

Wolf-Ekkehard Lönnig

Hodowle mutacyjne, ewolucja i prawo powtarzanej zmienności¹

Notification.

The publication of the translation of the paper „Mutation breeding, evolution, and the law of recurrent variation” **is not implying that Dr. Wolf-Ekkehard Lönnig**, being a Jehovah’s Witness, is endorsing any form of creationism. The autor, born 1943, has retired in 2008 from the Max Planck Institute of Plant Breeding Research.

Zastrzeżenie.

Publikacja artykułu „Hodowle mutacyjne, ewolucja i prawo powtarzanej zmienności” **nie oznacza, jakoby dr Wolf-Ekkehard Lönnig**, świadek Jehowy, popierał jakąkolwiek formę kreacjonizmu. Urodzony w r. 1943 autor jest emerytowanym (od 2008 r.) pracownikiem Instytutu Hodowli Roślin im. Maxa Plancka.

Streszczenie.

W niniejszym artykule udokumentowano historię powstania i upadku hodowli mutacyjnej jako odrębnej gałęzi badań nad hodowlą, oraz jej dobroczynne następstwa dla hodowli roślin i biologii. Prawdopodobnie najważniejszym uogólnieniem wszystkich wyników hodowli mutacyjnych jest „prawo powtarzanej zmienności” (*the law of recurrent variation*). Głosi ono: „Poddawanie linii homozygotycznych działaniu czynników mutagennych mutagenów powoduje znaczną zmienność, jednak o wyraźnie ograniczonym zakresie. Zjawisko to występuje stale, gdy doświadczenia przeprowadzane są w skali adekwatnej do izolacji potencjalnych alleli powodujących odchylenia fenotypowe i funkcjonalne (mutageneza saturacyjna). Jednak ze względu na prawie niewidoczne skutki zmian w nadmiarowych sekwencjach i/lub późniejsze rearanżacje chromosomowe, odpowiadająca im krzywa nasycenia asymptotycznie zbliża się do granicy mikroilościowej części zmienności.” Dodatkowo podano przyczyny, dlaczego prawo to stosuje się do heterozygot i gatunków allogamicznych; pokrótce zdefiniowano również genetyczną podstawę tego prawa. Ponadto przedstawiamy powody, dla których nadmierny optymizm i euforię w początkowym okresie hodowli mutacyjnych trzeba oceniać w kontekście podstawowych założeń syntetycznej teorii ewolucji – opartej na założeniu, iż mutacje i dobór stanowią całkowicie wystarczające wyjaśnienie pochodzenia wszystkich gatunków i wyższych kategorii systematycznych za-

¹ „Mutation breeding, evolution, and the law of recurrent variation”, (w:) S.G. Pandalai (red.) *Recent Research Developments in Plant Molecular Biology*, vol. 2 (2005), Research Signpost, Fort P.O., Trivandrum-695 023, Kerala, India 2006, s. 45–70. Tłumaczenie: Marta Długowska.

równu królestwa roślin, jak i zwierząt. Następnie rozważamy, czy ograniczoność zakresu mutacji stwierdzana w hodowlach roślin mogłaby mieć wpływ na obecną teorię pochodzenia gatunków.

Jeśli prawo powracającej zmienności stosuje się nie tylko do organizmów hodowlanych, ale i do gatunków dziko żyjących, to twierdzenia teorii syntetycznej będą musiały ulec rewizji.

Wprowadzenie

Hermann J. Muller, prekursor genetyki mutacji i laureat Nagrody Nobla roku w dziedzinie fizjologii lub medycyny w 1946 r., podsumował w swoim wykładzie noblowskim „The production of mutations” (71) liczne problemy badań nad mutacjami. Omówił m.in. kwestię tendencji celowościowych w samym procesie zmienności (ich występowaniu takich tendencji stanowczo zaprzeczył), stosunek liczby mutacji letalnych do ukrytych i widocznych, a także uszkodzenia chromosomów i heterozję. Jedno z jego kluczowych twierdzeń stanowi, że „zdecydowana większość zmian powinna być szkodliwa w skutkach, podobnie jak wszelkie zmiany dokonywane na oślep w skomplikowanym urządzeniu zwykle zakłócają jego prawidłowe funkcjonowanie, a większe zmiany całkiem zaburzają działanie całości, lub też są, jak się to mówi, letalne.” Dlatego podkreślał później w kontekście medycznym, że „obowiązkiem radiologów – zbyt rzadko jak dotąd wypełnianym w większości krajów – jest podkreślanie konieczności zachowywania prostych środków ostrożności, niezbędnych dla ochrony gonad osób narażonych na promieniowanie, zarówno w przemyśle, jaki i w praktyce medycznej.” Był niemniej przekonany, że szczególnie „niewidoczne mutacje” (patrz niżej) są podstawą powstania wszystkich form życia, w tym człowieka.

W niniejszej pracy będą analizowane zalety i wady dwóch kluczowych elementów badań nad mutacją, które Muller regularnie sam podkreślał wcześniej, a następnie kontynuował w swoim wykładzie noblowskim: (a) znaczenie tego przedmiotu dla syntetycznej teorii ewolucji i (b) jego zastosowanie w hodowli zwierząt i roślin. Według Mullera zachodzi wyraźny związek między tymi dwoma zagadnieniami. Jego przekonanie o znaczeniu mutacji dla ewolucji było podstawą oczekiwania, że będzie je można zastosować w hodowli zwierząt i roślin. Muller był przekonany, że „po raz pierwszy miał możliwość świadomie zmieniać materiał genetyczny i że ewolucję da się przyspieszyć” (42). Zatem zastosowanie tej ewolucyjnej hipotezy w badaniach hodowlanych, jak utrzymywał Muller, „daje nadzieję hodowcom, że ta metoda może ostatecznie okazać się użyteczna” (70), a także, iż wytwarzanie mutacji „może (...) okazać się w coraz większym stopniu praktycznie użyteczne w ulepszaniu roślin i zwierząt” (71). Chociaż w kontekście adaptacji Muller opowiadał się za mutacjami o „efektach zbyt małych, by były wykrywalne przez nasze raczej toporne narzędzia”, to sądził, że „w warunkach hodowli sztucznej także większe mutacje można doprowadzić do punktu, w którym dostatecznie

oddalą się od punktu wyjścia” — odnosząc się do pomysłu Huxleya co do metody utrwalania znaczniejszych mutacji.

Ideę tę przedstawił również profesor T. Caspersson, członek Instytutu Karolinska, w przemówieniu towarzyszącym prezentacji noblowskiej Mullera (16):

Rozwijająca się wiedza na temat mechanizmu procesów mutacji ma wpływ i stymuluje pracę w wielu dziedzinach odrębnych od genetyki teoretycznej, w których zostały osiągnięte ważne rezultaty, zarówno o charakterze teoretycznym, jak i praktycznym. Aby zilustrować tylko samo zróżnicowanie i odrębność rozważanych obszarów, pozwolę sobie wymienić kilka przykładów: genetyka stosowana, zwłaszcza udoskonalanie roślin, która ma szczególnie praktyczne znaczenie, teoria ewolucji, badania dotyczące metabolizmu, wiele dziedzin medycyny, w szczególności eugeniki i teoria choroby w ogólności.

Również sam Muller określał znaczenie mutacji w hodowli roślin i ewolucji w swoim wykładzie noblowskim w następujący sposób (71):

Nagromadzenie wielu rzadkich, przeważnie drobnych zmian, stanowi nie tylko główne narzędzie udoskonalania roślin i zwierząt, lecz co więcej, jest to droga, dzięki której doszło do naturalnej ewolucji skutkiem działania doboru naturalnego. Teoria darwinowska zostaje zatem wprowadzona w życie i uwalnia od obarczających ją niegdyś naleciałości ukierunkowanych zmian i lamarckizmu.

Wypowiedzi Mullera i Casperssona należy rozpatrywać na tle bardziej ogólnej rewolucji w biologii: przyjęcia syntetycznej teorii ewolucji (neodarwinizmu), zainicjowanej w 1937 roku przez Dobzhansky'ego w książce *Genetics and the Origin of Species* (22, 48). Od tego czasu większość ewolucjonistów uważała mutacje (zgodnie z definicją Mullera) oraz dobór naturalny siłę w pełni wystarczającą do tworzenia wszystkich gatunków i wyższych kategorii systematycznych, zarówno roślin, jak i zwierząt.

Zasadniczą rolę odgrywaną wg teorii syntetycznej przez mutacje podsumował później jasno Jacques Monod (69):

Określamy te wydarzenia (mutacje) przypadkowymi; mówimy, że są one losowymi zdarzeniami. A ponieważ są one jedynym możliwym źródłem modyfikacji w zapisu genetycznego, jedynym możliwym źródłem dziedziczności, to z konieczności jedynie przypadek leży u źródła wszelkiej innowacji, wszelkiego stworzenia w biosferze. Wyłącznie przypadek, zupełnie wolny, lecz ślepy u samych korzeni zdumiewającego systemu ewolucji: ta centralna koncepcja współczesnej biologii nie jest już jedną z wielu możliwych czy nawet wyobraźalnych hipotez. Dziś jest ona jedyną wyobraźalną hipotezą, jedyną, która pasuje do obserwowanych i testowanych faktów. I nic nie usprawiedliwia przypuszczeń lub nadziei, że w tej kwestii nasze stanowisko może kiedykolwiek się zmienić.

Mentor teorii syntetycznej, Ernst Mayr, podtrzymywał powszechną opinię, iż na dzięki mutacjom „każdy aspekt „cudownego projektu”, tak wielbiony przez teologów naturalnych, można wyjaśnić przez dobór naturalny”. (63)

Również Richard Dawkins, prawdopodobnie najbardziej bezceremonialny współczesny obrońca tej teorii, gorąco nas o tym przekonuje (18):

Nigdy nie było tak wielu faktów wyjaśnionych przy pomocy tak niewielu założeń (mutacji i selekcji). Darwinowskiej teorii nie sprzyja przesadna moc wyjaśniania. Jej ekonomia w działaniu (na drodze mutacji i selekcji) posiada moc elegancji, poetyckiego piękna bijącą na głowę najbardziej niesamowite mity o pochodzeniu.

Podobne wypowiedzi, można znaleźć w: 17, 43, 44, 48, 62–64.

Nadzieje pokładane w hodowlach mutacyjnych

Ponieważ uważano, że linie uprawne powstały najwyraźniej z powodu działania takich samych czynników, jak gatunki dzikie, pojawiły się doniesienia o ogromnej euforii wśród biologów i genetyków w ogólności, a hodowców w szczególności. Uważali oni, że nadszedł czas na zrewolucjonizowanie „starej” metody hodowli rekombinacyjnych przez całkowicie nową gałąź hodowli mutacyjnych (patrz materiały źródłowe poniżej).

Innymi słowy, na podstawie założenia, że to mutacje wytworzyły cały surowy materiał dla wszystkich genów i białek, wszystkich procesów fizjologicznych i struktur anatomicznych, zarówno w królestwie zwierząt, jak i roślin, oczekiwano jeszcze bardziej zaskakujących sukcesów stosując te czynniki — indukowane mutacje i selekcję — w badaniach hodowlanych roślin i zwierząt.

