nasion i wpływ temperatury są głównymi czynnikami warunkującymi zmienność kiełkowania. Doświadczenia przeprowadzone na nasionach różnych gatunków drzew pokazały,

że bardziej wrażliwe na temperaturę panującą w trakcie kiełkowania są nasiona drzew pochodzących z wyższych szerokości geograficznych i prawdopodobnie skorzystałyby na wzroście temperatury, co skutkowałoby poprawą zdolności oraz krótszym czasem kiełkowania. Badania różnych gatunków sosen przeprowadzone w Hiszpanii przez Escudero i wsp. [5] pokazały, że nasiona różnią się parametrami kiełkowania pomiędzy populacjami rosnącymi w różnych warunkach klimatycznych. Górskie sosny (*Pinus nigra* i *P. sylvestris* L.) kiełkowały szybko w szerokim zakresie temperatur i światła, co sugeruje, że są najbardziej odporne i plastyczne. Różnice międzypopulacyjne były w tym przypadku nieistotne. Natomiast nasiona gatunków nizinnych (*P. halepensis* Mill., *P. pinaster* Aiton, *P. pinea* i *P. canariensis* C. Smith) dobrze kiełkowały jedynie w niskich temperaturach. Istniały przy tym międzypopulacyjne różnice w kiełkowaniu nasion. Badania te pokazały, że zmienność międzypopulacyjna była głównym źródłem zmienności w kiełkowaniu nasion. Różnice pomiędzy populacjami były wynikiem oddziaływania środowiska na roślinę rodzicielską oraz genotypu rodzicielskiego. Wynikająca z tego plastyczność jest ważną cechą umożliwiającą przetrwanie gatunku rosnącego w nieprzewidywalnych warunkach środowiska.

Badania przeprowadzone przez Ulbrichovą i wsp. [11] na nasionach świerka pospolitego (*Picea abies* H. Karst) pochodzących z lat 1973–2015 wykazały obniżenie się masy, żywotności oraz zdolności kiełkowania nasion związane z ocieplającym się klimatem. Wykazano także ujemną korelację pomiędzy energią kiełkowania a średnimi temperaturami panującymi w okresie od marca do sierpnia w roku dojrzewania nasion. Zmiany klimatyczne są przyczyną pogarszania się jakości nasion, co w konsekwencji może obniżyć jakość wyrastających z nich drzew i razem z innymi czynnikami, np. gradacją kornika drukarza, stać się powodem obumierania lasów.

Zmiany zasięgów

Hipoteza ograniczania rozmnażania się roślin do granicy zasięgu postuluje, że procesy reprodukcyjne, takie jak produkcja nasion i ich rozsiewanie, zachodzą wyłącznie w obrębie środowiska wyznaczonego przez dotychczasowe granice [9]. Pojawienie się nowych osobników poza istniejącymi granicami jest w tym kontekście ograniczone. Zgodnie z tą hipotezą uważa się też, że nasiona z populacji centralnych będą miały wyższą zdolność kiełkowania, ponieważ warunki środowiskowe w centrum są bardziej ko-

rzystne i stabilne niż na granicy zasięgu geograficznego gatunku [1]. Jednak to zjawisko nie zawsze ma miejsce. Czasami zdolność kiełkowania nasion jest niższa w populacjach centralnych niż w populacjach krańcowych [12]. Wyższa zdolność kiełkowania nasion drzew populacji krańcowych może być skuteczną strategią przetrwania gatunków i ekspansji populacji na granicy rozmieszczenia geograficznego gatunku. Jednocześnie taka strategia zabezpiecza przed niekorzystnymi warunkami środowiska panującymi na granicy zasięgu, w tym zmianami związanymi z ociepleniem klimatu. Opierając się na prognozowanych zmianach zasięgu niektórych gatunków drzew w Polsce wskutek zmian klimatycznych wydaje się, że taka strategia może być jednak niewystarczająca, aby gatunki utrzymały się w dotychczasowych granicach zasięgu. Z drugiej strony granicę zasięgów mogą też poszerzyć się w związku z pojawieniem się korzystnych warunków dla rozmnażania się drzew w obszarach przygranicznych, co jest np. obserwowane w przypadku buka zwyczajnego, zasiedlającego coraz wyższe partie gór.

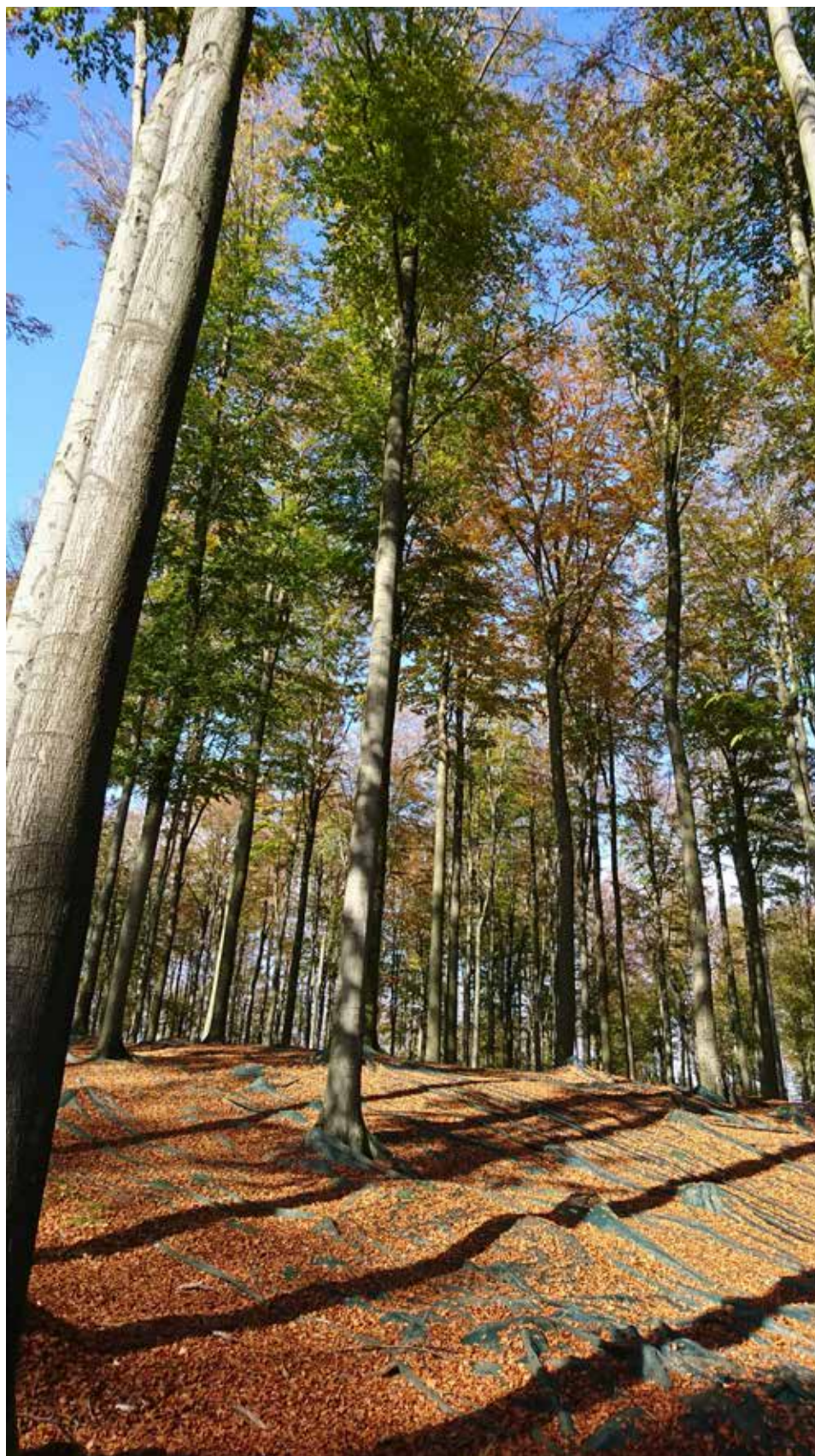
Co dalej?

Zmiany klimatu mogą okazać się korzystne dla niektórych gatunków drzew, umożliwiając opanowanie nowych nisz ekologicznych, mogą też być sprzyjające dla tych, które do tej pory miały niedogodne warunki do wytwarzania i kiełkowania nasion w naszym klimacie. Ocieplenie klimatu może zwiększyć zdolność kiełkowania i przeżywalność nasion gatunków drzew charakteryzujących się plastycznością. Wydaje się jednak, że wraz z pogłębianiem się niekorzystnych zmian klimatycznych, w wyniku przekroczeniu barier tolerancji dla danego gatunku, wykształcone mechanizmy adaptacyjne związane z rozmnażaniem się roślin drzewiastych mogą przestać działać, prowadząc w konsekwencji do zanikania gatunków.

Z punktu widzenia gospodarki leśnej należy podkreślić znaczenie wyboru takich źródeł nasion, które zapewnią przyszłym pokoleniom dobre dostosowanie do dynamicznie zmieniającego się klimatu. Ważny jest wybór nasion (np. do produkcji szkółkarskiej) z bardziej plastycznych populacji. Jest to szczególnie ważne w tych regionach, gdzie zmienione warunki środowiskowe powodują problemy z przetrwaniem drzew, związane między innymi z przekraczaniem warunków dogodnych dla ich rozmnażania. Konieczne wydaje się w tym celu kontynuowanie oraz przeprowadzenie nowych eksperymentów w warunkach naturalnych nad wpływem klimatu na rozwój i kieł-

kowanie nasion, co umożliwi określenie zależności pomiędzy rozmnażaniem się drzew z nasion a ocie-

plenieniem klimatu i ułatwi wybór odpowiednich, bardziej plastycznych populacji oraz gatunków.



Ryc. 1. Zbiór nasion buka zwyczajnego (*Fagus sylvatica* L.) na rozłożonych pod drzewami siatkach. Fot. T. A. Pawłowski, 2019, Łagów.

Bibliografia

1. Abeli T., Gentili R., Mondoni A., Orsenigo S., Rossi G. (2014). Effects of marginality on plant population performance. *Journal of Biogeography* 41:239–249.
2. Bogdziewicz M., Kelly D., Thomas P.A., Lagueard J.G.A., Hacket-Pain A. (2020). Climate warming disrupts mast seeding and its fitness benefits in European beech. *Nature Plants*, 6: 88–94.
3. Dewan S., Vander Mijnsbrugge K., De Frenne P., Steenackers M., Michiels B., Verheyen K. (2018). Maternal temperature during seed maturation affects seed germination and timing of bud set in seedlings of European black poplar. *Forest Ecology and Management*, 410: 126–135.
4. Dyderski M. K., Paż S., Frelich L. E., Jagodziński A. M. (2018). How much does climate change threaten European forest tree species distributions? *Global Change Biology*, 24: 1150–1163.
5. Escudero A., Perez-Garcia F., Luzuriaga A. L. (2002). Effects of light, temperature and population variability on the germination of seven Spanish pines. *Seed Science Research*, 12: 261–271.
6. Kelly D., Geldenhuis A., James A., Holland E.P., Plank M.J., Brockie R.E., Cowan P.E., Harper G.A., Lee W.G., Maitland M.J., et al. (2013). Of mast and mean: differential-temperature cue makes mast seeding insensitive to climate change. *Ecology Letters*, 16: 90–98.
7. Mutke S., Gordo J., Gil L. (2005). Variability of mediterranean stone pine cone production: yield loss as response to climate change. *Agricultural and Forest Meteorology*, 132: 263–272.
8. Nussbaumer A., Meusburger K., Schmitt M., Waldner P., Gehrig R., Haeni M., Rigling A., Brunner I., Thimonier A. (2020). Extreme summer heat and drought lead to early fruit abortion in European beech. *Scientific Reports*, 10: 5334.
9. Sagarin R.D., Gaines S.D. (2002) The ‘abundant centre’ distribution: to what extent is it a biogeographical rule? *Ecology Letters*, 5:137–147.
10. Suszka B., Muller C., Bonnet-Masimbert M. (1996). *Seeds of forest broadleaves. From harvest to sowing.* Paris, INRA.
11. Ulbrichová I., Podrázský V., Beran F., Zahradník D., Fulín M., Procházka J., Kubeček J. (2015). *Picea abies* provenance test in the Czech Republic after 36 years - Central European provenances. *Journal of Forest Science*, 61: 465–477.
12. Wu H., Wang S., Wei X., Jiang M. (2019). Sensitivity of seed germination to temperature of a relict tree species from different origins along latitudinal and altitudinal gradients: implications for response to climate change. *Trees*, 33: 1435–1445.

LASY Z PROBÓWKI. CZY TO MOŻLIWE?

Test-tube forests. Is it possible?

Teresa Hazubska-Przybył (Kórnik)

Streszczenie

Odkrycie zjawiska totipotencji komórek roślinnych niemal półtora wieku temu doprowadziło do rozwoju efektywnych technik mikrorozmnażania licznych gatunków roślin. Obecnie wiele z nich stosuje się na skalę przemysłową, głównie w hodowli roślin ozdobnych, warzywniczych i sadowniczych. W ostatnich dziesięcioleciach nastąpił również znaczący postęp w rozwoju technik rozmnażania gatunków drzew leśnych w kulturach *in vitro*. Szczególnego potencjału upatruje się w metodzie somatycznej embriogenezy, która od pewnego czasu jest włączana do leśnych programów hodowlanych w niektórych krajach świata. W obliczu nadmiernej eksploatacji lasów przez człowieka i w konsekwencji postępujących zmian klimatycznych, nowatorskie techniki mikrorozmnażania będą coraz powszechniej stosowane jako narzędzie wspierające produkcję drewna na plantacjach leśnych, opartych na rozmnażaniu klonalnym.

Abstract

The discovery of the phenomenon of plant cell totipotency, almost a century and a half ago, has led to the development of the effective techniques for the multiplication of numerous plant species. Currently, many of them are used on an industrial scale, mainly in the cultivation of ornamental, vegetable and fruit plants. In recent decades, there has been significant progress in the development of the techniques for propagation of forest tree species in *in vitro* cultures. Particular potential is seen in the method of somatic embryogenesis, which has been included in the forest breeding programs in some countries of the world for some time. In the face of the excessive human exploitation of forests and as a consequence of the progressing climate change, the innovative micropropagation techniques will be increasingly used as a tool supporting the production of wood in forest plantations based on the clonal reproduction.

Od totipotencji po techniki *in vitro*

Na przełomie XIX i XX wieku za sprawą austriackiego botanika Haberlandta zrodziła się idea „uprawy” roślin w sztucznych warunkach. Uczony ten jako pierwszy podjął próbę hodowli komórek i tkanek roślinnych w sztucznych warunkach na pożywece, w oparciu o teorię totipotencji. Teorię tę wysnuli już w I połowie XIX wieku trzej niemieccy przyrodnicy: Schleiden, Schwann i Virchow. Zakładała ona, że komórki roślinne mają szczególną właściwość, polegającą na nieograniczonej zdolności dzielenia się i odtwarzania określonych organów, a nawet całego organizmu. Ostatecznie koncepcja totipotencji roślin została potwierdzona dopiero po 125 latach od jej

ogłoszenia, kiedy to w sztucznych warunkach uzyskano pierwsze kompletne rośliny z komórek marchwi i tytoniu [10]. Od tego czasu nastąpił intensywny rozwój badań nad mikrorozmnażaniem różnych gatunków roślin i dzisiaj dysponujemy już szeroką gamą metod, które stosowane są na skalę komercyjną. Kultury *in vitro* zostały wykorzystane przede wszystkim w masowej produkcji roślin ozdobnych, warzywniczych i sadowniczych. U drzew pierwszy sukces w zakresie mikrorozmnażania odniesiono w 1970 roku dla osiki (*Populus tremula*), kiedy to pierwsza kompletna roślina wyrosła w sztucznych warunkach z liścia [11]. Pozytywne wyniki skłoniły uczonych na całym świecie do podjęcia zaawansowanych badań nad możliwością rozmnażania różnych gatunków

drzew leśnych w oparciu o technologię kultur *in vitro*. Celem jakim im przeświecał w dalszej perspektywie było wdrożenie tego ważnego narzędzia biotechnologicznego do gospodarki leśnej.

Co warunkuje sukces mikrorozmnażania?

Wieloletnie badania prowadzone na różnych gatunkach roślin wykazały, że ich rozmnażanie w sztucznych warunkach to bardzo skomplikowane przedsięwzięcie. Powodzenie metody *in vitro* jest ściśle powiązane z bardzo licznymi czynnikami, decydującymi o odpowiedzi roślin na zadane im bodźce. Kluczowe jest przede wszystkim zapewnienie optymalnych fizyko-chemicznych warunków kultury, które muszą być odpowiednio dostosowane do wymagań konkretnego gatunku, odmiany czy wręcz klonu rośliny. Prawidłowy wzrost roślin w kulturze *in vitro* zależy od jakości, natężenia i obecności lub braku światła, od poziomu wilgotności powietrza w sterylnych naczyniach hodowlanych oraz od temperatury otoczenia. Kolejnym, bardzo ważnym czynnikiem jest rodzaj i skład pożywek (sztucznych podłoży), który zmienia się w zależności od etapu rozwoju roślin. Pożywki skomponowane są z makro- i mikroelementów, witamin, aminokwasów, węglowodanów i regulatorów wzrostu, podanych w ściśle określonych dawkach. Kultury drzew leśnych najczęściej utrzymywane są na pożywce MS, B5, NN, GD lub WPM [2]. W czasie trwania tego typu hodowli rozwijające się rośliny stopniowo zużywają składniki zawarte w podłożu. W związku z tym konieczne jest cykliczne przenoszenie materiału roślinnego na świeże pożywki. Wymiana pożywek odbywa się dość często, co 2 do 6 tygodni, w zależności od gatunku. Efekty mikrorozmnażania roślin uzależnione są w znacznej mierze od zastosowania odpowiednich regulatorów wzrostu i rozwoju do pożywek. W kulturach *in vitro* najważniejszą rolę pełnią związki należące do grupy auksyn i cytokinin. Związki z grupy auksyn wykorzystywane są przykładowo do ukorzeniania mikropędów i do zapoczątkowania rozwoju zarodków w kulturze *in vitro*. Z kolei związki z grupy cytokinin stosowane są do pobudzenia regeneracji i zwiększenia liczby pędów produkowanych z pąków. Ważnym regulatorem wzrostu i rozwoju w hodowli drzew gatunków iglastych jest także kwas abscysynowy, regulujący proces rozwoju zarodków wegetatywnych.

Skuteczność metody mikrorozmnażania różnych gatunków drzew leśnych jest na ogół ściśle skorelowana z genotypem, stanem fizjologicznym fragmentu tkanki pobieranej do założenia kultury oraz ogólną kondycją rośliny matecznej. W przypadku drzew

czynniki te mają szczególne znaczenie. Drzewa w przeciwieństwie do roślin zielnych trudniej jest rozmnożyć w sztucznych warunkach, chociażby z tego względu, że ich tkanki są starsze i zainfekowane w większym stopniu patogenami (grzyby, bakterie, wirusy). Jednakże mimo tych ograniczeń wieloletnie badania podejmowane przez naukowców na całym świecie zaowocowały opracowaniem efektywnych protokołów mikrorozmnażania niektórych gatunków drzew leśnych, umożliwiając tym samym ich zastosowanie na szerszą skalę. Przykładowo w latach 90. ubiegłego wieku w Indyjskim Instytucie Nauki w Bangalore (Indie) uzyskano obiecujące wyniki dla niektórych gatunków o znaczeniu ekonomicznym. Opracowane procedury mikrorozmnażania sandałowca białego (*Santalum album*), kostrzyczyny szerokolistnej (*Dalbergia latifolia*) oraz trzech gatunków z rodzaju eukaliptus (*Eucalyptus*) pozwoliły na przeniesienie roślin z warunków *in vitro* do gleby. Było to jednym z pierwszych sygnałów wskazujących na potencjalne możliwości zastosowania kultur *in vitro* drzew w celach komercyjnych [9]. Znaczące sukcesy, które odnosili naukowcy w poszczególnych ośrodkach badawczych w kolejnych latach, przyczyniły się do wzrostu zainteresowania technologią kultur *in vitro* i do włączenia jej jako obiecującej metody rozmnażania wegetatywnego do gospodarki leśnej w niektórych krajach świata.

Rozmnażanie wegetatywne w gospodarce leśnej

Lasy są jednym z najbardziej złożonych ekosystemów roślinnych na kuli ziemskiej. Ich powierzchnia obejmuje obecnie niemal 4 mld ha naszego globu, a na jednego mieszkańca Ziemi przypada średnio około 0,62 ha lasu. Niestety w ostatnich dziesięcioleciach powierzchnie lasów sukcesywnie zmniejszają się. Jedną z ważniejszych przyczyn jest rabunkowa eksploatacja zasobów leśnych przez człowieka. W konsekwencji dochodzi do znacznego zubożenia bądź utraty całych drzewostanów wraz z unikatowymi gatunkami flory i fauny. Co więcej, coraz bardziej widocznym i odczuwalnym rezultatem tej niepożądanego, ludzkiej działalności są poważne zmiany klimatyczne, rejestrowane w dzisiejszej dobie w różnych regionach świata. Sytuację tę mogą po części zrekompensować działania podejmowane w niektórych krajach przez sektor leśnictwa w ramach tzw. zrównoważonej wielofunkcyjnej gospodarki leśnej, które zakładają oparcie znacznej części produkcji surowca drzewnego na plantacjach leśnych przy zastosowaniu rozmnażania wegetatywnego (*clonal forest plantations*). W tym miejscu należy uświadomić

sobie, że rozmnażanie wegetatywne jest bardzo korzystne w kontekście rentowności plantacji leśnych. Pozwala ono bowiem skuteczniej w porównaniu z rozmnażaniem generatywnym zachować pożądane cechy hodowlane u potomstwa oraz ułatwia szybkie wprowadzenie do praktyki leśnej wyników selekcji drzew. Podczas gdy potomstwo na drodze generatywnej uzyskuje się po kilkudziesięciu latach, sadzonki wegetatywne można wyprodukować w ciągu 1–2 lat, w zależności od zastosowanej metody. Plantacje leśne wspierane przez uprawę sklonowanych, ściśle wyselekcjonowanych osobników wartościowych drzew umożliwiają wygenerowanie znacznego zysku genetycznego i produkcję wyrównanego fenotypowo materiału roślinnego. Są one bowiem zakładane na bazie tego samego materiału rodzicielskiego i składają się z drzew identycznych genetycznie, czyli cechują się dużą jednolitością [14]. Plantacje oparte na rozmnażaniu klonalnym funkcjonują w USA, Nowej Zelandii, Australii, Brazylii i Chinach. Rozmnażanie klonalne odgrywa ważną rolę zarówno w zachowaniu zasobów genowych, jak i mnożeniu rzadkich i zagrożonych gatunków drzew leśnych. Zysk ekonomiczny płynący z kontrolowanych plantacji jest ściśle powiązany z identyfikacją osobników o pożądanych dla gospodarki leśnej cechach wzrostowych i jakościowych oraz z wysoką wydajnością technik ich rozmnażania. Na przestrzeni dziesiątek lat propagacja drzew leśnych z użyciem rozmnażania wegetatywnego podlegała i nadal podlega ciągłemu doskonaleniu poprzez wprowadzanie nowych technik i koncepcji na różnych etapach tego procesu. Rozmnażanie klonalne staje się coraz bardziej rzeczywistością w światowej gospodarce leśnej, głównie dzięki wcześniejszym sukcesom odniesionym w ukorzenianiu sadzonek wegetatywnych, a w obecnej dobie w badaniach nad somatyczną embriogenezą.

Już w II połowie XX wieku koncepcja włączenia rozmnażania wegetatywnego jako narzędzia do zakładania produktywnych plantacji miała przyczynić się do głębokiej ewolucji systemów służących do mnożenia gatunków drzew leśnych. Zakładała ona propagowanie najbardziej wartościowych drzew oraz pozytywny wpływ klonowania na zwiększenie zasobów przemysłowych i jakości produktu. Na początku lat 70. XX zapowiedzią tego rozwoju było rozmnażanie gatunków drzew liściastych na drodze ukorzeniania zrzezów pędowych na skalę przemysłową [16]. W krajach o umiarkowanym klimacie satysfakcjonujące efekty uzyskano dla kilku przedstawicieli z rodzaju topola (*Populus*), wierzb (*Salix*) czy robinia (*Robinia*), natomiast w krajach o klimacie tropikalnym lub subtropikalnym – z rodzaju eukaliptus

(*Eucalyptus*). Te pozytywne rezultaty wynikały głównie z faktu, że drzewa liściaste odznaczają się doskonałą zdolnością do rozmnażania wegetatywnego oraz relatywnie krótką rotacją. Ukorzenianie zrzezów pędowych nie było jednak wystarczająco efektywne w przypadku wielu ważnych ekonomicznie gatunków drzew leśnych, a zwłaszcza tych, których surowiec stanowiłby doskonałe źródło energii i paliwa. Większość z tych problemów wynikała z przyspieszonych procesów dojrzewania uzyskanego materiału roślinnego, a w konsekwencji z szybkiej utraty jego predyspozycji do ukorzeniania. Bariery te dotyczyły przede wszystkim gatunków drzew iglastych, w przypadku których zrzezy do ukorzeniania mogły być pozyskiwane z sadzonek nie starszych niż 5-letnie [8]. Taki stan rzeczy w znacznym stopniu przyczyniał się do ograniczenia liczby roślin dostępnych do uprawy na plantacjach. W rezultacie ograniczenia związane z tradycyjnymi metodami mnożenia wegetatywnego wymusiły konieczność poszukiwania alternatywnych metod klonowania gatunków drzew w celach komercyjnych.

