

PAWEŁ KOTEJA

*Instytut Nauk o Środowisku
Uniwersytet Jagielloński
Gronostajowa 7, 30-387 Kraków
E-mail: pawel.koteja@uj.edu.pl*

EWOLUCJA EKSPERYMENTALNA

WSTĘP

METODOLOGICZNE ZNACZENIE EKSPERYMENTÓW EWOLUCYJNYCH

Gdy mowa o krytyce darwinowskiej teorii ewolucji, przychodzi na myśl „kreacjonizm”, a więc krytyka z pozycji nienaukowych. Są oczywiście dobre powody dla takiego skojarzenia (patrz artykuł BANBURY w tym zeszycie KOSMOSU), ale teoria darwinowska była krytykowana także na gruncie naukowym, a przede wszystkim metodologicznym (patrz artykuł ŁOMNICKIEGO *Spotkanie teorii Darwiniana z gentyką* w tym zeszycie KOSMOSU). Niezależnie od powszechnego uznania teorii ewolucji przez środowisko uczonych, biologia ewolucyjna nie była, i nadal chyba nie jest, powszechnie uznawana za „naukę ścisłą” w takim sensie, w jakim za naukę ścisłą uznaje się fizykę, czy, spośród nauk biologicznych, genetykę.

Zastrzeżenia do „naukowości” darwinowskiej teorii ewolucji przedstawił między innymi sam Karl Popper, który wskazywał na jej nefalsyfikowalność, a więc niemożliwość przedstawienia projektu eksperymentu, którego wyniki mogłyby kazać tę teorię odrzucić. Dla większości uczonych uprawiających nauki ścisłe, taka meta-naukowa krytyka odwołująca się do dość abstrakcyjnego kryterium falsyfikowalności, samego zresztą będącego przedmiotem sporów, być może nie miała praktycznego znaczenia. A z pewnością nie może być przyczyną tego, że przeciętny Kowalski zapytany o przykłady nauk ścisłych, biologii ewolucyjnej raczej nie wymieni. Tego samego zresztą można się spo-

dziewać po przeciętnym fizyku czy chemiku. Wydaje mi się, że taka opinia wynika nie tyle z wątpliwości, czy teoria darwinowska jako całość jest metodologicznie poprawną hipotezą naukową (falsyfikowalną w sensie popperowskim), a raczej z przeświadczenia, że metoda eksperymentalna nie jest podstawowym narzędziem rygorystycznego testowania szczegółowych hipotez stawianych w ramach tej teorii. Innymi słowy, wątpliwość rodzi pytanie, czy biologia ewolucyjna jest uprawiana zgodnie z metodologicznym postulatem „silnego wnioskowania” (PLATT 1964), zgodnie z którym naprzemienny ciąg alternatywnych hipotez i rozstrzygających eksperymentów prowadzi nie do przyrostu masy słabo powiązanych informacji (co jest utrapieniem w naukach biologicznych), a do efektywnego wyjaśniania zjawisk i realnego postępu wiedzy.

Fundamentem darwinowskiej teorii ewolucji jest postulat działania doboru naturalnego, zgodnie z którym zróżnicowana szansa przeżycia i wydania potomstwa prowadzi do zmian cech osobników w następnych pokoleniach, przy czym zmiany te idą w kierunku umożliwiającym zwiększenie szansy przeżycia i wydania potomstwa w takich warunkach środowiska, w których działa dobór naturalny – co nazywamy nabywaniem adaptacji (FUTUYMA 2008; artykuł ŁOMNICKIEGO *Dobór naturalny* i artykuł KORONY w tym zeszycie KOSMOSU). W ramach teorii doboru przedstawić można szereg szczegółowych przewidywań. Na przykład, spodziewać się można, że cechy ko-

rzystne w jednych warunkach (np. wysokiej temperaturze otoczenia) będą niekorzystne w innych (np. w temperaturze niskiej), a więc że proces adaptacji do jakichś określonych warunków jest związany z ewolucyjnym kosztem – pogorszeniem adaptacji do innych warunków. Podobnie spodziewać się można, że ewolucyjne poprawienie jednych sprawności organizmu (np. zdolności do lotu) odbywa się kosztem pogorszenia innych (np. sprawności poruszania się po lądzie). Zarówno ogólny model doboru naturalnego jak i hipotezy szczegółowe stawiane w ramach tego modelu, takie jak na przykład ta dotycząca kosztów adaptacji, czyli ewolucyjnych kompromisów (ang. tradeoff), wręcz idealnie nadają się do testowania eksperymentalnego. Wystarczy wybrać modelową populację wyjściową, podzielić ją na populacje poddane doborowi działającemu w różnych kierunkach (kontrolowanych przez badacza) i po pewnej liczbie pokoleń sprawdzić, czy interesujące z punktu widzenia stawianych hipotez cechy organizmów zmieniły się zgodnie z przewidywaniami.

Schemat takiego eksperymentu jest tak prosty, że jego wyniki byłyby zrozumiałe także dla szerokiego kręgu odbiorców. Eksperymenty ewolucyjne mogłyby więc stać się skutecznym orężem w batalii o uznanie darwinowskiej teorii ewolucji zaraz po jej przedstawieniu. Pierwszy taki świadomie zaplanowany eksperyment został wykonany przez W. H. Dallingera już za życia Darwina i jego obiecujące wyniki były mu znane (o czym więcej poniżej). Tym bardziej jest więc zdumiewające, że eksperymenty ewolucyjne, wbrew logice, nie stały się natychmiast po publikacji dzieła Darwina powszechnie wykorzystywanym narzędziem badawczym biologów.

Przyczyn małego zainteresowania eksperymentami ewolucyjnymi wśród biologów można wskazać kilka, ale niebagatelną było zaszczepione przez samego Darwina przekonanie, że procesy ewolucyjne są niezmiernie powolne i odbywają się przez stopniową akumulację w ciągu wielu milionów lat małych, niedostrzegalnych w danym momencie zmian. Wielokrotne podkreślanie przez Darwina powolności procesu ewolucji i niewyobrażalnej otchłani czasu, w której ewolucja działała, nie było przypadkowe. Wręcz odwrotnie, było konieczne dla odparcia słusznie antycypowanego zarzutu, że same tylko losowe zmiany

(mutacje) i dobór naturalny nie mogą być odpowiedzialne za powstanie tak zdumiewającego zróżnicowania i wyrafinowania budowy organizmów. Darwin nie mylił się w kwestii czasu: dziś wiemy, że czas jaki miała do dyspozycji ewolucja był nawet jeszcze większy niż wówczas sądzono. Jednakże „cena” za tę argumentację było mimowolne wpojenie przekonania, że hipotez dotyczących procesów ewolucyjnych nie da się badać eksperymentalnie, bo żywot nasz zbyt jest krótki, by się interesujących wyników doczekać.

Wyjątek uczyniono zrazu dla mikroorganizmów, bo oczywiście było, że przy krótkim czasie trwania pokolenia, szybciej zauważalnych skutków ewolucji można się doczekać. Już pierwszy eksperyment Dallingera pokazał, że w ciągu kilku lat można zaobserwować ewolucję przystosowań do zmienionego środowiska życia. I rzecz znamienna, nawet zagorzali zwolennicy kreacjonizmu ewolucję mikroorganizmów jednak dopuszczają (patrz artykuł BANBURY w tym zeszycie KOSMOSU).

W XX w. liczne eksperymenty z doбором sztucznym, a więc w istocie rzeczy eksperymenty ewolucyjne, wykonywano także na dużych zwierzętach (głównie myszach i szczurach laboratoryjnych) i roślinach (kukurydza). Paradoksalnie jednak, początkowo na ogół nie wykonywali ich biolodzy ewolucyjni, a uczeni zajmujący się programami hodowlanymi zwierząt gospodarczych i roślin uprawnych, a także bio-medycy poszukujący dogodnych modeli zwierzęcych do badania chorób. Eksperymenty te nie tylko nie były zaprojektowane do testowania hipotez ewolucyjnych, ale ich wyniki były w znacznej mierze przez biologów ignorowane. Owszem, eksperymenty selekcyjne odegrały kapitalną rolę w rozwoju genetyki: dały solidny empiryczny fundament dla matematycznej teorii doboru i teorii dryfu genetycznego (FUTUYMA 2008, artykuły ŁOMNICKIEGO *Dobór naturalny* i *Dryf genetyczny* w tym zeszycie KOSMOSU). Ale aż do lat 70. XX w. nie odegrały większej roli w dyskusjach dotyczących ewolucji adaptacji, związku cech fizjologicznych z cechami środowiska życia organizmów, ewolucji behawioru, i tym podobnych zagadnień leżących w centrum zainteresowania współczesnej ekologii i fizjologii ewolucyjnej. Dopiero wówczas biolodzy ewolucyjni zaczęli na większą skalę wykorzystywać do testowania szczegółowych hipotez ewolu-

cyjnych zwierzęta z linii selekcyonowanych w ramach eksperymentów zootechnicznych i biomedycznych i sami zaczęli wykonywać eksperymenty zaprojektowane do testowania takich hipotez. Opublikowana w darwinowskim roku praca zbiorowa *Experimental evolution* (GARLAND i ROSE 2009) jest znakiem, że „evolucja eksperymentalna” na dobre weszła do kanonu narzędzi badawczych biologii ewolucyjnej.

TYPY EKSPERYMENTÓW EWOLUCYJNYCH

W artykule tym nie zmierzam oczywiście w kierunku dokonania systematycznego przeglądu dotychczasowych eksperymentów ewolucyjnych (zainteresowanych odsyłam do książki Garlanda i Rose’a). Przedstawię tylko kilka dość arbitralnie wybranych przykładów (częściowo kierując się moimi własnymi zainteresowaniami), które zilustrują różnorodność zarówno problematyki badawczej, jak i charakteru samych eksperymentów. Ograniczę się przy tym tylko do tych eksperymentów, które były z góry pomyslane jako narzędzia do testowania hipotez ewolucyjnych. Ponieważ jednak termin „evolucja eksperymentalna” obejmuje szerokie spektrum badań empirycznych, przed ich przedstawieniem konieczne będzie kilka wyjaśnień terminologicznych.