Dodatkowo w dyspozycji hodowców w dość krótkim czasie znalazły się trzy różne uzupełniające się metody prowadzące do pełnego sukcesu: (a) zwielokrotnione tempo mutacji, (b) ukierunkowana rekombinacja, (c) inteligentna selekcja. Tak więc zarówno w USA, jak również w wielu krajach Europy i Azji została uruchomiona nowa gałąź hodowli mutacyjnych, w której można wyodrębnić dwie fale: pierwsza wystąpiła pod koniec lat 30. XX w., i nasilając się po wojnie, doprowadziła do międzynarodowej współpracy w FAO / IAEA.

Hodowle mutacyjne około 40 lat później

W kolejnych paragrafach streścimy ogólne wyniki hodowli mutacyjnych po kilkudziesięciu latach intensywnych badań w tej gałęzi, cytując autorytatywne wypowiedzi najlepszych na świecie ekspertów w dziedzinie nauk rolniczych i botaniki. Większość z nich aktywnie uczestniczyło w hodowlach mutacyjnych.

W latach 40. XX w. rozpoczęto badania w zakresie hodowli mutacyjnych. Po czterdziestu latach Simmonds tak podsumowuje ich wyniki łącznie z własnymi w książce *Crop Improvement* (84):

Wcześniejszy powszechny optymizm, że efekty uzyskane na drodze indukowanych mutacji zrewolucjonizują hodowlę roślin, ustąpił miejsca bardziej trzeźwej ocenie tej techniki jako cennego uzupełnienia bardziej konwencjonalnych technik w niektórych określonych okolicznościach. [...] Bardzo wiele programów, zwłaszcza w pierwszym okresie nadmiernego optymizmu, nie zostało zrealizowanych, przeto nie dały pożytecznych wyników. Obecnie traktujemy indukowane mutacje jedynie jako jedną z

technik, która jest czasami przydatna w poszerzaniu genetycznej bazy programu w ograniczony i bardzo specyficzny sposób.

Leibenguth tak opisuje w swojej pracy *Züchtungsgenetik* (Genetyka hodowli) (40) ogólne wyniki hodowli mutacyjnych:

Niemal wszystkie mutanty cechuje negatywna wartość selekcyjna. Zgodnie z obserwacjami prowadzonymi na zbożach i strączkowych, odsetek mutantów nadających się do hodowli wynosi od 0,5% do 1 % genotypów selekcjonowanych w tych eksperymentach. Poza tym, często stwierdzano negatywne efekty innych składowych plejotropowego zakresu cech, który zmniejszał wartość hodowlaną pozytywnego mutantu. Pierwotny cel zastąpienia czasochłonnych i kosztownych metod hodowli rekombinacyjnych przez „hodowle mutacyjne” jest już nieaktualny. Są one uważane za mniej samodzielna metodę hodowli, sporadycznie uzupełniającą tradycyjne metody.

Już kilka lat wcześniej Micke stwierdził, że „trzeba zaakceptować fakt, że tylko bardzo znikoma część indukowanych mutantów (z pewnością mniej niż 1%) mogłaby zostać uznana za odpowiednie, aby prowadzić badania wydajności i ostatecznie jedynie 1% z nich przeszłoby ocenę w oficjalnych testach i uzyskało zgodę na ich komercyjne wykorzystanie”. (67).

Leibenguth dodaje, że hodowle mutacyjne nie mogą być w ogóle stosowane w hodowli zwierząt, gdyż „w przeciwieństwie do roślin, punkt równowagi genetycznej u zwierząt jest znacznie dokładniej określony. Dlatego też wszelkiego rodzaju mutacje są dużo częściej letalne i bardziej zdecydowanie obniżają żywotność i płodność zwierząt” (40). Stąd, zgodnie z wszystkimi dotychczasowymi wynikami doświadczeń (później starannie opracowanymi przez teoretyków genetyki), hodowle mutacyjne zwierząt nie mają absolutnie żadnej przyszłości, nie mówiąc o poważnych problemach etycznych związanych ze sztuczną mutagenezą u ptaków, ssaków i innych zwierząt zdolnych do odczuwania bólu.

W hodowli roślin mniej niż 1% wszystkich mutantów zostało wywołanych wybranych jako potencjalni kandydaci do dalszych badań. Z tego tylko od 0,5 do 1% przechodzi dalsze niezbędne testy terenowe, zanim zostanie uznane za odpowiednie do użytku komercyjnego. Dlatego w hodowli roślin średni stosunek między negatywnymi czyli bezużytecznymi mutantami i pozytywnymi jest mniejszy niż 10 000 : 1. Wykonując obliczenia przy założeniu, że tylko 0,5 % wszystkich wywołanych mutacji nadawało się do dalszych badań i że tylko 0,5 % posiadało dla hodowców dodatnią wartość selekcyjną, otrzymujemy stosunek 40 000 : 1. W przybliżeniu średnia wartość 25 000 negatywnych (czyli bezużytecznych) mutantów na 1 pozytywny nie powinna być uznawana za nierealną w hodowli roślin.

W przypadku hodowli zwierząt, organizmów bardziej zrównoważonych genetycznie od roślin, sytuacja jest na tyle trudna, że nie można podać żadnych realistycznych liczb, które mogłyby stanowić podstawę obliczenia średnich stosunków mutantów negatywnych do pozytywnych. Jeśli opierając się na dotychczasowej wiedzy przyjąć, iż liczba niekorzystnych mutacji w badaniach hodowlanych zwierząt jest 10 razy większa niż u roślin, to otrzymamy wynik między od 100 000 do

400 000 negatywnych (nieskutecznych lub neutralnych mutantów) na 1 użytecznego mutantu.

Na podstawie tych doświadczeń, realizowanych przez dziesiątki lat przez prawie wszystkie przemysłowe stacje hodowlane w USA i w Europie, wycofano hodowle mutacyjne z programów badawczych. Można to zilustrować następującym przykładem: pod koniec lat 60. XX wieku uważano jeszcze powszechnie, iż można poprawić białka zbóż przez hodowle mutacyjne. Po około 15 latach intensywnych wysiłków i niewiarygodnych nakładów finansowych, Micke i Weindl komentują (68):

Nasz program dotyczący poprawy białka w ziarnie dobiega końca. (...) Po 14 latach pracy należy uznać, że sprawa jest bardziej skomplikowana i że istnieją pewne wzajemne ograniczenia ilości i jakości.

Poehlmann następująco podsumował ogólne wyniki hodowli mutacyjnych: zgodnie ze stwierdzeniami cytowanych wyżej autorów (76):

Można jedynie stwierdzić, że rezultaty hodowli mutacyjnych w rozwoju odmian w przypadku wielkich upraw polowych są raczej skromne w stosunku do nakładów.

Peter von Sengbusch zgadza się z tą obserwacją (82):

Mimo znacznych nakładów finansowych, próba wyhodowania wydajniejszych odmian przy pomocy napromieniowania, okazała się kompletną porażką.

Zgadniają się z tym również wybitni hodowcy roślin, Fischbeck, Röbbelen i Stutzer (25):

Dążenia praktycznej hodowli roślin do osiągnięcia nowych możliwości na drodze stopniowej i ciągłej poprawy sprawdzanych i testowanych odmian hodowlanych nie mogły (...) zostać zrealizowane.

W kontekście neodarwinowskiej koncepcji „mikromutacji” ci trzej autorzy dodają (25):

Ponadto zmodyfikowana koncepcja bezpośredniego wykorzystania tzw. mikromutacji nie odniosła sukcesów, ponieważ postęp hodowlany osiągany tą metodą był wyraźnie skromniejszy od korzystnej zmienności, którą dałoby się uzyskać na drodze szerokiego wykorzystania konwencjonalnej hodowli rekombinacyjnej.

Być może jednym z najbardziej zdumiewających faktów w historii genetyki, jest rozdział między optymistycznymi opisami mutantów przez tak wielu autorów działających w hodowli roślin w tym okresie, a późniejszym „powszechnym rozczarowaniem dotyczącym hodowli mutacyjnych” (66) spowodowanym niepokojącym stanem rzeczywistym, tj. miernymi rezultatami. Potwierdzając spostrzeżenia dość dziwnej rozbieżności między hipotezami a rzeczywistością, Micke potwierdza swoją ocenę przytoczonych obliczeń (wyjaśniając stosunkowo małą liczbę przydatnych mutantów wytwarzanych drogą hodowli mutacyjnej) (67):

W przeciwieństwie do rzadkich wyników pozytywnych, istnieją w niezliczone „obiecujące mutanty” niezliczonych publikacjach. Wygląda na to, że po pierwszym pojawieniu się znikają. Mimo tego pozostaje spora liczba mutantów, które nawet

poważni hodowcy lub genetycy traktują jako obiecujące, ale dotąd tylko nieliczne z nich przyczyniły się do opracowania lepszych odmian roślin uprawnych.

Jest to rozczarowujące dla pracujących nad mutacjami i oczekujących z optymizmem szybkiego przełomu oraz dla tych, którzy obserwowali liczne próby wyhodowania mutantów, lecz mieli nadzieję, iż wyniki tych prób przynajmniej w niektórych dziedzinach ułatwią pracę hodowcom roślin.

Micke podkreśla również, że ani stosowanie różnych czynników mutagennych, ani różne ich dawki, ani różne modyfikatory nie było w stanie zmienić ogólnych wyników: „Ostatecznie nadzieja na uzyskanie większej liczby ‘lepszych’ mutantów nie została spełniona”. (67) (Por. także uwagę 1 na końcu artykułu).

Zestawienie

Zgodnie z przesłankami syntetycznej teorii ewolucji, wyjaśniającej pochodzenie świata żywego głównie przy pomocy procesu selekcjonowania mutacji, w końcu lat 30. XX wieku spodziewano się światowej rewolucji w badaniach nad hodowlą roślin. Oczekiwania te popierał laureat nagrody Nobla w 1946 roku, Josef H. Muller, szczególnie w pierwszych dziesięcioleciach po wojnie.

Jednak ze względu na następujące fakty:

- A. „Wiele programów hodowli mutacji skończyło się fiaskiem (...), nie wytwarzając użytecznych form”,
- B. „Prawie wszystkie mutanty cechuje negatywna wartość selekcyjna”,
- C. „Wszelkiego rodzaju mutacje są zdecydowanie częściej śmiertelne i silnie zmniejszają witalność i płodność zwierząt”,
- D. „Mimo znacznych wydatków finansowych hodowle mutacyjne powszechnie okazały się porażką”,
- E. Rezultaty były w sumie „raczej skromne w stosunku do podejmowanych wysiłków”,
- F. „Cel praktycznej hodowli roślin (...) nie mógł zostać zrealizowany”, ani za pomocą „makro-” ani też „mikromutacji”,
- G. Żaden z środków modyfikujących nie pomógł w uzyskaniu większej liczby ‘lepszych’ mutantów”,

Ogólnie rzecz biorąc *stanowcze przewidywania dotyczące rewolucji w hodowli roślin, którym towarzyszyła euforia, zwłaszcza wśród genetyków i agronomów po II wojnie światowej, nie spełniły się. Najpóźniej w latach 80. XX wieku nastąpiło również załamanie hodowli mutacyjnych jako niezależnej gałęzi hodowli, przynajmniej w większości krajów zachodnich.*

Obecnie ich status sprowadza się do „sporadycznie używanego uzupełnienia tradycyjnych metod”, tylko „od czasu do czasu przydatnego w poszerzaniu genetycznej bazy jakiegoś programu w ograniczonym i bardzo specyficznym obszarze”.