Alternatywne metody rozmnażania wegetatywnego wspomagają gospodarkę leśną

Na początku lat 90. XX wieku w Brazylii opracowano technikę rozmnażania drzew z mikrosadzonek. Źródłem materiału wegetatywnego były niedojrzałe lub odmłodzone w kontrolowanych warunkach rośliny, z których pobierano końcówki pędów i ukorzeniano je w szklarni, przy zapewnieniu odpowiedniej dla rozwoju temperatury i wilgotności powietrza. Warunkiem niezbędnym w tej technice była obecność wierzchołka wzrostu, który gwarantował rozwój dobrej jakości systemu korzeniowego. Mikropniaki po zbiorze pędów szybko regenerowały nowy materiał, który można było zbierać cyklicznie w określonym odcinku czasu (co 20 dni latem i co 30 dni zimą) [7]. Tymczasem dynamiczny rozwój kultur *in vitro* drzew przyczynił się do powstania nowego, alternatywnego źródła sadzonek, zapewniając stały i cykliczny dostęp do materiału gotowego do ukorzeniania. Obecnie dwiema podstawowymi metodami, których efektem jest uzyskanie sadzonek drzew leśnych są: organogeneza i somatyczna embriogeneza. W kulturach *in vitro*, w warunkach sterylnych, rośliny potomne uzyskuje się z fragmentu rośliny, zredukowanego najczęściej do małego pąka, wycinka tkanki lub nawet pojedynczej komórki, zwanym eksplantatem. Eksplantant jest pobierany z osobnika matecznego, odkazany w odpowiednio dobranych roztworach dezynfekujących i umieszczany na pożywkach

uzupełnionych składnikami odżywczymi. W pierwszej z przytoczonych wyżej metod mikrorozmnażania nowe rośliny tworzą się bezpośrednio na eksplantacie (organogeneza bezpośrednia) bądź z centrów komórek merystematycznych obecnych w kalusie, którego obecność poprzedza tworzenie organów roślinnych (organogeneza pośrednia). W laboratorium produkcyjnym potencjalnie z jednego wyłożonego na odpowiednio dobraną pożywkę eksplantatu możliwe jest wyprodukowanie w ciągu roku nawet kilku milionów roślin potomnych, niezależnie od warunków klimatycznych i pogodowych (Ryc. 1). Dla potrzeb leśnictwa z wykorzystaniem organogenezy produkuje się przykładowo brzozę brodawkowatą (*Betula*

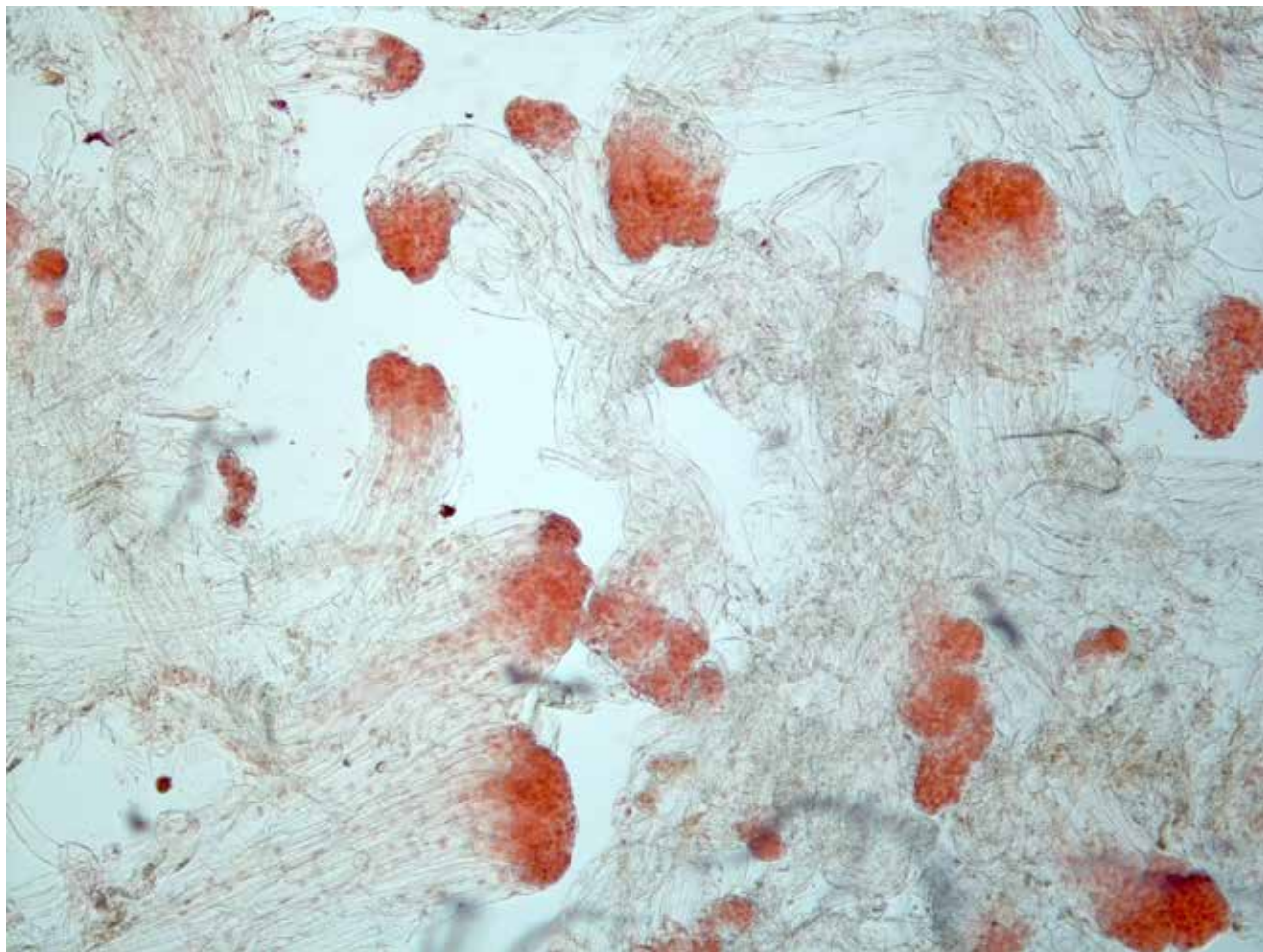
pendula), mieszańca topoli osiki i topoli osikowej (*Populus tremula* x *P. tremuloides*), robinie akacjową (*Robinia pseudoacacia*), czereśnię ptasią (*Prunus fruticosa*), świerk pospolity (*Picea abies*) i modrzew europejski (*Larix decidua*). Natomiast w ostatnim czasie w wielu krajach, włączając Polskę, metodą tą produkowane są też liczne sadzonki drzewa tlenowego Oxytree, czyli *Paulownia Clon in Vitro* 112, w celach komercyjnych. Klon ten został uzyskany w przez jedną z firm biotechnologicznych w Hiszpanii i obecnie stosowany jest w hodowli plantacyjnej zoriantowanej na produkcję biomasy oraz bioetanolu. Technika organogenezy jest szeroko stosowana w bankach genów celem zabezpieczenia rezerw genetycznych



Ryc. 1. Liczne pędy wegetatywne topoli szarej (*Populus x canescens*), uzyskane *in vitro* metodą organogenezy, namnażane na pożywce agarowej. Fot. Teresa Hazubska-Przybył.

np. dębu czy innych gatunków drzew produkujących nasiona typu *recalcitrant* (o dużej zawartości wody, wrażliwe na jej utratę). Stanowi również doskonały

wykazywać nieprawidłowy dalszy rozwój, dlatego tak niezwykle ważne jest zapewnienie im odpowiednich warunków w kulturze *in vitro*. W techni-



Ryc. 2. Prazarodki świerka pospolitego (*Picea abies*) widziane po wybarwieniu acetokarminem. Komórki merystematyczne zebrane w region embriogeny, z którego formułowany jest zarodek somatyczny (zabarwiony na czerwono) oraz wydłużone komórki wieszadełka (bezbarwne, z widocznymi jądrami komórkowymi). Fot. Teresa Hazubska-Przybył.

sposób zachowania *in vitro* gatunków rzadkich i ginących.

Znacznie wyższym potencjałem mnożenia cechuje się jednak druga wymieniona metoda mikrorozmnażania – metoda somatycznej embriogenezy, która ze względu na takie dodatkowe atuty, jak możliwość krioprzechowowania i transformacji genetycznych kultur oraz automatyzacji procesu, znalazła szczególne zainteresowanie w leśnictwie światowym, stając się metodą pożądaną w realizowanych programach hodowlanych. Stosując tę metodę rośliny potomne uzyskuje się z zarodków zaindukowanych z komórek somatycznych (wegetatywnych), z pominięciem procesu fuzji gamet. Powstałe zarodki somatyczne są podobne do zarodków zygotycznych; wykazują dwubiegunową budowę (wierzchołek pędu - korzeń) i takie same stadia rozwojowe [12]. Są one jednak pozbawione odżywczego bielma i w rezultacie mogą

ce somatycznej embriogenezy wyróżnia się dwie charakterystyczne fazy. Pierwsza z nich obejmuje tworzenie się i namnażanie niezorganizowanych agregatów komórkowych, zwanych masą proembryogeniczną (*PEM, proembryogenic mass*) lub tkanką embriogeniczną (*embryogenic tissue*). Mogą one być utrzymywane w kulturze przez długi czas w obecności auksyny, w ciemności. Faza ta nazywana jest cyklem auksynowym. W agregatach komórkowych powstają pierwsze stadia rozwojowe zarodków. U gatunków drzew iglastych są to charakterystyczne struktury, tzw. prazarodki (*proembryos*), składające się z regionu embriogenego uformowanego z komórek merystematycznych i komórek wieszadełka (Ryc. 2). Faza druga, która zachodzi na świetle po usunięciu z pożywki auksyny (i cytokininy), obejmuje tworzenie się z prazarodków poszczególnych stadiów rozwojowych zarodka od globularnego po



Ryc. 3. Somaticzny zarodek świerka pospolitego (*P. abies*) z wyraźnie wykształconymi liścieniami. Fot. Teresa Hazubska-Przybył.

liścieniowe (Ryc. 3). Zarodki somatyczne gatunków drzew iglastych wymagają do pełnego rozwoju obecności kwasu abscysynowego (*ABA*) oraz podwyższonego ciśnienia osmotycznego pożywki (poprzez dodanie zwiększonego stężenia sacharozy i glikolu polietylenowego *PEG*). Wzrost i różnicowanie somatycznych zarodków u gatunków drzew iglastych przedstawia Ryc. 4. Po osiągnięciu stadium liścieniowego zarodki przechodzą etap kiełkowania i ulegają konwersji w somatyczną roślinę (*somatic emblings*). Mikrosadzonki uzyskane w wyniku somatycznej embriogenezy są znacznie silniejsze niż mikropędy regenerujące na drodze organogenezy i nie wymagają ukorzeniania, co znacznej mierze ułatwia adaptację roślin somatycznych do warunków naturalnych. Od końca ubiegłego wieku wykazano możliwość mnożenia na drodze somatycznej embriogenezy zarówno gatunków drzew liściastych (z rodzaju *Eucalyptus*, *Quercus*), jak i iglastych (z rodzaju *Pinus*, *Picea*, *Abies*, *Larix*). Dla kilku gatunków drzew leśnych metoda ta przynosi obecnie na tyle dobre rezultaty, że mogłaby być wdrożona na skalę przemysłową [5].

Somatyczna embriogeneza źródłem dodatkowych korzyści dla hodowli lasów

W obliczu zachodzących dzisiaj zmian klimatycznych leśnictwo zmuszone będzie stawić czoła nowym zagrożeniom ekologicznym, które będą wpływały na rozmieszczenie drzew. Niezbędne wówczas będzie zwiększenie ochrony zasobów genowych, co będzie się wiązało z wykorzystaniem możliwości tkwiących w krioprzzechowywaniu, czyli deponowaniu materiału roślinnego w ultraniskiej temperaturze ciekłego azotu (-196°C). Krioprzzechowywanie jest bardzo ważną metodą, wspierającą mikrorozmnażanie drzew z wykorzystaniem potencjału somatycznej embriogenezy. Tkanki embriogenne uzyskane w wyniku somatycznej embriogenezy mogą zmieniać się w czasie lub mogą zostać utracone po kilku miesiącach przenoszenia na świeże pożywki. Ich przechowywanie *in vitro* obarczone jest ryzykiem zmian somaklonalnych i utratą materiału na skutek kontaminacji. Jednakże wypracowane procedury krioprzzechowywania dają możliwość zabezpieczenia wyselekcjonowanych wartościowych genotypów, zarówno w formie



R

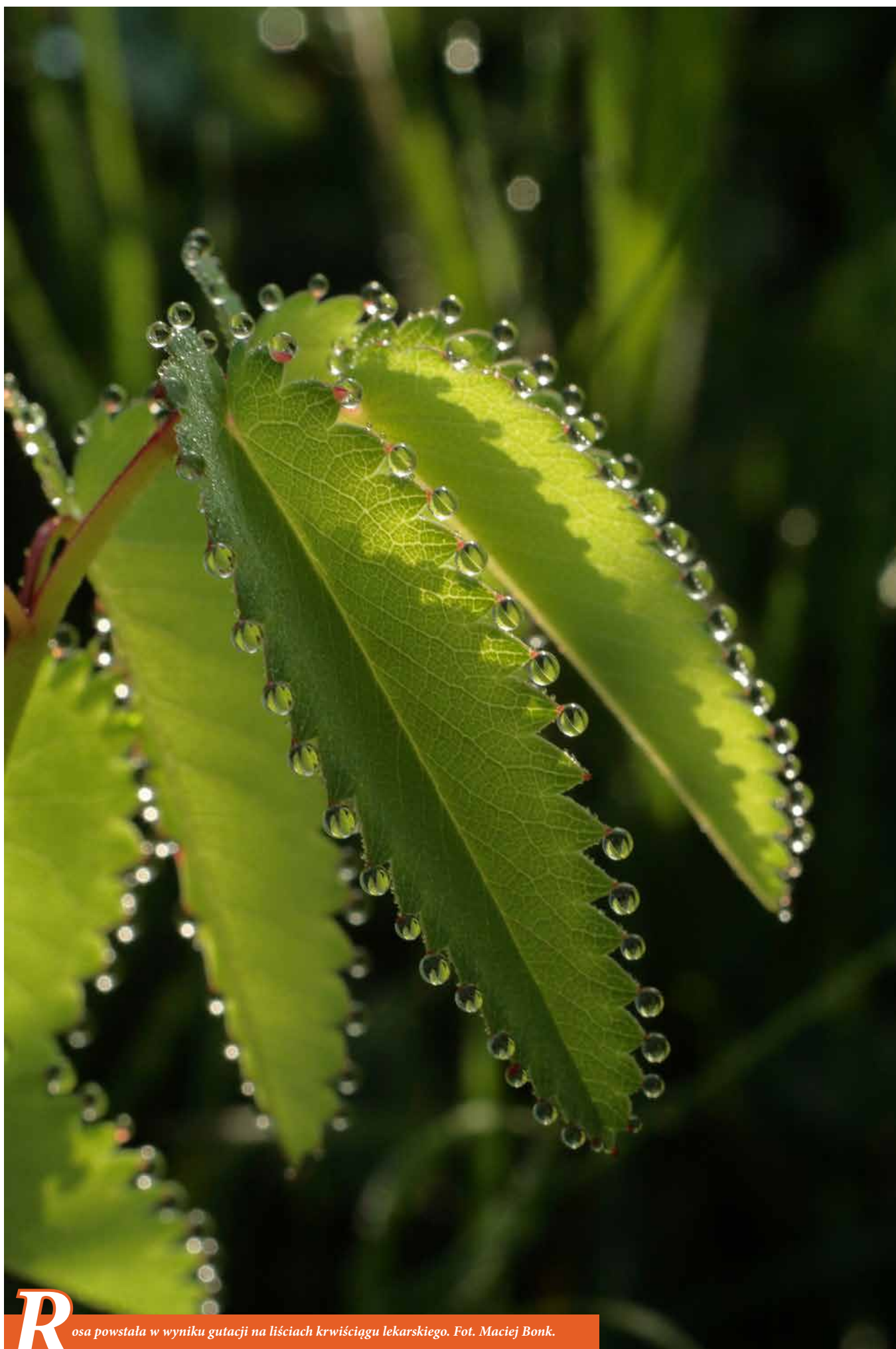
osa powstała w wyniku gutacji na liście krwistąg lewarskiego. Fot. Maciej Bonk.

PROCESY GUTACYJNE
W OBIEKTYWIE MACIEJA BONKA



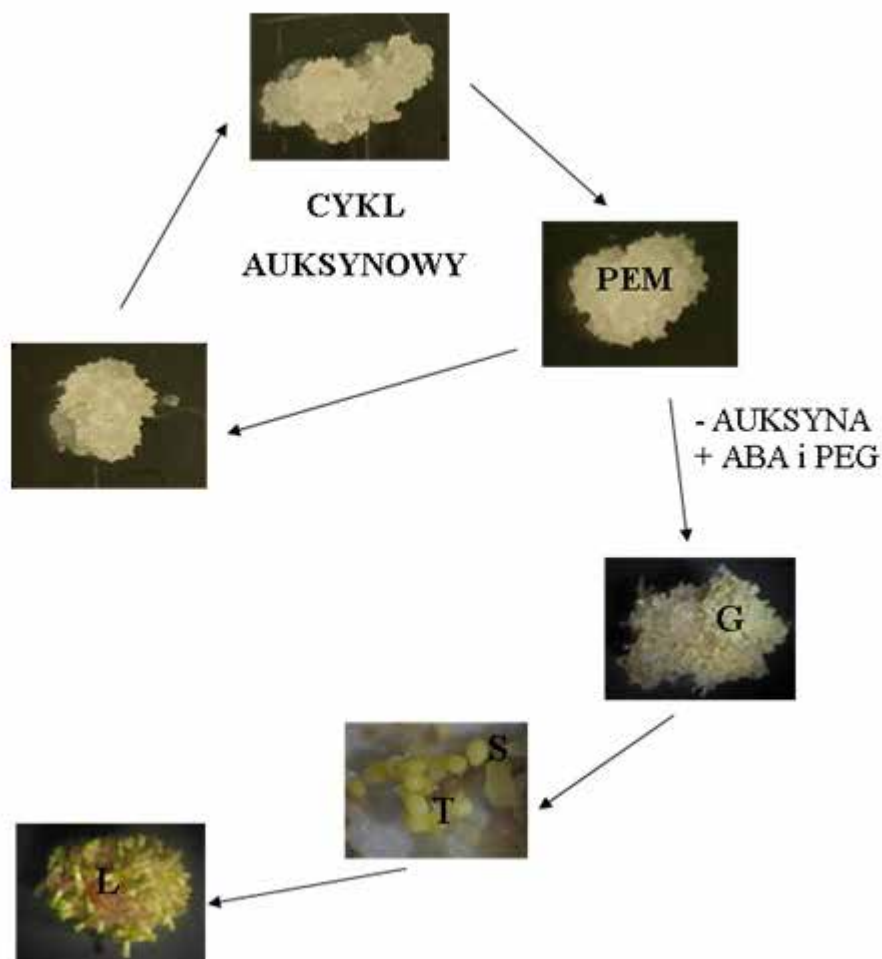
R

osa na źdźble trawy. Fot. Maciej Bonk.



R

osa powstała w wyniku gutacji na liściach krwistociągu lekarskiego. Fot. Maciej Bonk.



Ryc. 4. Wzrost i różnicowanie w kulturach tkankowych gatunków drzew iglastych; tkanka embriogenna namnażana w obecności auksyny (i cytokininy), powstają z niej prazarodki, które po usunięciu auksyny i dodaniu kwasu abscysynowego (ABA) i glikolu polietylenowego (PEG), przechodzą dalszy rozwój: PEM – masa proembriogenna, G – stadium globularne zarodka, S – stadium sercowate zarodka, T – stadium torpedy, L – dojrzały zarodek w stadium liścieniowym. Fot. Teresa Hazubska-Przybył.

tkanek embriogennych, jak i somatycznych zarodków, nawet przez wiele lat. Strategia ta umożliwia bezpieczne zachowanie materiału hodowlanego w bankach genów podczas badań potomstwa w testach polowych. W ciekłym azocie możliwe jest też deponowanie genotypów łatwych do transformacji genetycznej lub genetycznie zmodyfikowanych drzew. Fakt ten nie pozostaje obojętny dla gospodarki leśnej w perspektywie możliwości uzyskania ulepszonych materiałów do realizacji przyszłych programów hodowlanych. Dla drzew GMO, ze względów prawnych, bezpieczne przechowywanie przez dłuższy czas w bankach genów może być jedyną opcją. Technika somatycznej embriogenezy jest doskonałym narzędziem biotechnologicznym, które w leśnictwie może być stosowane do tworzenia drzew transgeniczných, czyli drzew

o zmienionych genomach. Dzięki tej technice możliwe jest uzyskanie osobników o pożądanych, korzystnych dla leśnictwa cechach jakościowych. Tym bardziej, że generalnie istotą klonowania drzew leśnych jest polepszenie ich jakości poprzez identyfikację niewielkiej liczby osobników o zestawie cech najbardziej pożądanych dla hodowli leśnej. Należą do nich m.in.: forma drzewa, jakość i produkcja drewna, zdolność wzrostu, tolerancja na różne trudne warunki środowiskowe oraz podatność na rozmnażanie wegetatywne [13]. Transformacje genetyczne w znacznej mierze ułatwiają osiągnięcie tego celu. Geny kodujące określone cechy, np. odporności na patogeny grzybowe, szkodniki owadzie czy herbicydy, integrują się z DNA gospodarza i powstają w ten sposób drzewa GMO łatwiejsze w uprawie plantacyjnej.

Obecnie najczęściej modyfikowanym gatunkiem drzewa w warunkach laboratoryjnych jest topola, która posiada najprostszą budowę DNA i łatwo regeneruje się *in vitro*. Z kolei gatunki drzew iglastych, takie jak np. sosna czy świerk, posiadają bardziej skomplikowany genom, w związku z czym trudniej jest uzyskać odmiany transgeniczne w przypadku tych drzew. Niemniej jednak dla takich gatunków jak: *Picea glauca*, *Pinus radiata*, *Abies nordmanniana*, *Castanea sativa*, *Quercus robur* wykazano pozytywne wyniki transformacji genetycznej, wykorzystując do tego celu kultury embriogenne bądź somatyczne zarodki [3]. Mimo sukcesów obecnie prace nad transgenicznymi drzewami leśnymi są na etapie doświadczalnym i nie będą szybko wprowadzane do praktyki leśnej. Testowanie uzyskanych roślin transgenicznych w warunkach polowych wymaga specjalnych zezwoleń, wydawanych przez rządy krajowe. I choć testy tego typu prowadzone są na całym świecie, jak dotąd komercyjne plantacje transgenicznych drzew nie zostały założone. Wyjątkiem są Chiny, gdzie komercyjnie uprawiane są transgeniczne topole odporne na owady. Jednakże z punktu widzenia gospodarki leśnej badania nad transgenicznymi drzewami wydają się uzasadnione ze względu na perspektywę zysku ekonomicznego po ich wprowadzeniu do upraw plantacyjnych. Oszacowano, że jeszcze do niedawna około 1/3 przemysłowej produkcji drewna okrągłego pochodziło z plantacji leśnych. Prognozuje się, że do 2050 roku produkcja ta wzrośnie do 75%. Aby była ona opłacalna, wymagana jest bardzo dobra jakość materiału, którą z pewnością można uzyskać włączając do hodowli leśnej technologię kultur *in vitro* (zwłaszcza metodę somatycznej embriogenezy) i genetycznie ulepszone sadzonki. Opłacalność produkcji roślin tą drogą można zwiększyć sięgając po nowatorskie osiągnięcia techniczne. Przykładem jest automatyzacja procesu mikrorozmnażania drzew poprzez zastosowanie do produkcji somatycznych zarodków tzw. bioreaktorów, czyli naczyń z pożywkami płynnymi, które są cyklicznie mieszane i dobrze napowietrzane (Ryc. 5). Badania podejmowane w ostatnim dziesięcioleciu przez różne ośrodki naukowe dla gatunków drzew leśnych wskazują na pozytywny wpływ tego rozwiązania, zarówno w aspekcie poprawienia liczby i jakości produkowanych zarodków, jak i obniżenia kosztów pracy laboratoryjnej. Dowodem są chociażby wyniki doświadczeń hiszpańskich naukowców z Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia w Santiago de Compostella, które wykazały, że zastosowanie systemu tymczasowego zanurzenia hodowli w pożywkach płynnych (TIS, *temporary immersion system*) pozwoliło na zwiększenie

produktywności somatycznych zarodków dębu szypułkowego (*Quercus robur*) do 85 000/m² w porównaniu z tradycyjnie prowadzoną hodowlą, gdzie wydajność ta wynosiła 12 000/m² [6]. Zastosowanie tego systemu prowadzenia hodowli przyczyniło się w znaczący sposób do zwiększenia nie tylko poziomu synchronizacji rozwoju zarodków, ale także do poprawienia liczby prawidłowo rozwiniętych zarodków liścieniowych, co finalnie przekładało się na znaczne obniżenie tak kosztów robocizny, jak i kosztów produkcji siewek. W przypadku gatunków drzew iglastych opracowanie metody produkcji somatycznych siewek z wykorzystaniem bioreaktorów wymaga jeszcze poszukiwań takich rozwiązań technicznych, które uwzględniałyby specyfikę wymagań procesu somatycznej embriogenezy u tej grupy roślin [15]. Obniżenie kosztów produkcji somatycznych siewek gatunków drzew leśnych jest obecnie największą przeszkodą uniemożliwiającą włączenie tej technologii do programów hodowlanych. Będzie to niemożliwe tak długo, jak długo koszty produkcji roślin somatycznych będą znacznie przewyższać koszty produkcji roślin bazującej na tradycyjnych metodach mnożenia wegetatywnego [11].

Somatyczna embriogeneza w światowym leśnictwie

Rozwój techniki somatycznej embriogenezy wraz z postępem technologicznym pozwolił na założenie plantacji opartych na klonowaniu wybranych gatunków drzew iglastych z rodzaju *Pinus* i *Picea* w Stanach Zjednoczonych, Kanadzie, Nowej Zelandii czy Australii [4]. Już ponad ćwierć wieku temu w kanadyjskiej prowincji New Brunswick utworzono pierwsze plantacje sosny wejmutki (*Pinus strobus*), sosny Banksa (*Pinus banksiana*), świerka białego (*Picea glauca*) i czarnego (*Picea mariana*) [8]. W latach dwutysięcznych w Stanach Zjednoczonych firma komercyjna CellFor Inc. (obecnie Arborgen) produkowała somatyczne sadzonki sosny taeda (*Pinus taeda*). Działania te są nadal podejmowane, ponieważ w ostatnich latach firma JDI, zajmująca się produkcją sadzonek drzew leśnych, wykazywała zainteresowanie produkcją sadzonek wegetatywnych z wykorzystaniem technologii opartej na somatycznej embriogenezie [1]. W Nowej Zelandii w celu obniżenia kosztów produkcji ukorzeniania zrzesów pędowych niektóre organizacje wykorzystują do tego celu somatyczne sadzonki, z których pozyskuje się pędy [5]. W niektórych krajach europejskich (Szwecja, Francja, Finlandia, Dania czy Hiszpania) podejmowane są działania zmierzające ku obniżeniu kosztów produkcji somatycznych sadzonek gatunków drzew

leśnych do poziomu pozwalającego na wdrożenie somatycznej embriogenezy w europejskiej gospodarce leśnej [5]. Odpowiedź na pytanie, czy będzie możliwa masowa produkcja somatycznych sadzonek

drzew, tak by tworzyć z nich plantacje leśne, które zaspokajałyby w znacznej mierze rosnący w dzisiejszym świecie popyt na surowiec drzewny, pozostaje już tylko kwestią czasu.



Ryc. 5. System służący do automatyzacji produkcji roślin w kulturze *in vitro* na przykładzie bioreaktora 'RITA'. Fot. Teresa Hazubska-Przybył.

Bibliografia

1. Adams GW, Kunze HA, McCartney A, Millican S, Park YS. (2016). An industrial perspective on the use of advanced reforestation stock technologies. In: Vegetative Propagation of Forest Trees (Eds. Y.S. Park, J.M. Bonga & H.K. Moon). National Institute of Forest Science, pp. 323–334.
2. Hauke M., Wesoły W. (2010). Mikrorozmnażanie drzew leśnych. W: Elementy genetyki i hodowli selekcyjnej drzew leśnych. (Red.) Sabor J. CILP, Warszawa: 407–415.
3. Hazubska-Przybył T, Bojarczuk K. (2016). Tree somatic embryogenesis in science and forestry. Dendrobiology 76: 105–116.
4. Lane A. (2004). Attack of the clones: somatic embryogenesis in forestry. BioTech Journal 2: 13–17.
5. Lelu-Walter MA, Thompson D, Harvengt L, Sanchez L, Toribio M, Pâques LE. (2013). Somatic embryogenesis in forestry with a focus on Europe: state-of-the-art, benefits, challenges and future direction. Tree Genetics & Genomes 9: 883–899.
6. Mallón R, Covelo P, Vieitez AM. (2012). Improving secondary embryogenesis in *Quercus robur*: Application of temporary immersion for mass propagation. Trees – Structure and Function 26: 731–741.