Najbliżej „natury”, ale zarazem najdalej od rygorystycznego „silnego wnioskowania”, są badania nad skutkami działania doboru naturalnego zachodzącego w wyniku raptownych zmian środowiska naturalnego, takich jak ekstremalne warunki pogodowe, powodzie, fale tsunami itp. Szczególnym ich przypadkiem są niezamierzone zmiany spowodowane działaniem człowieka, takie jak – znany powszechnie z podręczników szkolnych – melanizm przemysłowy, czy karłowacenie ryb w skutek przelowienia. Warunkiem by takie *quasi*-eksperymenty mogły być podstawą do testowania hipotez ewolucyjnych jest ich powtarzalność w czasie lub przestrzeni. Metodologicznie silniejsze są badania, w których obserwuje się działanie doboru w środowisku naturalnym, ale zmienionym w wyniku zamierzonej manipulacji – takiej jak dodanie bądź usunięcie źródła pokarmu, konkurentów czy drapieżników. Inną wersją takiego eksperymentu jest przeniesienie populacji do całkiem nowego środowiska, różniącego się szczególnymi cechami (np. LOSOS i współaut. 1997, REZNICK i GHALAMBOR 2005).

W eksperymentach przeprowadzanych w warunkach naturalnych sam zabieg eksperymentalny jest pod kontrolą badacza, ale cały szereg innych warunków środowiska już nie, co na ogół osłabia siłę wnioskowania. Problemu tego uniknąć można przez wykonanie całego eksperymentu w laboratorium: stworzenie zróżnicowanych, ale w pełni kontrolowanych warunków (np. zróżnicowanej temperatury), w których spodziewamy się odpowiednio zróżnicowanych kierunków działania doboru naturalnego. W takich eksperymentach środowisko jest „sztuczne”, ale to nie badacz decyduje o tym, jakie konkretnie cechy organizmów faworyzowane są przez dobór. Stąd też taki schemat eksperymentu określa się jako „laboratoryjny dobór naturalny”. Specyficzną jego wersją jest eksperyment, w którym wszystkie osobniki z populacji poddane są ostremu testowi, takiemu jak np. wystawienie na działanie ekstremalnych warunków środowiska, w których większość osobników ginie, a te które przeżyją wykorzystywane są do wyprowadzenia następnego pokolenia. Można powiedzieć, że o ile w pierwszej wersji działa dobór „miękki”, to w eksperymencie „eliminacyjnym” (ang. laboratory culling selection) mamy do czynienia z doborem „twardym”. Natomiast w eksperymentach z doborem sztucznym (sztuczną selekcją) badacz dokonuje pomiaru konkretnej cechy i na podstawie wyników pomiaru wybiera osobniki przeznaczone do wyprowadzenia następnego pokolenia. W ten sposób można wyprowadzać linie organizmów także i o takich cechach, które przez dobór naturalny byłyby zapewne eliminowane, na przykład linie zwierząt o upośledzonym układzie odpornościowym. Ten typ eksperymentu wywodzi się z programów hodowlanych stosowanych w praktyce już od zarania ludzkości. Eksperymenty z doborem sztucznym różnią się jednak od programów hodowlanych tym, że utrzymuje się w nich linie organizmów selekcyonowanych w alternatywnych kierunkach, albo nie selekcyonowane linie kontrolne, co umożliwia formalne statystyczne testowanie hipotez dotyczących efektów doboru. W tym artykule będę zajmował się tylko tymi dwoma ostatnimi typami „eksperymentalnej ewolucji” (laboratoryjnym doborem naturalnym i doborem sztucznym), a więc badaniami, które w pełni spełniają kryteria kontrolowanych eksperymentów, będących fundamentem nauk ścisłych.

PRZYKŁADY

PIONIERSKI EKSPERYMENT Z LABORATORYJNYM DOBOREM NATURALNYM

Jak się wydaje, pierwszy, świadomie zaplanowany eksperyment ewolucyjny przeprowadził w latach 80. XIX w. wielebny W. H. Dallinger, pastor Kościoła Metodystów, a zarazem prezydent Królewskiego Towarzystwa Mikroskopowego. Motywowany dziełem Darwina zastanawiał się, „czy jest możliwe, by poprzez zmianę środowiska wywołać zmiany cech adaptacyjnych, jeśli obserwacje prowadzone są przez dostatecznie długi czas” (DALLINGER 1887 za HUEY i ROSENZWEIG 2009; patrz też: HAAS 2000). Sam Darwin podpowiedział, że takie zmiany najłatwiej dałoby się zaobserwować u mikroorganizmów o krótkich cyklach życiowych, a Dallinger był wówczas czołowym światowym ekspertem właśnie w dziedzinie cykli życiowych mikroorganizmów (jego prace przyczyniły się między innymi do zadania ostatecznego ciosu hipotezie powtarzalnego samoródtwa mikroorganizmów; HAAS 2000).

Eksperyment Dallingera odznaczał się ogromną prostotą koncepcyjną. Założył hodowlę jednokomórkowych mikroorganizmów utrzymywaną w temperaturze 15,5°C. Najpierw stwierdził, że organizmy z jego wyjściowej kolonii giną niemal natychmiast po przeniesieniu do temperatury 60°C. Podnosił więc temperaturę stopniowo aż do 21°C, w której funkcjonowały równie dobrze. Zauważył jednak, że po przekroczeniu 23°C część mikroorganizmów ginie, a inne nie rozmnażają się. Pozostawił więc kolonię w takich warunkach przez okres około miesiąca, po którym stwierdził, że aktywność mikroorganizmów wróciła do normy – i kontynuował proces stopniowego podnoszenia temperatury przez następne sześć lat. Na końcu eksperymentu mikroorganizmy z jego kolonii przeżywały w temperaturze 70°C. Co ciekawe jednak, te same organizmy ginęły nie tylko w niskich temperaturach, w których żyły populacje wyjściowe, ale także w 65°C. Okazało się, że dla organizmów zaadaptowanych do wysokich temperatur śmiertelnie niską była taka temperatura, która dla organizmów z populacji wyjściowej była śmiertelnie wysoka. Wyniki eksperymentu pokazały więc nie tylko proces nabywania adaptacji do wysokich temperatur, ale też i koszt nabycia tej adaptacji: utratę zdolności przeżywania w niskich temperaturach. Wyniki eksperymentu zrobiły wielkie wrażenie na Darwinie, który

w liście do Dellingera zauważył, że eksperyment ten świetnie tłumaczy obecność alg w gorących źródłach.

Choć w swoich czasach Dallinger był rozpoznawany jako wzór solidnego eksperymentatora, z dzisiejszej perspektywy jego eksperyment trudno by było uznać za poprawny metodologicznie. Po pierwsze, nieprecyzyjnie określony był sam obiekt tego eksperymentu. Właściwie nie ma pewności, czy rzeczywiście następowała tam ewolucja konkretnych gatunków mikroorganizmów, czy też raczej wymiana składu gatunkowego – a więc „ewolucja” całego zbiorowiska organizmów czy wręcz ekosystemu. Po drugie, w eksperymencie nie było właściwej kontroli, a więc kolonii organizmów przetrzymywanych cały czas w wyjściowej temperaturze. Nie było też powtórzeń, co jest zasadniczym warunkiem umożliwiającym rygorystyczne testowanie hipotez metodami statystycznymi (KONARZEWSKI i współaut. 2005). Ale z dzisiejszej perspektywy widać też wyraźnie, że pionierski eksperyment wielebnego Williama Dallingera otworzył perspektywę jakościowo nowego programu badawczego, polegającego na badaniu procesu ewolucji metodami eksperymentalnymi.

EWOLUCJA ADAPTACJI DO EKSTREMALNYCH WARUNKÓW ŚRODOWISKA

Podejmowanie wspólnie eksperymentów ewolucyjnych, by odpowiedzieć na pytanie „czy poprzez zmianę środowiska można wywołać zmiany cech adaptacyjnych”, byłoby niecelowe, bo nie mamy żadnej wątpliwości, że można. Ale szereg innych pytań jest dalej przedmiotem dociekań. Po pierwsze, czy, w jakiej skali i na ile powszechny jest koszt takich adaptacji? Po drugie, jakie konkretnie cechy biochemiczne, morfo-fizjologiczne, czy behawioralne ulegają zmianie w procesie adaptacji do jakichś szczególnych warunków środowiska i jakie jest genetyczne podłoże tych zmian? Jeszcze ważniejsze jest nawet pytanie, czy zmiany takie są powtarzalne, a więc czy w niezależnych liniach poddanych działaniu takich samych warunków środowiska, ewolucja doprowadzi do podobnych rozwiązań?

Takie pytania były motywacją do przeprowadzenia szeregu eksperymentów na bakteriach *Escherichia coli* (BENNETT i LENSKI 1996, ELENA i LENSKI 2003, FUTUYMA i BENNETT 2009). Wyjściowy szczep bakterii był zaadapt-

towane do temperatury 37°C i środowiska o pH = 7,2. Bakterie te były jednak w stanie przeżywać i rozmnażać się w temperaturach od 19,5 do 42,2°C i w zakresie pH od 5,4 do 8,0. Można powiedzieć, że zakres ten określał szerokość ich niszy ekologicznej. Populacja ta posłużyła do założenia linii przetrzymywanych przez 2000 pokoleń w warunkach bliskich krawędziom tej niszy (w 20°C, 41,5°C, pH 5,4 i pH 8,0; po sześć linii w każdym warunkach). Dostosowanie mierzone jako zdolność konkurencyjna względem bakterii z wyjściowej kolonii (przechowanych w stanie zamrożonym), wzrosło w każdym z tych warunków eksperymentalnych (od około 8 do około 33%). Dostarczenie ilościowej miary stopnia adaptacji do nowych warunków (względny przyrost dostosowania) odróżnia te badania od eksperymentu Dallingera, w którym dostarczenie takiej miary nie było możliwe, przede wszystkim ze względu na brak właściwej grupy kontrolnej.