Aby odpowiedzieć na pytanie, co może zasadniczo oznaczać „ograniczony i bardzo specyficzny obszar”, należy zdawać sobie sprawę z faktu, że mutacje zazwyczaj wytwarzają słabsze lub niefunkcjonalne allele genów typu dzikiego. Takie działania mutagenne mogą być przydatne w badaniach hodowlanych roślin, gdy na przykład niektóre roślinne metabolity wtórne są niekorzystne dla ludzi. Jeśli funkcje genów niezbędnych do wytworzenia metabolitów mogą zostać wyłączone przez mutacje bez większych plejotropowych ubytków dla rośliny jako całości, taki mutant może być interesujący dla dalszej hodowli.

W istocie Reinhold von Sengbusch (ojciec Piotra), prawdopodobnie hodowca, który odniósł najwięcej sukcesów w Niemczech w XX wieku, podsumował istotę hodowli roślin, stwierdzając, że – oprócz poliploidalności – przekształcenia roślin dzikich do uprawnych, genetycznie charakteryzuje się głównie tym, że cechy roślin dziko rosnących są dominujące, a linii uprawnych – recesywne (83). Zazwyczaj recesywność oznacza utratę funkcji genu (dokumentacja – patrz 43). Jako że inaktywacje są najczęściej powszechnym efektem, który „normalne” mutacje i / lub mutacje generowane przez transpozony wywierają na geny (tym samym wytwarzając allele recesywne), to można wnioskować, że – na ile inaktywacje genu są ważne dla hodowli – mutacje mogłyby „czasami” być nadal istotne dla dalszych postępów (zobacz także kilka opinii na temat transpozonów: 1, 2, 10, 11, 38, 43, 54-56).

Jednak w epoce genetyki molekularnej, są opracowywane narzędzia, które powinny w najbliższej przyszłości umożliwić stosowanie ukierunkowanej mutagenyzy do inaktywacji genów kodujących niepożądane roślinne metabolity wtórne. W ten sposób w najbliższej przyszłości zastąpiono by prawdopodobnie w całości tradycyjne hodowle mutacyjne oparte na przypadkowych mutacjach.

Niezależnie od ogromnych wysiłków na rzecz hodowli mutacyjnej, miała ona również pewne jednoznacznie pozytywne skutki uboczne dla hodowli roślin w szczególności i podstawowych badań biologicznych.

Niektóre pozytywne „skutki uboczne” hodowli mutacyjnych

Chociaż oczekiwania ogromnych sukcesów i ogólnoświatowej rewolucji w hodowli roślin i zwierząt, związane z założeniami teorii syntetycznej, nie zostały urzeczywistnione, niemniej jednak nauka skorzystała z intensywnych badań hodowli mutacyjnych „przez gwałtowny wzrost informacji na temat lokalizacji efektów genetycznych w genomie ważnych roślin uprawnych” (25).

Podstawowe badania naukowe w znacznym stopniu korzystały zatem z tego przedsięwzięcia. Innymi słowy „mimo że produkcja mutantów roślin była ekonomicznie nieopłacalna, to prawdopodobnie okazała się najskuteczniejszym instrumentem podstawowych, nowoczesnych badań eksperymentalnych” (82).

Najważniejszy efekt tej gałęzi podstawowych badań naukowych w pełni istotny zarówno dla pochodzenia gatunków i hodowli mutacyjnych, nazwałbym *prawem*

powtarzanej zmienności (45) (zob. także uwaga 2 na końcu artykułu). Będzie ono kolejnym tematem rozważań.

Dedukcja prawa powtarzanej zmienności

Zasadniczym odkryciem eksperymentalnym wspierającym nieprawdopodobieństwo powstania wszystkich form życia wyłącznie w wyniku mutacji, rekombinacji i selekcji jest fakt (znany od dziesięcioleci), że – po wielokrotnym oddziaływaniu czynnikami mutagennymi na badane dotąd linie oraz gatunki – spektrum mutantów zwiększa się tylko nieznacznie. Innymi słowy, istnieje prawidłowość w pojawianiu się ogólnych fenotypów mutantów. Po 40 latach intensywnych badań mutacji u *Antirrhinum* genetyk takiego formatu, jak Hans Stubbe, dokonał następującego podsumowania (87):

Nieustannie pogłębiania wiedza na temat mutantów u *Antirrhinum* pozwala podsumować uzyskane wyniki. Na przestrzeni lat każdy kolejny duży eksperyment mutacyjny dowodził, iż liczba rzeczywistych nowych mutantów ulega stałemu zmniejszeniu. Zatem większość uzyskanych zmian genetycznych była znana wcześniej.

Podobnie Werner Gottschalk, inny wybitny genetyk zajmujący się mutacjami stwierdza (28):

Im większe zbiory mutantów, tym trudniej jest poszerzyć je o nowe typy mutacji. Z reguły powstają mutanty uprzednio nam znane.

Innymi słowy, w ciągłych dużych eksperymentach mutacyjnych liczba mutantów o nowych fenotypach ulega asymptotycznemu nasyceniu.

Wyniki hodowli mutacyjnych jęczmienia otrzymane po latach eksperymentów przez Uddę Lundqvist w stacji hodowlanej w Svalöf (Szwecja) ilustrują właśnie zjawisko ustawicznego pojawiania się mutantów. Pod koniec lat 80. XX wieku stwierdziła że w ciągu ostatnich pięćdziesięciu lat wyizolowano około 9000 mutantów jęczmienia. Łącznie z formami letalnymi zidentyfikowano ich co najmniej 100 000 (59).

Poniższe przykłady ustawicznego pojawiania się niektórych rodzajów mutacji zebrane w tabeli 1 zaczerpnięto z publikacji Lundqvist (58):

Tabela 1. Przykłady pojawiania się niektórych rodzajów mutantów jęczmienia opracowano według danych opublikowanych przez Lundqvist.

Mutant	Występowanie	Liczba loci genowych
Erektoidy (z gęstymi kłóskami)	205 razy	26
<i>Pracmaturum</i> (wcześnie dojrzewające)	110 razy	9
<i>Eceriferum</i> (pozbawione wosku)	1 527 razy	76
<i>Breviarisatum</i> (z krótkim wąsem)	140 razy	17
<i>Exrubrum</i> (wolne od antocjanów)	61 razy	18

<i>Macrolepsis</i> (z plewami [glumae] podobnymi do <i>lemm</i> [podstawek dolnych])	40 razy	1
<i>Hexastichon</i> (6-rzędowy)	41 razy	1
<i>Intermedium</i> (pośredni między 2-rzędowym a 6-rzędowym)	144 razy	11 *
Sypkie pleśnioodporne (obejmujący wszystkie rodzaje)**	154 razy	? ***

* 103 tych przypadków badano w 11int *loci* genu.

** 77 mutanty były odporne na szczep D1, 48 wykazywało całkowitą odporność, a 29 wykazywało brązowe nekrozy.

*** Z 72 badanych odpornych mutantów u 54 stwierdzono rozmieszczenie na 8 genach (28 recesywnych mutantów przynależy do jednego pojedynczego *locus*), u pozostałych 18 mutantów liczba *loci* wydaje się nie być w pełni ustalona.

Wyżej wymienione 9 rodzajów mutantów pojawiło się w sumie 2422 razy. Według Lundqvist 9000 mutantów jęczmienia wyodrębnionych w ciągu półwiecza intensywnych doświadczeń mutagenetycznych, można podzielić na równo 93 wzajem odróżnialne rodzaje i klasy (patrz tabela 2). Wiele z tych typów mutacji pojawiło się ponad 100 razy, a niektóre nawet ponad 1000 razy.

Porównywalne wyniki uzyskano we wszystkich innych uprawach, które włączono do badań nad hodowlą mutacyjną – np. grochu (*Pisum sativum*), ryżu (*Oryza sativa*), kukurydzy (*Zea mays*), soi (*Glycine max*) i wielu innych (43).

Tabela 2. Typy mutantów jęczmienia (zgodnie z Lundkvist (60); liczby w nawiasach zostały dodane przez autora).

A. Zmiany w kłosach i kłoskach	1) Erektoidy lub z gęstymi kłoskami. (2) <i>Laxatum</i> o zmniejszonej gęstości kłosków. (3) <i>Hexastichon</i> (6-rzędowe). (4) <i>Intermedium</i> . (5) Nieregularne kłoski. (6) Podwójne nasiona na szczycie. (7) <i>Calcaroides</i> (zwapnienia). (8) Obecność podsadki (<i>bracteatum</i>). (9) Podsadka częściowo wykształcona (<i>semibracteatum</i> , występowanie trzeciej plewy zewnętrznej). (10) <i>Macrolepsis</i> (z plewami [glumae] podobnymi do <i>lemm</i> [podstawek dolnych]). (11) Dodatkowy kwiatek. (12) <i>Accordeonrachis</i> . (13) Krótki kłos. (14) Długi kłos. (15) Przeciwnastawne kłoski. (16) <i>Semideficiens</i> . (17) <i>Deficiens</i> . (18) Ostre podstawki. (19) Duże odgałęzienia. (20) Liczne podstawki na
--------------------------------	--