7. Mushtaq T, Banyal R, Mugloo J, Mushtaq T, Aziz MA. (2017). Clonal forestry: An effective technique for increasing the productivity of plantations. *SKAUT Journal of Research* 19(1): 22–28.
8. Park YS. (2002). Implementation of conifer somatic embryogenesis in clonal forestry: technical requirements and deployment considerations. *Annals of Forest Science* 59: 651–656.
9. Sita G.L. (1992). Forest Tree Tissue Culture: Current Status and Future Prospects. In: *Tissue Culture of Forest Tree Species: Recent Researches in India*. (Eds) Dhawan V, Ganapathy PM, Khurana DK. IDRC-TIFNET, New Dehli :18–30.
10. Skucińska B. (2001). Metoda kultury *in vitro*. W: *Biotechnologia roślin*. (Red.) Malepszy S.: 19–33.
11. South DB. (2009). Economics of clonal forestry: Vegetative propagation and deployment of varieties – the scope for Europe. *Treebreedex*, 21-23 April, Liverpool, England.
12. Szczygiał K. (2005). Somatyczna embriogeneza – alternatywny sposób uzyskania wyselekcjonowanego materiału sadzeniowego gatunków drzew iglastych. *Leśne Prace Badawcze* 3: 71–92.
13. Wagner CO, Miranda T, Xavier A. (2006). Clonal propagation of *Eucalyptus grandis* using the mini cutting and micro cutting techniques. *Scientia Forestalis* 71: 109–117.
14. White TL, Adams WT, Neale DB. (2007). *Forest Genetics*, CAB International, Oxfordshire, U.K.: 466–477.
15. Välimäki S, Paavilainen L, Tikkinen M, Salonen F, Varis S, Aronen T. (2020). Production of Norway spruce embryos in a temporary immersion systems (TIS). In *Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*.
16. Zobel B, Ikemora YK, Campinhos E. (1983). Clonal forestry: its impact on tree improvement and our future forests. *Journal of Silvicultura* 8: 226.

CZY POWTARZALNOŚĆ BADAŃ Z WYKORZYSTANIEM ZWIERZĄT LABORATORYJNYCH JEST W OGÓLE MOŻLIWA?

Is replication of animal trials attainable?

Marta Dziedzicka-Wasylewska (Kraków)

Streszczenie

Ostatnio zwraca się uwagę na problem stosunkowo niskiej powtarzalności wyników badań naukowych. Dzieje się tak we wszystkich dyscyplinach naukowych, chociaż badania z zakresu nauk biologicznych są często podawane jako koronny przykład w dyskusjach zagadnień związanych z replikowalnością badań. Jest naturalnie wiele przyczyn takiego stanu rzeczy, jak np. nieprzestrzeganie standardów tzw. „dobrej praktyki laboratoryjnej”. Jednak w badaniach z wykorzystaniem zwierząt doświadczalnych źródłem niepowtarzalności wyników może być zmienność biologiczna, właściwa nie tylko tzw. szczepom niekrewniaczym (ang. *outbred strains*), ale też szczepom pozyskanym w wyniku chowu wsobnego (ang. *inbred strains*). W rozwoju osobniczym zwierzęta podlegają działaniu różnych czynników już w czasie życia płodowego (m.in. wpływ płci płodów sąsiadujących w macicy), a także w okresie postnatalnym (m.in. dostęp do pokarmu i opieki matczynej). Czynniki te powodują, że mimo genomu identycznego w ponad 99%, osobniki krzyżowane krewniaczo przejawiają różnice fenotypowe, które w dalszym życiu mogą ulegać nasileniu.

Abstract

Recently, attention has been paid to the problem of relatively low reproducibility of research results. This is true in all scientific disciplines, although life sciences research is often cited as the prime example in discussions of research replication issues. There are many reasons for this, such as failure to comply with the standards of the so-called Good Laboratory Practice. However, in studies using experimental animals, the source of poor replicability of the results may be biological variability, specific not only for outbred strains, but also for inbred strains. In individual development, animals are subject to the influence of various factors during prenatal life (including the influence of the sex of the adjacent fetuses in the uterus) and in post-natal period (including access to food and maternal care). Due to these factors, despite the genome identical in over 99%, individuals of inbred origin exhibit phenotypic differences that may intensify in later life.

Problemy z powtarzalnością wyników w badaniach naukowych

Najważniejszą cechą badań naukowych jest ich rzetelność, a więc i możliwość uzyskania podobnych wyników w powtórnych badaniach. Okazuje się jednak, że nie jest z tym najlepiej; istnieją szacunki, że nawet 85% wyników nie da się powtórzyć

[9; 10]. Dzieje się tak we wszystkich dyscyplinach naukowych, chociaż badania z zakresu biomedycyny są często podawane jako koronny przykład w dyskusjach zagadnień związanych z replikowalnością badań. Czasem drobne różnice w szczegółach wykonania eksperymentu mogą przyczyniać się do braku spójności wyników. Na przykład w badaniach z obszaru nowotworzenia dwa poważne laboratoria przez

rok poszukiwały różnic w wykonaniu eksperymentu, nie mogąc uzyskać tych samych wyników. Dopiero wspólna praca badaczy z tych dwóch laboratoriów, „ramię w ramię”, pozwoliła pokazać, że przyczyna różnic tkwi w drobnym detalu przy izolacji komórek z guza – jedno laboratorium stosowało dynamiczne mieszanie komórek a drugie – delikatne ich kołtysanie... [11; 8] Biorąc pod uwagę badania oparte na modelach zwierzęcych, m.in. stosowane w badaniach przedklinicznych, oszacowano, że co najmniej 50% wyników jest „niepowtarzalna” – co oczywiście przekłada się na ogromne straty finansowe. Na takich wynikach bowiem niejednokrotnie opierają się dalsze prace, kontynuujące pierwotną myśl autorów zamiast koncentrowania się na bardziej obiecujących koncepcjach [16]. Ponadto takie „niepowtarzalne” wyniki hamują potencjalny postęp w naukach biomedycznych, no i przyczyniają się do niepotrzebnego wykorzystania zwierząt doświadczalnych.

Jest naturalnie wiele przyczyn takiego stanu rzeczy, jak np. nieprzestrzeganie standardów tzw. „dobrej praktyki laboratoryjnej”, w tym m.in. brak dyscypliny naukowej, niska moc statystyczna, dowolność interpretacyjna czy szeroko pojęte uprzedzenia. Ale należy też przyznać, że szczególnie w badaniach z wykorzystaniem zwierząt doświadczalnych źródłem „niepowtarzalności” wyników mogą być m.in.: zróżnicowany wiek zwierząt, ich rozmaite doświadczenie reprodukcyjne, zmiany związane z porą roku, w której prowadzono eksperymenty, odmienny reżim oświetlenia w pomieszczeniach, różnice w porze przeprowadzania eksperymentów w ciągu doby itp. Chociaż należy też podkreślić, że na ogół zespoły naukowe starają się ujednolicić przynajmniej niektóre z tych parametrów – zwykle jednak pula zwierząt przeznaczonych do danego eksperymentu jest mniej więcej w tym samym wieku, doświadczenia wykonuje się o stałej porze dnia, oświetlenie jest zwykle wystandardyzowane – i parametry te są zwykle podawane w publikacji.

Zmienność biologiczna

Ważnym czynnikiem, który należy brać pod uwagę przy analizowaniu przyczyn „niepowtarzalności” wyników badań z użyciem zwierząt doświadczalnych jest tzw. zmienność biologiczna, właściwa nie tylko tzw. szczepom niekrewniaczym (*outbred strains*), ale też szczepom pozyskanym w wyniku chowu wsobnego (*inbred strains*).

Do badań laboratoryjnych pozyskuje się zwierzęta od certyfikowanych hodowców o międzynarodowej renomie i międzynarodowym zasięgu, takich jak

Charles River albo Jackson Laboratory. Najczęściej w badaniach laboratoryjnych używa się szczurów lub myszy, a te ostatnie – z uwagi na bardzo rozwinięte modyfikacje genetyczne wprowadzane przez badaczy – stały się najbardziej popularne (tzw. myszy transgeniczne). Charles River ma w swojej ofercie takie szczepy wsobne jak m.in. B6 Albino, BALB/c, C57BL/6, C3H, DBA/2, 129-Elite, A/JCr, SJL-Elite.

Szczepy krewniacze (*inbred*) definiuje się jako kolonie pozyskane po min. 20 pokoleniach krzyżowania brat-siostra i uważa się, że w ten sposób mamy do czynienia z osobnikami identycznymi pod względem genetycznym. W tym kontekście bardzo interesujące są wyniki badań przedstawione już w 1999 r. w pracy autorstwa Crabbe, Wahlsten i Dudek, opublikowanej w prestiżowym czasopiśmie *Science* [3]. W badaniach tych podzielono grupy zwierząt (6 szczepów identycznych pod względem genetycznym, samce i samice) pomiędzy 3 różne laboratoria (w Albany w stanie Nowy York, Edmonton w Kanadzie i Portland w stanie Oregon) i wykonano w tych laboratoriach analogiczne doświadczenia behawioralne, stosując takie same aparaty pomiarowe. W oryginalnym eksperymencie wykonano następujące testy:

- aktywność lokomotoryczna w teście wolnego pola;
- eksploracja w teście podwyższonego labiryntu krzyżowego (mierzy reakcje lękowe);
- test pręta obrotowego (test mierzy zdolność utrzymania się zwierzęcia na walcu obracającym się z ustaloną prędkością);
- test Morrisa (polega na poszukiwaniu platformy w basenie wypełnionym wodą, test stosowany w badaniach uczenia się i pamięci);
- aktywacja lokomotoryczna wywołana podaniem kokainy;
- preferencja pobierania alkoholu w stosunku do wody

Okazało się, że wśród tych testów były takie, które dawały mniej więcej podobne rezultaty (np. we wszystkich laboratoriach dało się potwierdzić znane fakty, tj. większą preferencję w kierunku alkoholu u myszy szczepy C57BL/6J niż myszy DBA/2J, czy też to, że samice piją więcej niż samce), ale testy, które mierzyły reakcje lękowe czy też aktywność eksploracyjną dawały odmienne wyniki. Autorzy tego eksperymentu – oraz następnego, rozszerzonego [17] – interpretowali zaobserwowane różnice w wynikach, zależne od miejsca wykonania testu, jako wynikające z naturalnej odmienności czy to personelu opiekującego się zwierzętami, czy to ogólnego otoczenia laboratoryjnego, wody czy oświetlenia.

Eksperymenty te były ważne zwłaszcza w kontekście nadchodzącej wtedy lawinowo nowej ery badań z zastosowaniem zwierząt transgenicznych. Takie badania wymagają bowiem behawioralnej weryfikacji znaczenia poszczególnych genów, których wyciszenia bądź nadekspresji można było dokonywać w organizmie zwierzęcym [17]. W późniejszych publikacjach Crabbe, Wahlsten i współpracownicy podsumowali swoje obserwacje, wskazując kryteria pozwalające na zbudowanie stabilnych warunków testowania, które pozwolą generować wiarygodne wyniki, powtarzalne w różnych laboratoriach. Dyskusja tego typu była niezbędna i pozwoliła na uświadomienie dużego zróżnicowania sposobów przeprowadzania testów behawioralnych, kiedy nawet drobne szczegóły mogą mieć znaczenie dla wyniku końcowego. Uświadomiono sobie także, że różne szczepy myszy najczęściej używane w laboratoriach mogą zachowywać się odmiennie w różnych testach, takich jak preferencja alkoholu, test wymuszonego pływania, aktywność eksploracyjna, poszukiwanie platformy w basenie wypełnionym wodą, test pręta obrotowego [4; 12]. Generalna konkluzja tych rozważań jest taka, że przy testowaniu różnych zwierząt transgenicznych w celu identyfikacji roli określonego zmutowanego genu należy brać pod uwagę behawioralną charakterystykę tła genetycznego, na jakim opracowano model transgeniczny.

Przyczyny zmienności biologicznej – okres prenatalny

Jednakże do powstania zróżnicowanych wyników w testach behawioralnych (ale i biochemicznych czy molekularnych) może się także przyczyniać zindywidualizowanie osobnicze, o którym często zapominamy – co jest uzasadnione tym, że stosując szczepy krzyżowane krewniaczo, wsobne, mamy prawo sądzić, że tych różnic osobniczych nie będzie... A mimo, że stado krewniacze jest „identyczne pod względem genetycznym”, to regułą w badaniach laboratoryjnych są zróżnicowane odpowiedzi zwierząt w danej grupie doświadczalnej. Sytuacja jest podobna do tej, jaką spotyka się u bliźniąt jednojajowych (monozygotycznych), kiedy mimo tożsamości, identyczności genomu napotyka się zauważalne różnice w wyglądzie czy zachowaniu takich osób. Różnice te są na ogół przypisywane złożonym zależnościom środowiskowym, w tym współzawodnictwie między osobnikami czy zróżnicowanej opiece rodzicielskiej, co z kolei jest często pomijane w przypadku – na ogół liczego – rodzeństwa mysiego. Należy tu wspomnieć ciekawe opracowanie z roku 1966 pt. „Mysie

społeczeństwo” autorstwa Petera Crowcrofta [5], która to praca – opisująca co prawda osobniki pochodzenia naturalnego, a nie szczepy laboratoryjne – znakomicie pokazuje zróżnicowaną „osobowość” zwierząt. U myszy można bowiem wyróżnić temperament, czyli – antropomorfizując – osobowość. Doświadczeni behawiorysty niejednokrotnie napotykały zróżnicowane zachowania w grupie osobników identycznych pod względem genetycznym – np. w teście podniesionego labiryntu krzyżowego zawsze można spotkać osobnika, który spędzi cały czas eksperymentu w centrum labiryntu i nie wejdzie do żadnego ramienia.

Próby wyjaśnienia podobnych zachowań w szczepach krzyżowanych krewniaczo, a więc jednorodnych pod względem genetycznym, napotykały na trudności. Ciekawym przyczynkiem jest zwrócenie uwagi na ułożenie płodów w macicy. Macica myszy ma budowę dwurożną a mioty, zazwyczaj liczne mioty ułożone są liniowo w każdym z tych rogów. Pomiędzy płodami następuje wymiana hormonalna i wykazano, że płód płci męskiej ułożony w macicy pomiędzy dwoma samicami będzie nieco inny niż płód płci męskiej, któremu zdarzyło się dojrzewać pomiędzy dwoma samcami [14] i ta pozycja ma przełożenie na zachowania w późniejszym życiu postnatalnym – ekspozycja na androgeny ma bowiem wpływ na rozwój mózgu, w tym ośrodków odpowiedzialnych za zachowania agresywne, dlatego osobniki ułożone pomiędzy samcami będą bardziej agresywne niż te ułożone pomiędzy samicami. Z kolei samice ułożone pomiędzy samcami mogą wykazywać cechy bardziej „samcze” (maskulinizacja). Wykazano także, że bliskość płodów płci żeńskiej wpływa na rozwój gruczołu krokowego samców. Ciekawe jest to, że u szczurów większy efekt ma ogólna proporcja samic i samców w miocie niż konkretne wzajemne ułożenie płodów w macicy.

Wpływ hormonów na wczesne stadia rozwoju osobniczego realizuje się poprzez złożone szlaki biochemiczne, których immanentną cechą jest możliwość stochastycznego błędu. Podobnie taka możliwość może wystąpić na etapie regulacji ekspresji genów – poprzez takie procesy jak metylacja DNA czy kondensacja chromatyny (są to zmiany w strukturze materiału genetycznego, DNA) – dlatego u poszczególnych osobników może dochodzić do niewielkich różnic fenotypowych mimo identycznego genotypu. Zmiany te mogą być następnie wzmacniane podczas rozwoju osobniczego. Oczywiście należy także pamiętać o możliwości powstania drobnych zmian w samym genomie. Punktowe mutacje genetyczne są raczej rzadkie, ale genom ssaków zawiera rozliczne

tw. powtórzone sekwencje minisatelitarne (VNTR, *variable numbers of tandem repeats*) i transpozony, które także mogą dokładać swój udział do zróżnicowania osobniczego. Obliczono, że u gryzoni częstość spontanicznych wariacji może wynosić ok. 10 na genom na pokolenie [1] i te sekwencje minisatelitarne wykazują dużą podatność na taką zmienność. Nie do końca wiadomo, jaki wpływ mają te sekwencje na fenotyp, szczególnie u myszy, ale na ich znaczenie mogą wskazywać przykłady badań na materiale ludzkim. Wskazuje się m.in. na korelacje określonych sekwencji VNTR występujących w pobliżu genu kodującego insulinę z częstością występowania cukrzycy typu I i z otyłością dziecięcą.

W rozwoju osobniczym może dochodzić do współzawodnictwa o substancje odżywcze. W badaniach wpływu suplementacji diety matki nienasyconymi kwasami tłuszczowymi na zachowania potomstwa wykazano silną korelację z zachowaniami dominującymi. Z drugiej strony potomstwo niedożywionych matek wykazywało więcej zachowań submisyjnych (podporządkowanie). W ogóle „losy” matki odgrywają ogromną rolę w późniejszym życiu potomstwa. Między innymi rozmaite sytuacje stresowe – zagęszczenie, przegrzanie, unieruchomienie czy też infekcja – wywołują zmiany w zdolnościach eksploracyjnych, zachowaniach agresywnych czy dominacji. Jakkolwiek intuicyjnie można by się tego spodziewać i są to ważne obserwacje, to jednak należy podkreślić, że zwierzęta hodowane z przeznaczeniem do badań naukowych nie będą poddawane tego typu stresom.

Przyczyny zmienności biologicznej – okres postnatalny

Ciekawe natomiast jest spojrzenie na wczesny okres postnatalny, czyli zaraz po urodzeniu: jak opisano wyżej, dany miot, nawet identyczny pod względem genetycznym (ale już zróżnicowany ze względu na drobne zmiany w sekwencjach minisatelitarnych czy stan chromatyny), jest zróżnicowany poprzez swoją pozycję w macicy, czyli ekspozycję na hormony płciowe. A więc oseski rodzą się już niejednakowe, mimo tego samego genomu. Zróżnicowaniu ulega też możliwość zdobycia pokarmu po urodzeniu – asertywne samce będą szybciej przybierać na wadze, bo efektywniej i szybciej znajdą drogę do matczynej sutka; z kolei te mniej asertywne osobniki będą przeżywać „stres społeczny” i będą słabiej odżywione. To wszystko będzie miało fundamentalny wpływ na „status społeczny” w stadzie i ogólnie na mieralne w testach parametry zachowania. Podobnie ważna jest ogólna opieka matczyna – nie wszystkie oseski

są tak samo traktowane przez matkę – wykazano, że matczyna opiekuńczość przyczynia się do wzrostu zachowań agresywnych, ale też do osiągnięcia wyższego statusu w hierarchii stada przez samce [2; 13].

Wydawać by się mogło, że mając te wszystkie informacje – m.in. pozycja płodu w macicy, poziom hormonów płciowych, poziom odżywienia, stopień zaangażowania matki w opiekę – można wytypować behawioralne predyspozycje danego osobnika. Hilakivi-Clark i Lister [7] zadali to pytanie w eksperymencie, w którym pogrupowano osobniki za względu m.in. na ich zachowania lękowe, poziom zachowań agresywnych czy zdolności eksploracyjne i umieszczono je w klatkach po 4–5 osobników. W każdej z klatek wytworzyła się dość szybko hierarchia i nie zaobserwowano żadnej korelacji pomiędzy tymi „przedwstępnymi predyspozycjami” a pozycją myszy w hierarchii. Wniosek z tych badań wyciągnięto taki, że nie można wykluczyć istnienia tych „przedwstępnych predyspozycji”, ale mogą one nie być najważniejsze albo też zastosowane w tej „preselekcji” testy były nieadekwatne do określenia tego „końcowego” fenotypu. Tu można się pokusić o dygresję dotyczącą statusu społecznego w gatunku *Homo sapiens* – często rola społeczna, jaką pełni (lub jaką los nas obdarzył), zależy od tego, w jakim towarzystwie się znajdziemy...

Naturalnie jest wiele badań charakteryzujących zwierzęta laboratoryjne w zależności od ich statusu w hierarchii stada – wydaje się na przykład, że dominujące samce mają wyższą ogólną aktywność i, chociaż są bardziej agresywne, to jednak wykazują silniejsze zachowania lękowe w teście podniesionego labiryntu krzyżowego niż osobniki podporządkowane. Są też badania dotyczące zróżnicowanej odpowiedzi na związki farmakologiczne (m.in. leki psychotropowe, leki uzależniające, alkohol) w zależności od statusu osobnika w hierarchii – ale to już inna opowieść. W tym artykule staramy się odpowiedzieć na pytanie, skąd w ogóle bierze się zróżnicowanie w stadzie krzyżowanym krewniaczo (czyli o identycznym genomie).

Czy neurogeneza w dorosłym mózgu ma znaczenie dla statusu społecznego w stadzie?

Większa ogólna aktywność skorelowana ze statusem w stadzie może przyczyniać się do wzrostu neurogenezy w hipokampie, co z kolei poprawia pamięć i zdolności uczenia się. Można założyć, że wytwarza się w ten sposób pętla dodatniego sprzężenia zwrotnego, która wzmacnia dominujący status osobnika. Z takim założeniem wykonano ciekawy eksperyment,

którego wyniki opublikowano w *Science* [6]. Badania wykonano na myszach szczepu C57BL/6N (samice, $n = 40$); utrzymywano je w wyjątkowo wzbogaconym środowisku (cały układ nazwano instalacją) przez 3 miesiące, a dzięki identyfikatorom radiowym, w które wyposażono zwierzęta oraz antenom zlokalizowanym w różnych miejscach instalacji, w której się znajdowały, mierzono parametry eksploracyjne. Po zakończeniu eksperymentu behawioralnego zmierzono poziom neurogenezy w hipokampie, jako markera rozwoju mózgu, poprzez pomiar dzielących się neuronów – czyli określano liczbę tych, w których można było zidentyfikować inkorporację bromo-deoxy-urydyny do DNA. Zwierzęta pozostające przez 3 miesiące w tym wzbogaconym środowisku rzeczywiście wykazywały silniejszą neurogenezę niż zwierzęta kontrolne (dla ścisłości – był to mniejszy spadek liczby nowych neuronów związany z wiekiem); ponadto zauważono wzrost liczby innych ważnych komórek mózgu, tj. astrocytów. Naturalnie zauważono też w tym eksperymencie indywidualne różnice wśród osobników w ich aktywności eksploracyjnej. Nie udało się jednak uzyskać znamiennej statystycznej korelacji tego parametru ze stopniem neurogenezy. Było to rozczarowujące i przeczyło wstępnej hipotezie zakładającej, że indywidualne różnice w zachowaniu poszczególnych osobników miałyby wynikać z różnicy w procesach zawiadujących neurogenezą. Hipoteza taka była uzasadniona, gdyż uważa się, że hipokampalna neurogeniza jest procesem odpowiedzialnym za plastyczne adaptacje, szczególnie w obliczu nowych doświadczeń i wyzwań nakładanych przez złożoność środowiskową. Ponieważ indywidualne różnice w zachowaniu zwierząt eksperymentalnych były jasno widoczne, dlatego autorzy badań postanowili spojrzeć na wyniki poprzez oszacowanie prawdopodobieństwa, że dana mysz znajdzie się w danym miejscu w określonym czasie, co pozwoliło oszacować zakres terytorium eksplorowany przez zwierzę. Nazwano ten parametr „nieuporządkowaniem wędrówek” (*roaming entropy*, RE). Jest to parametr zmieniający się w sposób ciągły. Niskie RE wykazują myszy eksplorujące mały zakres terytorium albo nawet, gdy eksplorują większy zakres, to skupiają zainteresowanie na zaledwie kilku punktach oddalonych od siebie. RE jest wysokie, gdy mysz eksploruje równomiernie cały dostępny im obszar. Dalej pomiary RE podzielono na 4 interwały czasowe po 24 dni każdy i wyniki poddawano różnym analizom, wyznaczając m.in. kumulatywną entropię wędrówek. Dopiero takie zaawansowane podejście do problemu pozwoliło wykazać, że u myszy, które szeroko eksplorowały otoczenie, można było

faktycznie zaobserwować więcej nowych neuronów w hipokampie.

Szczepy krewniacze (*inbred*) vs niekrewniacze (*outbred*)

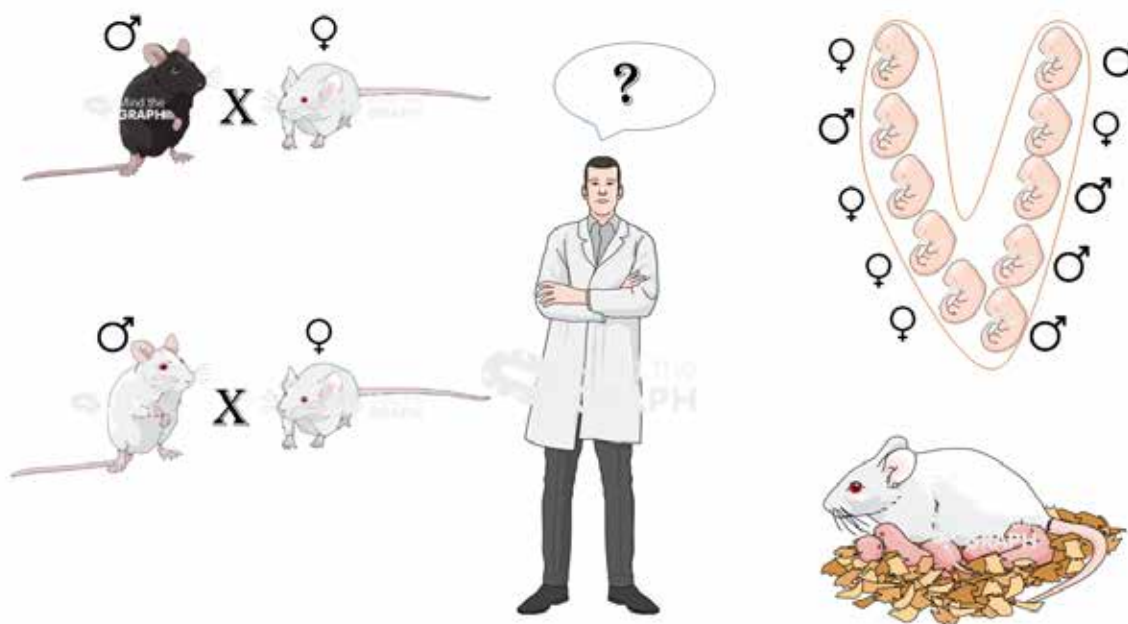
Badania tego typu pokazują, że wcale nie jesteśmy blisko odpowiedzi na pytanie, dlaczego osobniki ze szczepów krzyżowanych krewniaczo są jednak zmienne – mimo, że stosując takie szczepy chcemy mieć pewność, że zmniejszamy w ten sposób rozrzut wyników doświadczalnych. Na dodatek należy wspomnieć o ostatnio opublikowanej w *Nature Methods* meta-analizie, w której autorzy porównali wyniki różnych badań z zakresu biomedycyny wykonanych z zastosowaniem szczepów krzyżowanych krewniaczo i niekrewniaczo [15]. Porównano 107 opublikowanych artykułów naukowych, w których można było dokonać oszacowania wyników dotyczących 741 parametrów, pogrupowanych w następujące kategorie: zmienność anatomiczna, zachowania zasocjowane z funkcjonowaniem układu nerwowego, inne zachowania, funkcje układu immunologicznego, parametry biochemiczne, funkcjonowanie organów. Niespodziewane wnioski z tych analiz prowadzą do konkluzji, że szczepy krzyżowane krewniaczo wcale nie są bardziej stabilne niż szczepy niekrewniacze – w oryginale brzmi to tak: „...in most instances the *inbred* population is not less noisy than *outbreds*”. Co więcej, autorzy konkludują, że szczepy niekrewniacze są nawet lepiej przystosowane do badań naukowych, gdyż pozwalają na uzyskanie wyników bardziej odzwierciedlających sytuację naturalną. Zmienność fenotypowa, jaką widzimy w populacji krzyżowanej krewniaczo, odzwierciedla nienaturalny stan alleli i ich wariantów. W odpowiedzi na perturbacje środowiskowe osobnik ma ograniczone możliwości reagowania, podczas gdy stado niekrewniacze ma wiele wariantów allelicznych, które mogą sprzyjać precyzyjnej odpowiedzi na wyzwania. Zmienność i różnorodność tła genetycznego może mieć właśnie efekt buforujący i stabilizujący końcowy fenotyp. Autorzy mocno opowiadają się za stosowaniem w badaniach laboratoryjnych szczepów krzyżowanych niekrewniaczo, poza oczywiście sytuacjami, kiedy dokładna charakterystyka genotypowa jest przedmiotem badań, jak często się zdarza m.in. w badaniach immunologicznych.