Ale główna wartość eksperymentów Lenskiego i Bennetta leżała w możliwości odpowiedzi na pytanie, do jakiego stopnia adaptacja do warunków skrajnych była związana z utratą adaptacji do warunków odmiennych. Okazało się, że odpowiedź na to pytanie jest złożona. Bakterie zaadaptowane do 20°C miały w 40°C istotnie obniżone dostosowanie, ale zaadaptowane do 40°C radziły sobie w 20°C równie dobrze jak te z wyjściowej kolonii. Zaadaptowane do środowiska kwaśnego (pH 5,4) miały obniżone dostosowanie w środowisku zasadowym (pH 8,0), ale dostosowanie bakterii zaadaptowanych do pH 8,0 i testowanych w pH 5,4 różniło się między sześcioma powtarzanymi liniami: w trzech było obniżone, w jednej podniesione, a w dwóch się nie zmieniło. Eksperyment ten pokazał więc, że poprawienie adaptacji do nowych warunków niekoniecznie prowadzi do pogorszenia adaptacji do warunków wyjściowych. Co jeszcze bardziej zaskakujące, obecność albo nie takiego kosztu adaptacji może się różnić nawet między liniami wprowadzonymi bezpośrednio z tej samej wyjściowej populacji i przetrzymywanymi w takich samych warunkach. Najwyraźniej, nawet w tak precyzyjnie określonych warunkach, ewolucja może prowadzić alternatywnymi ścieżkami.

Badania ewolucyjne na mikroorganizmach mają wiele zalet (ELENA i LENSKI 2003): możliwość wykonania eksperymentów w wielu powtórzeniach, przez wiele generacji, możliwość zamrożenia osobników z każdego etapu

eksperymentu i przywrócenia ich aktywności w celu dokonania porównań z pokoleniami późniejszymi. Eksperymenty na bakteriach, wirusach czy drożdżach mogą więc dostarczyć odpowiedzi na pytania takie jak kwestia znaczenia tempa pojawiania się nowych mutacji w nabywaniu adaptacji, względna siła działania dryfu genetycznego i doboru itp. Stąd też właśnie takie eksperymenty dostarczyły najbardziej klarownych wyników pozwalających na testowanie ogólnych hipotez dotyczących działania doboru i procesu nabywania adaptacji – a także ich ograniczeń. U mikroorganizmów łatwiej też niż u zwierząt czy roślin można było zidentyfikować konkretne geny i mechanizmy biochemiczne, odpowiedzialne za różnice między szczepami poddanymi działaniu doboru w różnych warunkach.

Jest jednak kilka powodów, by nie ograniczać eksperymentalnej ewolucji tylko do takich „wygodnych” obiektów. Po pierwsze, ze względu na inną organizację genomu, procesy ewolucyjne mogą przebiegać inaczej u Procariota, u jednokomórkowych Eucariota i u złożonych organizmów wielokomórkowych. Stąd też nie wszystkie wnioski z eksperymentów przeprowadzanych na mikroorganizmach można przenosić na np. zwierzęta. Po drugie, szereg cech czy adaptacji szczególnie dla nas interesujących ze względu na ich znaczenie w ewolucji kręgowców lądowych i ewolucji człowieka, takich jak cechy historii życiowych, adaptacje związane z lokomocją, behawiorem czy zdolnościami poznawczymi, nie ma dobrych odpowiedników w świecie bakterii czy organizmów jednokomórkowych, więc ewolucję takich cech trudno jest modelować w eksperymentach na mikroorganizmach. Okazało się też, że perspektywy dla wykonywania eksperymentów selekcyjnych na roślinach czy zwierzętach nie są aż tak złe, jak można było początkowo sądzić, bo zmiany cech w ciągu jednego pokolenia selekcji mogą być u organizmów „wyższych” setki razy większe niż u bakterii (FUTUYMA i BENNETT 2009), a w konsekwencji do uzyskania widocznych efektów doboru może wystarczyć nawet tylko kilka pokoleń. Eksperymenty ewolucyjne można więc z powodzeniem zrealizować nie tylko na zwierzętach o cyklu życiowym trwającym tygodnie, takich jak *Drosophila*, ale także na ssakach, takich jak mysz laboratoryjna, u których czas pokolenia wynosi kilka miesięcy.

Ogromna większość eksperymentów ewolucyjnych na ssakach (i w ogóle kręgow-

cach) miała charakter eksperymentów z dobo-rem sztucznym w kierunku arbitralnie wybranych cech, a nie „laboratoryjnego doboru naturalnego”. Wyjątkowy jest eksperyment z adaptacją do niskiej temperatury u myszy domowych *Mus musculus* (BARNETT i DICKSON 1984a, b). Osobniki odłowione z dzikiej populacji wykorzystano do założenia dwóch populacji: jednej hodowanej w temperaturze pokojowej, a drugiej w temperaturze około 3°C. Już po około 10 pokoleniach myszy „eskimosy” miały większą masę ciała i większą ilość tkanki tłuszczowej, miały krótsze ogony, wcześniej osiągały dojrzałość płciową, młode osobniki szybciej rosły, co było możliwe między innymi dzięki temu, że matki produkowały mleko o wyższej wartości kalorycznej. Różnice takie były widoczne także u myszy „eskimosów”, które były urodzone i wychowywane w temperaturze pokojowej. Nie były więc skutkiem aklimatyzacji (zmian w ramach plastyczności fenotypowej), a miały podłoże genetyczne: były to więc adaptacje w ewolucyjnym tego słowa znaczeniu. Łatwo rozpoznać, że kierunki zaobserwowanych adaptacji były zgodne z przewidywaniami opartymi na badaniach porównawczych i wiedzy o fizjologii termoregulacji. Na przykład, wzrost masy ciała u myszy „eskimosów” jest zgodny z zoogeograficzną regułą Bergmanna. Niestety, eksperyment ten był wykonany bez powtórzeń (było tylko po jednej linii w obu warunkach), co poważnie ogranicza siłę wnioskowania: nie można mieć pewności, że zaobserwowane zmiany są rzeczywiście wynikiem doboru wspierającego cechy przydatne w niskiej temperaturze, a nie wynikiem dryfu genetycznego (KONARZEWSKI i współaut. 2005). Niezależnie od tego zastrzeżenia, samo stwierdzenie faktu, iż ważne cechy morfo-fizjologiczne i cechy historii życiowych mogą u ssaków przeniesionych do innych warunków termicznych ewoluować z tak dużą szybkością, można uznać za wynik spektakularny, zwłaszcza w kontekście współczesnej, gorącej debaty na temat hipotetycznych skutków globalnych zmian klimatu.

EWOLUCYJNE KOMPROMISY: CZY MOŻNA BYĆ MŁODYM, PIĘKNYM I BOGATYM?

Tytułowe pytanie, w kontekście biologii ewolucyjnej, można sparafrazować na „dlaczego dobór naturalny nie doprowadził do wyewoluowania organizmów, które się nie starzeją, produkują potomstwo przez całe życie w wysokim tempie, a na dodatek są odporne na niekorzystne warunki środowi-

ska?”. Narzuca się przypuszczenie, że między oczekiwanymi cechami takich idealnych organizmów są jakieś sprzeczności, że dobór działający pozytywnie w kierunku jednej z nich musi prowadzić do pogorszenia innych. Takie sprzeczności mogą wynikać z prostych mechanicznych ograniczeń (np. trudno być równocześnie dobrym lotnikiem i biegaczem). Fizycznej natury jest też powszechnie akceptowane wyjaśnienie odwołujące się do zasady alokacji: ponieważ każdy organizm ma tylko ograniczony dostęp do zasobów (np. energii), przeznaczenie ich na jedne cele (np. molekularne mechanizmy naprawcze przeciwdziałające starzeniu się) siłą rzeczy musi prowadzić do zmniejszenia ilości zasobów, które mogą być przeznaczone na wspieranie innych funkcji (np. reprodukcji). Wreszcie, za kompromisy mogą być odpowiedzialne mechanizmy genetyczne, takie jak antagonistyczna plejotropia: geny poprawiające wydolność jednych funkcji mogą być odpowiedzialne ze upośledzenie innych funkcji organizmu. Choć sam fakt konieczności istnienia tego rodzaju kompromisów jest oczywisty, to kwestia ich siły, powszechności, uniwersalności, znaczenia w kształtowaniu bioróżnorodności, pozostaje dalej przedmiotem badań, a eksperymenty ewolucyjne są w tej dziedzinie jednym z głównych narzędzi poznawczych.

Wiele eksperymentów ewolucyjnych poddyktowanych powyższymi pytaniami wykonano na wywilźnie *Drosophila melanogaster* (pospolicie zwanej muszką owocową), a największą siłą oddziaływania miała chyba seria eksperymentów wykonanych pod kierunkiem M. Rose’a (ROSE i współaut. 2005). W eksperymentach tych wyprowadzono linie selekcyjonowane (między innymi) w kierunku płodności w późnym wieku, płodności we wczesnym wieku, wczesnej reprodukcji, odporności na wysychanie, odporności na głód. Wszystkie te cechy zmieniały się pod wpływem doboru, a selekcyjonowane linie dostarczyły kapitalnego materiału do badań nad fizjologicznymi mechanizmami odpowiedzialnymi za te adaptacje (tych wyników nie będę tu jednak przedstawiał).

Zgodnie z przewidywaniami odporność na stres głodzenia i stres wysychania były ze sobą dodatnio skorelowane, a ponadto skorelowane też dodatnio z długowiecznością. Odporność na głodzenie (ale nie na wysychanie) była natomiast ujemnie skorelowana z płodnością. Również zgodnie z przewidywaniami, płodność we wczesnym wieku była ujemnie skorelowana z długowiecznością.

