

Biologiczna metka

WIESŁAW BOGDANOWICZ
AGNIESZKA DRABER-MOŃKO
TADEUSZ MALEWSKI

Muzeum i Instytut Zoologii, Warszawa
Polska Akademia Nauk
wieslawb@miiz.waw.pl
draber@miiz.waw.pl
tmalewski@miiz.waw.pl

Olbrzymia liczba gatunków wciąż czeka na odkrycie. Choć nic nie zastąpi pracy klasycznych taksonomów, biolodzy chcą przyspieszyć i ułatwić identyfikację gatunków, tworząc katalogi genetycznych kodów paskowych

W połowie XVIII wieku szwedzki przyrodnik Karol Linneusz w dziele pt. „Systema naturae” upowszechnił zasadę binominalnego (składającego się z dwóch członów) nazewnictwa biologicznego oraz opisał około 7,7 tys. gatunków roślin i ponad 4 tys. gatunków zwierząt. Stworzony przez niego system stał się podwalinami współczesnej

taksonomii. W ciągu następnych 230 lat opisano około 1,7 mln gatunków eukariontów – organizmów, których komórki mają wyraźne jądra komórkowe (do tej grupy należą m.in. rośliny, grzyby i zwierzęta). To jednak wciąż niewiele – liczbę współcześnie żyjących gatunków *Eukaryota* ocenia się na co najmniej 10 mln!

Systematyk w cenie

Wydawałoby się, że oznaczanie kolejnych milionów gatunków jest tylko kwestią czasu. Problem w tym, że nie ma na świecie wystarczającej liczby biologów systematyków (i jest ich coraz mniej), a i tak stosunkowo niewielu badaczy jest w stanie oznaczyć więcej niż tysiąc gatunków. Dodatkowo sama identyfikacja na podstawie cech morfologicznych bywa czasochłonna i żmudna. Na szczęście wraz z opracowywaniem skutecznych metod ekstrakcji, oczyszczania i analizowania DNA, dzięki zwiększaniu mocy obliczeniowej komputerów i wraz z rozwojem bioinformatyki możliwa staje się szybka identyfikacja gatunków tylko na podstawie sekwencji ich DNA.

W 2003 r. Paul Hebert z Instytutu Bioróżnorodności Uniwersytetu Guelph w Kanadzie zaproponował spo-



Wiesław Bogdanowicz

Dzięki pomysłowi metkowania genetycznego zidentyfikowano wiele nowych gatunków zwierząt, m.in. widocznego na zdjęciu gacka alpejskiego (*Plecotus macrobullaris*)

Nowe możliwości identyfikacji gatunków

sób identyfikacji gatunków, który nazwał „DNA barcoding” (ang. *barcode* – kod paskowy). Kod paskowy o 13 elementach wystarcza do identyfikacji wszystkich towarów w sklepie. DNA składa się z czterech typów nukleotydów ułożonych w określonej kolejności w długie łańcuchy. W królestwie zwierząt do ustalania kodu paskowego DNA wybrano więc fragment długości około 650 nukleotydów genu 1 podjednostki oksydazy cytochromowej (*COI*). Sekwencję *COI* cechuje mała zmienność wewnątrzgatunkowa oraz duża zmienność międzygatunkowa. Gen ten stanowi więc doskonałą metkę biologiczną.

Nie tylko nowe gatunki

Zastosowanie genetycznego metkowania stanowiło przełom w molekularnych metodach identyfikacji gatunków. Możliwa stała się nie tylko identyfikacja nowych gatunków, ale także gatunków, które trudno rozróżnić metodami tradycyjnymi. Nowe gatunki zwykle znajdowane są wśród mało „atrakcyjnych” organizmów, ale zdarzają się odkrycia naprawdę dużych zwierząt (delfin, wieloryb). Analiza sekwencji *COI* u jednej, „leśnej” grupy motyli na Kostaryce, uprzednio traktowanych jako jeden gatunek (*Astraptes fulgerator*), wykazała, że w rzeczywistości należą one do dziesięciu gatunków. Innym przykładem jest zredukowanie prawie o połowę (z ponad 300 do 170)

liczby „morfologicznych” gatunków koralowców z grupy *Acropora*, zamieszkujących wybrzeża Indonezji.