Podsumowanie

W niedawnym poważnym i obszernym opracowaniu analizującym problem niskiej powtarzalności

wyników badań z zakresu biomedycyny wykonywanych z użyciem zwierząt laboratoryjnych autoryzują zróżnicowanie grup badanych zwierząt poprzez mieszanie nie tylko szczepów laboratoryjnych i płci, ale też wprowadzenie do badań zwierząt hodowanych w warunkach naturalnych [16]. Trudno powiedzieć, czy to się w ogóle da wprowadzić do praktyki. Należy bowiem podkreślić, że na problem niskiej powtarzalności wyników badań zwracano uwagę od co najmniej 20 lat i niewiele się w tej sprawie zmienia. Niemniej jednak wydaje się,

że zmienność biologiczna zwierząt laboratoryjnych jest istotnym czynnikiem, który z jednej strony niejednokrotnie „zaburza” idealny układ doświadczalny, ale z drugiej – jest arcyciekawym zjawiskiem. Należy jednak podkreślić, że ogromna większość spośród dostępnych leków została dopuszczona do stosowania w klinice właśnie dzięki szerokim badaniom na zwierzętach. Podobnie jak wiele substancji mających potencjał terapeutyczny zostało wykluczonych z klinicznych zastosowań dzięki tym badaniom.



Ryc. 1. Nerozwieszony problem – jak stworzyć najlepszy układ doświadczalny z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych? Opracowanie autorów z wykorzystaniem zasobów mindthegraph.com

Bibliografia:

1. Bois, P., Stead, J.D., Bakshi, S., Williamson, J., Neumann, R., Moghadaszadeh, B., Jeffreys, A.J. (1998). Isolation and characterization of mouse minisatellites. *Genomics*. 50, 317-330.
2. Champagne, F.A., Francis, D.D., Mar, A., Meaney, M.J. (2003). Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. *Physiol Behav*. 79, 359-371.
3. Crabbe, J.C., Wahlsten, D., Dudek, B.C. (1999). Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. *Science*. 284, 1670-1672.
4. Crawley, J.N., Belknap, J.K., Collins, A., Crabbe, J.C., Frankel, W., Henderson, N., Hitzemann, R.J., Maxson, S.C., Miner, L.L., Silva, A.J., Wehner, J.M., Wynshaw-Boris, A., Paylor, R. (1997). Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies. *Psychopharmacology (Berl)*. 132, 107-124.
5. Crowcroft P., (1966). *Mice all over*. G. T. Foulis & Co., London

6. Freund, J., Brandmaier, A.M., Lewejohann, L., Kirste, I., Kritzler, M., Krüger, A., Sachser, N., Lindenberger, U., Kempermann, G. (2013). Emergence of individuality in genetically identical mice. *Science*. 340, 756-759.
7. Hilakivi-Clarke, L.A., Lister, R.G. (1992). Are there preexisting behavioral characteristics that predict the dominant status of male NIH Swiss mice (*Mus musculus*)? *J Comp Psychol*. 106, 184-189.
8. Hines, W.C., Su, Y., Kuhn, I., Polyak, K., Bissell, M.J. (2014). Sorting out the FACS: a devil in the details. *Cell Rep*. 6, 779-781.
9. Ioannidis, J.P. (2005). Why most published research findings are false. *PLoS Med*. 2, e124.
10. Ioannidis, J.P. (2016). Why Most Clinical Research Is Not Useful. *PLoS Med*. 13(6), e1002049.
11. Klionsky, D.J. (2016). Developing a set of guidelines for your research field: a practical approach. *Mol Biol Cell*. 27, 733-738.
12. Loos, M., Koopmans, B., Aarts, E., Maroteaux, G., van der Sluis, S., Neuro-BSIK Mouse Phenomics Consortium, Verhage, M., Smit, A.B. (2015). Within-strain variation in behavior differs consistently between common inbred strains of mice. *Mamm Genome*. 26, 348-354.
13. Meaney, M.J. (2001). Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annu Rev Neurosci*. 24, 1161-1192.
14. Ryan, B.C., Vandenbergh, J.G. (2002). Intrauterine position effects. *Neurosci Biobehav Rev*. 26, 665-678.
15. Tuttle, A.H., Philip, V.M., Chesler, E.J., Mogil, J.S. (2018). Comparing phenotypic variation between inbred and outbred mice. *Nat Methods*. 15, 994-996.
16. Voelkl, B., Altman, N.S., Forsman, A., Forstmeier, W., Gurevitch, J., Jaric, I., Karp, N.A., Kas, M.J., Schielzeth, H., Van de Castele, T., Würbel, H. (2020) Reproducibility of animal research in light of biological variation. *Nat Rev Neurosci*. 21, 384-393.
17. Wahlsten, D., Metten, P., Phillips, T.J., Boehm, S.L. 2nd, Burkhart-Kasch, S., Dorow, J., Doerkson, S., Downing, C., Fogarty, J., Rodd-Henricks, K., Hen, R., McKinnon, C.S., Merrill, C.M., Nolte, C., Schalomon, M., Schlumbohm, J.P., Sibert, J.R., Wenger, C.D., Dudek, B.C., Crabbe, J.C. (2003) Different data from different labs: lessons from studies of gene-environment interaction. *J Neurobiol*. 54, 283-311.

SKUPIENIEC LIPOWY *OXYCARENUS* *LAVATERAE* (FABRICIUS, 1787) NOWY INWAZYJNY PLUSKWIAK NA LIPACH W KRAKOWIE

Pluskwiak należy do podrzędu pluskwiaków różnoskrzydłych i rodziny Oxycarenidae. Owad wyróżnia się spośród innych przedstawicieli rodzaju w Europie największymi rozmiarami ciała (4,8 – 6,0 mm), czerwoną nasadą półpokryw, jednolicie czarnym przedpleczem, głową i czułkami oraz bezbarwną i przezroczystą błonką półpokryw [7] (Ryc. 1).



Ryc. 1. Kopulująca para skupieńca lipowego *Oxycarenus lavaterae* – Libertów 30.08.2020 r. Fot. M. Kosibowicz.

Do niedawna nie był wykazywany z terenów naszego kraju. Jeden osobnik pluskwiaka śródziemnomorskiego, bo tak na początku był określany, znaleziony został w marcu 2014 roku w Rzeszowie pod korą platana (*Platanus acerifolia*) [2]. Od tego momentu mamy coraz więcej informacji na temat jego inwazji na terenie kraju. Dzięki jego behawioryzmowi po-

legającemu na agregacji wielu osobników (Ryc. 2), tworzących liczne, nawet kilkudziesięczne skupiny na pniach lip, ochrzczonego został skupieńcem lipowym [5]. Koncentracja w licznych grupach na pniach lip ułatwia śledzenie rozprzestrzeniania się pluskwiaka na terenie naszego kraju. Zjawisko to jest łatwo zauważalne nawet przez osoby przypadkowe, dzięki

czemu mamy wiele informacji o nowych miejscach jego pojawiania się, bardzo często publikowane wraz ze zdjęciami w internecie, na forach i portalach społecznościowych oraz w lokalnych gazetach. W 2018 r. wykazany z Cieszyna, a następnie z szeregu stanowisk na Dolnym Śląsku (Brzeg, Bielawa, Wrocław,

Libertów, Kraków). W Krakowie wykazany z Parku Jordana w 2019 r. [8], w następnym roku jest już w wielu miejscach miasta i w sąsiednich miejscowościach, gdzie licznie opanowuje pnie lip, głównie drobnolistnych. Pierwotną ojczyzną skupieńca lipowego jest rejon basenu śródziemnomorskiego



Ryc. 2. Agregacja pluskwiaków *Oxycarenus lavatae*. Fot. M. Kosibowicz.

Legnica, Nysa, Oława, Jawor, Racibórz) [1,2,4]. W chwili obecnej jest już w województwach: lubuskim (Gubin, Słubice, Nowa Sól, Zielona Góra), wielkopolskim (Kalisz, Poznań, Pleszew, Nowy Tomyśl, Radzewo k. Kórnik, Piotrowice k. Czempania, Ostrzeszów), łódzkim (Łódź, Radomsko), kujawsko-pomorskim (Bydgoszcz), opolskim (Brzeg, Opole, Gogolin, Gubin), śląskim (Tychy), świętokrzyskim (Sandomierz) i małopolskim (Oświęcim,

obejmujący Wyspy Kanaryjskie, północno-zachodnią część kontynentalnej Afryki Północnej oraz południowo-zachodnią Europę. Naturalny zasięg w tej ostatniej obejmował Półwysp Iberyjski, Francję, niemal całe Włochy oraz północno-zachodnią część Półwyspu Bałkańskiego. W latach osiemdziesiątych ubiegłego wieku pluskwiak zaczął szybko rozszerzać swój areal w kierunku północnym i wschodnim, stając się w wielu krajach gatunkiem inwazyjnym.

W 1985 r. znaleziono go w Czarnogórze, w 1994 r. na Węgrzech, w 1995 r. na Słowacji, w 1996 r. w Serbii, w 1998 r. w Bułgarii, w 1999 r. w północnej Francji, w 2001 r. w Austrii, w 2002 r. w północnej Szwajcarii, w 2003 r. w Finlandii, a w 2004 r. w Czechach i Niemczech. Do Rumunii gatunek ten dotarł w 2009 r., a w 2017 roku po raz pierwszy zaobserwowano go w północno-zachodniej Turcji. Obecnie gatunek ten podawany jest już z Holandii i Wielkiej Brytanii [4]. Przyczyny tej szybkiej inwazji można upatrywać we wzroście temperatury w ostatnich latach na terenie północnej i wschodniej Europy oraz łagodnym zimą, bez dłuższych okresów z temperaturą poniżej -15°C , przy której te owady giną. W terenach swego pochodzenia pluskwiak żeruje na roślinach zielnych z rodziny ślazowatych (Malvaceae), w warunkach polskich kojarzony jest tylko z lipami, na których gromadzi się w końcu lata w celach hibernacji zimowej.

W 2016 roku ze ślinianek pluskwiaka wyizolowano nowy dla nauki gatunek świdrowca *Phytomonas*

oxycareni. Przedstawiciele rodzaju *Phytomonas* są pasożytami roślin, a pluskwiak ten służyć może jako ich wektor [6]. Nie wykryto jednak zakażeń lip, stąd przypuszcza się, że pluskwiaki na nich nie żerują, a jedynie żywią się wypływającym sokiem, podobnie jak często z nimi współwystępujący pluskwiak kowal bezskrzydły *Pyrrhocoris apterus*. Co prawda są doniesienia, że osobniki dorosłe tuż po przezimowaniu prowadzą żer na młodych liściach lip, wywołując ich uszkodzenia i deformacje [3]. Wydaje się koniecznym prowadzenie dalszych obserwacji owadów celem określenia ich potrzeb pokarmowych i sposobu żerowania na terenach inwazyjnych.

Mieczysław Kosibowicz
Instytut Badawczy Leśnictwa –
Zakład Lasów Górskich w Krakowie
e-mail: M.Kosibowicz@ibles.waw.pl

Bibliografia:

1. Gierlasiński G., Kolago G., Rutkowski T., Taszakowski A., Klejdysz T., Regner J., Fiedor M., Rakoczy T., Żurawlew P. (2018). Nowe stanowiska rzadkich i ciekawych pluskwiaków różnoskrzydłych (Hemiptera: Heteroptera) w Polsce. „Heteroptera Poloniae Acta Faunistica”. 12, s. 65-73
2. Hebda G., Olbrycht T. (2016). *Oxycarenus lavaterae* (FABRICIUS, 1787) (Hemiptera: Heteroptera: Oxycarenidae) – gatunek nowy dla fauny Polski. Wiadomości Entomologiczne 35: 133-136.
3. Kment P. (2010). Blánatka lipová – podivuhodný přírůstek v naší fauně ploštic. Živa 1: 30–31.
4. Kuźmiński R., Mazur A. (2019). Pierwsze stanowiska inwazyjnego gatunku *Oxycarenus lavaterae* (Fabricius, 1787) (Hemiptera: Heteroptera: Oxycarenidae) w środkowo-zachodniej Polsce. Acta Sci. Pol. Silv. Colendar. Ratio Ind. Lignar. 18(4), 221–225
5. Lis B., Kadej M., Mazurek J. (2019). Dane na temat rozprzestrzeniania się inwazyjnego gatunku *Oxycarenus lavaterae* (Fabricius, 1997) (Heteroptera: Lygaeoidea: Oxycarenidae) w południowo-zachodniej części Polski. Heteroptera Poloniae – Acta Faunistica. vol.13: 3-17. Opole, 00 II 2019.
6. Seward E.A., Votýpka J., Kment P., Lukeš J., Kelly S. (2016). Description of *Phytomonas oxycareni* n. sp. from the salivary glands of *Oxycarenus lavaterae*. Protist 168: 71–79 [2017].
7. Wachman E., Melber A., Deckert J. (2007). Wanzen. Band 3. Pentatomomorpha I. Aradidae, Lygaeidae, Piesmatidae, Berytidae, Pyrrhocoridae, Alydidae, Coreidae, Rhopalidae, Stenocephalidae. Die Tierwelt Deutschlands, 78 Teil, Goecke & Evers, Keltern

Internet:

8. <https://entomo.pl/forum/viewtopic.php?f=901&t=39694&hilit=Oxycarenus+lavaterae>

NIEPROSZENI GOŚCIE W MOIM MIESZKANIU

Mieszkam na peryferiach Mrągowa w bloku mieszkalnym wybudowanym na skraju lasu. Pewnie z powodu tej lokalizacji niewielkie zwierzęta składają mi wizyty od wiosny do jesieni. Oswoiłam się już z tym faktem. Zawsze staram się nieproszonych gości wypuścić na wolność, chyba że wcześniej same sobie poradzą. Ponieważ moje mieszkanie znajduje się na II piętrze, niespodziewani goście najczęściej wlatują przez uchylone okna od strony lasu lub wchodzi po chropowatym tynku. Odwiedzają mnie pająki, osy, komary, mrówki, uprzykrzone muszki owocowe i poszukujące zimowisk niektóre motyle, biedronki i muchy. Wszystkie wymienione należą do stawonogów – najliczniejszego pod względem liczby gatunków typu zwierząt.



Ryc. 1. Sierpoń żółty. Fot. M.Olszowska.

Stawonogi zasiedlają różnorodne środowiska. Ich ciało podzielone jest na niejednakowe segmenty tworzące głowę, tułów i odwłok, przy czym głowa może zrastać się z tułowiem w głowotułów. Po bokach ciała wyrastają odnóża, także zbudowane z segmentów połączonych ruchomo przy pomocy stawów. Ciało stawonoga pokrywa sztywna kutykula z chityną, wyssycona niekiedy solami wapnia. Dlatego stawonogi w czasie wzrostu linieją, zrzucając stary pancerz i wy-

tworząc nowy dostosowany do większych rozmiarów ciała (wzrost skokowy). Do typu stawonogów należą gromady skorupiaków, owadów, wijów i pajęczaków. Najliczniej odwiedzają mnie latające owady, mniej licznie pajęczaki i wiję. Przedstawię te, które warto są tego z różnych powodów.

Ten owad zastygł nieruchomo na wewnętrznej stronie abażura świecącej się kuchennej lampy. Choć nie jest ćmą, to prowadzi nocny tryb życia i przylatuje

do światła. Sierpoń żółty (*Ophion luteus*) to błonkówka z rodziny gąsieniczników (Ryc. 1). Jest dość duży, osiąga długość ciała od 15 do 25 mm. Ciało ma żółtopomarańczowe, smukłe, z małą głową. Rzucają się w oczy długie odnóży i bardzo długie wieloczłonowe, nitkowate czułki. Odwłok wygięty jest sierpowato i stąd nazwa rodzajowa. Owad jest parazytoideum – pasożytem atakującym gąsienice motyli różnych gatunków. Wydaje dwa pokolenia w roku. Samica składa do ciała gąsienicy motyla tylko jedno jajo. Służy jej do tego krótkie pokładelko. Pokładelko używa także do obrony jako żądła. Cały rozwój złożony od jaja przez larwę i poczwarkę odbywa się kosztem żywiciela i doprowadza do jego śmierci. Jest to jeden z wielu przykładów walki biologicznej w naturze. Z tego powodu sierpoń żółty uznawany jest za gatunek pożyteczny, regulujący liczebność motyli, także tych, które są szkodnikami drzew.

Groźnego szerszenia europejskiego (*Vespa crabro*), największego z rodziny osowatych, zauważyłam, podlewając kwiatki na balkonie. Siedział na doniczce z pelargonią na parapecie balkonowego okna (Ryc. 2). Jego użądlenie może być niebezpieczne dla osób uczulonych na jad osowatych. Szerszeń ma czarny tułów w rude plamy i żółty odwłok w czarne pasy. Jego

niona poprzedniego roku samica-matka. Z próchniejącego drewna i własnej śliny wytwarza wewnątrz gniazda papierową masę i buduje z niej plastry, a następnie składa w nich jaja. Z jaj wylęgają się larwy, początkowo karmione przez matkę. Szybko kończą rozwój jako robotnice. Od tej pory samica-matka zajmuje się tylko składaniem kolejnych jaj, a na robotnicach spoczywa obowiązek obrony i rozbudowy gniazda, karmienia kolejnych pokoleń larw oraz dbanie o utrzymanie odpowiedniej temperatury w gnieździe. Ostatnie larwy przekształcają się w pokolenie płodnych samic i samców. Z końcem lata odbywa się lot godowy, w czasie którego dochodzi do zapłodnienia samic. Tylko one zimują, a reszta roju ginie.

Piękną metalicznie połyskującą błonkówkę złotolitkę ognistą (*Chrysis ignita*) z rodziny złotolitkowatych nie sposób było nie zauważyć na zielonkawym parapecie balkonowego okna. Złotolitka posiada smukłe, wydłużone ciało z niebieskozieloną głową i tułowiem oraz złotoczerwonym odwłokiem (Ryc. 3). Czasem na tułowiu ma złotozielone, rozmazane plamy. Obie płci są ubarwione tak samo. Ten gatunek należy do największych krajowych złotolitek. Długość ciała samicy wynosi 7–13 mm, a samiec mierzy 6–12 mm. Złotolitka ognista aktywna jest od maja



Ryc. 2. Szerszeń europejski. Fot. M.Olszowska.

głowa zaopatrzona jest w silne żuwaczki z żółtym rysunkiem. Szerszeń żywi się owadami, owocami oraz sokami niektórych drzew. Jest owadem społecznym. Gniazda zakładane są w dziuplach drzew, najczęściej dębów, nawet pod okapem dachu, w uszkodzonych ścianach budynków i w skrzynkach lęgowych. Niektóre z gniazd mogą mieć 50 cm długości i 50 cm wysokości. Wczesną wiosną gniazdo buduje zapłod-

do sierpnia, z apogeum w czerwcu i lipcu. W sprzyjających warunkach pogodowych pojedyncze samice latają aż do początku października. Osobniki dorosłe żywią się nektarem kwiatów roślin selerowatych. Gatunek ten zaliczono do pasożytów gniazdowych. Samica stosuje dwie strategie. Składa swoje jaja do komór jajowych gniazd innych żądłówek, np. pszczoł albo zakrada się do gniazda wtedy, gdy są już w nim

larwy gospodarza. Z jaj złotolutki wylęgają się larwy, które żerują na larwach pszczoł, korzystają również z zapasów pokarmowych zgromadzonych przez pszczoły. Złotolitkę przed użądleniami gospodarza chroni jedynie twardy pancerzyk, który ekspozuje

żerują na różnych roślinach zielnych. Pokrywające ich ciało włoski są gęste, długie i mają piękne zestawienie barw czerwono-rudej z czarną i popielatą. Włoski nie są jednak tylko kolorową ozdobą, bowiem służą również do obrony. Gęste owłosienie stanowi



Ryc. 3. Złotolitka ognista. Fot. M.Olszowska.

w sytuacji zagrożenia. Owad wydaje w sezonie dwa pokolenia.

Obok na ścianie przy balkonowych drzwiach „przycupnęła” niedźwiedziówka kaja (*Arctia caja*). To ćma z rodziny mrocznicowatych, nazywana też niedźwiedziówką nożówką lub niedźwiedziówką gosposią. Spotkać ją można zarówno w lasach, jak i w parkach oraz ogrodach, a nawet w centrach miast! Ćmy kojarzą nam się głównie z szaro-burymi owadami, ale gosposia jest inna... Pierwsza para skrzydeł dorosłych osobników jest biała z licznymi brązowymi łatami o nieregularnym kształcie. Plamy te mogą mieć różny kształt oraz różną wielkość. Często zlewają się ze sobą. Na powierzchni czerwono-pomarańczowych skrzydeł drugiej pary znajdują się okrągłe czarne plamki z niebieskawym połyskiem. Odwłok ma barwę taką jak druga para skrzydeł, z czarnymi, poziomymi kreskami. Tułów i głowa pokryte są jest brązowymi włoskami. Przestrzeń pomiędzy głową a tułowiem jest jaskrawoczerwona, zaś czułki intensywnie białe (Ryc. 4). Dorosłe ćmy pojawiają się w drugiej połowie czerwca i można je obserwować do końca sierpnia. Rozpiętość ich skrzydeł wynosi aż 65–72 mm. To kontrastowe ubarwienie sprawia, że wielu drapieżników rezygnuje z ich konsumpcji, odczytując je jako pokarm niesmaczny i toksyczny. Jest to zresztą zgodne z prawdą. Gąsienice nożówki

termiczną izolację i umożliwia gąsienicom przetrwanie nie tylko zimy, ale też przetrwanie gatunku, bo w tym stadium zimuje niedźwiedziówka kaja.

Dużo owadów zauważam na wewnętrznym białym parapecie okna od strony lasu. Wielobarwnego pluskwiaka różnoskrzydłego zobaczyłam, gdy mozolnie, ale bezskutecznie próbowałam maszerować po pionowej ścianie. Zapewne próbował wylecieć. *Rhabdomiris striatellus* z rodziny tasznikowatych jest jedynym przedstawicielem rodzaju *Rhabdomiris* w naszym kraju. Jest dość duży jak na tasznika, bo długość jego żółto-czarnego ciała sięga około 7–9 mm. Półpokrywy zdobia liczne czarne pręgi i dwie żółte plamy. Żółta jest także trójkątna tarczka. Pluskwiak posiada długie odnóża i długie czułki (Ryc. 5). Występuje licznie w całej Polsce. To typowo leśny pluskwiak spotykany na drzewach i roślinach zielnych. Dorosłe osobniki są drapieżnikami polującymi na mszyce, czerwce, mączliki i roztocze. Są aktywne od maja do sierpnia. Samice składają jaja w żeńskich pąkach kwiatowych dębów, co zazwyczaj prowadzi do ich obumierania. Wylęgnięte larwy żywią się sokami wysysanymi z kwiatostanów i liści dębów.

Któregoś ranka na tym samym parapecie znalazłam niewielką biedronkę pokropkę (*Halysia sedecimgutata*). Przedstawiam ją dlatego, że w przeciwieństwie do innych biedronek nie jest mszycożerna, lecz

grzybożerna. Zjada się mączniakami – grzybami pasożytniczymi atakującymi różne gatunki roślin.

Pokropka prowadzi zarówno dzienny, jak i nocny tryb życia. Mogę się jedynie domyślać, że wleciała wieczorem przez uchylone oświetlone okno i została na noc. W dzień przebywa na liściach różnych gatunków drzew liściastych. Dorosłe chrząszcze można spotkać od kwietnia do końca października. Widy-

wana jest dość rzadko. Żyje na skraju wilgotnych lasów, w parkach i w ogrodach. Jej ciało jest wypukłe, owalne, osiąga długość do 8 mm. Na pomarańczowych pokrywach występują jasne plamki o różnych kształtach, po osiem na każdej pokrywie. Krawędzie pokryw są szkliste i przeźroczyste (Ryc. 6). Zimuje owad dorosły.



Ryc. 4. Niedźwiedziówka kaja. Fot. M.Olszowska.



Ryc. 5. *Rhabdomiris striatellus*. Fot. M.Olszowska.

Łowca czarniawego (*Machimus atricapillus*) zauważyłam między listwami żaluzji okiennej od południowej strony mieszkania. Zapewne wygrzewał się w promieniach słonecznych, bo preferuje miejsca

na owady różnej wielkości, na muchówki, koniki polne i żądłowki. Atakuje ofiarę w locie, nakłuwając i wstrzykując szybko działający jad. Później siada ze zdobyczą i wysysa jej ciało. Tym sposobem odżywia-



Ryc. 6. Biedronka pokropka. Fot. M. Olszowska.



Ryc. 7. Łowiec czarniawy. Fot. M. Olszowska.

naśłonecznione. Występuje zwykle na obrzeżach lasów, dróg, także na polach i łąkach. W Polsce najczęściej spotkać go można od czerwca do września. To jeden z największych gatunków łowców. Osiąga długość ciała do 23 mm. Jego odnóża są wyposażone w liczne „kolce”. Odwłok łowcy jest smukły, u samic zakończony zaostrowym pokładelkiem służącym do składania jaj (Ryc. 7). Ten czarno ubarwiony owad jest drapieżnikiem. Poluje z zasadzki, siedząc nieruchomo na łodydze trawy lub pniu drzewa. Poluje

nia nawiązuje do odżywiania się pajaków, które najpierw czatują w pajęczynie aż wleci w nią ofiara, potem wstrzykują jej jad, na koniec wysysają strawione płynne tkanki. Rozwijające się w ziemi larwy łowcy są drapieżnikami, podobnie jak dorosłe owady.

Na zaciętej wilgotnej ścianie od strony lasu „wdrapał się” wij drewniak (*Lithobius forficatus*) (Ryc. 8). Zwykle trudno go zobaczyć, bo prowadzi skryte, nocne życie. Unika światła słonecznego i dzień spędza ukryty w opadłych liściach, pod kamieniami czy pod odstającą korą drzew. Dorosłe drewniaki dorastają do około 3 cm. Ich silnie spłaszczone ciało jest podzielone na 15 segmentów, a z każdego segmentu wyrasta jedna para odnóży. Głowa jest okrągława i ma dwa długie czułki. Ostatnia para odnóży jest najdłuższa i tak jak czułki jest narządem czucia (dotyku i zapachu). Na tułowie występuje para zmodyfikowanych odnóży z ostrymi chwytowymi pazurkami zawierającymi truciznę. Z ich pomocą ofiara zostaje szybko unieruchamiana, zatrutowana, a następnie zjadana. Niektóre gatunki rodzaju *Lithobius* bronią się przed napastnikiem zastygając w bezruchu i udając martwego. Inne używają kleistej wydzieliny wytwarzanej przez gruczoły na tylnych odnóżach. Drewniaki odnajdują partnerów za pomocą sygnałów zapachowych. Kiedy dojdzie do spotkania, samiec zaczyna okręgać samicę i składa na ziemi spermatofor. Samica z pomocą tylnych odnóży umieszcza go sobie w otworze płciowym. Nasienie jest wykorzystywane od razu wiosną

i latem albo przetrzymywane od jesieni do wiosny przyszłego roku. Po zapłodnieniu jaj (maksymalnie dziesięciu) samica zakopuje je pojedynczo w ziemnych jamkach. Wylęgają się z nich młode, które wy-



Ryc. 8. Wij drewniak. Fot. M. Olszowska.

glądają tak samo jak dorosłe osobniki, są jedynie od nich mniejsze. Rozwój form młodocianych trwa około roku. Drewniaki zapadają w stan diapauzy i zimują w różnych ciemnych i wilgotnych zakamarkach.