Kompromis między długim życiem a szybkim tempem reprodukcji został też udokumentowany w innych eksperymentach selekcyjnych i ma kapitalne znaczenie jako weryfikacja jednej z hipotez dotyczących przyczyn starzenia się organizmów (praca przeglądowa RAUSER i współaut. 2009). Dalsze badania wykazały też istnienie podobnego kompromisu między tempem wzrostu (mierzonym jako przyrost długości tułowia) a przeżywalnością larw. Można było sądzić, że wyniki tej wieloletniej pracy, bazującej na szeregu eksperymentach selekcyjnych prowadzonych przez kilkadziesiąt pokoleń (i wspartych badaniami nad korelacjami genetycznymi w wyjściowych populacjach) składają się na klarowny obraz ewolucyjnych kompromisów w cechach historii życiowej. Rozsądne wydawało się nawet przypuszczenie, że wzorzec ten odnosi się nie tylko do *Drosophila*, ale że odzwierciedlać może nawet bardziej ogólną prawidłowość.

Wyniki dalszych eksperymentów każą jednak z większą ostrożnością podchodzić do takich uogólnień (HARSHMAN i HOFFMANN 2000, ROSE i współaut. 2005). Po pierwsze okazało się, że obserwowane wzorce korelacji mogą zależeć od sposobu definiowania badanych cech. Jeśli tempo rozwoju było mierzone przyrostem masy ciała, a nie długości tułowia, to ujemna korelacja z przeżywalnością zniknęła. Po drugie, charakter korelacji między różnymi cechami był różny w eksperymentach, w których selekcjonowane linie wywodziły się z innych populacji wyjściowych. Charakter korelacji zmieniał się też wtedy, gdy selekcja prowadzona była dłużej, przez następne kilkadziesiąt pokoleń. Wydaje się, że gdy selekcja prowadzi do bardzo daleko idących zmian cech poddanych doborowi, pojawiające się nowe rozwiązania burzą relacje między cechami obserwowane w populacjach wyjściowych i poddanych działaniu doboru tylko przez krótki czas. Wreszcie, nie można zapominać, że przebieg skorelowanej ewolucji różnych cech (a więc także charakter kompromisów między tymi cechami) zależy od środowiska, w którym przebiega ewolucja. Efekty ewolucji przebiegającej w arbitralnie zdeterminowanym środowisku laboratoryjnym mogą nie mieć dokładnego odzwierciedlenia w warunkach innych, w tym także w warunkach naturalnych (HARSHMAN i HOFFMANN 2000, HUEY i ROSENZWEIG 2009). Trzeba więc pamiętać, że, jak pisze ROSE i współautorzy (2005), „efekty ewolucji są lokalne”, co narzuca poważne ograniczenia na

zakres wniosków wyciąganych z wyników eksperymentów selekcyjnych.

T. Kawecki tytułowe pytanie tego rozdziału sparafrazowałby zapewne mniej więcej tak: „czy można być mądrym i zarazem zdolnym do skutecznego rozpychania się łokciami w tłoku?” (KAWECKI 2009 i literatura tam cytowana). Ewolucja zdolności mentalnych nie może nam być z oczywistych względów obojętna i na pewno frapujące jest pytanie, czy i w jaki sposób za lepsze zdolności mentalne się płaci. By odpowiedzieć na to pytanie, Kawecki i współpracownicy wykonali serie eleganckich eksperymentów krzyżowych na *D. melanogaster*. W pierwszym eksperymencie pokazali, że muszki selekcjonowane w kierunku zdolności do szybkiego uczenia się asocjacji koloru pożywki z jej jakością (jako miejsca nadającego się do rozwoju larw), w warunkach zagęszczenia i niedostatku pokarmu (i gdy nie było zysków ze zdolności do uczenia się) przegrywały w konkurencji z muszkami z nieselekcjonowanych linii kontrolnych, a co więcej muszki „mądre” żyły też krócej niż te z linii kontrolnych. Ewolucyjna kara za nabycie większych zdolności mentalnych była więc dotkliwa. W następnym eksperymencie pytanie zostało odwrócone: czy za adaptację do trudnych warunków pokarmowych płaci się pogorszeniem zdolności mentalnych? Okazało się, że tak. Muszki poddane były działaniu laboratoryjnego doboru naturalnego w warunkach hodowli na pożywce o niskiej albo wysokiej jakości. Larwy z linii zaadaptowanych do pożywki o niskiej jakości w takich warunkach lepiej rosły, przeżywały i dojrzewały niż muszki z linii zaadaptowanych do pożywki dobrej. Jednakże w teście na zdolność do uczenia się, takim jak wykorzystany w poprzednim eksperymencie, miały gorsze wyniki niż te zaadaptowane do pożywki dobrej. Można więc sądzić, że dobór naturalny będzie eliminował zdolności mentalne takie jak zdolność uczenia się, jeśli te w danych warunkach nie przynoszą bezpośrednich korzyści.

SKORELOWANA EWOLUCJA BEHAVIORU I ZŁOŻONYCH ADAPTACJI MORFO- FIZJOLOGICZNYCH

Jednym z zagadnień będących przedmiotem zainteresowania fizjologii ewolucyjnej jest pytanie, jaki jest mechanizm ewolucji złożonych adaptacji morfologiczno-fizjologicznych, takich jak np. nabycie zdolności do życia na lądzie, zdolności do aktywnego lotu czy aktywnej, metabolicznej regulacji

temperatury ciała (czyli endotermii). Ewolucja takich spektakularnych adaptacji leżała u początków ewolucji odrębnych linii filogenetycznych (np. kręgowców lądowych, ptaków, ssaków). Pytanie o te mechanizmy można zadać na różnych poziomach. Biologów rozwojowych interesuje przede wszystkim pytanie o genetyczne mechanizmy regulacyjne, o to, jakie zmiany w programie genetycznym prowadzą do rozwoju odmiennie zbudowanych i funkcjonujących organizmów. Ale interesujące jest też pytanie o to, jakie cechy mogły być postrzegane i faworyzowane przez dobór naturalny na początkowych etapach ewolucji złożonych adaptacji.

Pod koniec XX w. ukształtował się ogólny model ewolucji takich złożonych adaptacji, który, jak się wydaje, staje się obecnie czymś w rodzaju paradygmatu fizjologii ewolucyjnej (RHODES i KAWECKI 2009; SWALLOW i współaut. 2009). Zgodnie z tym modelem, dobór naturalny postrzega w pierwszym rzędzie cechy behawioralne: to czy osobnik przeżyje czy nie, czy wyda potomstwo czy nie, zależy od tego „co robi”. Jednak zakres możliwych zachowań jest ograniczany przez wydolność całego organizmu – sprawność na poziomie „organizmalnym”. Na przykład zakres możliwych prędkości, z jakimi osobnik może się poruszać przez dłuższy czas, zależy od jego wydolności tlenowej. Z kolei, sprawność całego organizmu zależy od sprawności działania szeregu różnych mechanizmów fizjologicznych, które, z kolei, uwarunkowane są ograniczeniami zarówno morfologicznymi, jak i biochemicznymi. W ramach ograniczeń związanych z określoną morfologią i fizjologią jest miejsce na spory zakres możliwych zachowań. Nawet bez skrzydeł da się „latać”, choć raczej na krótkie dystanse, a lądowanie bywa nieprzyjemne. Jeśli jednak nagrodą może być uratowanie życia w czasie ucieczki przed drapieżnikiem, to takie ekstrawaganckie zachowania, nawet jeśli są nieudolne, mogą być wspierane przez dobór naturalny. Gdy jednak zachowania takie staną się w populacji powszechne, dobór będzie wspierał takie zmiany morfologiczno-fizjologiczne, które pozwolą te zachowania usprawnić, co wymaga odpowiedniej przebudowy organizmu. Zgodnie z postulowanym modelem ewolucja behawioru może więc wyprzedzić ewolucję adaptacji morfo-fizjologicznych, a co więcej może być też siłą napędową ewolucji tych adaptacji.

Takie rozumowanie było przesłanką do zaprojektowania przez T. Garlanda ekspery-

mentu z doбором sztucznym, w którym myszy laboratoryjne selekcyjonowane są w kierunku wysokiej spontanicznej aktywności lokomotorycznej (SWALLOW i współaut. 1998). Wybór takiej cechy jako celu doboru nie był przypadkowy. Ewolucja lokomocji była nie tylko ważnym elementem ewolucji kręgowców lądowych, ale według wielu badaczy była też kluczowa w ewolucji endotermii, zarówno u ptaków, jak i ssaków (tzw. model wydolności tlenowej; BENNETT i RUBEN 1979), a także w ewolucji człowieka (BRAMBLE i LIEBERMAN 2004). W eksperymencie Garlanda aktywność lokomotoryczna myszy mierzona jest na „bieżniach kołowych” (potocznie zwanych „młynkami”), a kryterium doboru jest całkowita liczba obrotów koła w ciągu doby. Wybór konkretnej techniki pomiarowej też nie jest obojętny: pomiary na bieżni kołowej mogą być łatwo zautomatyzowane, co umożliwia dokonywanie pomiarów na dużej liczbie zwierząt. Dzięki temu możliwe jest utrzymywanie czterech niezależnych linii selekcyjonowanych i czterech linii kontrolnych (w których osobniki kojarzone są losowo). W przeciwieństwie więc do eksperymentu z myszami „eskimosami”, w tym eksperymencie są powtórzenia, co umożliwia rygorystyczne statystyczne testowanie hipotez dotyczących efektów selekcji.

Po 10 pokoleniach myszy selekcyjonowane biegały około 1,7 razy więcej niż kontrolne, czyli mniej więcej tyle samo co dzikie myszy domowe. Od pokolenia 15, w którym myszy selekcyjonowane biegały około 2,7 razy więcej niż kontrolne, dalszy postęp ewolucji był już powolny. Pierwszy pełny raport z tego eksperymentu ukazał się w czasopiśmie naukowym dopiero cztery lata po jego rozpoczęciu (SWALLOW i współaut. 1998), ale w następnych latach liczba publikacji systematycznie rosła i obecnie (15 lat od początku eksperymentu) wynosi już ponad 90 (polecam stronę internetową T. Garlanda, na której dostępny jest nie tylko spis tych publikacji, ale ich pełne teksty: www.biology.ucr.edu/people/faculty/Garland.html). Tak długi czas od rozpoczęcia badań do pierwszej poważnej publikacji na pewno jest ważnym powodem, dla którego eksperymenty selekcyjne na dużych zwierzętach nie są często wykorzystywane przez biologów ewolucyjnych. Z drugiej jednak strony, dobrze zaprojektowany eksperyment selekcyjny może stać się praktycznie niewyczerpywalnym zapleczem do realizowania kolejnych projektów badawczych, wykraczających niekiedy

daleko poza pierwotny zakres zamierzeń. Na przykładzie tego eksperymentu chciałbym przedstawić „strategię badawczą” w tego typu eksperymentach.