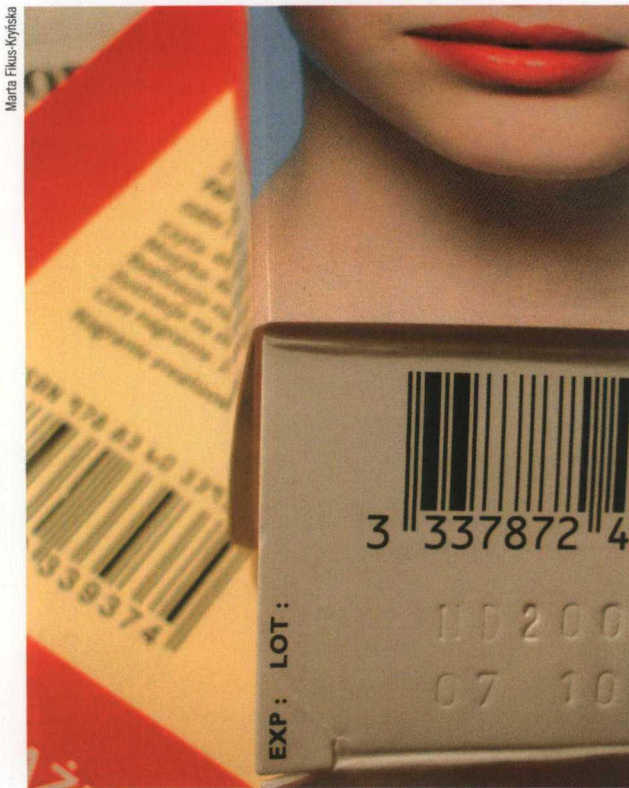
Większość znalezisk dotyczy tropików, ale odkrycia zdarzają się także bliżej nas. Na podstawie badań DNA tylko w Europie stwierdzono lub potwierdzono występowanie kilku nowych gatunków nietoperzy, m.in.: karlika drobnego (*Pipistrellus pygmaeus*), nocka Alcathoe (*Myotis alcathoe*) oraz gacków: sardyńskiego (*Plecotus sardus*), bałkańskiego (*P. kolombatovici*) i alpejskiego (*P. macrobullaris*).

Zasadniczą zaletą metody *DNA barcoding* jest bezbłędna identyfikacja organizmów w stadiach rozwojowych trudnych do oznaczania metodami tradycyjnymi (np. larwy, nasiona, siewki). Co więcej, umożliwiała ona oznaczanie gatunków jedynie na podstawie ich fragmentów, np. pojedynczych piór, ułamków kości czy wysuszonych liści. Nowe gatunki zidentyfikowane dzięki analizie DNA znajdowane są także w tak dziwnych miejscach jak targowiska czy markety z żywnością.