Gdy ostatniego dnia października wieczorem zakończyłam pracę nad tym artykułem, zobaczyłam na stole wtyka amerykańskiego (*Leptoglossus occidentalis*), o którym parę dni wcześniej czytałam. Wleciał z pewnością przez uchylone okno. Był wyraźnie zmarznięty, poruszał się powoli, z uniesionymi do góry czułkami. Nie sprawiał wrażenia zaniepokojonego, choć robiłam mu zdjęcia. Kilkakrotnie uniósł tułów z głową i ocierał o siebie przednie odnóża. Ten różnoskrzydły pluskwiak jest dość duży – osiąga 15–18 mm długości. Ma brązową lub czarną głowę z czerwono-żółtymi smugami, kłujką, długimi, segmentowanymi czułkami i wyłupiastymi oczami. Jego odnóża są grube, a uda zaopatrzone w haczyki. Pokrywy skrzydeł mają brązowożółtą barwę, z wzorem przypominającym literę H lub X. Na jego odwłoku występują białe-czarne paski (Ryc. 9).

W naszym kraju spotykany jest od ponad 10 lat. To gatunek inwazyjny, szkodnik iglaków. Wtyki wysysają soki z zielonych szyszek i igieł, powodując ich wysuszenie. Przy masowym, gradacyjnym występowaniu mogą doprowadzić do zamierania drzew i krzewów, zwłaszcza młodych. Naturalnym środowiskiem bytowania tego wtyka są Meksyk, Kanada i Stany Zjednoczone.

Jesienią owad szuka schronienia w naszych domach.

W wiejskich zabudowaniach przebywa więcej zwierząt niż w blokowych mieszkaniach. W gospo-



Ryc. 9. Wtyk amerykański. Fot. M. Olszowska.

darstwach mają dużo możliwości wyszukania schronienia, jak też zdobycia pokarmu. Bociany białe, jaskółki oknówki, dymówki, wróble czy synantropijne nietoperze to niemal domownicy. Karaluchy, owady żyjące w produktach żywnościowych, w odzieży, także gryzonie to niemiłe widziani goście, mogący w gospodarstwach wyrządzać poważne szkody. Moi nieproszeni goście zadziwiają urodą, szkód nie robią, zjedzą jakieś rozsypane resztki i przy okazji posprzątają... Trochę pobędą i odlecą. Zimujące muchy, biedronki i pająki nie przeszkadzają, są niewidoczne, bo zaszywają się w zakamarkach. Gdy nadejdzie wiosna, wyprowadzą się nie wiedząc kiedy. A jak się nie zna nieproszonego gościa, to można sprawdzić, z kim ma się do czynienia i dowiedzieć się o nim czegoś ciekawego. To poszerzy naszą wiedzę o przyrodzie. Nigdy nie wiemy, co w życiu może się przydać...

mgr Maria Olszowska, Mrągowo
e-mail: marjolsz@interia.pl
emerytowana nauczycielka
biologii z Mrągowa

Co wiedzieliśmy o planktonie słodkowodnym 113 lat temu?

Wszechświat 1907, tom XXVI, nr 1, str. 2-6
PLANKTON WOD SŁODKICH

Badania nad florą i fauną planktonu stanowią wogóle dorobek ostatnich czasów. Zaledwie ku końcowi ubiegłego wieku zaczęto bliżej poznawać te organizmy, przystosowane do biernego unoszenia się w wodzie a zamieszkujące zarówno morza, jak i zbiorniki wód słodkich.

Plankton morski stał się przedmiotem wcześniejszych poszukiwań, niż słodkowodny, a to ze względu na swe praktyczne zastosowanie. Organizmami, wchodzącymi w jego skład, karmi się bardzo wiele stworzeń morskich, czy to przez całe życie, jak np. śledzie, czy przynajmniej w okresie młodocianym; od planktonu zależy istnienie mnóstwa zwierząt morskich, posiadających ogromne znaczenie ekonomiczne dla ludzi.

Z tego powodu badania planktonu morskiego prędzej i łatwiej mogły znaleźć potrzebne środki oraz poparcie rządów państw nadmorskich, niż poszukiwania nad planktonem wód słodkich, którego bezpośrednie znaczenie praktyczne nie jest tak widoczne odrazu. To też badania wód słodkich pod tym względem zaczęły się znacznie później i dotychczas jeszcze nie mogą poszczycić się taką ilością zdobyczy naukowych, jak tamte. W każdym jednak razie i ich dorobek jest już dość poważny.

W niniejszym artykule chcemy podać główniejsze właściwości planktonu słodkowodnego według pracy d-ra C. Wessenberg-Lunda ze stacyi słodkowodnej w Lyugby (w Danii).

Oba planktony, zarówno morski jak i słodkowodny przedstawiają ten sam typ i ten sam rodzaj przystosowań do biernego unoszenia się w wodzie. Wykazują jednakże zarazem i wyraźne różnice.

Przedewszystkiem plankton morski jest znacznie bogatszy, składa się z setek i tysięcy gatunków, których obfitość i różnorodność przygniata wprost badacza, podczas gdy w skład planktonu słodkowodnego wchodzi dziesiątki, a co najwyżej setki gatunków i mało jest danych do przypuszczenia, aby dalsze badania wykazały istnienie większej ich liczby.

Przytem w morzach znajdują się nie tylko poszczególne gatunki, ale nawet całe grupy ustrojów, których niema wcale w planktonie wód słodkich. Wszystkie natomiast grupy słodkowodne odnajdziemy w planktonie morskim, tylko z większym bogactwem i większą różnorodnością postaci.

Stosunkowe więc ubóstwo w gatunki stanowi pierwszą cechę charakterystyczną planktonu słodkowodnego.

Do tego ubóstwa w gatunki przylacza się jeszcze zupełny brak istot większych. Na powierzchni mórz lub tuż pod nią unosi się dużo stworzeń, mających nieraz metr długości i więcej (jak różne meduzy, żebroplawy i t. p.), gdy wielkość ustrojów, wchodzących w skład planktonu słodkowodnego, mierzy się, przeważnie co najwyżej na milimetry i tylko wyjątkowo dosięga centymetra. Tworzą go więc prawie wyłącznie ustroje mikroskopijnie małe.

Dalej w planktonie morskim znajdujemy olbrzymie ilości jaj oraz larw nietylko takich stworzeń, które tu spędzają całe życie, ale i takich, które same w stanie dorosłym należą do fauny dna morskiego lub pobrzeżnej; tylko larwy ich lub jaja unoszą się w wodzie. Po odbyciu rozwoju i wszystkich przemian opadają one na dno lub przenoszą się ku brzegom i tracą zdolność do biernego unoszenia się w wodzie.

Plankton słodkowodny nie zawiera prawie wcale larw gatunków z dna lub pobrzeży, a nawet bardzo niewiele znajduje się ich z jego własnych gatunków, jak np. niektórych dafnid (Cladocera) lub widłonogów (Copepoda). U znacznej liczby gatunków planktonu tego cały rozwój odbywa się wewnątrz ustroju matczynego.

W budowie organizmów obudwu planktonów ważną różnicę stanowi również materiał, z którego bywa utworzony szkielet organizmów planktonowych. Mianowicie w planktonie morskim znajdujemy szkielety zarówno krzemionkowe jak i wapienne. W słodkowodnych zaś przeważnie krzemionkowe, wapienne zdarzają się tylko wyjątkowo i wogóle bardzo rzadko. To też na dnie mórz powstają olbrzymie pokłady, utworzone wyłącznie z opadłych skorupki różnych stworzeń, należących do planktonu, jak np. słynny muł globigerynowy. Pokłady wapienne, powstałe na dnie wód słodkich, nie składają się nigdy w całej masie ze szkieletów organizmów, które należały do planktonu, poważną ich część stanowią zawsze szczątki roślin lub zwierząt, które zamieszkiwały dno, a więc różnych wodorostów, mięczaków i t. p.

Ważną różnicę wreszcie stanowi wielka jednostajność planktonu słodkowodnego. Plankton morski można podzielić na strefy, odpowiadające mniej więcej strefom fauny, a zwłaszcza flory lądowej, chociaż odgraniczone mniej ostro. Plankton słodkowodny natomiast, o ile można sądzić z dotychczasowych spostrzeżeń, zdaje się być jednako-
wym na całym obszarze kuli ziemskiej od jednego

bieguna do drugiego. Można wprawdzie zauważyć pewne ubożenie jego fauny i flory w miarę posuwania się ku biegunom; są to jednak tylko różnice ilościowe, nigdzie zaś nie udało się dotychczas wykazać pewnych grup lub gatunków, któreby były charakterystyczne dla niektórych obszarów.

Istnieje co prawda w jeziorze Tanganjika pewien gatunek meduzy, nie spotykany nigdzie indziej w wodach słodkich, ale wogóle cała fauna tego jeziora jest nadzwyczaj swoista i oryginalna, tak że istnienie tej meduzy nie stanowi szczególnej charakterystyki dla planktonu Tanganjiki, lecz raczej dla całej fauny tego jeziora. Trzeba zresztą przyznać, że wogóle plankton słodkowodny jezior zwrotnikowych jest stosunkowo mało zbadany. Z tego jednak, co poznano dotychczas, widzimy, że nie odznacza się on ani bogactwem ani różnorodnością form, i że plankton słodkowodny strefy umiarkowanej zdaje się przewyższać go nawet pod tym względem. Jest to również właściwość, którą różni się on wybitnie nie tylko od flory i fauny morskiej ale także i od lądowej.

Istnienie i różne charakterystyczne właściwości planktonu zależą, naturalnie, od warunków życia, panujących w danym środowisku; ale z drugiej strony i sam plankton oddziałuje na nie bardzo wyraźnie, wpływając w ten sposób dodatnio lub ujemnie na bieg życia innych stworzeń wodnych.

Przedewszystkiem, od składu planktonu w znacznej mierze zależy zawartość tych lub owych gazów w wodzie. Jeżeli plankton składa się głównie z organizmów zwierzęcych, to woda będzie obfitowała w bezwodnik węglowy; wobec przewagi roślin będzie w niej więcej tlenu.

Przekonano się już dawniej, że największą ilość tlenu woda morska zawiera tam, gdzie przeważa plankton roślinny; bezwodnika zaś węglowego, gdzie plankton składa się głównie z organizmów zwierzęcych. W ostatnich czasach stwierdzono taki sam wpływ i dla planktonu słodkowodnego.

Niemniej wyraźnie plankton wpływa na oświetlenie głębi wody. Osłabia on mianowicie siłę światła, zaciemnia sobą wodę, nie pozwalając promieniom świetlnym dochodzić tak głęboko, jak w zupełnie czystej wodzie. Światło zaś, tak samo, jak zawartość tych lub owych gazów w wodzie wywiera pierwszorzędny wpływ na życie wszystkich stworzeń wodnych. A więc istnienie ich zależne jest w znacznej mierze od składu i charakteru planktonu.

W ostatnich czasach stwierdzono tę zależność dla jezior szwajcarskich i charakterem planktonu wyjaśniono wędrówki peryodyczne ryb, dostrzegane w tych jeziorach.

Wiadomo już oddawna, że niektóre ryby słodkowodne w jeziorach szwajcarskich odbywają peryodyczne wędrówki, przenosząc się w jesieni ze sfery pobrzeżnej w głąb wody, skąd wracają dopiero w lecie. Wędrówki takie, według wszelkiego prawdopodobieństwa, odbywają się i w innych większych jeziorach. Badając plankton jezior szwajcarskich i zmiany, jakie zachodzą w jego składzie, przekonano się, że te wędrówki ryb pozostają w ścisłej zależności od zmian w składzie planktonu: przyczyną ich jest mianowicie nie temperatura wody lub co bądź innego, lecz stopień oświetlenia górnych warstw wody, zawisły, jak wiadomo, w znacznej mierze od stopnia rozwoju planktonu. Plankton zaś w naszych szerokościach ulega wahaniom w ciągu roku pod względem obfitości składających go ustrojów, bywa mianowicie znacznie uboższy w ilość osobników na wiosnę, niż w lecie i jesieni, a odpowiednio do tego i światło na wiosnę dochodzi głębiej niż w lecie lub jesieni. Od tych zmian w natężeniu światła zależą właśnie wędrówki ryb.

Plankton nadaje również nieraz barwę wodzie. Wiadomo, że morze Czerwone otrzymało nazwę od obecności w niem pewnych wodorostów tegoż koloru. Inne wodorosty barwią wodę na kolor błękitno-zielony, niebieskawy, żółto-brunatny lub żółtawy, szczególnie wyraźny wtedy, gdy zjawią się w większych ilościach.

Wspomnieliśmy przed chwilą, że skład planktonu ulega ciągłym zmianom zależnie od pory roku. Przekonano się zapomocą licznych badań, że tylko niektóre organizmy znajdują się w wodzie stale, obecność przeważnej ich większości związana jest ściśle z tą lub ową porą roku, kiedy ukazują się one najliczniej; w pozostałych natomiast niema ich wcale albo też znajdują się w bardzo małej ilości.

Występowanie pewnego gatunku w wodzie można wyrazić krzywą, której początek odpowiada chwili ukazania się tego gatunku w małej liczbie okazów; najwyższy punkt - oznacza maximum rozwoju; a spadek krzywej stopniowe zmniejszenie się ilości osobników i wreszcie zupełne ich zniknięcie.

Jeżeli wykreślimy takie krzywe dla tego samego gatunku, ale wziętego z rozmaitych jezior, to przekonamy się, że zazwyczaj odznaczają się one uderzającą zgodnością. Najwyższe punkty krzywych czyli maxima pewnego gatunku w różnych jeziorach wypadają prawie jednocześnie. Toż samo otrzymamy, jeśli nakreślimy krzywe dla jednego jeziora, ale z różnych lat. Widać z tego, że ukazywanie się i znikanie różnych gatunków, składających plankton, odbywa się z nadzwyczajną prawidłowością.

Dr. Wessenberg-Lund przedstawia w następujący sposób zmiany, zachodzące w ciągu roku w składzie planktonu jezior obszaru nadbałtyckiego, i zależną od nich zmianę w barwie wody.

Plankton tych jezior, jak i wogóle wszelkich innych, nie odznacza się bogactwem fauny i flory: składa się on głównie z kilku gatunków okrzemek (*Diatomaceae*), kilku sinic (*Schizophyceae*) i jednego wiciowca (*Ceratium hirundinella*). Od przewagi jednych lub drugich zależy barwa wody.

Na wiosnę woda w jeziorach bywa najczystsza i nadzwyczaj uboga w organizmy planktonowe, nie zdążyły one bowiem jeszcze rozwinąć się obficie. Najszybciej rozwijają się, najprędzej dosięgają maximum okrzemki, które w maju, a czasami nawet już w kwietniu zjawiają się w tak olbrzymich ilościach, że nadają wodzie barwę żółtawo-brunatną. W lecie niektóre jeziora zmieniają kolor na niebieskawo-zielonkawy, inne natomiast pozostają i nadal żółtawo-brunatnymi. Niebieskawa barwa zależy od obecności sinic, na które wtedy właśnie przypada maximum; żółtawo-brunatna nie pochodzi już wówczas od okrzemek, schodzą one bowiem w lecie z pola, ale od wiciowca (*Ceratium hirundinella*), będącego wtedy u szczytu rozwoju. W jesieni kolor żółtawo-brunatny staje się znów powszechny, bo wtedy przypada powtórne maximum okrzemek. Ku zimie, na krótki czas przed utworzeniem się powłoki lodowej, woda znów się oczyszcza, pewna atoli ilość drobnoustrojów zostaje w niej nawet i w ciągu zimy.

Jeziora niebiesko-zielonkawe okazują w cieple i ciche letnie wieczory zjawisko tak zwanego „kwiatu wody“. Polega ono na wytworzeniu się na powierzchni jeziora niebieskawo-zielonkawej warstwy, złożonej z sinic- które będąc lżejsze od wody, wznoszą się ku jej powierzchni i układają się na niej, gdy wiatr ucichnie ku wieczorowi i ustanie falowanie wody.

Przekonano się, że letnia barwa jezior pozostaje stała z roku na rok niebieskawą lub żółtawą; jeżeli zaś czasem jeziora żółtawe zabarwią się na niebiesko, to zdarza się to wyłącznie w bardzo ciepłych latach. Przekonano się dalej, że jeziora niebieskawe, pokrywające się co rok „kwiatem wody“, są zwykle bardzo płytkie i że temperatura ich w lecie utrzymuje się dłuższy czas na $+20^{\circ}0$; podczas gdy jeziora, które nigdy nie miewają „kwiatu wody“, odznaczają się większą głębokością i są chłodne, temperatura ich w lecie dochodzi co najwyżej do $18^{\circ}C$. i przytem tylko na krótko.”

Ten związek barwy jezior z ich temperaturą znajduje wyjaśnienie w warunkach życiowych za-

mieszkującego je planktonu. Niebieskawa barwa, a zwłaszcza „kwiat wody“ mogą być dostrzegane jedynie w jeziorach ciepłych, ponieważ sinice, wywołujące tę barwę, mają maximum mniej więcej około $20^{\circ}C$. A więc barwa ta właściwa jest wyłącznie latu i cieplejszym jeziorom. Maximum okrzemek leży znacznie niżej, między $6-16^{\circ}C$. i dlatego barwa żółtawą właściwą jest jeziorom chłodniejszym, a także wiosnie i jesieni. W lecie jeziora chłodniejsze, których temperatura nie dochodzi do $20^{\circ}C$, nie mogą przybrać koloru niebieskawego, ale barwią się i dalej na żółtawo od obecności wiciowców (*Ceratium hirundinella*), których maximum wypada około 18° , w temperaturze pośredniej między okrzemkami a sinicami. W ten sposób widzimy, że barwa jezior zależy ostatecznie od ich temperatury, hamującej lub przyspieszającej rozwój różnych organizmów planktonu.

Przejdziemy teraz do żywienia się planktonu i do dalszych jego losów. Składające go organizmy zwierzęce, pozbawione przeważnie ruchów samodzielnych lub posiadające je co najwyżej w bardzo słabym stopniu, zdane są zupełnie na łaskę fal wodnych, i karmią się drobniejszymi ustrojami lub szczątkami organicznymi, które im woda sama donosi. Nie wnoszą więc one nic nowego w swoje środowisko, jak wogóle wszelkie organizmy zwierzęce; wyrabianiem związków organicznych zajmują się tu tak samo, jak i wszędzie, organizmy roślinne. Produktem zaś ich życiowej działalności bywa tu przeważnie tłuszcz, szczególnie obficie nagromadzający się u okrzemek, w postaci kulistych kropelek żółtawo-czerwonej barwy.

Thuszcz ten ma nadzwyczaj ważne znaczenie w odżywianiu się znacznej liczby organizmów planktonu, a także i wielu innych stworzeń wodnych, karmiących się pośrednio lub bezpośrednio roślinami, wchodzącymi w skład planktonu.

Okrzemki między innymi stanowią główny pokarm wielu zwierząt planktonowych, szczególnie zaś drobniotkich raczków widłonogich (*Copepoda*).

To też w cieple tych raczków można zauważyć kropelki tłuszczu zupełnie takiego kształtu i barwy, jak u okrzemek. Stwierdzono przytem, że widłonogi zawierają najobficiej krople tłuszczu w czasie maximum rozwoju okrzemek. Ścisła więc ich zależność od okrzemek i od tłuszczu wyrabianego przez nie, nie może ulegać najmniejszej wątpliwości. Raczki te same znowuż służą za pokarm innym większym raczkom, a także rybom i ptakom wodnym i zaopatruje je w ten sposób w zapas tłuszczu. Przekonano się między innymi, że tłuszcz, którym niektóre ptaki wodne tryskają na napastników, pochodzi właśnie

od tych raczków, znajdujących się w ich żołądku.

Thuszcz, wytwarzany przez organizmy roślinne planktonu, służy nie tylko na pokarm dla bardzo wielu stworzeń wodnych, odgrywa on ważną rolę i pod innymi względami.

Po śmierci żyjótek, zawierających kropelki tłuszczu w swym ciele, wydostają się one częściowo nazewnątrz, wznoszą się ku powierzchni i rozpościerają się na niej cienką warstwą, wytwarzając tam miejsca ciche i pozbawione fal, wyraźnie odrzynające się od miejsc sąsiednich bez tłuszczu, falujących mocniej lub słabiej. Takie miejsca w Szwajcarii noszą charakterystyczną nazwę 'plam oliwnych'.

Podobnie wielce prawdopodobne jest przypuszczenie, że ten tłuszcz pochodzący z planktonu, bierze również pewien udział w tworzeniu się piany u brzegów. Wiadomo, że fale, uderzające o brzegi, nie zawsze wytwarzają tylko samo piany: czasami, gdy wiatr jest bardzo silny, nie można jej prawie wcale zauważyć, czasami zaś wobec najłagodniejszego wietrzyku tworzą się jej olbrzymie kłęby. Zależy to niewątpliwie od obecności, w wodzie jakiegoś ciała, które ułatwia wytwarzanie się takich pęcherzyków z powietrzem. Tłuszcz zaś będzie nadawał się do tego jaknajlepiej. Przypuszczenie to jest tem prawdopodobniejsze, że piana taka sprawia istotnie wrażenie tłustej.

B. Dyakowski.

PLANKTON WÓD SŁODKICH.

(Dokończenie). Wszechświat 1907, tom XXVI, nr 2, str.23-26

Ale nie cała ilość tłuszczu, znajdującego się w organizmach planktonu, wydostaje się na powierzchnię, wody po ich śmierci; znaczna jego część opada na dno wraz z innymi cząstkami organicznymi i tam ulega gniciu. Te szczątki organiczne, oznaczane zwykle nazwą sapropelu, stanowią, według wszelkiego prawdopodobieństwa, materiał, z którego, z biegiem wieków powstał olej skalny. Materiału zresztą do niego dostarczał głównie plankton morski, przekonano się bowiem, że do powstawania węglowodorów ciekłych z tłuszczów zwierzęcych i roślinnych potrzebna jest obecność soli morskich.

Olej skalny nie jest jedynym produktem, powstającym ze szczątków organizmów planktonu. Skorupek oraz inne cząstki ich szkieletów, opadając na dno, tworzą z czasem olbrzymie pokłady. Okrzemki, zamieszkujące jeziora słodkowodne, przyczyniają się wciąż do tworzenia się takich pokładów krzemionki. Ciekawą jest przytem rzeczą, że w jednych

jeziorach powstają szybko znaczne pokłady tych skorupek, gdy w innych nie można prawie zupełnie wykazać obecności ich szczątków, chociaż okrzemki i tam znajdują się obficie. Nie może ulegać wątpliwości, że w takich jeziorach te cząstki szkieletu, ulegają jakimś zmianom i rozpuszczeniu się, zanim osiągną dna, i że zmiany te zależą od temperatury, głębokości oraz innych własności danych jezior. Zbyt mało jednakże znamy jeszcze odpowiednie warunki i ich wpływ, żebyśmy mogli powiedzieć coś pewnego pod tym względem.

W dalszym ciągu swego opisu, autor zadaje jeszcze pytanie co do pochodzenia planktonu słodkowodnego.

Pewna część składających go organizmów, pochodzi, bezwątpienia, z morza, a mianowicie te wszystkie, które zajmują zupełnie odosobnione stanowisko wśród ustrojów słodkowodnych i należą do grup czysto morskich. Ale takie morskie pochodzenie można przypisać wyłącznie niektórym okrzemkom, wyżej wspomnianemu wiciowcowi oraz wielu raczkom widłonogim. Te organizmy przywędrowały według wszelkiego prawdopodobieństwa, wprost z morza i przystosowały się następnie do życia w wodzie słodkiej.

Większość atoli ustrojów, składających plankton słodkowodny ma stanowczo inne pochodzenie.

Każdy, kto go badał bliżej, musiał być uderzony dziwną różnorodnością jego fauny i flory, których przedstawiciele tylko wyjątkowo bywają połączeni między sobą węzłami bliższego pokrewieństwa. Wśród planktonu nie znajdujemy prawie wcale rodzajów, któreby były reprezentowane przez większą liczbę gatunków, a i same one należą przeważnie do rozmaitych rodzin. Zato znaczna ilość gatunków posiada najbliższych krewniaków wśród form pobrzeżnych lub zamieszkujących dno, a co ważniejsza, są one z niemi częstokroć spokrewnione tak blisko, że nadzwyczaj trudno bywa odróżnić jedne od drugich. Znaleziono nawet takie gatunki, które część życia spędzają w szlamie osiadłym na dnie lub u brzegów, część zaś w planktonie, jako organizmy pływające swobodnie.

Wobec tych faktów większość badaczy planktonu słodkowodnego doszła do wniosku, że stanowi on przeważnie zbiór organizmów pobrzeżnych lub z płytkich stawów: organizmy te wcześniej lub później, pośrednio lub bezpośrednio przedostały się z ojczystego miejsca na otwartą wodę i przystosowały się do życia planktonowego.

Najważniejszego dowodu dla takiego przypuszczenia dostarcza nam ta okoliczność, że znaczna ich liczba tylko częścią życia należy do planktonu, część

zaś jego spędza na dnie lub u brzegów. Mianowicie w okresie spoczynku, przerwy w działalności życiowej, jaja, zarodniki, a nawet dorosłe osobniki, otoczone specjalną grubą błoną, opadają na dno lub na fali dostają się w zaciszne kąciaki u brzegów i tam oczekują powrotu do życia z chwilą, gdy nastaną znów pomyślne warunki.

Jedynie nieliczne organizmy unoszą się przez cały rok w wodzie i nie przestają należeć do planktonu. Z zupełną pewnością stwierdzono to tylko dla niektórych raczków widłonogich.

Jeżeli przyjmiemy takie pobrzeżne pochodzenie planktonu słodkowodnego, to od razu nasuwa się pytanie, jakimi środkami rozporządzają te organizmy pobrzeżne, żeby mogły żyć w strefie „pelagicznej” jezior. Jasną jest bowiem rzeczą, że organizmy osiadłe nie mogą tak bezpośrednio stać się uzdolnionymi do swobodnego unoszenia się w wodzie. Strefa pobrzeżna i strefa pelagiczna, są to dwa wręcz odmienne światy, z zupełnie odmiennymi warunkami życia. Jedną z najważniejszych cech strefy pelagicznej jest brak stałych punktów, na którychby można było oprzeć się i wypocząć: zamieszkujące ją ustroje muszą bez ustanku unosić się w wodzie, a że z natury swojej są przeważnie cięższe od niej, groziłoby im ciągle opadnięcie do niższych warstw lub na dno, gdzie panują odmienne warunki, z którymi zetknięcie pociągnęłoby za sobą śmierć.

To też pierwszy i nieodzowny warunek aby jakikolwiek ustrój z osiadłego mógł się stać pelagicznym stanowi uzyskanie zdolności do unoszenia się w wodzie albo przynajmniej do możliwie znacznego przeciwdziałania szybkości spadku, któreby pozwalało korzystać z każdej pomyślnej okoliczności do utrzymania się w górnych warstwach.

Wiadomo, że to unoszenie się w wodzie opiera się głównie na specjalnej budowie danych organizmów; ruchy dowolne odgrywają tu zazwyczaj bardzo małą rolę, a już szczególnie wśród organizmów planktonu słodkowodnego. Ich narządy są przeważnie bardzo słabo rozwinięte; brak im przytem różnych specjalnych narządów pływnych, aparatów hydrostatycznych, które nie są bynajmniej rzadkie u organizmów morskich i umożliwiają im wznoszenie się lub opadanie w miarę potrzeby. U organizmów planktonu słodkowodnego takie specjalne narządy dostrzegamy jedynie wyjątkowo.

Ich przystosowania są bardziej ogólnej natury; dążą one raczej do zmniejszenia wogóle ich ciężaru właściwego lub powiększenia powierzchni całego ciała, co prowadzi do tego samego celu

Zmniejszenie ciężaru właściwego jedne organizmy planktonu słodkowodnego osiągają przez

zawartość znacznej ilości kropelek tłuszczu; inne natomiast przez powiększenie powierzchni ciała, zapomocą różnych wyrostów, kolców, a nawet całych płytek, sterczących na różne strony: nie dodają one zbyt wagi, powiększają zaś znakomicie objętość ciała, a w każdym razie stanowią przeszkodę do szybkiego opadania. Z tego też powodu szkielety ich, o ile je one posiadają, nadzwyczaj cienkie i delikatne, różnią się tem wybitnie od mocnych i grubych szkieletów gatunków, zamieszkujących dno lub strefę pobrzeżną.