	odgałęzieniach. (21) Podstawki wydłużone. (22) Poskręcane odgałęzienia. (23) <i>Triaristatum</i> (podstawki opatrzone trzema wąsami). (24) Bezplodny kłos.
B. zmiany długości lub budowy łodyg.	(25) Usztywniona łodyga. (26) Łodyga pionowa. (27) Łodyga krótka lub na poły skarłowaciała. (28) Łodyga karłowata. (29) <i>Densinodosum</i> . (30) Bikini. (31) Długie łodygi. (32) Pojedyncze łodygi. (33) Słaba słoma. (34) Wygięte kłosa. (35) Wygięte łodygi. (36) Łamliwe kłosa i łodygi. (37) Wydłużone podstawowe międzywęzła na osi. (39) <i>Gigas</i> (diploidy).
C. Zmieniony typ wzrostu.	(40) Szybki wzrost. (41) Wzrost poziomy. (42) Cebulokształtne. (43) Nieregularne pędy. (44) <i>Viviparoides</i> .
D. Mutacje fizjologiczne	49) <i>Breviaristatum</i> (krótkie wąsy). (50) <i>Dearistatum</i> (wąsy pękające). (51) Długie wąsy. (52) Wąsy gładkie. (53) Wąsy pofalowane. (54) Wąsy więdnące. (55) Wąsy miękkie. (56) Wąsy żółknące.
F. Zmiany rozmiaru i kształtu.	57) <i>Globosum</i> (nasiona globularne). (58) Małe nasiona. (59) Duże nasiona. (60) Nasiona wydłużone. (61) Połowicznie odsłonięte ziarno.
G. Zmiany w blaszkach liściowych.	(62) Wąskolistne. (63) Szerokolistne. (64) <i>Scirpoides</i> . (65) Blaszka liściowa pofalowana. (66) Blaszka liściowa zwinięta. (67) Blaszka liściowa więdnąca. (68) Blaszka liściowa więdnąca. (69) Blaszka liściowa z plamami. (70) <i>Exauriculum</i> (blaszka pozbawiona płatów). (71) <i>Eligulum</i> (blaszka pozbawiona języczka). (72) <i>Crenatum</i> (blaszka karbowana). (73) Blaszka mała więdnąca. (74) Blaszka pozbawiona górnego płata. (75) Zmiana umiejscowienia blaszki liścia.
H. Zmiany antocyjaniny i ubarwienia.	(76) <i>Exrubrum</i> (brak antocyjaniny). (77). Bogaty w antocyjaninę (78) Purpurowe wąsy. (79) Purpurowa łodyga. (80) Purpurowe nasiona. (81) Purpurowe nasiona i wąsy. (82) <i>Eburatum</i> (kłoski bezbarwne). (83) <i>Robiginosum</i> (kłoski pomarańczowe). (84) <i>Flavum</i> (kłoski żółte). (85) Pomarańczowa martwica. (86) Jasnozielone. (87) Ciemnozielona blaszka liścia Purpurowe

	nasiona. (88) Martwiejąca lub nekrotyczna blaszka liścia. (89) Nekrotyczna nasada liścia. (90) Nasiona czerwono-brązowe. (91) Nekrotyczne wąsy oraz blaszka liścia. (92) <i>Melanoticans</i> . (93) Blaszka więdnąca jasnozielona.
--	--

Biorąc pod uwagę pracę wszystkich stacji badawczych i przedsiębiorstw hodowlanych na całym świecie, stworzono prawdopodobnie miliony mutantów jęczmienia. Tylko 25 z nich umieszczono w wykazie handlowych odmian jęczmienia, dodając jeszcze 33 odmiany powstałe drogą hodowli rekombinacyjnej (34). Ponieważ jednak średni czas komercyjnych upraw jęczmienia wynosi tylko około dziesięciu lat, większość z tych linii nie będzie już więcej uprawiana.

Mimo, że „istnieją cechy charakterystyczne dla niemal każdego mutantu” (34), wyniki uzyskane z hodowli jęczmienia dobitnie ilustruje komentarz Poehlmana, przytoczony już wcześniej: „Można jedynie stwierdzić, że wyniki uzyskane z hodowli mutacyjnych w rozwoju odmian wielkich upraw polowych, są raczej skromne w zestawieniu z włożonym wysiłkiem” (76).

Wedle naszej wiedzy ani hodowcy roślin ani genetycy nie odnotowali powstania jakiegokolwiek nowego gatunku, lub choćby nowych stabilnych ras lub ekotypów. W porównaniu z dzikimi typami u mutantów nie zauważono także przeżywalności lepszej lub dorównującej naturalnej (43, 45, 52, 55).

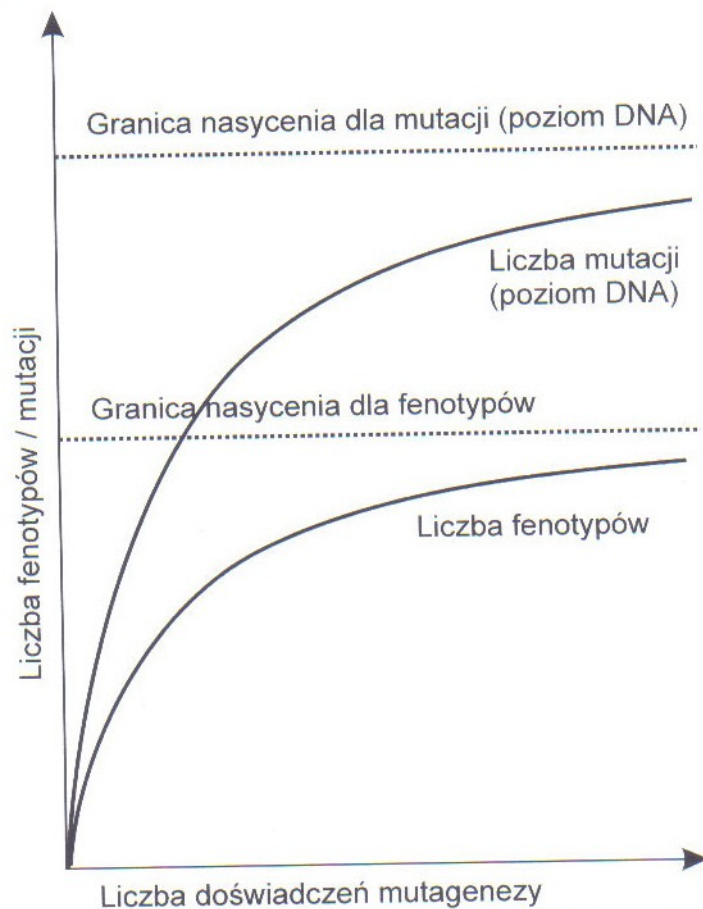
Jeśli chodzi o okresowo pojawiające się mutanty, dwóch pionierów badań hodowli roślin, Kuckuck i Mudra, podkreślało już w połowie ubiegłego wieku następujący kluczowy punkt (37):

Jak wykazano w trakcie dużych eksperymentów, zwłaszcza z jęczmieniem, cały szereg linii w światowym banku nasion może być wynikiem indukcji mutacji skutkiem działania promieniowania rentgenowskiego. (...) Część indukowanych mutantów okazała się identyczna genetycznie z podobnymi liniami z światowych banków nasion. W innych przypadkach ten sam fenotyp wynikał z różnych genów, tak więc w tym drugim przypadku zostały wykryte tzw. heterogeniczne grupy cech”.

O podobnych obserwacjach donoszono z kilku innych upraw roślin zbożowych, takich jak ryż i kukurydza. Zamiast regularności i ciągłego tworzenia nowych użytecznych kultur, odmian, podgatunków i gatunków, wciąż powtarzał się ten sam zbiór mutantów. Dlatego po określonej liczbie doświadczeń metoda ta jest już mało przydatna w hodowli roślin.

Moje własne badania w ciągu ostatnich czterdziestu lat (w tym eksperymenty z *Pisum*, *Antirrhinum* i *Misopates* — zbadałem łącznie ponad dwa miliony roślin) okazują się w pełni zgodne z wynikami cytowanych autorów (38, 43–57, 81).

Aby odpowiednio zrozumieć i zinterpretować te obserwacje, należy wyraźnie odróżnić dwa poziomy badań w dziedzinie genetyki: po pierwsze, poziom fenotypów, a po drugie, poziom DNA. Na tym ostatnim, potencjał zmian sensu i nonsensu i oraz innych odchyłeń sekwencji jest niemal nieograniczony. Jednak zakres odpowiednich fenotypów już tak rozległy nie jest, ponieważ przestrzeń funkcjonalnie ważnych sekwencji w danym systemie ściśle dopasowanych regulacyjnych i docelowych genów i odpowiednio skoordynowanych funkcji, związanych z tworzeniem się wspaniałej równowagi całego organizmu, nie może być nieskończenie poszerzana przez przypadkowe mutacje.



Rys. 1. Wyidealizowane krzywe nasycenia obrazujące spadek liczby nowych fenotypów mutantów i nowych zmutowanych genów wraz zwiększaniem liczby eksperymentów aż do osiągnięcia granicy nasycenia. Odcięta: liczba eksperymentów mutacji. Na rzędnej zaznaczono liczba fenotypów mutantów, oraz liczbę mutacji odniesioną do poziomemu DNA wpływających na fenotyp. Ponieważ mutacje w różnych loci mogą powodować podobne lub identyczne fenotypy (patrz tabela 1), krzywa liczby zmutowanych genów jest różna od krzywej liczby nowych fenotypów. Problem nadmiarowości – na przykład niektóre fenotypy pojawiają się tylko wtedy, gdy zostanie zmutowanych dwa lub więcej genów (patrz

dalej) – obie krzywe oddalają się od siebie. Prawdziwe krzywe będą różne dla różnych organizmów, zależne prócz innych czynników, od genetycznej złożoności gatunku, powiązanej również ze skalą i specyfiką realizowanych doświadczeń (różne rodzaje i ilości promieniowania, chemicznych mutagenów, transpozonów, *t*-DNA). Wspólną cechą wszystkich takich krzywych jest skończona liczba zmutowanych fenotypów i genów wywierających wpływ na fenotyp (z wyjątkiem mikro-ilościowych zmian resztkowych wywołanych np. czynnikami środowiskowymi i epigenetycznymi, efektami pozycyjnymi i „śmieciowym DNA”, co jednak nie zmienia podstawowej sytuacji).

Weźmy pod uwagę podaną we wstępie ilustrację (będącą przykładem przyrządu Mullera (44): zrzuc swój komputer z biurka lub weź śrubokręt i młotek, otwórz obudowę, zamknij oczy i na potęgę grzeb w środku! W zależności od liczby komputerów, częstości i długości opisanej manipulacji, można otrzymać niemal nieskończoną liczbę zmian *niefunkcjonalnych*. Jednak – mając dużo szczęścia – można w ten sposób wyselekcjonować kilka operacyjnie mniej sprawnych, lecz mimo to nadal działających systemów. Można więc zniszczyć komputer na tysiąc i jeden sposobów przez przypadkowe działania. Jednak możliwość uzyskania mniej lub bardziej funkcjonalnych stanów (funkcjonalnych fenotypów), będzie ograniczone.

Nadzieja na wytworzenie w ten sposób procesora Pentium V z egzemplarza rodziny 486 tą metodą byłaby niewątpliwie dość nikła. Oczywiście sytuacja w biologii jest bardziej skomplikowana niż w inżynierii, ponieważ organizmy to byty nie tylko bierne, ale i reagujące. Ponadto w wielu dziedzinach badań biologicznych wielokrotnie stwierdzono ograniczenia selekcji.

Trafność Mullerowskiego porównania mutacji do przypadkowych zmian w złożonej aparaturze została w ostatnich dekadach dodatkowo uzasadniona przez genetykę molekularną. Niedawno ten pogląd spopularyzował Behe (6):

Podobieństwo składowych organizmów żywych do zaprojektowanych mechanizmów, takich jak zegarek, jest znacznie większe niż sobie wyobrażał wielebny Paley. W ciągu ostatnich 50 lat współczesna nauka wykazała, że komórki, elementarna podstawa życia, są zarządzane przez maszyny molekularne. W komórce istnieją małe molekularne ciężarówki do przenoszące zaopatrzenie, i małe silniki zaburtowe służące komórce do przemieszczania się w cieczy.