Pierwszym zadaniem jest oczywiście sprawdzenie, czy bezpośredni dobór na selekcionowaną cechę jest efektywny, co jest równoznaczne ze zbadaniem jej odziedziczalności (patrz SWALLOW i współaut. 1998). Gdy bezpośrednie efekty są już wyraźne, przychodzi czas na badanie skorelowanych efektów doboru, czyli zmian innych cech. Wykrycie skorelowanego efektu jest równoważne stwierdzeniu, że badana cecha jest genetycznie skorelowana z cechą będącą przedmiotem działania doboru. Zwykle w pierwszej kolejności badane są inne cechy na poziomie organizmalnym. W przypadku tego eksperymentu stwierdzono między innymi, że myszy z linii selekcionowanych różnią się od kontrolnych przede wszystkim tym, że biegają szybciej, ale nie spędzają na bieganiu dużo więcej czasu niż kontrolne, są bardziej aktywne nie tylko na bieżni kołowej, ale także w innych formach aktywności, mają skrócony okres spontanicznego rytmu okołodobowego (ich wewnętrzny zegar biologiczny chodzi szybciej), mają wyraźnie większe tempo konsumpcji pokarmu, ale ich maksymalne tempo metabolizmu tlenowego osiągame w czasie wysiłku (wydolność tlenowa) jest tylko niewiele wyższe niż u myszy z linii kontrolnych, a podstawowe tempo metabolizmu w ogóle się nie różni między liniami selekcionowanymi a kontrolnymi (KOTEJA i współaut. 1999, 2003; SWALLOW i współaut. 2001; REZENDE i współaut. 2005; KANE i współaut. 2008). Ten ostatni wynik można zinterpretować jako podważający założenia modelu „wydolności tlenowej”, zgodnie z którym wysoki poziom metabolizmu podstawowego (a zarazem endotermia) wyewoluowała u ssaków w odpowiedzi na dobór w kierunku wysokiej i wytrwałej aktywności, podtrzymywanej tlenowym metabolizmem mięśni.

Następnym etapem badań jest poszukiwanie głębszych mechanizmów odpowiedzialnych za różnice obserwowane na poziomie organizmalnym. Po pierwsze, interesujące było pytanie, jaki neurofizjologiczny mechanizm sprawia, że myszy selekcionowane „chcą” więcej biegać. Seria badań farmakologicznych pokazała, że myszy z linii selekcionowanych mają zmienione reakcje receptorów dopaminergicznych i zmiany w układzie nagrodowym, co powoduje, że bieganie działa na nie uzależniająco (RHODES i

współaut. 2005). Ponadto, ich zachowanie jest do pewnego stopnia analogiczne do zachowania osób cierpiących na ADHD (zespół hiperaktywności połączonej z trudnością w koncentracji). Choć więc taki kierunek badań nie był z góry planowany, okazało się, że eksperyment ten dostarczył ważnych informacji i modelowego organizmu do badań biomedycznych. Ale wynik ten ma też znaczenie w oryginalnym kontekście pytania o mechanizmy ewolucji behawioru: jeśli dobór wspiera jakąś formę behawioru, to prostym a zarazem uniwersalnym mechanizmem zwiększenia częstości i intensywności takich zachowań może być „podłączenie” sygnałów związanych z realizacją tych zachowań do układu nagrodowego.

Niewątpliwym sukcesem tego eksperymentu było też odkrycie nowej recesywnej mutacji, powodującej powstawanie „mini-mięśni”, które mają około dwa razy mniejszą masę niż zwykle i zbudowane są niemal wyłącznie z wysokotlenowych włókien (HOLE-LEROY i współaut. 2003). Mięśnie takie działają z mniejszą siłą, ale wolniej się męczą. Mutacja ta musiała być obecna w niskiej częstości już w populacji założycielskiej, bo jest obecna w dwóch spośród czterech linii selekcionowanych (w jednej uległa utrwaleniu – występuje jako homozygota u wszystkich osobników, a w drugiej występuje w dość wysokiej częstości) i w jednej kontrolnej (w niskiej częstości). Adaptacyjne znaczenie takiej budowy mięśni jest oczywiste (i zaraz przychodzi na myśl obraz Kenijczyków wygrywających maratony...), więc nie dziwi to, że selekcja doprowadziła do wzrostu częstości tej mutacji w liniach selekcionowanych. Ale zauważyć trzeba, że spontaniczna aktywność w dwóch selekcionowanych liniach, w których mutacji tej brak, nie jest niższa niż w tych, w których jest rozpowszechniona. Wynik ten pokazuje, że ewolucja może rozwiązać „zadany problem” z równą skutecznością alternatywnymi metodami. Możliwość wykrycia takich alternatywnych rozwiązań jest, obok kwestii czysto statystycznych, wielką wartością eksperymentów selekcyjnych, w których utrzymywane są liczne replikacje – niezależne linie poddane takiej samej selekcji. Dalszy etap badań to poszukiwanie na poziomie molekularnym konkretnych genów odpowiedzialnych za różnice obserwowane na poziomie tkankowym i organizmalnym, lokalizacja QTL (łac. *quantitative trait loci*; loci cech ilościowych) (NUHRENBURG i współaut. 2009).

Jedną z kapitalnych możliwości w ramach eksperymentów selekcyjnych jest projektowanie dwuczynnikowych eksperymentów zwanych z angielska *nature – nurture*, w których badana jest zależność jakichś cech od różnic warunkowanych genetycznie (*ang. nature*) i środowiskowo (*ang. nurture*) oraz interakcji między nimi. Tak zaprojektowane eksperymenty pokazały między innymi, że zarówno czynniki genetyczne warunkujące wyższą aktywność (różnica między liniami selekcyjowanymi a kontrolnymi), jak i czynniki środowiskowe (dostęp albo brak dostępu do bieżni umożliwiającej dodatkową aktywność lokomotoryczną) miały wpływ na tempo konsumpcji pokarmu, masę ciała i zawartości tkanki tłuszczowej myszy (SWALLOW i współaut. 1999, 2001). Znowu, choć eksperyment ten nie był zaprojektowany jako narzędzie w badaniach biomedycznych, te akurat wyniki trafiły w jeden z centralnych punktów zainteresowania współczesnej medycyny (otyłość!) i są w literaturze medycznej rozpoznawane. Mają też oczywiście znaczenie w oryginalnym kontekście ewolucyjnym, bo pytanie o skutki interakcji między czynnikami genetycznymi a środowiskowymi wyznacza jeden z gorących obszarów badań teoretycznych i empirycznych w biologii ewolucyjnej.

Eksperyment T. Garlanda stanowił inspirację dla kilku następnych eksperymentów selekcyjnych na gryzoniach, podejmowanych z myślą o testowaniu hipotez dotyczących ewolucji adaptacji fizjologicznych. Wspomnę tu o trzech wykonywanych w Polsce. M. Konarzewski wraz ze swoim zespołem prowadzi dwa takie eksperymenty: jeden, w którym myszy laboratoryjne selekcyjowane są na wysoki i niski poziom podstawowego tempa metabolizmu, i drugi, komplementarny, w którym selekcyjowane są w kierunku wysokiego poziomu maksymalnego metabolizmu tlenowego (KONARZEWSKI i współaut. 2005; GĘBCZYŃSKI i KONARZEWSKI 2009a, b; praca przeglądowa SWALLOW i współaut. 2009). Oba eksperymenty pokazały, między innymi, że u myszy laboratoryjnych zarówno podstawowe jak i maksymalne tempo metabolizmu są odziedziczalne, ale nie są ze sobą genetycznie skorelowane (nie zaobserwowano ich zmian jako skorelowanych efektów selekcji). Wyniki te, zgodne z wynikami z eksperymentu Garlanda, podważają założenia „modelu wydolności tlenowej” ewolucji endotermii. Natomiast autor tego artykułu wraz ze swoim zespołem uruchomił eksperyment, w którym nornice rude (*Myodes glareolus*) selekcyj-

nowane są w trzech kierunkach: wysokiego tempa metabolizmu tlenowego uzyskiwanego w czasie spontanicznego wysiłku (pływania), intensywności zachowań drapieżniczych i zdolności do wzrostu na pokarmie roślinnym o niskiej jakości (SADOWSKA i współaut. 2008). Eksperyment ten, unikatowy, bo prowadzony na nielaboratoryjnym gatunku gryzoni, ma w zamyśle stanowić laboratoryjny model radiacji adaptacyjnej (selekcja prowadzona jest w kierunkach odpowiadającym głównym strategiom adaptacyjnym: roślinożerność – drapieżnictwo). Eksperyment jest jeszcze na wczesnym etapie, ale już pierwszy wynik dotyczący efektów skorelowanych jest frapujący: inaczej niż w eksperymentach na myszach laboratoryjnych, selekcja na wysoki metabolizm tlenowy w czasie spontanicznego wysiłku pociągnęła za sobą ewolucję wyższego podstawowego tempa metabolizmu (KOTEJA i współaut. 2009). Pamiętając o tym, że „efekty ewolucji są lokalne” (ROSE i współaut. 2005), na razie lepiej się jednak powstrzymać od spekulacji dotyczących przyczyn różnic między wynikami tych eksperymentów selekcyjnych.