Musimy tu jeszcze zwrócić uwagę na jedną okoliczność. Jak wykazały najnowsze badania, szybkość spadku w wodzie nie zawsze bywa jednakowa, zmienia się ona w różnych porach roku, w zależności od pewnych zmian, jakie każda pora wywołuje w całej masie wody.

Wynika stąd, że urządzenia organizmów planktonu, umożliwiające im utrzymywanie się w wodzie w pewnej porze roku, mogą się okazać zupełnie niewystarczające dla innej. Chcąc więc i nadal utrzymać się we właściwym środowisku, organizmy takie muszą ze zmianą pory roku zmieniać także i swój kształt. Nowsze spostrzeżenia stwierdziły, że tak jest istotnie.

Wiadomo, że kształt kulisty umożliwia najszybsze spadanie. Zauważono też, że najpospolitszy bywa on w tych porach roku, kiedy konsystencja wody sama przez się utrudnia najbardziej spadek. W innych porach organizmy planktonowe wydłużają ciało i dążą do możliwie dalekiego odbiegnięcia od kształtu kulistego. U organizmów mających w zimie (a więc i w okresie największej gęstości wody) stosunek dwu osi ciała jest 2:1, w lecie zmienia się on na 5:1. Przeistacza to tak dalece cały ich kształt, że dawniej odpowiednie postaci uważano za odrębne gatunki i dopiero dokładniejsze poznanie warunków istnienia planktonu i ściślejsze zbadanie jego organizmów zapoznało nas z tą ich wielką zmiennością, z tem przystosowywaniem się do czasowych zmian, z tą ich dwupostaciowością sezonową.

Organizmy planktonu słodkowodnego przystosowane są przeważnie i wyłącznie do zupełnie biernego unoszenia się w wodzie; same przez się nie bywają one zazwyczaj uzdolnione do zmiany miejsca. Nie pozostają jednak bynajmniej w spoczynku; przeciwnie odbywają prawie bez ustanku wędrówki w kierunku pionowym lub poziomym, a to wskutek tego, że wody i wewnątrz nie pozostają prawie nigdy w bezwzględny spoczynku: można w nich stwierdzić istnienie powolnych wprawdzie, ale nieustających prądów pionowych i poziomych, za którymi i plankton, chcąc nie chcąc, musi podążać

bez ustanku. One też w znacznej części określają jego położenie w masie wody.

Jak widzimy z tego szkicu, dla dokładnego zapoznania się z życiem planktonu, należy zwrócić uwagę nie tylko na składające go organizmy, ale także i na własności całego środowiska, i na ogół warunków życia w danym zbiorniku wody, wtedy bowiem dopiero zdołamy zrozumieć i ocenić należycie różne właściwości samego planktonu.

Na zakończenie poświęcimy jeszcze parę słów kwestyi, czy badanie planktonu środka wodnego posiada jakie znaczenie praktyczne.

Do ostatnich prawie czasów rozpowszechnione było mniemanie, że jedynie plankton morski ma takie znaczenie; badanie zaś słodkowodnego może posiadać wyłącznie doniosłość naukową. Pogląd taki atoli okazał się zupełnie mylnym.

Wprawdzie istotnie przeważna większość ryb słodkowodnych trzyma się dna lub warstwy pobrzeżnej, a jaja składa również tamże, tak że na pozór nie mają one żadnej łączności z planktonem. W rzeczywistości jednak tak nie jest: przedewszystkiem plankton dostarcza żywności wielu pośledniejszym rybom, jak np. płotkom, które same wprawdzie nie mają bezpośredniego praktycznego znaczenia dla ludzi, karmią jednak sobą inne ważne ryby, jak okunie lub szczupaki. Możem więc powiedzieć, że istnienie tych ważnych ryb zależy ostatecznie pośrednio od planktonu. Ale stokroć ważniejsza

jest tu okoliczność, że od składu planktonu zależą w ogromnym stopniu warunki życia w całym zbiorniku wody, jak zawartość w nim różnych gazów, stopień przezroczystości wody, jej zanieczyszczenie i t. d. Poznanie więc dokładne planktonu słodkowodnego, jego warunków życia, zależności od środowiska i wzajemnego oddziaływania na nie – poza znaczeniem naukowem posiada też i praktyczną doniosłość, przyczynia się bowiem do wyjaśnienia nie jednej tajemnicy w życiu ryb pożytecznych i w ten sposób może dostarczyć niejednej praktycznej wskazówki dla rybołówstwa.

B. Dyakowski

Teksty wybrały i przygotowały Maria Śmiałowska i Katarzyna Stachowicz.

Pomoc techniczna Monika Szczerba-Kolasa



ŚRÓDLEŚNE MSZARY MAZUR CZ.2

Maria Olszowska (Mrągowo)

Pojezierze Mazurskie nazywane jest Krainą Tysiąca Jezior, ale prawdziwe jest także określenie tego regionu jako Krainy Tysiąca Torfowisk. Krajobraz polodowcowy Mazur odznacza się bowiem bogactwem naturalnych bagien, w tym torfowisk wysokich, zwanych mszarami lub rojstami.



Ryc. 1. Zieleńczyk ostrężyniec. Fot. M. Olszowska.

Mszary wyróżniają się charakterystyczną roślinnością. Wybrane gatunki roślin na torfowiskach wysokich w rezerwatach Zakręt, Strzałowo i Gązwa przedstawiłam w czasopiśmie *Wszechświat* (t. 121, nr 7–9). W tychże ekosystemach zaobserwowałam także różne gatunki zwierząt. Część z nich wiedzie życie związane z torfowiskami, ale spotkałam także gatunki, które bywają na śródleśnych torfowiskach okresowo.

Na torfowiskach wysokich lata wiele motyli. Owady te uznawane są słusznie za symbol piękna i zmian. Chodzi nie tylko o ich urodę, ale również o złożony rozwój z przeobrażeniem zupełnym, poczynając od

jaja, poprzez gąsienicę (larwę), a następnie poczwarkę do pięknej postaci dorosłego motyla (imago).

Zachwycający jest maleńki zieleńczyk ostrężyniec (*Callophrys rubi*) z rodziny modraszkowatych. Osiąga 25–30 mm rozpiętości skrzydeł. Jest typowo leśnym motylem, który lata blisko runa leśnego, często w pobliżu krzewów borówek. Imago zobaczymy od kwietnia do maja. Skrzydła zieleńczyka z wierzchu są brązowe, spodnia część jest zielona, z rzędem białych kropek, zaś ich obrzeża są brązowo-białe. Motyla nie sposób pomylić z żadnym innym, bo jest w Polsce jedynym przedstawicielem rodzaju *Callophrys* i jedynym z zielonymi skrzydłami (Ryc. 1). Obie

placie wyglądają podobnie. Samce są bardzo terytorialne. Niewybredne gąsienice żerują na różnych roślinach m. in. na kruszynie, borówce, dereniu, komonicy i malinie, zjadając nie tylko liście, ale też kwiaty i owoce z nasionami. Bywają nawet kanibalami, gdy napotkają inne gąsienice tego samego gatunku. Poczwarka zieleńczyka w pierwszym okresie życia wydaje odstraszaające napastnika dźwięki przypominające tykanie zegara. Gatunek zimuje jako poczwarka, a imago wylatuje wiosną następnego roku.

dłach widać po jednym czerwonym pasku. Dodatkowo na szczycie przednich skrzydeł znajduje się wzór z białych plamek, a przy krawędzi tylnych skrzydeł szereg plamek czarnych i niebieskich (Ryc. 2). Spód skrzydeł jest ciemny, kamuflujący. Rozwój od jaja do imago odbywa się na pokrzywach. W ciągu roku motyl wydaje dwa pokolenia. Odlatuje na południe Europy, aby z wiosną powrócić na nasze tereny.

Inną rusałką jest dostojka (perłowiec) eufrozyna (*Boloria euphrosyne*). Motyle te latały pojedynczo



Ryc. 2. Rusałka admirał. Fot. M. Olszowska.

Na torfowisko zalatuje przepiękny nomada rusałka admirał (*Vanessa atalanta*), z rodziny rusałkowatych. Nomadzi to migranci (np. ptaki i niektóre motyle), którzy wędrują gromadnie, zwiększając w ten sposób swoje szanse na znalezienie partnera do rozrodu oraz przetrwania w obliczu czyhających podczas podróży niebezpieczeństw. Migrują w poszukiwaniu nowych obszarów, w których znajdą dobre warunki do rozmnażania, obfite zasoby pokarmowe i mniejszą konkurencję. Potem odlecą w inne obszary, chyba że pozostaną z nami na zimę, która coraz bardziej przypomina wiosnę... Rusałka admirał zamieszkuje Eurazję, północną Afrykę i Amerykę Północną. Nie ma szczególnych wymagań siedliskowych, byle wołało było dużo kwiatów z nektarem i owoców do odżywiania oraz pokrzyw do rozmnażania, bo pokrzywy to rośliny żywicielskie jej gąsienic. U dorosłych osobników tego gatunku wierzchni skrzydeł jest ciemnobrązowy lub czarny. Na przednich i tylnych skrzy-

deł widać po jednym czerwonym pasku. Dodatkowo na szczycie przednich skrzydeł znajduje się wzór z białych plamek, a przy krawędzi tylnych skrzydeł szereg plamek czarnych i niebieskich (Ryc. 2). Spód skrzydeł jest ciemny, kamuflujący. Rozwój od jaja do imago odbywa się na pokrzywach. W ciągu roku motyl wydaje dwa pokolenia. Odlatuje na południe Europy, aby z wiosną powrócić na nasze tereny.

Motyl zamieszkuje polany, skraje lasów, a także torfowiska wysokie. Gatunek nieliczny, występuje w Polsce lokalnie. Jak każdy motyl odżywia się nektarem. Dymorfizm płciowy dostojki jest niewielki. Skrzydła samicy są tylko mniej jaskrawe od skrzydeł samców (Ryc. 3). Wierzchnia strona skrzydeł obu płci ma pomarańczowożółtą barwę z czarnym rysunkiem (czarne kropki i przepaski). Przy tylnej krawędzi każdego skrzydła znajduje się rząd czarnych trójkątnych plamek, którym odpowiadają znajdujące się ponad nimi czarne plamki. Od spodu skrzydła utrzymane są w mozaikowej rudej tonacji, z czarnymi plamkami oraz żółtymi i białawymi obszarami. Cechą charakterystyczną jest perłowa plama na środkowej przepasce spodniej strony drugiego skrzydła. Zazwyczaj motyl

wykształca jedno pokolenie w roku, latające od maja do początku lipca. Jaja składane są pojedynczo na liściach roślin żywicielskich. Są nimi fiołki, a na torfowiskach borówka bagienna, żurawina błotna oraz bagno zwyczajne. Zimuje kolczasta gąsienica.

daje zazwyczaj jedno pokolenie w roku. Imago zobaczymy od maja do końca lipca. Rośliną żywicielską jest borówka bagienna i brzoza. Gąsienice żerują od końca czerwca do września. Pod koniec żeru spinają z sobą liście rośliny żywicielskiej, tworząc rodzaj



Ryc. 3. Dostojka eufrozyna. Fot. M. Olszowska.

Zaobserwowałam także paśnika oszczepiaka (*Rheumaptera hastata*) z rodziny miernikowców. To nocny motyl, ale aktywny również w dzień i bardzo ruchliwy. Nie jest pospolity. W Polsce występuje na rozproszonych stanowiskach. Dlatego cieszy mnie, że się na niego natknęłam w rezerwacie Zakręt. Latało ich tam kilkanaście osobników. Byłoby to kolejne stanowisko tego gatunku w Polsce, tym razem na Mazurach. Paśnik zamieszkuje torfowiska z licznymi borówkami bagiennymi, ale też górskie lasy. Rozpiętość jego skrzydeł waha się od 27 do 38 mm. Odżywia się nektarem. Motyl posiada charakterystyczne czarno-białe ubarwienie całego ciała. Rzucają się w oczy białe poprzeczne faliste przepaski, jedna wąska w części nasadowej skrzydeł przednich i druga szersza bliżej końca skrzydeł, z drobnymi czarnymi punktami i odnogą w kształcie grotu nachodzącą na czarne zewnętrzne pole skrzydła (Ryc. 4). Motyl wy-

„namiotu”, w którym przeobrażają się w poczwarki i w tym stadium zimują. W Europie Środkowej ten gatunek jest zagrożony.

Do pnia sosny rosnącej obok przylgnął przylepek moczarek (*Arichanna melanaria*). To jeszcze jeden nocny motyl z rodziny miernikowców. Ani drgnął, gdy zbliżałam aparat fotograficzny, a jest płochliwy. Obie płci są bardzo podobne. Ich skrzydła i żółtopomarańczowy odwłok mają dużo czarnych plamek. Pierwsza para skrzydeł jest biała, druga żółta. Rozpiętość skrzydeł wynosi 36–42 mm. Gdy przylepki siedzą na pniach drzew, wyginają swoje czułki do tyłu i układają na skrzydłach (Ryc. 5). Samiec posiada czułki grzebykowate, a samica nitkowate. Gąsienice żerują na borówce bagiennej, żurawinie oraz na bagnie zwyczajnym. Imago lata od czerwca do września. Motyl zimuje w stadium gąsienicy.

Z rodziny powszelatkowatych (karłątkowatych) na torfowisku wysokim zauważyłam ładnego kosternika leśniaka (*Carterocephalus silvicola*). Ten dzienny motyl, jak nazwa wskazuje, związany jest z lasami i zaroślami. Występuje w całej Polsce, ale najliczniej

leśniak zimuje w stadium gąsienicy, która wyglądem przypomina uschnięty liść.

Moją uwagę przykuło okazałych rozmiarów mrowisko malowniczo otoczone wianuszkiem kwitnącego bagna zwyczajnego (Ryc. 7). Zaś nieopodal na



Ryc. 4. Pańnik oszczepiak. Fot. M. Olszowska.



Ryc. 5. Przylepek moczarek. Fot. M. Olszowska.

na północnym wschodzie. To motyl niewielki, o rozpiętości skrzydeł od 23 do 28 mm. Posiada skrzydła ochrowożółte, z ciemnymi i żółtawymi plamami (Ryc. 6). Spód skrzydeł również jest ochrowożółty, nieco bardziej matowy niż wierzch. Wykształca jedno pokolenie w roku, od połowy maja do końca czerwca. Roślinami żywicielskimi są szerokolistne trawy. Kosternik

puchu owocującej wełnianki pochwowatej zauważyłam borczyńca południowego (*Carpocoris purpureipennis*) z rodziny tarczówkowatych – pospolitego pluskwiaka różnoskrzydłego, którego często widuję na puchu mniszka lekarskiego.

Owad spotykany jest wśród roślinności łąkowej, ruderalnej, na polach uprawnych i na skrajach lasów. Możemy go obserwować od kwietnia aż do października. Jest polifagiem, niewybrednym w doborze pokarmu. Spija soki z drzew i różnych roślin zielnych, nakłuwając tkanki zarówno liści, jak i owoców oraz nasion. Służą mu do tego narządy gębowe kłująco-ssące, położone na głowie z dość dużymi oczami. Czułki są segmentowane. Pluskwiak osiąga długość od 1 do 1,3 cm. Jego ubarwienie jest zmienne. Najczęściej spotyka się osobniki o jednolicie żółtym ubarwieniu, ale też purpurowo-fioletowe. Boki przedplecza, czyli I segmentu tułowia są zaokrąglone. Charakterystyczna jest centralnie położona trójkątna tarczka z wgłębieniem w kształcie litery Y. Listwy brzeżne odwłoka są dwubarwne, najczęściej żółto-brązowe lub zielono-brązowe a odnóża jasne. Osobniki posiadają czarne punkty rozmieszczone niemal równo-

miernie na całej powierzchni (Ryc. 8). Borczyniec przechodzi przeobrażenie niepełne, a nieuskrzydłone larwy, zwane nimfami są bardzo podobne do osobników dorosłych. Zimuje owad dorosły.



Ryc. 6. Kosternik leśniak. Fot. M. Olszowska.

Wśród ulistnionych łądek torfowca kończystego natrafiłam na żabę moczarową (*Rana arvalis*). To coraz rzadszy gatunek płaza bezogonowego, występujący tylko lokalnie (Ryc. 9). Od podobnej, częściej spotykanej żaby trawnej, odróżnia ją kremowy brzuch bez plamistości.

Na liściach borówki czernicy przyprószonej pyłkiem bagna zwyczajnego siedziała wojsiłka pospolita (*Panorpa communis*) (Ryc. 10). Owad preferuje miejsca cieniste i wilgotne. Osobniki dorosłe można obserwować od maja do września. Wojsiłka to średniej wielkości owad, którego długość waha się w granicach 1,2–2 cm, zaś rozpiętość skrzydeł sięga około 3 cm. Ubarwienie ciała tych owadów jest żółtawo-czarne, ale ryjek i zakończenie odwłoka pomarańczowe lub czerwone. Mała głowa wyposażona jest w wydłużony gryzący aparat gębowy przypominający ryjek, w parę oczu złożonych, przyoczek oraz stosunkowo długie czułki. Owad posiada bogato użytkowane skrzydła z licznymi, czarnymi plamkami oraz dość długie odnóża. U samic na końcu odwłoka znajduje się pokładelko służące do składania jaj, zaś u samca aparat kopulacyjny z małymi szczypcami służącymi do przytrzymywania samicy. Wojsiłka jest wszystkożerna, odżywia się nektarem kwiatów, drobnymi, chorymi lub martwymi owadami. Rozwój wojsiłek



Ryc. 7. Mrowisko w otoczeniu bagna zwyczajnego. Fot. M. Olszowska.

jest złożony z przeobrażeniem zupełnym. Samiec stara się najpierw o przychylność samicy, wręczając jej prezent w postaci grudki zastygniętej wydzieliny z własnych gruczołów ślinowych. Niekiedy prezen-

Larwy żywią się różnymi szczątkami organicznymi, zarówno pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego, a nawet żerują na chorych owadach. Przepoczwarczenie także odbywa się w glebie. Imago pojawiają



Ryc. 8. Borczyńiec południowy na puchu wełnianki pochwowatej. Fot. M. Olszowska.



Ryc. 9. Żaba moczarowa. Fot. M. Olszowska.

tem może być martwy owad, którego wcześniej podkradł pająkowi. Samica odbywa kopulacje kolejno z trzema innymi samcami i składa do wilgotnej gleby po kilkadziesiąt sklejonnych ze sobą jajeczek. Z nich wylęgają się larwy wyglądające jak gąsienice motyli.

się w maju następnego roku.

Na drewnianym pomoście w rezerwacie torfowiskowym wylądował rębacz sosnowiec, zwany też rębaczem pstry (*Rhagium inquisitor*). To gatunek chrząszcza z rodziny kózkowatych, żyjący w lasach liściastych i iglastych całej Polski. Jego ciało jest wydłużone, a wielkość waha się od 10 do 21 mm. Rębacz sosnowiec ma barwy maskujące, jest stalo-czarny, z czarnymi plamkami na pokrywach, głowie i przedpleczu, z kolcami po bokach. Na kanciastej głowie znajduje się para czułków skierowanych do przodu, nie przekraczających długości ciała. Na pokrywach widoczne są podługne 2–4 żeberka (Ryc. 11). Zarówno dorosłe osobniki, jak i larwy, żerują pod korą martwych lub obumierających drzew liściastych i iglastych. Samice składają jaja w szczelinach pnia drzew, a wylęgnięte z nich robakowate larwy za pomocą silnych żuwaczek przez dwa lata drążą nieregularne, rozgałęziające się chodniki pomiędzy korą a drewnem. Gdy larwy osiągną około 3 cm długości, przepoczwarczają się w specjalnej

kolebce poczwarkowej. Pod koniec jesieni z poczwarki wychodzi dorosły chrząszcz, ale nie opuszcza jej aż do wiosny.

mi go zidentyfikować (Ryc. 12). To gągoł krzykliwy (*Bucephala clangula*), gatunek średniej wielkości wędrownego ptaka wodnego z rodziny kaczkowatych. W Polsce to nieliczny ptak lęgowy, występu-



Ryc. 10. Wojśiłka pospolita. Fot. M. Olszowska.



Ryc. 11. Rębacz sosnowiec. Fot. M. Olszowska.

Na tafli spokojnego jeziora dystroficznego zauważyłam pływającego gągoła. Ptak był dość daleko od brzegu, ale biała plama na jego policzku pozwoliła

jąć głównie na północy naszego kraju. Preferuje śródlądne stawy i jeziora. Należy do kaczek nurkujących nawet do głębokości 5 m, przebywać może pod wodą około minuty, szybko startuje z wody i równie szybko wzbija się w powietrze. W czasie lotu jego lotki wydają donośny, dźwięczny świst. Ptak narażony jest na wiele problemów związanych z dostępnością do miejsc lęgowych. Jest jedyną polską kawką gniazdującą tylko w dziuplach, dlatego ważny jest dla niej stary drzewostan blisko wody. Nie dość, że poszczególne osobniki muszą konkurować o dziuple z innymi dziuplakami, to jeszcze o lokum toczą walki z osobnikami własnego gatunku. Jakby tego było mało, gągoły w obrębie gatunku mogą być dla siebie pasożytami gniazdowymi, bowiem w przypadku dużego zagęszczenia składają swoje jaja w gniazdach innych gągołów swojego gatunku. Samce gągoła są zazwyczaj większe od samic, długość ich ciała wynosi ok. 50 cm, a rozpiętość skrzydeł do 80 cm. Samce

w porze godowej mają czarną, zielono połyskującą głowę, białą szyję i pierś, a grzbiet i kuper czarny. Charakterystyczne są białe plamy na policzkach przy nasadzie dzioba oraz złote tęczęwki. Samice mają

niu rekompensuje to długowieczność tego gatunku, bowiem gągoły mogą dożyć nawet 17 lat. Pokarmem tych ptaków są drobne bezkręgowce wodne, małe rybki i kijanki. Pokarm uzupełniany jest organami



Ryc. 12. Gągoł krzykliwy. Fot. M. Olszowska.

brązowe głowy i szarą resztę ciała, a na szyi białą obrączkę. Na końcu dzioba występuje pomarańczowa plama. Na skrzydłach u obu płci dają się zauważyć białe fragmenty. Gągoł wyprowadza tylko jeden lęg w roku. Toki zaczyna wczesną wiosną. Ponieważ gągoły to dość duże ptaki, dlatego wybierają przestronne dziuple po największym z naszych dzięciołów, dzięciole czarnym. Do zapłodnienia najczęściej dochodzi w wodzie, gdy samica jest mocno zanurzona. W wybranej dziupli samica od kwietnia do połowy maja składa zazwyczaj 8–13 niebieskozielonych jaj i wysiaduje je przez miesiąc. Wychowaniem młodych zajmuje się sama. Po wykluciu pisklęta przebywają w gnieździe tylko jeden dzień, potem na sygnał matki wyskakują z dziupli, a następnie razem z nią udają się nad pobliską wodę. Samodzielność uzyskują już po tygodniu, ale latać mogą dopiero po 8–9 tygodniach. Dojrzałość płciową osiągają po 2 latach. Sukces lęgowy gągołów wynosi od 30 do 80%. W pewnym stop-

roślin wodnych. Gatunek podlega w Polsce ścisłej ochronie, wymaga także ochrony czynnej. Oznacza to stosowanie przez człowieka w razie potrzeby odpowiednich, przemysłanych i korzystnych zabiegów ochronnych, zmierzających do przywrócenia naturalnego stanu ekosystemów albo zachowania przyrodniczych siedlisk dla chronionych gatunków.

Na liściu borówki czernicy siedziała samica pająka kwietnika (*Misumena vatia*). Ten gatunek posiada ukośnie rozstawione odnóża, przy czym przednie są dłuższe od tylnych. Długość ciała samicy wynosi 7–10 mm. Samica może zmieniać ubarwienie, dostosowując je do miejsca przebywania. Zmiana taka nie odbywa się z dnia na dzień, pająk potrzebuje na to od 6 do 25 dni. Może to być ubarwienie białe, żółte lub brązowawe, w różnych odcieniach. Dodatkowym kamuflażem są czasem czerwone pasy na odwłoku (Ryc. 13). Samiec różni się od samicy wielkością (3–5 mm), ma ciemne przednie odnóża, brązowy

głowotulów i żółty odwłok z ciemnym wzorem. Kwietnik nie buduje sieci, ale przędzie nić, bo służy mu ona do bardzo sprawnego przemieszczania się. Na ofiary czatuje na kwiatach lub liściach niskich roślin. Atakuje błyskawicznie z zaskoczenia, wstrzykując ofiarom jad i soki trawienne i na kwiatach wysysa strawione tkanki ofiary. Samica składa jaja do specjalnego kokonu pomiędzy liśćmi, które łączy z sobą nicią. Młode pająki zimują w ściółce.

nikami retencyjnymi i skarbcami bioróżnorodności, należy ograniczyć do niezbędnego minimum dotychczasową eksploatację torfu. Zamiast ziemi torfowej warto korzystać z równie cennej ziemi kompostowej. Zaprzestać osuszania obszarów podmokłych i regulacji rzek. Budować proste urządzenia, które spowolnią odpływ wód z mokradeł. Wszystkie żywe torfowiska należy objąć ochroną prawną. Odwiedzane przeze mnie śródleśne torfowiska są rezerwatami przyrody,



Ryc. 13. Samica kwietnika na liściu borówki czernicy. Fot. M. Olszowska.

Nie docenialiśmy dotąd roli torfowisk w przyrodzie. Nieprzemyślana gospodarka rolna i leśna doprowadziła do tego, że w chwili obecnej w Polsce pozostało jedynie kilka procent pierwotnych zasobów torfowiskowych. Wszelkie osuszanie obszarów podmokłych oraz nadmierna eksploatacja torfu to, obok suszy, podstawowe zagrożenia dla tych ekosystemów. Już w maju widziałam spore połacie zasuszonych torfowców i usychające kwiatki modrzewnicy. Torf ze względu na swoje właściwości jest cenionym surowcem stosowanym w ogrodnictwie i rolnictwie, a także w lecznictwie sanatoryjnym (kąpiele borowinowe) i przemyśle kosmetycznym (kosmetyki Tołpy). Alarmujące zjawiska klimatyczne na Ziemi wymagają podjęcia przez ludzkość pilnych i zdecydowanych działań na nieporównywalnie większą skalę niż dotychczas. Mając na uwadze wszechstronną rolę mokradeł, w tym torfowisk, które są naturalnymi zbior-

o czym informują odpowiednie tablice. Tutaj słyszeć tylko przyrodę, czasem wiatr, czasem melodię spadających kropli deszczu lub skrzypienie zmarzniętego śniegu pod butami. Każdy może podziwiać te malownicze ekosystemy. Trzeba jedynie uszanować spokój oraz piękno tych miejsc i pozostawiać je zawsze w stanie nie zmienionym.

*mgr Maria Olszowska, Mrągowo
e-mail: marjolsz@interia.pl
emerytowana nauczycielka biologii z Mrągowo*

WPŁYW SILDENAFILU I KWASU GIBERELINOWEGO NA KIEŁKOWANIE ZIARNIAKÓW JĘCZMIENIA ZWYCZAJNEGO (*HORDEUM VULGARE* L.)