Jeden z numerów czasopisma *Cell* z rocznika 1998 poświęcono maszynom molekularnym, zamieszczając artykuły w rodzaju „Komórka jako zbiór białkowych maszyn” i „Mechaniczne urządzenia spliceosomu: silniki, zegary, sprężyny i inne przedmioty”². Wspominając swoje czasy stuenckie w latach 60. XX w. Bruce Alberts, prezes National Academy of Sciences, napisał, że „chemia, umożliwiająca życie jest o wiele bardziej skomplikowana i zaawansowana niż cokolwiek, nad czym zastanawialiśmy się jako studenci”. Istotnie, dr Alberts zauważył, że całą komórkę można uważać za

² Bruce Alberts „The Cell as a Collection of Protein Machines: Preparing the Next Generation of Molecular Biologists”, *Cell*, vol. 92 (6 Feb. 1998), no. 3, s. 291–294; Jonathan P. Stanley *et al.* „Mechanical Devices of the Spliceosome: Motors, Clocks, Springs, and Things”, *ibid.*, s. 315–326 – *przypp. red.*

fabrykę z rozbudowaną siecią połączonych ze sobą linii montażowych, z których każdy składa się z zespołu dużych białkowych maszyn. Podkreślał on, że termin 'maszyna' nie jest jakąś niewyraźną analogią, lecz dosłownym określeniem."

Ponadto spostrzeżenie, że żadna z różnych metod mutagenезy — od subtelnych eksperymentów mających na celu ustalenie optymalnych częstotliwości mutacji w hodowli roślin, do indukcji największych ilości mutacji — nie nigdy zmieniło faktu ograniczenia selekcji (stwierzonego dla wszystkich gatunków roślin i zwierząt dotychczas badanych), jest w zgodzie zarówno z już wspomnianymi faktami, jak również z krzywą nasycenia przedstawioną powyżej (43).

Jeden z najlepszych współczesnych genetyków populacyjnych, Daniel L. Hartl, tak podsumował kwestię granic selekcji (32):

Postęp doboru sztucznego nie może rzecz jasna być wieczny. Jak wspomniano wcześniej, populacja ostatecznie osiąga granicę selekcji, lub punkt szczytowy, po którym nie będzie już reagować na selekcję. (...) U wielu eksperymentalnych populacji, które osiągnęły granicę selekcji, łatwo następuje jednak odwrócenie tego procesu.

Kilka lat później Hartl i Jones ponownie podkreślali ten fakt (33):

Udoskonalanie populacji na drodze sztucznej selekcji nie może trwać bez końca. Populacja może odpowiadać na selekcję dopóki średnie odchylenie różni się o wiele odchyżeń standardowych od średniego odchylenia populacji pierwotnej, ale ostatecznie osiągnie granicę, w której kolejne pokolenia nie wykażą już dalszych udoskonaleń.

Zarówno w królestwie zwierząt, jak i roślin, stwierdzano ograniczanie selekcji, którego nie można było przełamać mimo uporczywego intensyfikowania mutagenезy. Podstawa przyczyna jest taka, że spektrum fenotypów mutantów jest duże, ale jednak ograniczone. Co więcej, zakres tej dużej liczby mutantów powtarza się w doświadczeniach tylekroć, ile razy odpowiednio duża populacja zostaje potraktowana czynnikiem mutagennym.

Biorąc pod uwagę łatwą przewidywalność, regularność i powtarzalność tego zjawiska, możemy sformułować prawo powtarzanej zmienności, co nastąpi w następujących paragrafach.

Sformułowanie prawa powtarzanej zmienności

Zgodnie z faktami, o których mowa powyżej, możemy sformułować prawo powtarzanej zmienności w następujący sposób:

Traktowanie homozygotycznych linii czynnikami mutagennymi generuje znaczne, lecz wyraźnie ograniczone, zakresy mutacji. To zjawisko występuje konsekwentnie wtedy, gdy doświadczenia przeprowadzane są w skali adekwatnej do izolowania potencjału alleli — procesu doprowadzającego do fenotypowych i funkcjonalnych odchyżeń (nasycenie mutagenезy). Ze względu na niemal niewidoczne skutki uboczne zmian w nadmiarowych sekwencjach i / lub dalsze rearan-

żacie chromosomowe, odpowiadająca krzywa nasycenia asymptotycznie osiąga granicę zmienności mikroilościowej.

Ponieważ mutacje w różnych *loci* często skutkują podobnymi lub identycznymi fenotypami (większość cech jest wielogenowych), krzywa asymptotycznie zbliżająca się do linii nasycenia dla zmutowanych genów, różni się od tej dla fenotypów mutantów. W wartościach bezwzględnych, odległość między krzywymi jest spotęgowana przez redundancję (1) kodu genetycznego, (2) funkcji genów i (3) konserwatywnych podstawień aminokwasów, dzięki czemu zmutowane białka w przybliżeniu wypełniają swoje pierwotne zadania i funkcje.

Jednakże, naukowcy muszą wciąż zdawać sobie sprawę, iż prawo powtarzanej zmienności dotyczy tylko takich zmian DNA, które wywierają mierzalne skutki na fenotypie, a zwykle pomija resztę (zob. także poniżej — transpozony).

W praktyce oznacza to, że w eksperymentach z wielokrotną mutagenezą liczba nowych mutantów różniących się fenotypowo stale maleje, aż granica nasycenia zostanie osiągnięta i postęp doboru sztucznego dobiega kresu.

Biorąc pod uwagę podobne warunki genetyczne, spontaniczny proces mutacji w środowisku naturalnym będzie tworzył takie same duże, ale ograniczone spektra mutantów, jakie pojawiły się w eksperymentach mutagenezy. Jednak, ze względu na zdecydowanie niższą częstość mutacji w warunkach naturalnych, potrzebne są większe populacje, aby zrealizować potencjał — niezależnie od faktu, że większość mutantów zniknie wkrótce po swoim pojawieniu się z powodu ich ujemnej wartości selekcyjnej.

Prawo powtarzanej zmienności jest także ważne dla linii heterozygotycznych i gatunków allogamicznych. Jednakże ze względu na nieprzerwany przepływ genów krzywa będzie zbliżać się do granicy nasycenia wolniej niż w liniach homozygotycznych i u gatunków samopylnych. Rozważania o mikroilościowej części zmienności, zawiera pozycja (45).

Genetyczne podstawy prawa powtarzanej zmienności

Genetyczne uzasadnienie tego prawa jest dość proste. Istnieje tylko ograniczona liczba genów, które po mutacji mogą wytworzyć tylko ograniczoną liczbę alleli. Stig Blixt tak podsumował ten pogląd hodowców roślin (14):

Liczba kombinacji dających się utworzyć z dziesięciu tysięcy pojedynczych genów, jest praktycznie nieskończona. O ile hodowca roślin miałby brać pod uwagę cały materiał genetyczny, to na pytanie, czy precyzyjnie kontrolowana hodowla roślin jest faktycznie możliwa, byłby zmuszony udzielić odpowiedzi przeczącej. Tak jednak nie jest.

Duża, prawdopodobnie większa, część genów funkcjonująca u roślin nie ma z pewnością żadnej wagi dla hodowców roślin, będąc jednak niezbędną dla podstawowych funkcji komórek i mechanizmów różnicowania. Cała ich potencjalna zmienność objęta jest „zakazem mutacji” w tym sensie, że mutanty będące ich skutkiem są

całkowicie niezdolne do funkcjonowania i zostają natychmiast wyeliminowane. Pewna część genomu może więc istnieć prawdopodobnie tylko w jednym specyficznym połączeniu, reprezentującym, jak można by to nazwać, skrajnie konserwatywną część systemu. Kolejna duża część genomu, którą można nazwać częścią konserwatywną, wydaje się mniej odporna na zmiany. Jej obecność w rozwiniętej formie jest jednak wymagana, aby wykształcić „normalny” organizm, zdolny do reprodukcji i współzawodnictwa. Mutacje w tej części genomu skutkują letalnością, sterylnością osobników, czy może różnego rodzaju poważnymi niedoborami chlorofilu, i tak dalej.

Zatem to, co należy brać pod uwagę, z pewnością nie stanowi całego genomu, lecz tylko jego część, zmienną lub nadmiarową i zapewne mniejszą. Nawet jeśli liczba genów może sięgać tysięcy, to jest ograniczona i skończona, i także u potomstwa z krzyżowania, będzie zawierać homozygotyczne bloki różnej wielkości.

Jeśli chodzi o stwierdzenie, iż „zatem to, co należy brać pod uwagę, z pewnością nie stanowi całego genomu, lecz tylko jego część, zmienną lub nadmiarową i pewnie tylko mniejszą” — to należy poruszyć kwestię biologicznego znaczenia elementów ruchomych (TEs). Stanowią one około 90 procent genomu roślin i mogą składać się z różnych rodzin i grup TEs. Problemy te są szeroko dyskutowane w 1, 2, 38, 43, 54–56, 86. Jeśli słuszną jest hipoteza, że większość zwielokrotnień TE jest wynikiem przypadków słabego pasożytnictwa, nie szkodzącego zbyt wiele zainfekowanym liniom i gatunkom, to stosunkowo ogromne masy DNA mogą być w dużej mierze bez znaczenia dla hodowców roślin w tym aspekcie (istnieje jednak kilka istotnych TE-efektów, które wydają się być podobne do zwykłych mutacji, takich jak tworzenie alleli, włączając zupełną inaktywację genów i ewentualnie inne skutki, które nie będą tutaj poruszane).

Mimo to, ponieważ masa DNA (pg) może różnić się mocno u blisko spokrewnionych form (na przykład masa haploidalnego genomu u gatunków z rodzaju *Vicia* waha się między 1,8 a 13,3 pg (72, 74, 75), a nawet w obrębie tego samego niepoliploidalnego gatunku roślin wartość C może się znacznie różnić (8, 9) — na ogół bez poważnych skutków, istotnych dla hodowców — moglibyśmy stwierdzić, że zacytowana ocena Blixta pozostaje w zasadzie praktycznie słuszną, nawet w naszym wieku genetyki molekularnej (dalsze szczegóły — patrz 1, 2, 10, 38, 55, 56).

Zatem skupiając się na tej zmiennej lub nadmiarowej części genomu, w której mutacje wywołują odchylenia fenotypowe, ale osobniki i linie nadal pozostają zdolne do życia, konkurencji i rozmnażania się — jaki rodzaj zmian możemy wykryć przy dokładniejszej ocenie jakościowej?