EKSPERYMENTALNA SPECJACJA

Tytuł epokowego dzieła Darwina stawiał na froncie kwestię pochodzenia gatunków, a i współcześnie wyjaśnienie zadziwiającej różnorodności gatunkowej jest centralnym zagadnieniem zarówno w biologii ewolucyjnej jak i w ekologii. Proces powstawania gatunków, a więc specjacji, ma też kapitalne znaczenie w dyskusji z fundamentalistycznymi kreacjonistami. O ile bowiem wielu z nich akceptuje mikroewolucję, a więc możliwość skutecznego działania doboru i ewolucję cech organizmów wewnątrz gatunków (czemu naprawdę trudno przeczyć, mając na widoku choćby różnorodne rasy psów), to przeciwstawiają się twierdzeniu, że taki sam proces może być odpowiedzialny za powstawanie nowych gatunków (patrz artykuł BAŃBURY w tym zeszycie KOSMOSU). Eksperymentalne udokumentowanie procesu specjacji ma więc wielką wartość edukacyjną. Ale eksperymenty dotyczące procesów specjacji potrzebne są też i biologom, nie mającym wątpliwości co słuszności ogólnej teorii ewolucji, bo są narzędziem pozwalającym na testowanie szczegółowych hipotez dotyczących alternatywnych mechanizmów specjacji.

Samo pojęcie gatunku jest wieloznaczne i jest przedmiotem ciągłych debat, których przedstawienie wykracza poza ramy tego

artykułu (FUTUYMA 2008; patrz też artykuł SZYMURY w tym zeszycie KOSMOSU). Ale większość biologów zgadza się, że gatunek to (bardzo upraszczając) populacje osobników, które nie są izolowane rozrodczo (choć ta definicja nie może być wykorzystana do definicji gatunków, u których brak rozrodu płciowego). W rygorystycznej wersji tej definicji osobniki, które mogą się krzyżować i wydawać płodne potomstwo, należą do tego samego gatunku. Jednak osobniki z wielu powszechnie uznawanych odrębnych gatunków, czasem znacząco różniących się morfologicznie i fizjologicznie, mogą się jednak ze sobą krzyżować i wydawać płodne potomstwo. Na granicach zasięgów takich gatunków mogą istnieć strefy mieszańcowe, a mimo tego nie dochodzi do „złania” się gatunków. W praktyce zatem, do utrzymania odrębności gatunkowej nie jest konieczna całkowita izolacja rozrodcza. Wystarczy, by osobniki unikały kojarzenia z osobnikami z populacji obcej, albo by potomstwo par mieszanych miało na tyle obniżone dostosowanie (niższą przeżywalność albo płodność), by znacząco ograniczyć przepływ genów między tymi populacjami. Czy zatem metodami eksperymentalnej ewolucji udało się wyprowadzić z jednej rodzicielskiej populacji linie organizmów potomnych, spełniające takie warunki odrębności?

Zanim odpowiem na to pytanie, konieczne jest jeszcze krótkie (i upraszczające) wyjaśnienie dotyczące alternatywnych modeli specjacji. Według modelu specjacji allopatrycznej wyjściowa populacja jest najpierw dzielona barierami geograficznymi na populacje odrębne, w których warunki środowiska są odmienne, a przez to inne mogą być cechy preferowane przez dobór. Gdy po jakimś czasie populacje się ponownie spotykają, z różnych powodów mogą być izolowane rozrodczo. Przyczyną może być niezgodność genetyczna, która powoduje, że mieszańce mają gorszą przeżywalność (izolacja postzygotyczna), albo brak skutecznego zapłodnienia (izolacja prezygotyczna, pokojarzeniowa), albo unikanie kojarzenia z „obcymi” (izolacja prezygotyczna, przedkojarzeniowa = behawioralna), na przykład ze względu na odmienność cech preferowanych w doborze płciowym. Teoretycznie do izolacji reprodukcyjnej może dojść nawet wtedy, gdy w czasowo rozdzielonych populacjach nie działa różnicujący dobór: sam proces dryfu genetycznego może być odpowiedzialny za powstanie różnic prowadzących do pre- lub postzygotycznej izolacji. Według alternatywnego

scenariusza, specjacji sympatrycznej, izolacja rozrodcza może powstać bez izolacji geograficznej, o ile w obrębie tej samej populacji działa dobór „rozrywający”, np. preferujący wybór alternatywnych mikrosiedlisk czy różnych czasów aktywności, albo skrajnie różne wartości jakichś cech organizmu. Na przykład, jeśli przez dobór byłyby preferowane osobniki albo bardzo duże albo bardzo małe, to potomstwo par mieszanych, o przeciętnie pośrednich rozmiarach, byłoby przez dobór eliminowane, a preferowane byłoby potomstwo par osobników o podobnej wielkości (dużych albo małych). Taki proces może, przynajmniej teoretycznie, doprowadzić do powstania efektywnej izolacji reprodukcyjnej i specjacji.

O ile specjacja allopatryczna jako skutek doboru działającego odmiennie w odizolowanych populacjach była zawsze uznawana za oczywisty mechanizm powstawania gatunków, to specjacja allopatryczna następująca w wyniku samych tylko losowych efektów genetycznych (dryfu), a także model specjacji sympatrycznej, były i są cały czas przedmiotem gorących debat i badań teoretycznych (FUTUYMA 2008). Wyniki eksperymentów ewolucyjnych też w taki wzorzec się wpisują.

Liczne eksperymenty, przeprowadzone głównie na modelowych gatunkach *Drosophila*, pokazały powstawanie przedkojarzeniowej (behawioralnej), częściowej izolacji między liniami selekcionowanymi w odmiennych kierunkach, np. w przeciwstawnych kierunkach geotaksji, różnego tempa rozwoju, adaptacji do różnych temperatur, albo różnych pożywek (prace przeglądowe RICE i HOSTERT 1993, RUNDLE i współaut. 2005, FRY 2009), choć w szeregu innych takiej bariery nie zaobserwowano (np. w klasycznych eksperymentach na *Drosophila* z doбором na dużą lub małą liczbę szczynek; FRY 2009). Można oczywiście podejrzewać, że opublikowane wyniki nie są całkiem reprezentatywne, bo eksperymenty z pozytywnym wynikiem zapewne były chętniej publikowane niż te z negatywnym. Nie można więc wykluczyć, że być może proporcje wyników pozytywnych i negatywnych są nawet odwrócone w stosunku do rzeczywistości. Trzeba jednak pamiętać, że w warunkach naturalnych odpowiadających modelowi specjacji allopatrycznej, oddzielone populacje mogą być poddane doborowi działającemu odmiennie na wiele cech na raz. Do powstania izolacji behawioralnej wystarczy zatem, by tylko niektóre z cech, na

które dobór działa różnicująco, były powiązane z preferencjami w wyborze partnerów.

Choć w teoretycznych modelach poświęcono wiele uwagi powstawaniu izolacji postzygotycznej i już w latach trzydziestych XX w. klasycy genetyki zaproponowali prosty mechanizm genetyczny, który do obniżonej żywotności albo sterylności mieszańców może prowadzić (tzw. niezgodność Dobzhansky'ego-Mullera; FUTUYMA 2008), eksperymentów ewolucyjnych pokazujących, że taki mechanizm rzeczywiście może odgrywać znaczącą rolę w specjacji nie jest wiele. Eleganckim przykładem jest eksperyment, w którym roztoczek przedziorek chmielowiec (*Tetranychus urticae*; gatunek z haplo-diploidalnym cyklem życia, podobnym do cyklu życiowego np. błonkówek) selekcjonowany był w kierunku odporności na pewien pestycyd (OVERMEER 1966 za FRY 2009). Potomstwo mieszańców między liniami selekcjonowanymi a kontrolnymi miało znacząco obniżoną przeżywalność. Wykluwalność haploidalnych jaj składanych przez rozradzające się partenogenetycznie samice będące potomstwem par kojarzonych wewnątrz linii (zarówno kontrolnych jak i selekcjonowanych) wynosiła ponad 90%. Natomiast wykluwalność takich jaj składanych przez samice będące potomstwem par mieszanych wynosiła tylko od około 40% (gdy matka była z linii selekcjonowanej, a ojciec z linii kontrolnej) do około 70% (gdy matka była z linii kontrolnej a ojciec z linii selekcjonowanej). Co ważne, wykluwalność jaj składanych przez samice pochodzące z krzyżówek między dwoma równoległymi liniami selekcjonowanymi była tak samo wysoka jak w przypadku samic będących potomstwem par kojarzonych wewnątrz tych linii. Wynik ten sugeruje, że za niekompatybilność genotypów skutkującą obniżoną przeżywalnością potomstwa mieszańców nie odpowiadał dryf genetyczny, a proces adaptacji do specyficznych warunków środowiska. Interesujący jest też fakt, że wykluwalność potomstwa samic-mieszańców zależała od tego, czy z linii selekcjonowanych pochodził jej ojciec czy matka, co sugeruje, że przynajmniej niektóre geny mające znaczenie dla zróżnicowania przeżywalności jaj są cytoplazmatyczne, a nie jądrowe. Tak więc ten elegancki eksperyment nie tylko zademonstrował powstawanie izolacji postzygotycznej w modelowej specjacji allopatrycznej, ale dostarczył też ważnych informacji dotyczących ewentualnej roli dryfu genetycznego w specjacji i genetycznego podłoża badanej adaptacji.

Parę innych eksperymentów tego typu dało wyniki podobne jak w przedstawionym tu eksperymencie na przedziorkach, wyniki niektórych były niejednoznaczne, a kilku innych negatywne (FRY 2009). Z powodów tych samych, o których pisałem powyżej w kontekście izolacji przedkojarzeniowej, te negatywne wyniki nie stanowią poważnego argumentu przeciw takiemu mechanizmowi specjacji. Z pewnością jednak byłoby dobrze dowiedzieć się, jak często do powstania izolacji w taki sposób dochodzi, czy jest to zjawisko typowe czy raczej wyjątkowe. By taka meta-analiza była możliwa, należałoby najpierw przeprowadzić znacznie więcej eksperymentów. Wbrew pozorom, zrealizowanie takiego programu badawczego nie musi być bardzo trudne, bo można wykorzystać już istniejące linie organizmów z dowolnych eksperymentów selekcyjnych, a nie zaczynać je od nowa.