Jan Bereda (Toruń)

Celem badań było przeanalizowanie wpływu sildenafilu na kiełkowanie ziarniaków jęczmienia zwyczajnego (*Hordeum vulgare* L.) W przeprowadzonym eksperymencie analizowano wpływ 0,1 μM i 10 μM roztworu sildenafilu i kwasu giberelinowego na siłę i średni czas kiełkowania ziarniaków jęczmienia zwyczajnego. Ziarniaki umieszczono na pożywkach $\frac{1}{2}$ MS (Murashige & Skoog), zawierających roztwory sildenafilu w DMSO (dimetylosulfotlenku) oraz kwas giberelinowy w stężeniu $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zastosowanie sildenafilu w stężeniu 0,1 μM znacznie zwiększa siłę kiełkowania oraz skraca średni czas kiełkowania. Jednakże nie wykazano istotnej statystycznie różnicy w średnim czasie kiełkowania pomiędzy zastosowanymi stężeniami sildenafilu 0,1 μM i 10 μM .

Wstęp

Sildenafil jest substancją czynną wielu leków stosowanych w leczeniu zaburzeń erekcji. Został on odkryty w 1989 roku w trakcie badań prowadzonych przez koncern Pfizer nad lekiem na dławicę piersiową [5]. Sildenafil w organizmie ludzkim powoduje rozkurcz mięśni gładkich, dlatego znalazł również zastosowanie w leczeniu nadciśnienia płucnego [16]. Jego mechanizm działania oparty jest o inhibicję fosfodiesterazy typu 5, enzymu metabolizującego cGMP (cykliczny guanozyno-3',5'-monofosforan) [4]. cGMP jest ważnym przekaźnikiem wtórnym spotykanym w szlakach transdukcji sygnału, zarówno w komórkach prokariotycznych, jak i eukariotycznych [12]. Długość oraz siła odpowiedzi na cGMP jest zależna od jego stężenia w komórce zwierzęcej, które regulowane jest przez działanie dwóch enzymów cyklicznej guanylanowej oraz fosfodiesterazy. Cykliczna guanylanowa katalizuje syntezę cGMP z GTP (guanozyno-5'-trifosforanu), a fosfodiesteraza odpowiada za rozkład cGMP do GMP (guanozyno-5'-monofosforanu).

W odróżnieniu od modelu zwierzęcego, mechanizm terminacji sygnału cGMP u roślin nie został w pełni poznany. Pomimo tego, że aktywność analogicznej do zwierzęcej fosfodiesterazy została w komórkach roślinnych dostrzeżona, nie zidentyfikowano konkretnych białek odpowiedzialnych za tę funkcję [8]. Jednakże na obecność fosfodiesterazy u roślin może wskazywać to, że po dodaniu jej inhibitorów używanych u innych eukariotów następuje akumulacja cGMP [7,14].

W ostatnich dekadach wykazano istotne znaczenie cGMP w wielu procesach fizjologicznych roślin. Jest on głównie zaangażowany w procesy regulowane przez fitohormony. Co ciekawe, cGMP jest zaangażowany w procesy przeciwstawne sobie, takie jak: indukowane auksynami otwieranie aparatów szparkowych i indukowane kwasem abscysynowym zamykanie szparek [1,3]. Reguluje również aktywność kanałów jonowych i proces kwitnienia [13]. Udowodniono, że cGMP jest niezbędny do prawidłowego kiełkowania nasion [14]. Wykazano ponadto, że cGMP jest obecny w szlakach transdukcji zależnych od kwasu giberelinowego, prowadzących do syntezy

α -amylazy w obrębie warstwy aleuronowej ziarniaków jęczmienia zwyczajnego [11]. Enzym ten jest odpowiedzialny za katalizowanie hydrolizy skrobi w obrębie bielma, co umożliwia nasionom kiełkowanie.

Wykorzystanie medyczne na dużą skalę sildenafilu powoduje jego znaczną akumulację w środowisku. Substancja ta badana pod kątem fitotoksyczności powodowała niejednokrotnie wpływ na organizm roślinny. Efekt jej działania był inny dla różnych gatunków roślin, jednakże z danych literaturowych można wnioskować, że hamuje ona kiełkowanie w wyższych stężeniach, a w niższych indukuje [2].

Jako obiekt badań wybrano ziarniaki jęczmienia zwyczajnego (*H. vulgare* L.), ponieważ znaczna część dotychczasowych badań dotyczących roli cGMP w szlakach zależnych od kwasu giberelinowego została przeprowadzona na ziarniakach tej rośliny uprawnej [11, 6].

Celem eksperymentu było zbadanie wpływu sildenafilu na indukowane kwasem giberelinowym kiełkowanie nasion. Założono, że w związku z inhibicją fosfodiesterazy rozkład cGMP, zsyntezowanego w wyniku działania kwasu giberelinowego [11], ulegnie zahamowaniu, co spowoduje reakcję ziarniaków na kwas giberelinowy i w konsekwencji przyspieszy kiełkowanie.

Zmienną niezależną stanowiło stężenie sildenafilu w pożywce zawierającej kwas giberelinowy, a zmienną zależną liczba wykiełkowanych ziarniaków. Jako hipotezę obrano stwierdzenie: sildenafil w obecności kwasu giberelinowego wpływa stymulująco na kiełkowanie ziarniaków jęczmienia zwyczajnego poprzez skrócenie ich średniego czasu kiełkowania i zwiększenie siły kiełkowania.

Materiały i metody

Eksperyment przeprowadzono na ziarniakach jęczmienia zwyczajnego (*Hordeum vulgare* L.) pozyskanych od Rolnas sp. z o.o. Aby zapobiec infekcji grzybowej, ziarniaki wysterylizowano za pomocą 0,25% roztworu podchlorynu sodu (producent Chempur) i 0,02% roztworu Tritonu (R) X-100 (Chempur) przez 15 min. Następnie przepłukano 3-krotnie używając wody destylowanej. Po sterylizacji ziarniaki umieszczono na 16 szalkach Petriego na pożywce ½ MS (Murashige & Skoog) [10] (East Syntex) o objętości 40 ml, bez sacharozy, pH 5,8, agar w stężeniu 8%. Ze względu na brak dostępu do autoklawu, pożywka została wysterylizowana w kuchence mikrofalowej (firmy Zelmer 29Z022) 900 W/ 200 ml pożywki przez 4 min [15]. Szalki uszczelniono przylepcem włókninowym przepuszczalnym dla gazów i umieszczono

w temperaturze 21°C, w warunkach oświetlenia 16 godzin światła/ 8 godzin ciemności.

Sildenafil (Glentham Life Sciences Ltd) rozpuszczono w DMSO (Biomus) w celu otrzymania roztworu bazowego o stężeniu $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Do pożywki dodawano odpowiednie objętości roztworu bazowego, aby uzyskać pożądane stężenia sildenafilu w poszczególnych próbie. Pożywki, na których umieszczono ziarniaki wchodzące w skład prób badawczych, zawierały sildenafil w stężeniach $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (10 μM) i $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (0,1 μM) oraz kwas giberelinowy w stężeniu $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (East Syntex). Aby osiągnąć dwa różne stężenia sildenafilu, do pożywki dodano różne objętości roztworu bazowego, co spowodowało odmienną zawartość DMSO (w którym sildenafil był rozpuszczony) w podłożu. Zastosowano więc dwie próby kontrolne zawierające: 0,01% i 1% (procent objętościowy) DMSO w pożywce, co odpowiadało ilości DMSO znajdującej się w odpowiadających próbach badawczych, oraz kwas giberelinowy w stężeniu $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Każda z prób liczyła 25 ziarniaków. Na jednej szalce znajdowały się ziarniaki wchodzące w skład jednej próby. Eksperyment przeprowadzono w czterech równoległych powtórzeniach ($n=4$).

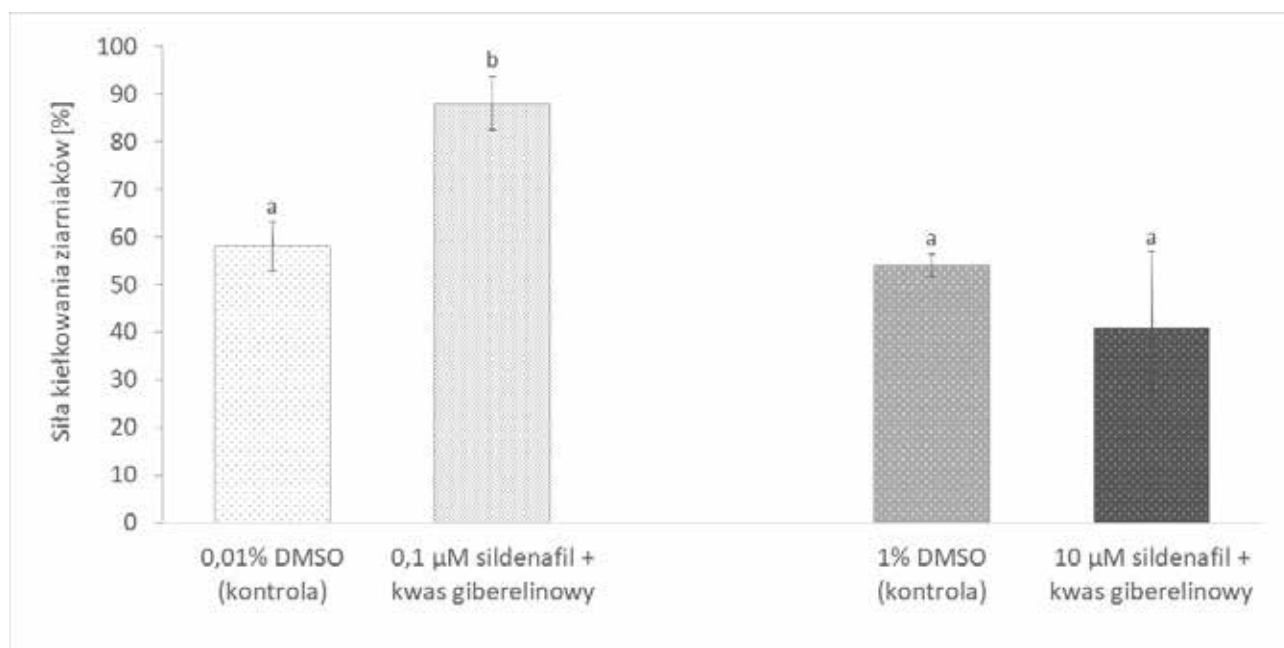
Wykiełkowane ziarniaki zliczano co 12 godz. przez 7 dni. Kiełkowanie zdefiniowano jako wyłonienie się koleoptylu nie krótszego od długości ziarniaka.

Analizę statystyczną wykonano z wykorzystaniem oprogramowania Microsoft Excel 2016 oraz R 3.6.1. Obliczono średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe, przeprowadzono test Shapiro-Wilka oraz test homogeniczności wariancji Levene'a. W związku z niespełnieniem wymagań do przeprowadzenia jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA, przeprowadzono test nieparametrycznej analizy wariancji Kruskala-Wallisa oraz test *post-hoc* Dunna [9]. Przyjęto poziom istotności $\alpha=0,05$.

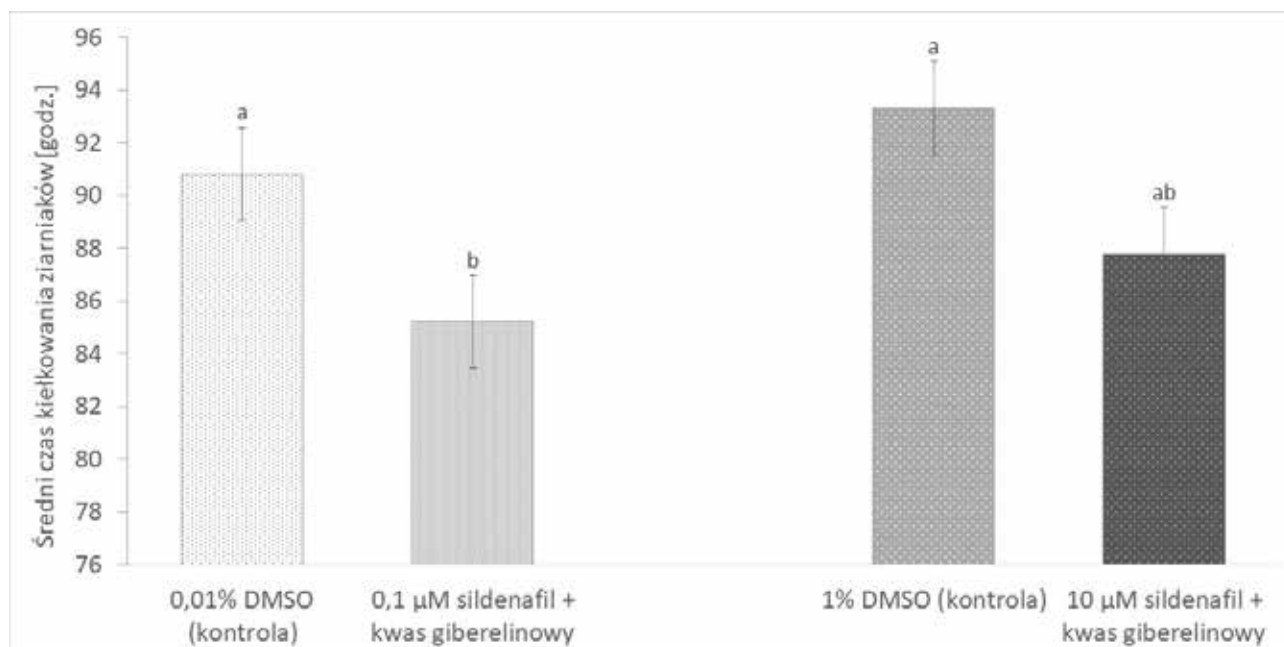
Uzyskane wyniki standaryzowano do dwóch wskaźników: średniego czasu kiełkowania (ang. *average germination time*, AGT) oraz siły kiełkowania (ang. *germination capacity*, GC), opisanych wzorami:

$$\text{AGT[h]} = \frac{\sum n_i \cdot i}{\sum n_i} \quad \text{GC[\%]} = \left(\frac{\sum n_i}{N} \right) \cdot 100\%$$

n_i – liczba ziarniaków, które wykiełkowały w i -tej godzinie, N – liczba ziarniaków w próbie,



Ryc. 1. Siła kiełkowania ziarniaków (GC) jęczmienia zwyczajnego (*Hordeum vulgare* L.) w zależności od zastosowanych stężeń DMSO (kontrola) i sildenafilu, w pożywce zawierającej kwas giberelinowy o stężeniu $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Na figurze zaznaczono odchylenie standardowe. Brak istotności statystycznej (test Dunna) pomiędzy próbami oznaczono tą samą literą; $n=4$



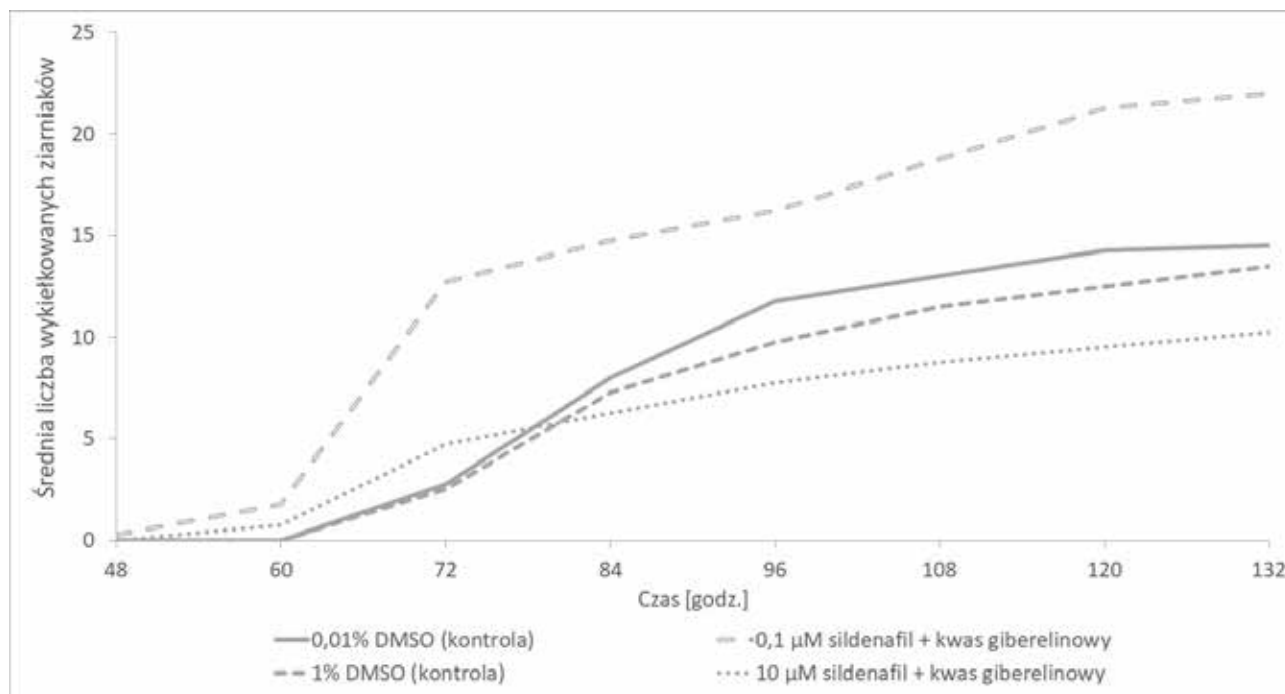
Ryc. 2. Średni czas kiełkowania ziarniaków (AGT) jęczmienia zwyczajnego (*Hordeum vulgare* L.) w zależności od zastosowanych stężeń DMSO (kontrola) i sildenafilu, w pożywce zawierającej kwas giberelinowy o stężeniu $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Na figurze zaznaczono odchylenie standardowe. Brak istotności statystycznej (test Dunna) pomiędzy próbami oznaczono tą samą literą; $n=4$

Wyniki

Wartości GC przedstawiono na Ryc. 1. Test nieparametrycznej analizy wariancji Kruskala-Wallisa wykazał istotność statystyczną różnic pomiędzy próbami ($p = 0,0146$, $df = 3$). Przeprowadzony test *post-hoc* Dunna wskazał istotne różnice w sile kieł-

kowania pomiędzy ziarniakami znajdującymi się na pożywce zawierającej sildenafil w stężeniu $0,1 \mu\text{M}$ i kwas giberelinowy a pozostałymi próbami.

Na Ryc. 2. przedstawiono wartości średniego czasu kiełkowania. Przeprowadzony test Kruskala-Wallisa wykazał istotne statystycznie różnice pomiędzy próbami ($p = 0,00365$, $df = 3$). Test Dunna wskazał istotne różnice AGT pomiędzy ziarniakami



Ryc. 3. Średnia liczba wykiełkowanych ziarniaków jęczmienia zwyczajnego (*Hordeum vulgare* L.) w kolejnych godzinach obserwacji w zależności od zastosowanych stężeń DMSO (próby kontrolne) i sildenafilu (próby badawcze), w pożywce zawierającej kwas giberelinowy o stężeniu $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$; $n=4$

znajdującymi się na pożywce zawierającej sildenafil w stężeniu $0,1 \mu\text{M}$ i kwas giberelinowy, a próbami kontrolnymi.

Dyskusja

Zastosowanie większego stężenia sildenafilu ($10 \mu\text{M}$) powoduje zmniejszenie siły kiełkowania w porównaniu do mniejszego stężenia ($0,1 \mu\text{M}$) (Fig. 1). Jednakże nie odnotowano istotnej statystycznie różnicy pomiędzy próbą obejmującą ziarniaki umieszczone na pożywce zawierającej kwas giberelinowy z dodatkiem sildenafilu (w stężeniu $10 \mu\text{M}$) a próbą kontrolną. Na podstawie otrzymanych wyników można wnioskować, że sildenafil w stężeniu $0,1 \mu\text{M}$ w obecności kwasu giberelinowego znacznie zwiększa siłę kiełkowania ziarniaków jęczmienia zwyczajnego (Ryc. 1). Podobną zależność można dostrzec we wspomnianej już publikacji D'Abrosca i współpracowników [2], gdzie wykazano, że w niższych stężeniach sildenafil powoduje zwiększenie siły kiełkowania, zaś w wyższych powoduje zmniejszenie tej wartości. Można jedynie nakreślić ogólną tendencję. Nie ma możliwości wskazania dokładnych stężeń, ponieważ efekt, który powodował sildenafil w danym stężeniu, był odmienny dla różnych gatunków badanych roślin. Należy pamiętać, że przeprowadzone eksperymenty dotyczyły wpływu roztworów sildenafilu i kwasu giberelinowego na kiełkowanie,

dlatego nie można dokładnie porównywać otrzymanych wyników z opublikowanymi w cytowanej pracy, które dotyczą jedynie wpływu samego sildenafilu (w postaci cytrynianu sildenafilu).

Nie odnaleziono w dostępnej literaturze jakiegokolwiek wytłumaczenia tej zależności. Wydaje się prawdopodobne, że odpowiedzialne za spadek siły kiełkowania przy zastosowaniu wyższych stężeń sildenafilu mogą być jego metabolity, których poziom rośnie wraz ze zwiększaniem stężenia sildenafilu. Być może dokładne poznanie mechanizmu metabolizmu sildenafilu u roślin i zbadanie fitotoksyczności jego metabolitów może okazać się kluczowe w wytłumaczeniu tego problemu.

Otrzymane wartości średniego czasu kiełkowania w odniesieniu do wyników siły kiełkowania wydają się być bardzo interesujące. Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy wartości AGT pomiędzy próbami badawczymi (Ryc. 2). Zależność tą dobrze obrazuje Ryc. 3. przedstawiająca średnią liczbę wykiełkowanych ziarniaków w danych próbach w przedziałach czasowych. Można zauważyć, że w obu próbach badawczych około połowa skiełkowanych ziarniaków wykiełkowała do 72 h obserwacji, co tłumaczy tak zbliżone wartości AGT. Na figurze tej widoczne są również znaczne różnice w średniej liczbie wykiełkowanych ziarniaków po 132 godzinach, co tłumaczy tak odmienne wartości GC. Jednakże, pomimo braku istotnej statystycznie różnicy wartości

AGT pomiędzy próbami badawczymi, występuje ona pomiędzy próbą badawczą zawierającą sildenafil w mniejszym stężeniu a próbą kontrolną, dlatego uprawniony jest wniosek, że sildenafil w stężeniu 0,1 μM w obecności kwasu giberelinowego skraca średni czas kiełkowania ziarniaków jęczmienia zwyczajnego.

Z przeprowadzonego eksperymentu wynika, że w odpowiednim stężeniu sildenafil w obecności kwasu giberelinowego stymuluje kiełkowanie poprzez znaczne zwiększenie siły kiełkowania ziarniaków oraz skrócenie jego średniego czasu. Badana metoda zwiększenia wydajności kiełkowania mogłaby

znaleźć zastosowanie praktyczne tam, gdzie mamy do czynienia z cennym materiałem nasiennym o małej sile kiełkowania, jednakże musiałyby to zostać poprzedzone badaniami w celu dobrania optymalnego stężenia sildenafilu dla każdego gatunku uprawianej rośliny, ponieważ może ono się różnić. Należy również przeprowadzić badania w celu dokładnego poznania produktów metabolizmu sildenafilu u roślin. Potencjalnie mogłyby one wywoływać działanie fitotoksyczne. Poprzez ściekanie wraz z wodą z pól mogłoby dochodzić do ich akumulacji, co stworzyłoby zagrożenie dla środowiska naturalnego.

Bibliografia

1. Cousson A (2003). Pharmacological evidence for a positive influence of the cyclic GMP-independent transduction on the cyclic GMP-mediated Ca^{2+} - dependent pathway within *Arabidopsis* stomatal opening in response to auxin. *Plant Science* 164: 759–767.
2. D'Abrascia B, Fiorentino A, Izzo A, Cefarelli G, Pascarella MT, Uzzo P, Monaco P (2008). Phytotoxicity evaluation of five pharmaceutical pollutants detected in surface water on germination and growth of cultivated and spontaneous plants. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/ Hazardous Substances and Environmental Engineering* 43: 285–294.
3. Dubovskaya LV, Bakakina YS, Kolesneva EV, Sodel DL, McAinsh MR, Hetherington AM, Volotovskii ID (2011). cGMP-dependent ABA-induced stomatal closure in the ABA-insensitive *Arabidopsis* mutant *abi1-1*. *New Phytologist* 191: 57–69.
4. Galie N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ, Rubin LJ, Badesch D, Fleming T, Parpia T, Burhess G, Branzi A, Grimmer F, Kurzyna M, Simonneau G (2005). Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *The New England Journal of Medicine* 353: 2148–57.
5. Goldstein I, Burnett AL, Rosen RC, Park PW, Stecher VJ (2019) The serendipitous story of sildenafil: an unexpected oral therapy for erectile dysfunction. *Sexual Medicine Reviews* 7: 115–128.
6. Gomez-Cadenas A, Zentella R, Walker-Simmons MK, Ho THD (2001). Gibberellin/abscisic acid antagonism in barley aleurone cells: site of action of the protein kinase PKABA1 in relation to gibberellin signaling molecules. *The Plant Cell* 13: 667–679.
7. Ishioka N, Tanimoto S (1990) Involvement of cyclic AMP in adventitious bud initiation of *Torenia* stem segments. *Plant & Cell Physiology* 31: 91–97.
8. Isner JC, Maathuis FJM (2011) Measurement of cellular cGMP in plant cells and tissues using the endogenous fluorescent reporter FlincG. *The Plant Journal* 65: 329–334.
9. Łomnicki A (2003). Wprowadzenie do statystyki dla przyrodników. Warszawa: PWN.
10. Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473–97.
11. Penson SP, Schuurink RC, Fath A, Gubler F, Jacobsen JV, Jones RL (1996). cGMP is required for gibberellic acid-induced gene expression in barley aleurone. *The Plant Cell* 8: 2325–33.
12. Reggiani R (1997). Alteration of levels of cyclic nucleotides in response to anaerobiosis in rice seedlings. *Plant & Cell Physiology* 38: 740–742.
13. Szmidt-Jaworska A, Jaworski K, Kopcewicz J (2007). Involvement of cyclic GMP in phytochrome controlled flowering of *Pharbitis nil*. *Journal of Plant Physiology* 165: 858–867.
14. Teng Y, Xu W, Ma M (2008). cGMP is required for seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Physiology* 167: 885–889.
15. Vora N, Jasrai Y (2012). Microwave oven based sterilization of media for micro propagation of banana. *Cibtech Journal of Biotechnology* 1: 2–3.
16. Wang YH, Gehring C, Irving HR (2011) Plant natriuretic peptides are apoplastic and paracrine stress response molecules. *Plant & Cell Physiology* 52: 837–850.

KONKURS FOTOGRAFICZNY: DRZEWA

W ramach „Dnia Krajobrazu” Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika zorganizowało w 2020 roku konkurs fotograficzny na najlepszą fotografię przedstawiającą drzewa. W konkursie wzięło udział 56 uczestników, którzy przesłali łącznie 156 fotografii. Wiele zgłoszeń nadeszło z zagranicy, z Wielkiej Brytanii, Irlandii, Białorusi, Francji, a nawet Izraela. Warto podkreślić, że w konkursie wzięli udział także uczestnicy w wieku 9–10 lat. Najwięcej zdjęć przysłali uczniowie Collegium Gostomianum w Sandomierzu. Zdjęcia zostały poddane ocenie Komisji konkursowej, która zdecydowała przyznać 3 nagrody: Benjaminowi Vignau z Francji, Helenie Kołobowej z Białorusi oraz Henry’emu Horaczko z Wielkiej Brytanii. Wyróżnienie przyznano Kindze Kopeć z Polski. Dodatkowo zostało wybrane najpopularniejsze zdjęcie w głosowaniu na Facebooku. Decyzją 339 osób „nagrodę publiczności” otrzymało zdjęcie Krzysztofa Kowalczyka z Irlandii.