Wywołane zmiany to głównie mutacje utraty funkcji (często obejmujące wiele alleli z seriami stopniowo redukowanych funkcji). Są one neutralne lub nieznacznie niekorzystne dla dotkniętych nimi organizmów, ale w niektórych przypadkach są one przydatne dla hodowcy, jak również mikroewolucji, jak pokazano powyżej. Ogólnie rzecz biorąc, „zdecydowana większość zmian powinna być szkodliwa w skutkach, tak jak wszelkie zmiany wykonywane ‘na ślepo’ w skomplikowanym

urządzeniu, są zwykle szkodliwe dla jego prawidłowego funkcjonowania (...)” (zob. Muller, cytowany we wstępie).

Jednak tym, co nigdy nie zostało osiągnięte na drodze przypadkowych mutacji, jest stworzenie całkowicie nowych funkcjonalnych sekwencji DNA tworzących nowe geny i nowe łańcuchy reakcji genów dla nowych współorganizowanych struktur anatomicznych i/lub funkcji fizjologicznych. Tak więc, zgodnie z rachunkiem prawdopodobieństwa, nie zaobserwowano dotychczas przykładów i przypadków relatywizujących prawo powtarzanej zmienności: 35, 43, 46, 65, 77, 78, 88, 95, patrz także uwagę końcową (2). W rzeczywistości także wszystkie modele i dane przedstawione ostatnio celem rozwiązania zagadnienia całkiem nowych sekwencji funkcjonalnych i powstawania nowych narządów i układów narządów na drodze przypadkowych mutacji, okazały się po bliższym zbadaniu zgoła niewystarczające (szczegóły: 12, 13, 27, 36, 41, 73, 90, 91).

Potwierdzenie prawa powtarzanej zmienności zmian przez prawo homologicznej serii zmian Wawiłowa

Na podstawie porównywalnych zmian u spokrewnionych gatunków, rodzajów i rodzin w królestwie roślin i zwierząt, genetyk i rosyjski agronom Nikołaj I. Wawiłow sformułował prawo serii homologicznych zmian (92, 93). Był on w stanie prześledzić zaczątki odkrywania tego prawa u przeciwnika teorii Darwina, Mivartta w 1871 roku.

Wawiłow podsumował to prawo w następujący sposób (93):

Genetycznie blisko spokrewnione gatunki i rodzaje cechują się podobnymi ciągami zmian dziedzicznych z taką regularnością, że znając szereg form w ramach jednego gatunku, możemy przewidzieć występowanie analogicznych form u innych gatunków i rodzajów. Im bliższe jest pokrewieństwo gatunków (...) w ramach ogólnego systemu, tym większe podobieństwo wystąpi też w ciągu zmian.

Całe rodziny roślin w ogólności charakteryzują się określonymi cyklami zmienności występującymi we wszystkich rodzajach i gatunkach wchodzących w skład rodziny.

Jeśli chodzi o równoległe zmiany, Haecker (31) stwierdził, że wydają się one głównie nieistotnymi fenotypowymi odchyleniami gatunków, na które się oddziałuje. W przeciwnym razie, jak uznał, byłoby niepojęte, czemu te zmiany powinny być powiązane z bardzo różnymi typami jasno określonych gatunków, rodzajów i rodzin. Zauważył on również, że szersze występowanie równoległych zmian wydaje się być albo spowodowane mutacyjną utratą funkcji, albo jest przejawem nieznacznych zwyrodnień w biologicznie obojętnej postaci, bez ścisłego związku z gatunkiem jako całością.

Najważniejszy wniosek z prawa Wawiłowa potwierdzający prawo powtarzanych zmian polega na tym, że równoległe ciągi serie powtarzających się fenotypów mutantów — ogólnie rzecz biorąc obejmujące ściśle powiązane formy — nie wyrównują istotnych różnic między gatunkami i rodzajami. W przeciwnym razie

powinno być możliwe mutacyjne przekształcenie jednego gatunku lub rodzaju w inny blisko spokrewniony. Jednak nigdy nie doniesiono o morfologicznej transformacji grochu (*Pisum sativum*) w płodny groszek zwyczajny (*Lathyrus sativus*) (39).

Zasadnicza różnica między tymi dwoma prawami polega na tym, że chociaż Wawiłow wyraźnie stwierdził i dokładnie zbadał równoległe zmiany, to nie wypowiedział się o skończonym zakresie tych zmian, tj. o ściśle określonym spektrum cech mutantów, co stanowi najgłębszą istotę prawa nawracającej zmienności. Ponadto, nie każda zmiana jest zmianą równoległą – szczególnie u odległych rodzin i rzędów roślin i zwierząt. Jednak prawo nawracającej zmienności w powyższym sformułowaniu jest powszechnie obowiązujące.

Konsekwencje dla syntetycznej teorii ewolucji

Wcześniejszy „nadmierny optymizm” co do przewrotu w hodowli roślin w związku z wywoływaniem mutacji uzasadniano przy pomocy syntetycznej teorii ewolucji (neodarwinizmu) – w której akcentuje się, iż to mutacje i dobór są odpowiedzialne za pochodzenia wszystkich genów i białek, wszystkich procesów fizjologicznych i struktur anatomicznych zarówno w królestwie zwierząt i roślin. Nasuwa się zatem pytanie, czy niepowodzenie hodowli mutacyjnych wywarło jakiś wpływ na neodarwinizm jako taki.

O ile wiadomo autorowi, zwolennicy syntetycznej teorii, jak dotąd, unikali odpowiedniej dyskusji naukowej w tej kwestii (45).

Niemniej jednak ogólny brak realizacji lub niedostatki hodowli mutacyjnych po około pięćdziesięciu latach intensywnych eksperymentów na kilku kontynentach, z miliardami indukowanych mutacji, może wskazywać na podstawowy problem teorii ewolucji. Jest to kwestia ustalenia, czy mutacje są naprawdę tak wydajne jak postulowano, co nadal się powszechnie uznaje.

Co więcej, autorzy kilku niedawnych publikacji recenzowanych podnoszą znaczenie tej kwestii na podstawie licznych dodatkowych faktów biologicznych i obliczeń (patrz szczegóły: 3–7, 12, 13, 19–21, 30, 35, 43–57, 61, 77, 78, 79, 80, 88, 90, 91, 95). W przeciwieństwie do neodarwinistów cytowanych we wstępie, autorzy ci – między innymi kilku noblistów (John Eccles (23), Karl von Frisch (26), Ragnar Granit (29), Charles Townes (89), Eugene P. Wigner (94), i inni, patrz (50)) – jednoznacznie doszli do wniosku, że współdziałające z doborem naturalnym mutacje stanowią tylko częściowe rozwiązanie trudnej kwestii genezy gatunków i wyższych jednostek systematycznych. Należy więc szukać alternatywnych rozwiązań i dokładnie je rozważyć.

Na tyle, na ile krytycy znają badania z zakresu hodowli roślin i zwierząt, twierdzą, że stosunkowo niewiele pozytywnych wyników mutacji wynika głównie z utraty niepożądanych cech i funkcji. Na przykład: łubin wolny od alkaloidów, rzepak bez kwasu erukowego, groch z rozwiniętymi wąsami zamiast liści, itp. Podkreślają oni jednak ważny fakt, że taka utrata funkcji nie może wyjaśnić po-

chodzenia całego genetycznego „surowca”, niezbędnego dla doboru naturalnego wytwarzającego cały świat organizmów.

Większość tych badaczy (w tym autor niniejszej pracy) bez trudu przyznaje, że mutacje, dobór, jak i dryf genetyczny mogą być czynnikami mikroewolucji, tj. powstawania ras i podgatunków, jak również niektórych wyższych kategorii systematycznych, jak gatunków i rodzajów. Zostały one zapoczątkowane na drodze utraty funkcji genów, jak na przykład wiele przypadków utraty zdolności latania przez owady i ptaki na wyspach na całym świecie, utrata łusek u gatunków ryb w zamkniętych jeziorach, zanik aparatów lotnych u roślin na wyspach, utrata narządów u zwierząt jaskiniowych, itp.) (38, 43, 55).

Uwagi końcowe

(1) Ponieważ we wszystkich przypadkach wystarczająco obszernych eksperymentów mutagenyzy (nasylenia mutagenyzy) uzyskano znaczne, lecz dobrze określone zbiory fenotypów mutantów (asymptotycznie zbliżające się do linii nasylenia, szczególnie dla mikroilościowych części zmienności), możliwości i ograniczenia hodowli mutacyjnej są bezpośrednio określone przez zakres mutantów linii rozważanych w obrębie gatunku.

(2) Podobnie do możliwości i ograniczeń hodowli mutacyjnej linii testowanych w obrębie gatunku, genetyczne granice gatunku jako całości są określone przez możliwości i ograniczenia zakresu funkcjonalnych alleli, potencjalnie możliwych do zrealizowania z nadmiarowej części genów i genomów wszystkich osobników należących do „rzeczywiście lub potencjalnie krzyżującej się naturalnej populacji, która jest rozrodczo odizolowana od innych takich grup” (lub, innymi słowy, nadmiarowej genetycznej części genomów wszystkich rekombinantów i linii należących do „najszerzej społeczności reprodukcyjnej”, tj. do populacji mendelowskiej). Choć jest oczywiste, że potencjał genetyczny całego gatunku zwykle przekracza potencjał jednej lub kilku linii w jego ramach, to uśpione spektrum zmutowanych alleli w nadmiarowej części całości roślin i zwierząt określa odpowiednio dużo większe, ale także wyraźnie skończone granice gatunku.

(3) Zgodnie z prawem powtarzanej zmienności, dokładnie zbadane mutanty z każdego gatunku (od grochu do człowieka) — niezależnie czy powstały naturalnie, czy zostały wywołane doświadczalnie lub przypadkowo — zdarzają się w dużym, ale jednak ograniczonym spektrum fenotypów albo z powodu utraty funkcji lub neutralnego odchylenia. Jednak w przypadku braku tworzenia nowych genów i nowych łańcuchów oddziaływań genów z zupełnie nowymi funkcjami, mutacje nie mogą przekształcić oryginalnych gatunków w całkiem nowe taksony. Wniosek ten zgadza się ze wszystkimi razem wziętymi doświadczeniami i wynikami badań mutacji w XX wieku, a także z prawami probabilistyki. Tak więc, prawo powtarzanej zmienności oznacza, że genetycznie właściwości określonych ga-

tunków mają realne granice, które nie mogą być zniesione czy przekroczone przez przypadkowe mutacje.

W opozycji do autorów cytowanych we wstępie, ale w zgodzie z grupą naukowców, o których mowa w ustępie „Konsekwencje dla syntetycznej teorii ewolucji” pochodzenie świata żywych organizmów musi zostać wyjaśnione na innej podstawie niż ta podawana przez syntetyczną teorię ewolucji.

Szczegółową dyskusję dalszych punktów i możliwych zastrzeżeń można znaleźć w: 1-9, 15, 20, 21, 23, 27, 30, 35, 38, 39, 43-57, 61, 65, 77-80, 86, 88, 90, 91, 94, 95.

Podziękowania

Rys. 1 został opracowany przez specjalistę komputerowego Friedera Meisa, (Ludwigshafen). Markus Rammerstorfer (Linz) zaproponował pewne dalsze odwołania i odpowiednią zmianę numeracji. Tłumaczenie na język angielski korygował Hal Flemings (San Diego).