W naturze gatunki są na ogół dobrze rozdzielone mechanizmami prezygotycznymi i to w ich postaci najostrzejszej, a więc mechanizmami przedkojarzeniowymi: osobniki rozpoznają się jako należące do odmiennych gatunków i wcale nie dochodzi do ich kojarzenia. Jeśli już istnieje bariera postzygotyczna, czyli gdy potomstwo mieszańców nie przeżywa lub przeżywa znacznie gorzej, to jest oczywiste, że dobór powinien wspierać takie osobniki, które rozpoznają „obcych” i unikają z nimi kojarzenia (ściślej mówiąc, powinien wspierać genotypy, które warunkują takie zachowanie). Działanie takiego mechanizmu można sprawdzić w eksperymencie, w którym dopuszcza się swobodne krzyżowanie osobników z dwóch populacji, a następnie niszczy się potomstwo par mieszanych i wyprowadza następne pokolenie z potomstwa par „czystych”. W takim eksperymencie nie trzeba dysponować liniami, dla których jakaś postzygotyczna izolacja istnieje, bo jest ona symulowana właśnie poprzez niszczenie mieszańców. Jedynym czego trzeba, to marker genetyczny, który pozwoli na rozróżnienie w pokoleniu potomnym mieszańców i osobników „czystych”. Eksperymentów takich wykonano przynajmniej kilkanaście, w większości na muszkach *Drosophila* (FRY 2009). W większości z tych eksperymentów zaobserwowano po pewnej liczbie pokoleń zmniejszoną częstotliwość kojarzenia z osobnikami z innej populacji, a w niektórych przypadkach nawet powstanie całkowitej bariery przedkojarzeniowej. Zgodnie z genetyczną definicją gatunku, doszło więc do specjacji, choć chyba nie wiadomo, na ile taka

bariera byłaby trwała, gdyby zaprzestano dalszej selekcji przeciw mieszańcom. W każdym razie wyniki tych eksperymentów pokazują, że jeśli z jakichś powodów powstanie bariera postzygotyczna, to dobór z dużym prawdopodobieństwem doprowadzi też do powstania mechanizmów rozróżniania osobników pochodzących z własnej i obcej populacji, a w konsekwencji do izolacji przedkojarzeniowej, charakterystycznej dla wyraźnie odrębnych gatunków.

Mechanizm specjacji sympatrycznej wzbudza o wiele więcej kontrowersji i, jak można się spodziewać, mniej jednoznaczne są wyniki eksperymentów ewolucyjnych testujących ten model. W większości eksperymentów, w których działał dobór rozrywający na całkowicie arbitralnie wybrane cechy, takie jak np. liczba szczecinek (o których skądinąd wiadomo że u *Drosophila* nie mają znaczenia w preferencjach kojarzeniowych), nie zaobserwowano powstawania izolacji rozrodczej (FRY 2009). Izolacja taka powstawała natomiast wtedy, gdy dobór rozrywający działał na cechy takie, które same mają znaczenie w wyborze partnera. Na przykład, skuteczna izolacja reprodukcyjna rozwinęła się w eksperymencie na muchach domowych, w którym działał dobór rozrywający na odmienną geotaksję (preferencja poruszania się w górę albo w dół; HURD i EISENBERG 1975). Nie jest to zaskakujące, bo siłą rzeczy taki rozrywający dobór grupował osobniki, które mogły się ze sobą kojarzyć.

Eksperyment ze zróżnicowaną geotaksją bliski jest modelowi specjacji sympatrycznej, w którym dobór rozrywający działa na cechy związane z wyborem alternatywnych mikrosiedlisk. Sugerowano, że taki mechanizm mógł być odpowiedzialny np. za błyskawiczne (w skali geologicznej) powstanie ogromnej liczby endemicznych gatunków ryb w słynnym afrykańskim jeziorze Malawi. Modelowy eksperyment mający na celu symulowanie takiej specjacji przeprowadził W. Rice (RICE i SALT 1988, 1990). Muszki *D. melanogaster* mogły wybierać jedno z ośmiu alternatywnych środowisk w systemie rozdzielających się kanałów: mogły poruszać się w stronę kanałów ciemnych lub jasnych (fototaksja), następnie kanałami aparatu w górę lub w dół (geotaksja) i wreszcie mogły wybrać końcówki kanałów w których pachniał aldehyd octowy albo etanol (chemotaksja). Dopiero po dokonaniu tych wyborów trafiały do pojemników, w których był dostępny pokarm i potencjalni partnerzy reprodukcyjni. Układ ten symuluje obszar, w którym

dla roślinożerców dostępnych jest osiem różnych roślin, albo dla pasożyta osiem różnych potencjalnych żywicieli itp. Dodatkowo, w jednym z eksperymentów selekcja była prowadzona w taki sposób, by rozdzielić osobniki rozwijające się szybko, średnio lub powoli (co dawało łącznie z wyborem siedliska 24 kombinacje). Dodanie tego kryterium czasowego symuluje sytuację, w której dostępne rośliny czy żywiciele mają odmienną fenologię i są albo nie są dostępne dla organizmów je wykorzystujących w zależności od tego, czy „zgrają się” z nimi w czasie czy nie. Choć w tym modelowym środowisku były łącznie 24 mikrosiedliska, symulowano działanie bardzo ostrego doboru rozrywającego, w którym do następnego pokolenia przechodziło tylko potomstwo par, które wybrały jedno z dwóch skrajnie różnych środowisk (czyli modelowych „żywicieli”) i jedną z dwóch skrajnych „fenologii”: 1 – ciemno + w górę + etanol + wczesny rozwój; 2 – jasno + w dół + aldehyd octowy + późny rozwój. Po zaledwie dwudziestu kilku pokoleniach takiego doboru doszło do całkowitej izolacji rozrodczej między sub-populacjami wybierającymi alternatywne środowiska. Okazało się jednak, że taka silna izolacja zależała przede wszystkim od doboru na różne tempo rozwoju. Gdy dobór działał tylko na zróżnicowany wybór siedliska, izolacja rozrodcza nie była już tak silna. W każdym razie, eksperyment Rice’a pokazał, że przynajmniej w pewnych warunkach, specjacja sympatryczna związana z wyborem alternatywnych mikrosiedlisk rzeczywiście może zachodzić.

Ten artykuł nie wyczerpuje oczywiście całej tematyki związanej z eksperymentalną specjacją. Pomiąłem między innymi eksperymenty mające na celu badanie znaczenia w procesie specjacji dryfu genetycznego i efektu założyciela, a także doboru płciowego. Zainteresowanych tą fascynującą tematyką odsyłam do przeglądowego artykułu FRAY’A (2009). Sądzę jednak, że przedstawione przykłady wystarczająco jasno pokazują, że na postawione na początku pytanie, czy metodami eksperymentalnej ewolucji udało się utworzyć populacje spełniające minimalne kryterium odrębności gatunkowej, można odpowiedzieć twierdząco. Dla biologów ewolucyjnych ważniejsze jest jednak to, że eksperymenty te były i są ważnym narzędziem pozwalającym na testowanie szczegółowych hipotez dotyczących alternatywnych mechanizmów powstawania izolacji reprodukcyjnej i alternatywnych modeli specjacji.

PODSUMOWANIE

Eksperymenty selekcyjne były w pierwszej połowie XX w. podstawowym narzędziem badawczym w krytycznym dla rozwoju biologii procesie integracji teorii ewolucji z genetyką i tworzenia standardowych modeli doboru. W ostatnich dziesięcioleciach nastąpił lawinowy przyrost wykorzystania ich jako narzędzia do testowania różnych hipotez szczegółowych stawianych w ramach teorii doboru. Równolegle był też wyraźnie widoczny postęp w metodologicznej poprawności tych eksperymentów. Biologia ewolucyjna może być więc uprawiana zgodnie z postulatem silnego wniosku Platona i w pełni zasługuje na traktowanie jej jako nauki ścisłej.

Najbardziej spektakularnym i powtarzalnym wynikiem eksperymentów ewolucyjnych jest obserwacja, że w sprzyjających warunkach ewolucja może następować bardzo szybko, wiele rzędów wielkości szybciej niż wynika to z ocen dokonywanych na podstawie zapisu geologicznego. Nie jest to artefakt związany z przeprowadzaniem eksperymentów w warunkach laboratoryjnych, bo równie szybko ewolucja następowała w eksperymentach przeprowadzanych w warunkach naturalnych (REZNICK i GHALAMBOR 2005). Zdziwiająca szybkość ewolucji w warunkach eksperymentalnych dotyczy nie tylko arbitralnych cech morfologicznych, ale też cech mających ewidentne znaczenie adaptacyjne, a także procesu powstawania izolacji rozrodczej między populacjami, a więc procesów prowadzących do specjacji. Wyniki eksperymentalnej ewolucji skłaniają więc do twier-

dzenia, że w tej ważnej kwestii Darwin się mylił: ewolucja niekoniecznie działa powoli i niezauważalnie małymi krokami. Natomiast długie okresy doboru stabilizującego (patrz artykuł Łomnickiego *Dobór naturalny* w tym zeszycie KOSMOSU) sprawiają, że średnie tempo ewolucji obserwowane w materiale kopalnym jest tak niskie.

Eksperymenty ewolucyjne były wykorzystane do testowania szczegółowych hipotez dotyczących procesów powstawania adaptacji do zróżnicowanych siedlisk, kwestii kompromisów między różnymi cechami organizmów, skorelowanej ewolucji behawioru i cech fizjologicznych, alternatywnych modeli specjacji i szeregu innych kwestii nie poruszonych w tym artykule. Wyniki tych eksperymentów przyczyniły się znacząco do zrozumienia badanych procesów, ale równocześnie te same wyniki wskazały na szereg ograniczeń tej metody badawczej, przede wszystkim na trudność z uogólnianiem wniosków. Trudność ta wynika z samej istoty procesów ewolucyjnych, w których czynniki niedeterministyczne odgrywają ogromną rolę. Jednakże nawet z tej niezgodności, niepowtarzalności wyników eksperymentów selekcyjnych, można czerpać wartościową informację, pod warunkiem, że te same hipotezy testowane są w wielu różnych układach eksperymentalnych. Paradoksalnie więc, ta „słabość” eksperymentalnej ewolucji powinna być potraktowana jako zachęta do jeszcze częstszego podejmowania takich eksperymentów.