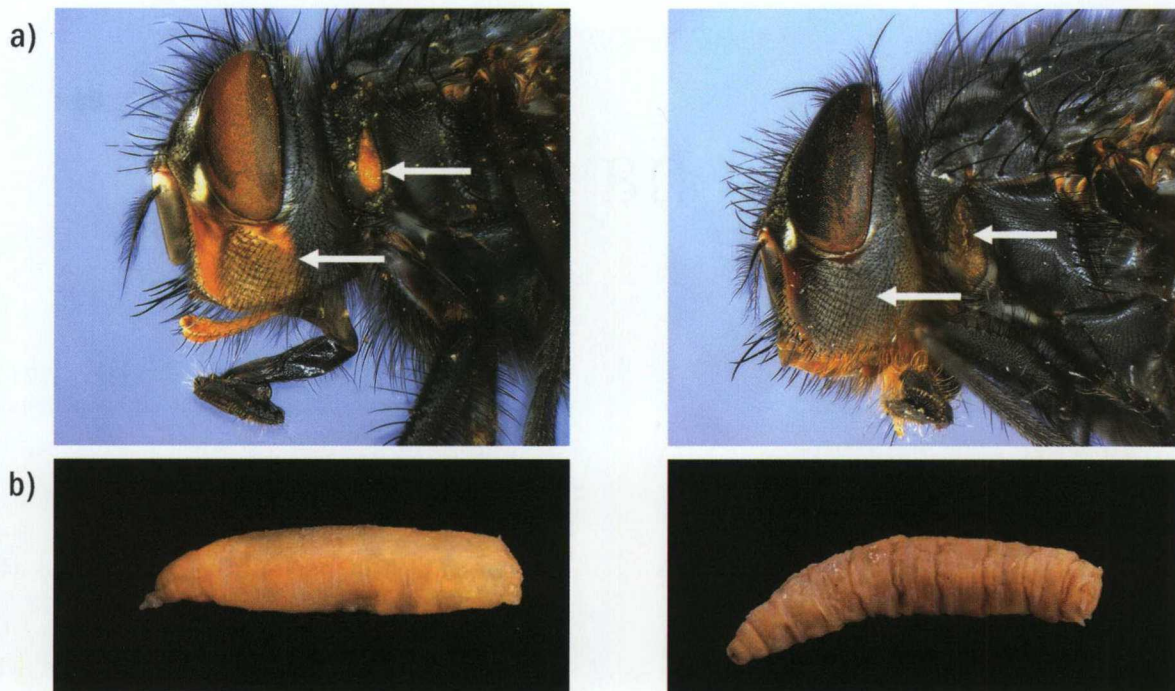
Oznaczanie kodu paskowego DNA znajduje zastosowanie praktyczne. Jednym z nich jest badanie wpływu różnych form antropopresji i jej skutków (np. ocieplania się klimatu) na bioróżnorodność w skali regionalnej i globalnej. Poznanie powiązań filogenetycznych pomiędzy gatunkami pozwala lepiej prognozować i ograniczać inwazje obcych gatunków. *DNA barcoding* stwarza też możliwość badania alergii u ludzi, monitorowania stanu środowiska (np. kondycji gleby), zwiększenia skutecznej kontroli handlu gatunkami dzikich roślin i zwierząt oraz identyfikacji gatunków istotnych dla medycyny sądowej.

Mucha w sądzie

W tym ostatnim przypadku przydatne okazują się prace prowadzone w naszym instytucie, gdzie badamy 15 nekrofagicznych gatunków muchówek z rodziny plujkowatych (*Calliphoridae*). Zwłoki ludzkie przed odnalezieniem przez służby dochodzeniowe najczęściej zostają najpierw skolonizowane przez owady, które składają na nich jaja. Taki marker biologiczny umożliwia określenie czasu, jaki upłynął od chwili śmierci do momentu odkrycia zwłok, co stanowi jedno z najważniejszych zadań medycyny sądowej. Znajomość biologii owadów nekrofagicznych pozwala dość precyzyjnie określić ten czas. W klimacie umiarkowanym to plujkowate rozpoczynają sukcesję na zwłokach (pojawiają się już w 2-3 godziny od chwili zgonu) i uczestniczą w jej dwóch pierwszych etapach: (1) w momencie rozpoczęcia procesów litycznych (m.in. dotyczy to plujki pospolitej *Calliphora vicina* i plujki burczała *C. vomitoria*), (2) w momencie rozpoczęcia procesów gnilnych. Znane jest tempo rozwoju tych owadów, z uwzględnieniem takich czynników, jak temperatura, światło i wilgotność. Niektóre plujkowate, np. plujka pospolita, mogą składać jaja przez całą dobę, natomiast muchówki z rodzaju *Lucilia* tylko w dzień. *C. vicina* jest najpospolitszą muchówką znajdowaną na zwłokach ludzkich, zwłaszcza w mięsie, z kolei