Uwagi

(1) Mając świadomość faktu, że hodowle mutacyjne okazały się bezużyteczne u zwierząt i pamiętając o jednomyślnym krytycznym werdykcie wszystkich kompetentnych hodowców i botaników w sprawie hodowli mutacyjnych roślin, a mianowicie, że „wyniki (...) były raczej skromne w stosunku do wysiłków”, można postawić pytanie, jak pogodzić te ogólne wnioski z odmiennym wrażeniem, jakie wywołują podawane przez dane z Mutant Varieties Database FAO/IAEA (2004), zgodnie z którymi „oficjalnie dopuszczono 2337 odmian” powstałych skutkiem indukcji mutacji? Choć w wartościach bezwzględnych liczba ta pozornie jest imponująca, to jej prawidłowa ocena wymaga uwzględnienia następujących informacji:

(a) Liczba ta obejmuje rośliny ozdobne, dla których utrata funkcji genu (np. zmienność koloru liści i kwiatów) jest jeszcze bardziej istotna niż dla roślin uprawnych, (b) zgodnie z FAO/IAEA „wykorzystanie tych mutantów jest głównie lokalne i regionalne”, (c) również korzystanie z tych mutantów jest głównie czasowe (jak w większości odmian uprawnych), (d) im wyższe są oficjalnie zatwierdzone standardy testów odmian danym w kraju oraz im bardziej szczegółowe procedury testowania się stosuje; tym niższa jest liczba zatwierdzonych odmian uzyskanych z hodowli mutacyjnych (np. większość krajów europejskich ma odmienne standardy w stosunku do kilku krajów afrykańskich), (e) mutanty nie są konsekwentnie odróżniane od rekombinantów („krzyżowanie” jest w praktyce uznawane za jeden z czynników mutagennych), (f) w przypadku hodowców zobowiązanych do wytwarzania nowych linii badacze prawie zawsze działają na linii heterozygotycznej (czy ta linia okazuje się ulepszona przy pomocy mutacji lub rekombinacji wedle celów hodowcy roślin, to w wielu wypadkach może być ostatecznie ustalone w badaniach molekularnych), (g) odróżnianie rekombinacji istniejących alleli od nowych

mutacji może mieć pewne znaczenie nawet w krzyżowaniu wsobnym, bo zwykle dochodzi do pewnej liczby zapyeń krzyżowych (na przykład w moich własnych badaniach na grochu, odsetek krzyżowań z obcymi osobnikami wynosił od 1 do 3%, tak że około 30% roślin wykazywała przejawy „zanieczyszczeń”), co nie zawsze należyce jest brane pod uwagę w hodowlach mutacyjnych takich gatunków i linii (co ciekawe, dygnitarz z IAEA Breeding Departament pewnego razu powołał się w rozmowie ze mną na taką sytuację, sądząc jednak, że jest to bez znaczenia), (h) takie właśnie kwestie mogą być powodem, dla którego „IAEA nie gwarantuje bezpieczeństwa, jakości, rentowności, czystości (genetycznej lub mechanicznej) materiału” do wymiany międzynarodowej, (i) reszta indukcji mutacji prawdziwie przydatna dla hodowców jest zazwyczaj spowodowana utratą funkcji genów zgodnie z ostatnimi paragrafami „Streszczenia”, (j) Ani DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft/Niemiecka Fundacja Badawcza), ani Unia Europejska nie wspiera hodowli mutacyjnych w ciągu ostatnich dziesięcioleci, (k) hodowcy roślin w Niemczech najpóźniej w r. 1980 zaniechali hodowli mutacyjnej, o co ubiega się większość krajów europejskich, (l) ostatecznie podaną powyżej liczbę należy rozpatrywać w odniesieniu do ogólnie „dopuszczonych oficjalnie odmian” w tej samej skali ogólnoświatowej i w tym samym czasie. Wyniesie ona prawdopodobnie kilkaset tysięcy odmian. Na przykład w Niemczech oficjalnie dopuszczono 1129 odmian samych tylko róż, ale zgody udziela się zawsze jedynie na 10 lat, przeto liczba oficjalnie dopuszczonych odmian róż w ciągu ostatnich 50 lat będzie wyższa; istnieje 3 200 różnych odmian ziemniaków, które są uprawiane w ponad 100 krajach (2003) i około 7 500 uprawianych odmian jabłek.

(2) W biologii termin „prawo” jest często używane zamiennie z określeniem „reguła”, jak w przypadku „reguł” czy „praw” Mendla. Ściśle rzecz biorąc, prawo stanowi podstawę sprawdzalnych przewidywań na podstawie warunków początkowych i nie dopuszcza żadnych wyjątków od wniosków zeń wynikających. Skoro, jak dotąd, nie znam żadnych uznanych wyjątków od tej zasady dla indukowanych i spontanicznych losowych mutacji, jak stwierdzono powyżej, wolę obecnie mówić o „prawie” powtarzanej zmienności *sensu stricto*. Naukowcy powinni być może uwzględniać, iż nie tylko hodowle mutacyjne, ale również wszelkie oczekiwania odnośnie sztucznego „przyspieszenia ewolucji” (Muller) na drodze mutacji w przyrodzie, w znacznym stopniu spełżyły na niczym z tego powodu. Jednak granica przypadku mogłaby składać się z kompleksu rearanżacji DNA prowadzącego do niezwyklej utraty genetycznych funkcji i odpowiednio rzadkich zaburzeń morfologicznych z niskim prawdopodobieństwem niezależnego ponownego pojawienia, np. *Tunicate* (*Tu*) kukurydzy³ (Thomas Münster, MPIZ, Kolonia, osobisty kontakt), czy polimorfizm przenoszący odporność na mączniaka u jęczmienia (Pifaneli i wsp., *Nature*, vol. 430 (2004), s. 887–891). Sądzę, że takie przypadki powinny być

³ Mutacja, skutkiem której każde ziarno ostonięte jest łuską — *przyp. red.*

uwzględniane w prawie jako rzadkie, „na granicy przypadku” w odleglejszej części krzywej saturacji dla fenotypów, ponieważ jęczmień stanowi przykład fenotypu podobnego do innego rodzaju utraty funkcji alleli typu *mlo* (poza tempem rewersji $0,5^{-1} \times 10^{-4}$ i „niskim poziomem wzrostu zarodnikującej kolonii Bgh” w *mlo-11* roślin). Powinno się może ponadto uwzględnić, że w obu przypadkach kolejne niezależne zdarzenia nie mogą zostać wykluczone w miliardach roślin obu gatunków rosnących każdego roku na całym świecie: światowa produkcja jęczmienia wynosiła około 155 mln ton w 2004 r., składając się z około $3,8 \times 10^{15}$ ziaren (jedno ziarno waży ~0,04 g). Stąd, występowanie ziarna zawierającego zmutowany gen z małym prawdopodobieństwem wynoszącym tylko 10–12 na gen na jedno pokolenie, skutkiem spontanicznej mutacji nadal będzie wynosić kilka tysięcy niezależnych zdarzeń (a więc ziaren przenoszących zmutowany gen) na całym świecie. Liczba zmutowanych rośliny będzie oczywiście mniejsza, ale nadal będzie wynosić kilkadziesiąt i kilkaset na stulecie. Podobne obliczenia można wykonać dla 705 milionów ton kukurydzy wyprodukowanych w 2004 r. (jedno ziarno waży ~0,2 g). Prawo to jednak wyraźnie wyklucza powstawanie nowych złożonych sekwencji *funkcjonalnych* (całkowicie nowych genów i nowych łańcuchów reakcji genów dla nowych współorganizowanych struktur anatomicznych i/lub funkcji fizjologicznych) na drodze przypadkowych mutacji. Jeśli chodzi o prawdopodobieństwo powstawania nowych genów funkcjonalnych, zob. (19)–(21), (77), (78) i (95).

Bibliografia

1. Becker, H.-A. i Lönnig, W.-E. 2002, *Nature Encyclopedia of Life Sciences*, Nature Publishing Group, Londyn, 18, 559–539.
2. Becker, H.-A., Saedler, H. i Lönnig W.-E. 2002, *Encyclopedia of Genetics*, Academic Press, San Diego, 4, 2020–2033.
3. Behe, M.J. 1996, *Darwin's Black Box*, The Free Press, Nowy Jork.
4. Behe, M.J. 2002, *Natural History* 111, 74.
5. Behe, M.J. 2004, *Debating Design: From Darwin to DNA*, W. A. Dembski, M. Ruse (red.), Cambridge University Press, Cambridge, 352–370.
6. Behe, M. J. 2005, *Design for Living*. The New York Times, 7 II 2005, 21.
7. Behe, M. J. i Snoke, D. W. 2004, „Simulating evolution by gene duplication of protein features that require multiple amino acid residues”, *Protein Sci.* 13, 2651–2664.
8. Bennett, M. D. i Leitch, I.J. 1995, *Ann. Bot.* 76, 113–176.
9. Bennett, M. D. i Leitch, I.J. 1997, *Ann. Bot.* 80, 169–196.
10. Bennetzen J.L. 1998, *Curr. Opin. Plant. Biol.* 1, 103–108.
11. Bennetzen, J.L. 2000, *Plant Mol. Biol.* 42: 251–269.
12. Berlinski, D. 2003, *Commentary* 115, 29–37.
13. Berlinski, D. 2003, *Commentary* 115 (pełna dyskusja, patrz artykuły pod adresem:

- <http://www.discovery.org/csc/fellows.php>).
14. Blixt, S. 1972, *Agrihort. Genet.* 30, 1–293.
 15. Campbell, J.A., Meyer, S. C. (red.) 2003, *Darwinism, Design and Public Education*, Michigan State University Press, East Lansing.
 16. Caspersson, T. 1946, *The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1946 Presentation Speech*, (w): *Nobel Lectures, Physiology or Medicine 1942–1962*, Elsevier Publishing Company, Amsterdam.
 17. Darwin C.R. 1859 *On the Origin of the Species*, John Murray, London.
 18. Dawkins, R. 1995 *River out of Eden*. Basic Books, Nowy Jork.
 19. Dembski, W. A. 1998, *The Design Inference: Eliminating Chance Through Small Probabilities*, Cambridge University Press, Cambridge.
 20. Dembski, W.A. 2002, *No Free Lunch: Why Specified Complexity Cannot Be Purchased without Intelligence*, Rowman & Littlefield, Lanham.
 21. Dembski, W.A. 2004, *The Design Revolution*, InterVarsity Press, Downers Grove.
 22. Dobzhansky, T. 1937, *Genetics and the Origin of Species*, Columbia University Press, Nowy Jork.
 23. Eccles, J.C. 1992, (w:) Margenau, H. i Varghese, R. A., (red.) *Cosmos, Bios, Theos: Scientists Reflect on Science, God, and the Origins of the Universe, Life, and Homo Sapiens*, Open Court, Chicago 160–164.
 24. FAO/IAEA 2004, <http://www-mvd.iaea.org/MVD/default.htm>
 25. Fischbeck, G., Röbbelen, G., Stutzer, D. 1987, *Landwirtschaftliche Pflanzenzüchtung in Deutschland*, Bundesverband Deutscher Pflanzenzüchter e.V. Bonn, Gelsenkirchen–Buer.
 26. Frisch, K. von, 1977, wywiad, program 3 niemieckiej TV, 15 IX 1977.
 27. Gene, M. 2001, „Randomly Generated Biologically Functional Proteins?” <http://www.idthink.net/biot/ranprot/index.html>.
 28. Gottschalk, W. 1989, *Allgemeine Genetik*, wyd. 3., Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
 29. Granit, R. 1992, (w:) Margenau, H. i Varghese, R. A., (red.) *Cosmos, Bios, Theos: Scientists Reflect on Science, God, and the Origins of the Universe, Life, and Homo Sapiens*, Open Court, Chicago, 177–178.
 30. Grasse, P.-P. 1977, *Evolution of Living Organism*, Academic Press, Nowy Jork.
 31. Haecker, V. 1925, *Pluripotenzerscheinungen*, Gustav Fischer Verlag, Jena.
 32. Hartl, D.L. 1988, *A Primer in Population Genetics*, wyd. 2., Sunderland, Mass.
 33. Hartl, D.L. i Jones, E.W. 1998, *Genetics*, Jones & Bartlett Publishing, Sudbury.
 34. Hockett, E.A. i Nilan, R.A. 1985, Rasmusson, D.C. (red.), *Barley*, Madison, 187–230.
 35. Junker, R. i Scherer, S. 2001, *Evolution – Ein kritisches Lehrbuch*. Weyel Lehrmittel Verlag, Gießen.
 36. Keefe A.D. i Szostak J.W. 2001, *Nature* 410, 715–718.
 37. Kuckuck, H. i Mudra, A. 1950, *Lehrbuch der allgemeinen Pflanzenzüchtung*, Hirzel Verlag, Stuttgart.

38. Kunze, R., Saedler, H. i Lönning, W.-E. 1997, *Adv. Bot. Res.* 27, 331–470.
39. Lamprecht, H. 1974, *Monographie der Gattung Pisum*, Steiermärkische Landesdruckerei, Graz.
40. Leibenguth, F. 1982, *Züchtungsgenetik*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
41. Lenski, R.E., Ofria, C., Pennock, R.T. i Adami, C. 2003, *Nature* 423, 139–144.
42. Linskens, H.F. 1982, recenzja z E.A. Carlson *Genes, Radiation and Society, Theor. Appl. Genet.* 63, 200.
43. Lönning, W.-E. 1993, *Artbegriff, Evolution und Schöpfung*, Naturwissenschaftlicher Verlag, Kolonia (wyd. internetowe 2002).
44. Lönning, W.-E. 2001, *The Corsini Encyclopedia of Psychology and Behavioral Sciences*, Craighead, W.E. i Nemeroff, C.B. (red.), John Wiley & Sons., Nowy Jork, 1008–1016.
45. Lönning W.-E. 2002, *Das Gesetz der rekurrenten Variation*, Naturwissenschaftlicher Verlag, Kolonia (patrz też 1995: Mey, J., Schmidt, R., Zibulla, S., (red.) *Streitfall Evolution. Kontroverse Beiträge zum Neodarwinismus*, Hirzel, Stuttgart, 149–169).
46. Lönning W.-E. 2002, *Evolution durch Genduplikationen?*, Naturwissenschaftlicher Verlag, Kolonia.
47. Lönning, W.-E. 2002, *Coryanthes und Catasetum*, Naturwissenschaftlicher Verlag, Kolonia.
48. Lönning, W.-E. 2003, *Johann Gregor Mendel: Why his discoveries were ignored for 35 (72) years*, Naturwissenschaftlicher Verlag, Kolonia.
49. Lönning, W.-E. 2004, „Dynamic genomes, morphological stasis, and the origin of irreducible complexity”, (w:) Parisi, V., De Fonzo, V., Aluffi–Pentini, F. (red.) *Dynamical Genetics*, Research Signpost, Trivandrum, India.
50. Lönning, W.-E. 2005, *Nobelpreisträger pro Intelligent Design und/oder einen "religious impulse" in den Naturwissenschaften*, Naturwissenschaftlicher Verlag, Kolonia.
51. Lönning, W.-E. i Becker, H.-A. 2004, *Nature Encyclopedia of Life Sciences*, Nature Publishing Group, London.
52. Lönning, W.-E. i Becker, H.-A. 2004, Craighead, W.E. i Nemeroff, C.B. (red.), *The Concise Corsini Encyclopedia of Psychology i Behavioral Science*, Wiley–VHC, Nowy Jork, vol. 3, 1008–1016.
53. Lönning, W.-E. i Huijser, P. 1994, *Plant molecular biology manual*. Gelvin, S. B. i Schilperoort, R. A. (red.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, K1, 1–15.
54. Lönning, W.-E. i Saedler, H. 1994, *Mol. Gen. Genet.* 245, 636–643.
55. Lönning, W.-E. i Saedler, H. 1997, *Gene* 205, 245–253.
56. Lönning, W.-E. i Saedler, H. 2002, *Ann. Rev. Genet.* 36, 389–410
57. Lönning, W.-E., Stüber, K., Saedler, H. i Kim, J.H. 2007, „Biodiversity and Dollo's Law: to what extent can the phenotypic differences between *Antirrhinum majus* and *Misopates orontium* be bridged by mutagenesis?”, *Bioremediation, Biodiversity and Bioavailability* 1, 1–30.
58. Lundqvist, U. 1986, (w:) Olsson, G. (red.) *Svalöf 1886–1986: Research and Results in Plant Breeding*, LTs Förlag, Sztokholm, 76–84.

59. Lundqvist, U. 1987, informacja osobista.
60. Lundqvist, U. 1988, informacja osobista; list ze szczegółami.
61. Margulis, L., Sagan, D. 1997, *Slanted Truths: Essays on Gaia, Symbiosis i Evolution*, Springer, Berlin.
62. Mayr, E. 1970, *Populations, Species and Evolution*, The Belknap Press, Cambridge, Mass.
63. Mayr, E. 2000, *Sci. Am.* 283 (July 2000), 66–71.
64. Mayr, E. 2002, *Laborjournal* 5/2002, 26–30.
65. Meyer, S. C. 2004, *Proc. Biol. Soc. Washington* 117, 213–239.
66. Micke, A. 1970, *Genetica Agraria* 22, 262–268.
67. Micke, A. 1976, *Induced mutations in cross-breeding*, IAEA, 1–4. Wiedeń.
68. Micke, A. i Weindl, K. 1983, *Mutation Breeding Newsletter* 21, 1.
69. Monod, J. 1971, *Chance and Necessity: An Essay on the Natural Philosophy of Modern Biology*, Knopf, Nowy Jork.
70. Muller, H.J. 1928, *Science* 66, 84–87.
71. Muller, H.J. 1946, *The production of mutations*, (w): *Nobel Lectures, Physiology or Medicine 1942–1962*, Elsevier Publishing Company, Amsterdam.
72. Murray, M.G., Peters, D.L., Thompson, W.F. 1981, *J. Mol. Evol.* 17, 31–42.
73. Nilsson, D.E., Pilger, S. 1994, *Proc. Roy. Soc. London B* 256, 53–58.
74. Nouzová, M., Kubaláková, M., Zelová, M.D., Koblízková, A., Neumann, P., Dolezel, J., Macas, J. 1999, *Ann. Bot.* 83, 535–541.
75. Nouzová, M., Neumann, P., Navrátilová, A., Galbraith, D.W., Macas, J. 2000, *Plant Mol. Biol.* 45, 229–244.
76. Poehlmann, J. M. 1987, *Breeding Field Crops*, wyd. 3., Van Nostrand Reinhold, Nowy Jork.
77. ReMine, W.J. 1993, *The Biotic Message*, St. Paul Science Publishers, Saint Paul.
78. Scherer, S. (red.) 1993 *Typen des Lebens*. Pascal Verlag, Berlin.
79. Schwabe, C. 2001, *The Genomic Potential Hypothesis: A Chemist's View of the Origins, Evolution and Unfolding of Life*, Landes Bioscience, Georgetown, Tx.
80. Schwabe, C. 2002, *Anat. Rec.* 268, 171–179.
81. Schwarz-Sommer, Z., de Andrade Silva, E., Berndtgen, R., Lönnig, W.-E., Müller, A., Nindl, I., Stüber, K., Wunder, J., Saedler, H., Gübitz, T., Borking, A., Golz, J.F.; Ritter, E., Hudson A. 2003, *Genetics* 163, 699–710.
82. Sengbusch, P. von 1989, *Botanik*, Blackwell, Hamburg.
83. Sengbusch, R. von 1980, *Von der Wildpflanze zur Kulturpflanze*, nakładem autora, b.m.
84. Simmonds, N.W. 1979, *Principles of Crop Improvement*, Longman, Londyn.
85. Simmonds, N.W. i Smart, J. 1999, *Principles of Crop Improvement*, wyd 2., Blackwell Publishing, Oksford.
86. Sternberg, R. v. 2002, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 981, 154–188.
87. Stubbe, H. 1966, *Genetik und Zytologie von Antirrhinum L. sect. Antirrhinum*, VEB

Gustav Fischer Verlag, Jena.

88. Swift, D. 2002, *Evolution under the Microscope*, Leighton Academic Press, Stirling University Innovation Park.
89. Townes, C. H. 1992, (w:) Margenau, H. i Varghese, R. A., (red.) *Cosmos, Bios, Theos: Scientists Reflect on Science, God, and the Origins of the Universe, Life, and Homo Sapiens*, Open Court, Chicago.
90. Truman, R. 2004, „Evaluation of neo-Darwinian Theory using the Avida Platform. Part 1.”, PCID 3.1.1.; http://www.iscid.org/papers/Truman_ComplexFeatures1_070104.pdf.
91. Truman, R. 2004, „Evaluation of neo-Darwinian Theory using the Avida Platform. Part 2.”, PCID 3.1.1.; http://www.iscid.org/papers/Truman_ComplexFeatures2_070104.pdf.
92. Vavilov, N.I. 1922, *J. Genet.* 12, 47–89.
93. Vavilov, N.I. 1935, *Chron. Bot.* 13, 55–94.
94. Wigner, E.P. 1992, (w:) Margenau, H. i Varghese, R. A., (red.) *Cosmos, Bios, Theos: Scientists Reflect on Science, God, and the Origins of the Universe, Life, and Homo Sapiens*, Open Court, Chicago, 131–132, 270–278.
95. Wittlich, K. 1991, „Über die Wahrscheinlichkeit der zufälligen Entstehung brauchbarer DNA-Ketten”, (w:) Lönnig, W.-E. (red.) *Zehn Paradebeispiele gegen Zufalls-Evolution*, (w:) Naturwissenschaftlicher Verlag, Kolonia, 28–39.