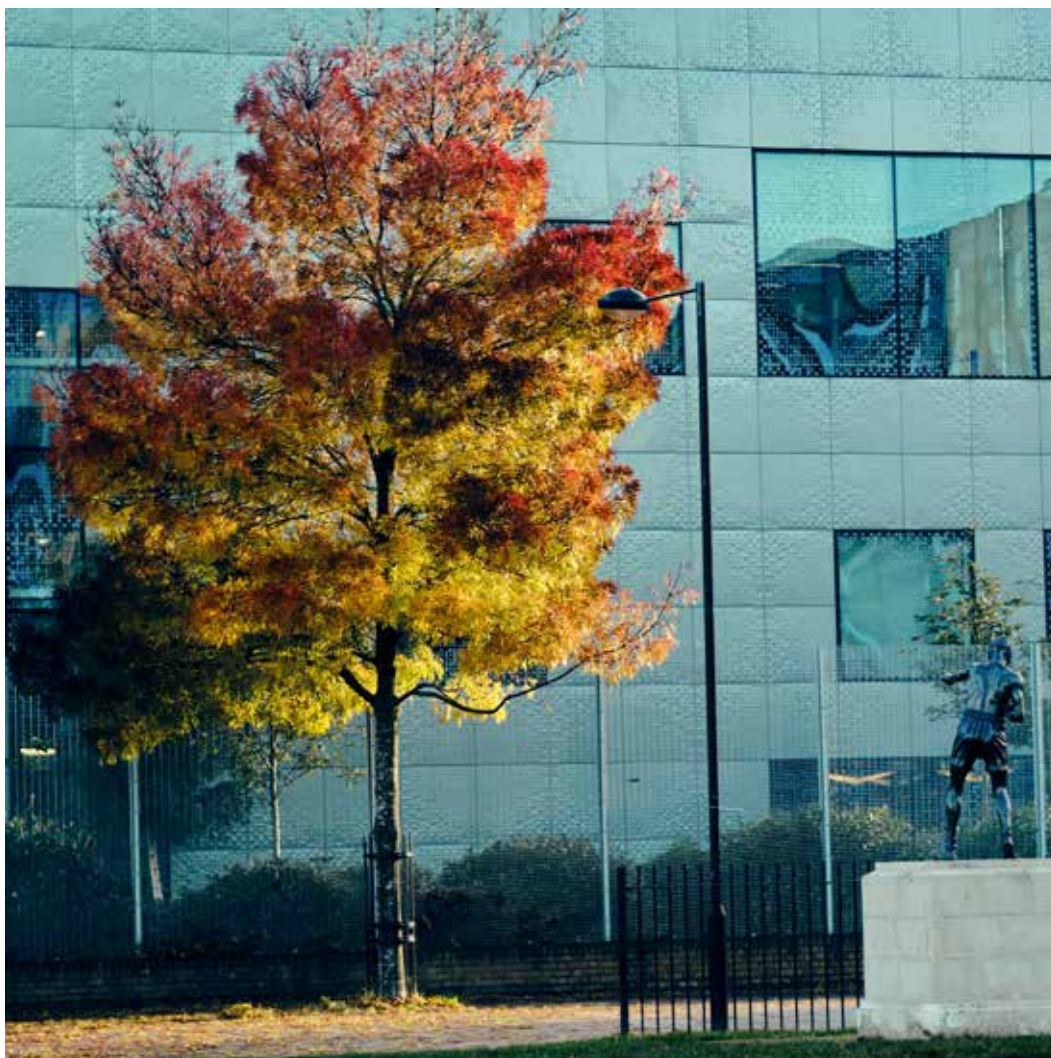
Prof. dr hab. Elżbieta Pyza, Przewodnicząca PTPK



1. miejsce – Benjamin Vignau



2. miejsce – Helena Kołobowa



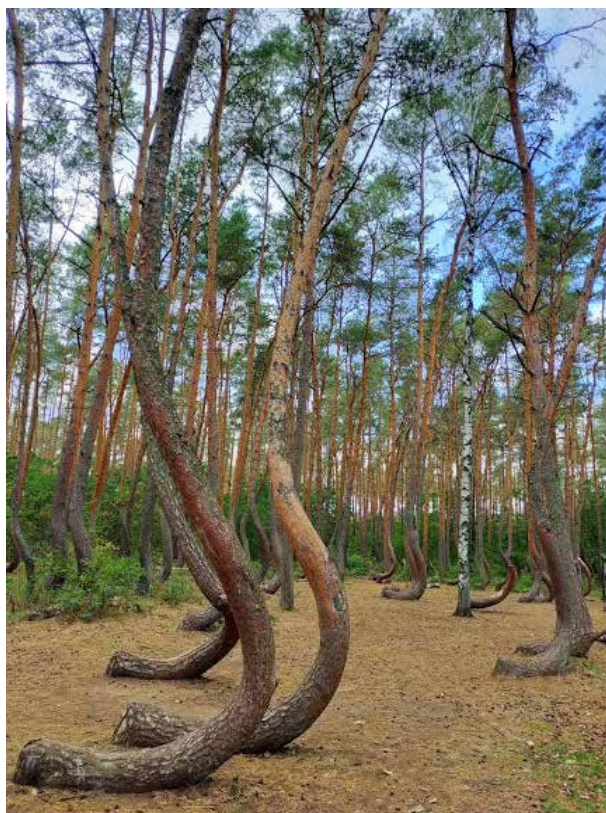
3. miejsce – Henry Horaczko



Konkurs na Facebooku: Mariusz Kowalczyk – las



Wyróżnienie – Kinga Kopec



Bogumiła Pilarczyk



Maria Jurkiewicz – uczennica klasy 1c, Sandomierz.

O TYM JAK „REALNY” MARZEC ROKU 2020 ZAMIENIŁ SIĘ W „WIRTUALNY” PAŹDZIERNIK, CZYLI O DNIU MÓZGU DLA DZIECI W RAMACH TYGODNIA MÓZGU 2020 W KRAKOWIE ZREALIZOWANYM W CZASACH PANDEMII COVID-19

Notatka z przebiegu „Dnia Mózgu”

pt. „NEURONAUKA DLA DZIECI: SEKRETY ZMYŚŁÓW”

oraz konkursu plastycznego pt.: „Świat poznajemy zmysłami, czas więc poznać zmysły”

Gdy z początkiem stycznia 2020 roku przygotowywałam projekt specjalnego programu dla dzieci, który miał być dedykowany do najmłodszych odbiorców (7–12-latków) i pojawić się po raz pierwszy w wieloletniej tradycji Tygodnia Mózgu w Krakowie, nic nie zapowiadało pandemii i komplikacji z tym związanych, jakie później się pojawiły. A miało być tak pięknie, przewidywalnie i wyjątkowo...

Złożyłam projekt na konkurs o grant „DANA-FENS Brain Awareness Week grant 2020” do amerykańskiej Fundacji DANA i Towarzystwa FENS (Federacja Europejskich Narodowych Towarzystw Neuronauki), którzy co roku przyznają najlepszym wyłonionym projektom finansowe wsparcie na cele organizacji imprez krzewiących w społeczeństwie wiedzę o mózgu. Ucieszyłam się wraz z zespołem, gdy nasz projekt znalazł się wśród zwycięzców i uzyskaliśmy dotację na tę imprezę, tym bardziej, że nasz 5-godzinny program został zakrojony bogato. Miał się składać z mini-wykładów na temat poszczególnych pięciu zmysłów oraz z praktycznych warsztatów określanych „modnie” w jęz. angielskim wyrażeniem „hands-on”, podczas których młodzi uczestnicy mieli wykonywać samodzielnie proste doświadczenia, zaproponowane przez wykładowcę.

Komitety Programowo-Organizacyjny rekrutował się z pracowników i doktorantów Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja PAN (IF PAN) w Krakowie i pracował pod przewodnictwem laureatki konkursu „DANA-FENS Brain Awareness Week grant 2020”, prof. dr hab. Ireny Nalepa (kierownika Zakładu Biochemii Mózgu IF PAN), współorganizatorką wydarzenia była dr Agnieszka Zelek-Molik, a wykłady i warsztaty opracowali i poprowadzili pracownicy naukowcy i doktoranci Zakładu Biochemii Mózgu (dr Katarzyna Rafa-Zabłocka, dr Adam Roman, dr Agnieszka Zelek-Molik, mgr Katarzyna Chorążka, mgr Monika Jankowska-Kiełtyka, mgr Michał Wilczkowski) i Zakładu Neurobiologii (dr Katarzy-

na Stachowicz) Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja PAN w Krakowie oraz mgr Karolina Karwowska, wolontariuszka z biologicznym wykształceniem. Stroną techniczną zajęli się: mgr Adam Bielawski i mgr Michał Wilczkowski (Zakład Biochemii Mózgu) oraz mgr Katarzyna Kaczorowska (Zakład Chemii Leków). Nasza impreza, powstała z inicjatywy pracowników IF PAN, miała się odbyć w środkowym dniu Tygodnia Mózgu, który jest organizowany przez Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika, przy współpracy Uniwersytetu Jagiellońskiego (UJ) i IF PAN, corocznie już od ponad 20 lat (od 1999 r.) i składa się z ciekawych regularnych wykładów popularnonaukowych adresowanych do szerokiego grona (dorosłych) słuchaczy. Tydzień Mózgu i również nasza impreza dla uczniów szkół podstawowych miała się odbyć w gościnnych murach UJ, w Auditorium Maximum (o programie wydarzenia i innych szczegółach czytaj w *Wszechświat* 1–3, 2020).

W oryginalnym ogłoszeniu można było przeczytać: „W środę 11 marca 2020 r., w trakcie krakowskiego Tygodnia Mózgu 2020, w godzinach 9.00–14.00, po raz pierwszy w bogatej historii tej dorocznej konferencji, odbędzie się wydarzenie skierowane głównie, choć nie wyłącznie, do uczniów szkół podstawowych. W przedstawionym cyklu pięciu mini-wykładów i warsztatów dotyczących zagadnień budowy i funkcjonowania naszych zmysłów, młodzi uczestnicy zaznajomią się z mechanizmami odpowiedzialnymi za komunikację organizmu z otaczającym go światem zewnętrznym. Będzie to równocześnie okazja do

interakcji z nauką i naukowcami – zadawania pytań na temat funkcji mózgu i na poznawanie sekretów zmysłów, czyli psikusów, jakie mogą nam one płatać na co dzień. Chociaż każda godzina będzie poświęcona jednemu z pięciu zmysłów, to w końcu okaże się, że nasze zmysły blisko ze sobą współpracują.”

Mieliśmy już wszystko prawie gotowe, gdy 4 marca, jak grom z jasnego nieba, gruchnęła wiadomość, że rektorzy uczelni krakowskich podjęli uchwałę o zamknięciu wszystkich uczelni i tym samym o odwołaniu wszystkich imprez. Ta decyzja została podjęta w związku z odnotowaniem w Polsce pierwszych zachorowań na COVID-19.

Początkowo, jak wszyscy, mieliśmy nadzieję, że jednak ta zaraza szybko minie i że w październiku będzie już można nasz program zrealizować, zarezerwowano więc sale na potrzeby Tygodnia Mózgu (19–24.10.2020), w tym na potrzeby programu dla

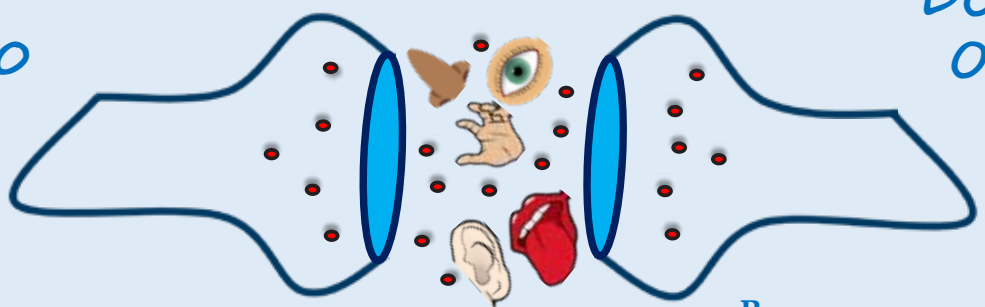
wykładów Tygodnia Mózgu, jak i naszego programu dla dzieci (Ryc. 1).

Było to trudne przedsięwzięcie, ponieważ nikt z nas nie miał doświadczenia w organizacji wirtualnych konferencji oraz nagrywaniu wykładów. Poświęciliśmy organizacji całego przedsięwzięcia w nowej formie o wiele więcej czasu niż normalnych warunkach. Ale wynik naszej pracy przerósł nasze oczekiwania, a ogromne zainteresowanie publiczności i życzliwe, często entuzjastyczne komentarze przyniosły nam wielką satysfakcję. Odnotowaliśmy 1423 otwarć strony z programem, oglądali nas internauci z Polski, Austrii, Norwegii, Włoch, Niemiec, Szwajcarii i USA.

Ponieważ warsztaty w formie wirtualnej nie mogły mieć, z przyczyn oczywistych, swojego pierwotnego kształtu, ogłosiliśmy konkurs plastyczny na prace przedstawiające zmysły w sposób, w jaki nasi młodzi

Tydzień Mózgu 2020 w Krakowie
Neuronauka dla dzieci
Sekrety zmysłów

OD 21.10.2020 **DOSTĘPNE ON-LINE**



Program

Warsztaty dedykowane dla dzieci w wieku 7–12 lat	Wprowadzenie Prof. dr hab. Irena Nalepa	Z naciskiem na dotyk Mgr M. Jankowska-Kiełtyka	Kubki pełne smaku Dr K. Rafa-Zabłocka, Mgr K. Chorążka
Wydarzenie zorganizowane przez pracowników i doktorantów Instytutu Farmakologii im. J. Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie	Czy te oczy mogą kłamać Dr A. Roman	Mam nosa do nauki Mgr K. Karwowska, Mgr M. Wilczkowski	Co obija się o uszy Dr A. Zelek-Molik, Dr K. Stachowicz
	Strona techniczna: Mgr Adam Bielawski, Mgr Michał Wilczkowski, Mgr Katarzyna Kaczorowska		



Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk



Federation of
European
Neuroscience
Societies



THE EUROPEAN
SCIENCE ALLIANCE
FOR THE BRAIN



Ryc. 1. Banner informacyjny towarzyszący wydarzeniu.

dzieci (21.11.2021). W sierpniu było już wiadomo, że niestety zamknięcie Uniwersytetu Jagiellońskiego i innych uczelni potrwa jeszcze dłużej. Zdecydowaliśmy o formie wirtualnej, zarówno regularnych

sluchacze zapamiętali zmysły z wykładów, w których uczestniczyli. Konkurs był zatytułowany: „Świat poznajemy zmysłami, czas więc poznać zmysły”, a funkcję Przewodniczącej Komisji ds. Nagród

pełniła dr Agnieszka-Zelek-Molik. W skład jury weszli wszyscy członkowie Komitetu Organizacyjnego (z wyłączeniem prof. Ireny Nalepy). Na konkurs trwający od 21/10/2020 r. do 15/11/2020 r. nadesłano drogą elektroniczną 45 prac, z różnych miejsc Polski: z Krakowa i okolic (Przeginia Duchowna i Kwaczała), Skawiny, Zabrze, Wrocławia, Dębicy, Płocka i Warszawy.

Komisja zapoznała się z przesłanymi na konkurs pracami, a następnie każdy z członków Komisji w dniach 16–18/11/2020 r. dokonał indywidualnej oceny wszystkich nadesłanych prac, przydzielając im punktację od 1 punktu dla pracy najsłabszej do 45 punktów dla pracy najlepszej zdaniem oceniającego. Na tej podstawie jury przyznało 3 nagrody główne oraz 7 wyróżnień. Ponadto główna organizatorka wydarzenia neurobiologicznego dla dzieci, prof. Irena Nalepa, przyznała wyróżnienie specjalne i ufundowała nagrodę dla sześciolatka. Plakat z nazwiskami zwycięzców i z kolażem skomponowanym z ich prac widnieje na Ryc. 2.

Laureaci (łącznie 11 osób) jako nagrodę za swoje dzieła otrzymali egzemplarz książki pt. „Sen Alicji, czyli jak działa mózg” Jerzego Vetulaniego i wsp. lub książkę „Alicja w krainie przyszłości, czyli jak działa sztuczna inteligencja” Ryszarda Tadeusiewicza i wsp. oraz imienny dyplom z informacją o zajętych miejscu/wyróżnieniu. Poza nagrodami książkowymi osoby nagrodzone otrzymały upominki, pamiątkowe długopisy, worki z logo wydarzenia oraz słodycze.

Zaznaczyć należy, że pomimo iż w regulaminie konkursu plastycznego był zapis, że nagrody nie będą wysyłane drogą pocztową, z uwagi na wysoki poziom artystyczny, pomysłowość oraz mnogość prac nadesłanych spoza Krakowa, jak również w związku z trudnościami w osobistym odbiorze nagród, spowodowanymi COVID-19, Komisja zdecydowała, że do osób zamieszkujących tereny będące poza zasięgiem rozwoju firmy SeeKrakow (która współpracowała z nami w charakterze wolontariusza rozwijającego nagrody) nagrody zostaną rozesłane drogą pocztową.

Podsumowując, można więc powiedzieć, że było pięknie i wyjątkowo, chociaż zupełnie nieprzewidywalnie...

Prof. Irena Nalepa
Przewodnicząca Komitetu
Programowo-Organizacyjnego
wydarzenia *pt.*
„NEURONAUKA DLA DZIECI:
SEKRETY ZMYŚLÓW”

Dr Agnieszka Zelek-Molik

Przewodnicząca Komisji ds. NAGRÓD
w konkursie plastycznym:
„Świat poznajemy zmysłami,
czas więc poznać zmysły”

Rozstrzygnięcie konkursu plastycznego „Świat poznajemy zmysłami, czas więc poznać zmysły”

Laureaci:

- I. Helenka Sawa Kujawska
[Warszawa]
- II. Franciszek Kubica
[Wrocław]
- III. Amelia Kuczyńska
[Dębica]

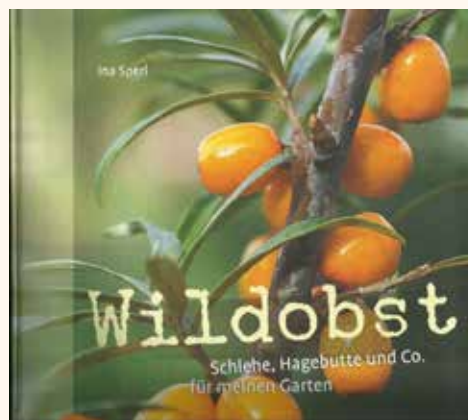
Wyróżnienia:

Maja Fedrowicz [Zabrze]
Grupa Tropicieli [Kraków]
Borys Tessmer [Wrocław]
Lena Pacyga [Zabrze]
Sonia Izdepska [Wrocław]
Tytus Cieszyński [Kraków]
Magdalena Feluś [Przeginia Duchowna]
Franio Korczyński [Kraków]

Autor plakatu: Kinga Molik

**INA SPERL, WILDOBST. SCHLEHE, HAGENBUTTE UND CO.
FÜR MEINEN GARTEN (DZIKIE OWOCE. ŚLIWA TARNINA,
DZIKA RÓŻA I IN. DLA MOJEGO OGRODU),
SS. 168, 150 BARWNYCH FOTOGRAFII,
STUTT GART (HOHENHEIM) 2016, ISBN 978-3-8001-0366-9,
WWW.ULMER.DE**

Owoce odgrywają ważną rolę w wyżywieniu człowieka. Obok powszechnie znanych gatunków owoców, dostępnych w supermarketach, występują też tzw. dzikie owoce (niem. *Wildobst*). W przypadku „dzikich owoców” chodzi o takie rośliny owocowe, które rozwinęły się bez ludzkiego udziału. Pojęcie „dzikich owoców” obejmuje zarówno „czyste” dzikie formy, jak też odmiany, które zostały – w niewielkim stopniu – zmienione pod względem uprawowym i genetycznym.



W uprawie rośliny takie potrzebują niewiele uwagi, gdy rozwiną się odpowiednio w określonym miejscu. Problematyką „dzikich owoców” zajęła się niemiecka autorka Ina Sperl w książce pt. „Dzikie owoce. Śliwa tarnina, dzika róża i in. dla mojego ogrodu”. Książka I. Sperl jest stosunkowo obszerna i składa się z następujących części składowych: „Co to są dzikie owoce?” (s. 4–8); „Dzikie owoce dla ogrodu naturalistycznego” (s. 9–26); „Dzikie owoce dla kuchni” (s. 27–44); „Dzikie owoce dla ogrodu rodzinnego” (s. 45–66); „Zadbać prawidłowo o dzikość” (s. 67–78); „Czterdzieści najlepszych gatunków dzikich owoców” (s. 79–160); „Serwis” (s. 161–168). Wstępne rozważania („Co to są dzikie owoce”) wyjaśniają pojęcie „dzikich owoców”.

W części „Dzikie owoce dla ogrodu naturalistycznego” można przeczytać o: życiu pośród roślin drzewiastych; zależnościach pomiędzy przyrodą a ogrodem; dynamicznym współdziałaniu między ogrodem a człowiekiem; spojrzeniu na ogród jako na określoną całość; szukaniu pożywienia w ogrodzie; o dzikości w ogrodzie; sadzeniu dzikich żywopłotów oraz o tym, które dzikie rośliny drzewiaste są najlepsze do

ogrodu naturalistycznego. Pośród roślin drzewiastych nie brakuje życia: ptaków, małych ssaków, a przede wszystkim owadów. Już w XIX w. Irlandczyk William Robinson przedstawił wyobrażenie dzikiego ogrodu, gdzie dominują łatwe do uprawy rodzime drzewa i byliny. Ogrodnicy ponoszą odpowiedzialność za różnorodność gatunkową i zachowanie możliwie wiele z „natury” w ogrodzie. Panują tutaj dynamiczne relacje pomiędzy różnymi elementami ogrodu, dlatego też należy traktować ogród jako dynamiczną całość. Znalezienie pożywienia należy tutaj do istotnych zagadnień, gdyż wiele ptaków żywi się owocami, a wiele owadów nektarem kwiatów. Ogród nie musi być duży, aby można było zintegrować z nim „dzikie owoce”.

Dzikie owoce znajdują wszechstronne zastosowanie w kuchni pod postacią różnych przetworów. Przy tym różne owoce mają często odmienny zakres zastosowania, np. świdoliwy, derenie jadalne czy jagody berberysu lub owoce nieszpuki. Z dzikich owoców można wytwarzać różnorodne przetwory, m.in.: soki owocowe, syropy, smoothies, likiery i wina owocowe, owoce suszone, a także

galaretki i kompoty. Do najlepszych dzikich owoców dla ogrodów kuchennych zalicza się: suchodrzew siny i kamczacki, wiśnię kosmatą (*Prunus tomentosa*), czarny bez, dereń jadalny, mahonię ostrolistną, morwy białą i czarną, nieszpulkę zwyczajną (*Mespilus germanica*) i pigwowiec japoński (*Chaenomeles japonica*). Dzikie owoce odgrywają ważną rolę w ogrodach rodzinnych. Charakterystyczny jest zakres opieki dla ogrodów z dzikimi owocami – oparty jest na minimalnych zabiegach ochronnych (a więc tzw. *laissez-faire* w ogrodach). Ogrody z dzikimi owocami dają szeroką możliwość odkrywania przyrody przez dzieci, zaś sam ogród może być dla nich miejscem intensywnej zabawy. Gdy obecne są wysokie i mocne drzewa, można na nich zbudować domki dla dzieci. Dzieci w ogrodach z dzikimi owocami rozpoznają złożone zależności w przyrodzie. Wiele roślin z dzikimi owocami uprawiać można także na balkonach. Potrzebna jest dobra ziemia i dostateczna ilość wody. Niewiele miejsca potrzebują poziomki (truskawki), maliny, borówki. Orzech włoski, kasztan jadalny albo figowiec są dobrymi drzewami w ogrodach rodzinnych. W większych ogrodach uprawiać można takie rośliny drzewiaste jak: leszczyna, dziki bez, śliwa wiśniowa (ałyca). Dzieci lubią się ukrywać w ogrodach. Należy też unikać niebezpieczeństwa zjedzenia przez pomyłkę owoców trujących lub szkodliwych.

Ulubione przez dzieci, ale również osoby dorosłe, są labirynty i błędne ogrody – można tutaj wykorzystać rośliny drzewiaste z dzikimi owocami, m.in. dzikie jabłonie, dereń jadalny, śliwę wiśniową. Wyrosnięcie drzew labiryntu lub błędnego ogrodu trwa jednak wiele lat. Zakładanie takich ogrodów wymaga odpowiedniej wiedzy botaniczno-ogrodniczej i technicznej. Dzikie owoce wykorzystywać można w domach m.in. w postaci wieńców i ozdób domowych. W ogrodach drzewa z dzikimi owocami występują w postaci szpalerów jako powiązana ze sobą „dzikość” (s. 62). Jako szczególne przysmaki w ogrodzie rodzinnym uchodzą: poziomki, figi, świdośliwy, japońska malina rdzawa (*Rubus phoenicolasius*), borówka czarna i borówka amerykańska, śliwa wiśniowa (*Prunus cerasifera*), mini kiwi (*Actinidia arguta*) i oliwniki.

Najważniejsze znaczenie w książce posiada część „Czterdzieści najlepszych gatunków dzikich owoców”. W tym miejscu przedstawiono – moim zdaniem – bardzo dobrze portrety botaniczno-ogrodnicze i uprawowe oraz kulinarne tych najlepszych gatunków dzikich owoców. Nie sposób je wszystkie omówić bardziej szczegółowo w krótkiej recenzji. Stąd też zwrócę uwagę na wybrane z nich. Wymie-

nić tutaj trzeba m.in. aronię czarnoowocową (*Aronia melanocarpa*) z wieloma cennymi odmianami (‘Hugin’, ‘Nero’, ‘Viking’); berberysy: zwyczajny i koreański (przeznaczone głównie do przetworów); jeżynę pospolitą z wieloma cennymi odmianami i mieszancami (boysenberry, loganberry, tayberry); oryginalną pomarańczę trójlistkową (*Poncirus trifolata*), której owoce mogą być wykorzystane w przetwórstwie oraz jarzab pospolity (*Sorbus aucuparia*), przeznaczony do przetworów. Ten ostatni posiada odmianę słodką, jadalną surowo jarzębinę morawską z cennymi odmianami (‘Rossica’, ‘Rossica Major’, ‘Konzentra’), a także cenne mieszance: ‘Burka’, ‘Titan’, ‘Likjornaja’ i inne. Do bardzo aromatycznych owoców należy poziomka leśna – znane są gatunki i odmiany poziomek, a także truskawek. Do dzikich owoców jadalnych stosunkowo mało znanych w Polsce należą: kasztan jadalny; figowiec pospolity; wiśnia kosmata (*Prunus tomentosa*); mahonia ostrolistna (*Mahonia aquifolium*); mini-kiwi, czyli aktynidia ostrolistna (*Actinidia arguta*); nieszpulka zwyczajna (*Mespilus germanica*), kilka gatunków oliwników (*Elaeagnus*), asymina trójkłapowa, inaczej banan indiański (*Asimina triloba*); pigwowiec, japoński (*Chaenomeles japonica*); nieco zapomniany jarzab domowy (*Sorbus domestica*), japońska malina rdzawa (*Rubus phoenicolasius*).

Książka Iny Sperl stanowi znakomitą monografię botaniczno-ogrodniczą. Dzikie owoce mogą być wszechstronnie wykorzystane w ogrodzie naturalistycznym, a także w ogrodach rodzinnych i jako owoce w kuchni. Autorka wszechstronnie przedstawia także niektóre mniej znane w Polsce dzikie owoce. Warto by tę przejrzystą napisaną i bogato ilustrowaną książkę przetłumaczyć na język polski jako cenną pomoc dla specjalistów i szerokiego grona zainteresowanych czytelników. Wysoką wartość posiadają nie tylko rozważania botaniczno-ogrodnicze, ale także kulinarne i techniczne.

Eugeniusz Kośmicki (Poznań)



K

orzenie sosny w Wełeczku koło Buska Zdroju. Fot. Maciej Bonk.