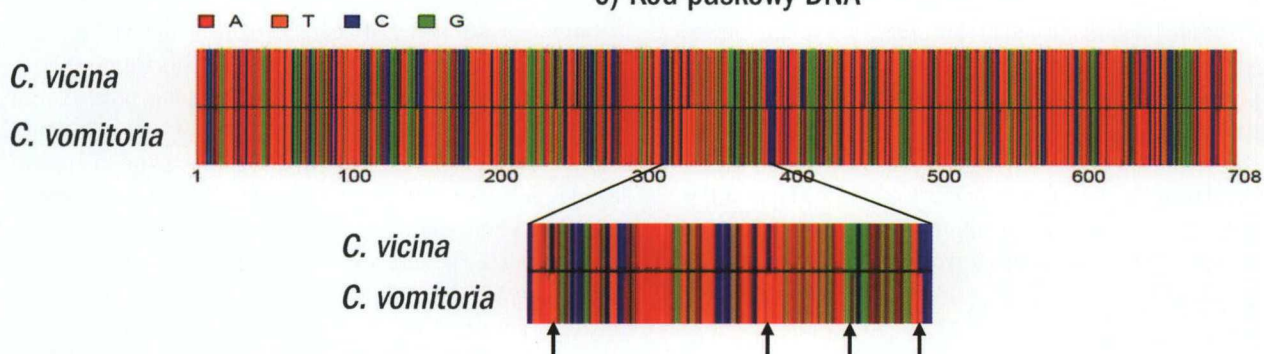


Do oznaczenia produktów dostępnych w handlu w Europie w kodzie paskowym występuje najczęściej 13 elementów. Do genetycznego metkowania gatunków wybrano fragment genu *COI* o długości 650 nukleotydów



Piotr Sipiński

c) Kod paskowy DNA



Identyfikacja dwóch gatunków muchówek *Calliphora vicina* i *Calliphora vomitoria* na podstawie cech morfologicznych (a) osobników dorosłych, (b) larw oraz (c) kodu paskowego DNA. Dorosłe osobniki dość łatwo rozróżnić morfologicznie, czego nie można powiedzieć o larwach. Zamieszczony poniżej kod paskowy DNA pozwala jednoznacznie określić przynależność gatunkową na każdym etapie rozwoju muchówek: jaja, larwy, poczwarki i postaci dorosłej. Różnice w morfologii imago (kolor i owłosienie policzków, barwa przetchlinek) oraz w DNA zaznaczono strzałkami

C. vomitoria częściej występuje w środowiskach wiejskich. Ustalenie daty, a niekiedy i miejsca śmierci jest więc możliwe poprzez zidentyfikowanie larw z dokładnością do gatunku i określenia ich wieku. Tutaj docieramy do sedna: jak łatwo sobie wyobrazić na podstawie przedstawionych zdjęć, identyfikacja gatunku larwy tylko na podstawie jej cech morfologicznych nie jest prosta. W tym wypadku jednoznaczny jest jedynie kod paskowy DNA.

Nad katalogowaniem kodów paskowych DNA pracuje obecnie cały świat. *Consortium for the Barcode of Life* (CBOL) skupia 157 organizacji z 45 krajów i patroluje programom sekwencjonowania *COI* u wszystkich gatunków motyli (*All-Leps*), ryb (*Fish Barcode of Life*), ptaków (*All Birds Barcoding Initiative*) oraz wszystkiego, co żyje w rejonach polarnych (*Polar Barcode of Life Initiative*). W Polsce badania wykorzystujące kod paskowy DNA są wykonywane m.in. w ramach Krajowego Banku DNA Roślin,

Grzybów i Zwierząt, koordynowanego przez Muzeum i Instytut Zoologii PAN w Warszawie. Wydaje się zatem, że powszechne „barkodowanie” gatunków w obrębie królestwa zwierząt to tylko kwestia czasu. Znakowanie tą techniką roślin i grzybów nastęrcza znacznie więcej trudności... ale o tym już innym razem. ■

Chcesz wiedzieć więcej?

Hajibabaei M., Singer G.A., Hebert P.D., Hickey D.A. (2007). DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*, 23, 167-172.

Hebert P.D., Penton E.H., Burns J.M., Janzen D.H., Hallwachs W. (2004). Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 101, 14812-14817.

Kress W.J., Wurdack K.J., Zimmer E.A., Weigt L.A., Janzen D.H. (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 102, 8369-8374.