EXPERIMENTAL EVOLUTION

Summary

According to a common wisdom, hypotheses concerning Darwinian evolution cannot be effectively tested by means of rigorous experimental method. The conviction is based on a believe, promulgated by Darwin himself, that evolution acts very slowly, and apparent modifications of organisms result from accumulation of infinitesimally small changes over thousands or millions years. If this were true, experimental approach to evolutionary problems would be indeed impractical. The objective of this paper is to falsify this conviction. Already in XIX century it has been shown that adaptations to altered environment can evolve rapidly in microorganisms, and later the same has been shown both in plants and in animals. In XX century artificial selection experiments have been routinely used in plant and animal production sciences and in biomedical research, and provided empirical basis for the theory of population genetics and of natural selection. In the last few

decades of XX century various forms of experimental evolution (laboratory natural selection, laboratory culling selection, artificial selection) have become widely and successfully used by evolutionary biologists to test hypotheses concerning e.g., evolution of adaptations, tradeoffs between life-history and other traits, and also alternative models of speciation. The results contributed greatly to development of the paradigm of evolutionary biology, but the results have also shown limitations of the experimental evolution method. The major drawback is low consistency: trajectories of the experimental evolution vary between populations studied, depend on details of experimental conditions, and may change during the course of experiment. Paradoxically, however, the upsetting variation is by itself informative and contributes to understanding of evolutionary processes. Thus, even the weaknesses of experimental evolution encourage to apply the method more extensively.

LITERATURA

- BARNETT S. A., DICKSON R. G., 1984a. *Changes among wild house mice (Mus musculus) bred for 10 generations in cold environment, and their evolutionary implications*. J. Zool. 203, 163–180.
- BARNETT S. A., DICKSON R. G., 1984b. *Milk-production and consumption and growth of young of wild mice after 10 generations in a cold environment*. J. Physiol. Lond. 346, 409–417.
- BENNETT A. F., RUBEN J. A., 1979. *Endothermy and activity in vertebrates*. Science 206, 649–654.
- BENNETT A. F., LENSKI R. E., 1996. *Evolutionary adaptation to temperature. V. Adaptive mechanisms and correlated responses in experimental lines of Escherichia coli*. Evolution 50, 493–503.
- BRAMBLE D. M., LIEBERMAN D. E., 2004. *Endurance running and the evolution of Homo*. Nature 432, 345–352.
- DALLINGER W. H., 1887. *The President's Address*. J. Royal Microscop. Soc. 185–199.
- ELENA S. F., LENSKI R. E., 2003. *Evolution experiments with microorganisms: the dynamics and genetic bases of adaptation*. Nature Rev. Genet. 4, 457–469.
- FRY J. D., 2009. *Laboratory experiments on speciation*. [W:] *Experimental evolution: concepts, methods, and applications of selection experiments*. GARLAND T., JR., ROSE M. R. (red.) University of California Press, Berkeley, California, 631–656.
- FUTUYMA D. J., 2008. *Ewolucja*. Wydawnictwo Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa.
- FUTUYMA D. J., BENNETT A. F., 2009. *The importance of experimental studies in evolutionary biology*. [W:] *Experimental evolution: concepts, methods, and applications of selection experiments*. GARLAND T., JR., ROSE M. R. (red.) University of California Press, Berkeley, California, 15–30.
- GARLAND T., JR., ROSE M. R., 2009. *Experimental evolution: concepts, methods, and applications of selection experiments*. University of California Press, Berkeley, California.
- GĘBCZYŃSKI A. K., KONARZEWSKI M., 2009a. *Locomotor activity of mice divergently selected for basal metabolic rate: A test of hypotheses on the evolution of endothermy*. J. Evol. Biol. 22, 1212–1220.
- GĘBCZYŃSKI A. K., KONARZEWSKI M., 2009b. *Metabolic correlates of selection on aerobic capacity in laboratory mice: a test of the model for the evolution of endothermy*. J. Exp. Biol. 212, 2872–2878.
- HAAS J. W., JR., 2000. *The reverend Dr William Henry Dallinger, F.R.S. (1839–1909)*. Notes Rec. R. Soc. Lond. 54, 53–65.
- HARSHMAN L. G., HOFFMANN A. A., 2005. *Laboratory selection experiments using Drosophila: what do they really tell us?* Trends. Ecol. Evol. 15, 32–50.
- HOULE-LEROY P., GARLAND T., JR., SWALLOW J. G., GÜDERLEY H., 2003. *Artificial selection for high activity favors mighty mini-muscles in house mice*. Am. J. Physiol. (Regul. Integr. Comp. Physiol.) 284, R433–R443.
- HUEY R. B., ROSENZWEIG F., 2009. *Laboratory evolution meets Catch 22: balancing simplicity and realism*. [W:] *Experimental evolution: concepts, methods, and applications of selection experiments*. GARLAND T., JR., ROSE M. R. (red.) University of California Press, Berkeley, California, 671–701.
- HURD L. E., EISENBERG R. M. 1975. *Divergent selection for geotactic response and evolution of reproductive isolation in sympatric and allopatric populations of houseflies*. Am. Nat. 109, 353–358.
- KANE S. L., GARLAND, T., JR., CARTER P. A., 2008. *Basal metabolic rate of aged mice is affected by random genetic drift but not by selective breeding for high early-age locomotor activity or chronic wheel access*. Physiol. Biochem. Zool. 81, 288–300.
- KAWECKI T. J., 2009. *Evolutionary ecology of learning: insights from fruit flies*. Popul. Ecol. W druku.
- KONARZEWSKI M., KSIĄŻEK A., ŁAPO I. B., 2005. *Artificial selection on metabolic rates and related traits in rodents*. Integr. Comp. Biol. 45, 416–425.
- KOTEJA P., SWALLOW J. G., CARTER P. A. GARLAND T., JR., 1999. *Energy cost of wheel running in house mice: implications for coadaptation of locomotion and energy budgets*. Physiol. Biochem. Zool. 72, 238–249.
- KOTEJA P., SWALLOW J. G., CARTER P. A., GARLAND T., JR., 2003. *Different effects of intensity and duration of locomotor activity on circadian period (τ)*. J. Biol. Rhythms 18, 491–501.
- KOTEJA P., BALIGA-KŁIMCZYK K., CHRZAŚCIK K. M., DAMULEWICZ M., DRAGOSZ-KŁUSKA D., MORAWSKA-PŁOSKONKA J., 2009. *Laboratory model of adaptive radiation: activity and metabolic rates in bank voles from a multidirectional artificial selection experiment*. Comp. Biochem. Physiol. 153A (Suppl. 2), S146.
- LOSOS J., WARHUT K., SCHOENER T., 1997. *Adaptive differentiation following experimental island colonizing in Anolis lizards*. Nature 387, 70–3.
- NEHRENBERG, D. L., WANG S., HANNON R. M., GARLAND, T., JR., POMP D., 2009. *QTL underlying voluntary exercise in mice: interactions with the "mini muscle" locus and sex*. J. Heredity. W druku.
- OVERMEER, W. P. J., 1966. *Intersterility as a consequence of insecticide selections in Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae)*. Nature 209, 321.
- PLATT J. R., 1964. *Strong inference: Certain systematic methods of scientific thinking may produce much more rapid progress than others*. Science 146, 347–353.
- RAUSER C. L. MUELLER L. D., TRAVISANO M., ROSE M. R., 2009. *Evolution of aging and late life*. [W:] *Experimental evolution: concepts, methods, and applications of selection experiments*. GARLAND T., JR., ROSE M. R. (red.) University of California Press, Berkeley, California. 551–584.
- REZENDE E. L., CHAPPELL M. A., GOMES F. R., MALISCH J. L., GARLAND T., JR., 2005. *Maximal metabolic rates during voluntary exercise, forced exercise, and cold exposure in house mice selectively bred for high wheel-running*. J. Exp. Biol. 208, 2447–2458.
- REZNICK D. N., GHALAMBOR C. K., 2005. *Selection in nature: experimental manipulations of natural populations*. Integr. Comp. Biol. 45, 456–462.
- RHODES J. S., GAMMIE S. C., GARLAND T., JR., 2005. *Neurobiology of mice selected for high voluntary wheel-running activity*. Integr. Comp. Biol. 45, 438–455.
- RHODES J. S., KAWECKI T. J., 2009. *Behavior and neurobiology*. [W:] *Experimental evolution: concepts, methods, and applications of selection experiments*. GARLAND T., JR., ROSE M. R. (red.) University of California Press, Berkeley, California. 263–300.
- RICE W. R., SALT G. W., 1988. *Speciation via disruptive selection on habitat preference: experimental evidence*. Am. Nat. 131, 911–917.

- RICE W. R., SALT G. W., 1990. *The evolution of reproductive isolation as a correlated character under sympatric conditions: experimental evidence*. *Evolution* 44, 1140–1152.
- RICE W. R., HOSTERT E. E., 1993. *Laboratory experiments on speciation: what have we learned in 40 years?* *Evolution* 47, 1637–1653.
- ROSE M. R., PASSANANTI H. B., CHIPPINDALE A. K., PHELAN J. P., MATOS M., TEOTONIO H., MUELLER L. D., 2005. *The effects of evolution are local: Evidence from experimental evolution in Drosophila*. *Integr. Comp. Biol.* 45, 486–491.
- RUNDLE H. D., CHENOWETH S. F., DOUGHTY P., BLOWS M. W., 2005. *Divergent selection and the evolution of signal traits and mating preferences*. *PLoS Biol.* 3, e368.
- SADOWSKA E. T., BALIGA-KLIMCZYK K., CHRZAŚCIK K. M., KOTEJA P., 2008. *Laboratory model of adaptive radiation: a selection experiment in the bank vole*. *Physiol. Biochem. Zool.* 81, 627–640.
- SWALLOW J. G., CARTER P. A., GARLAND T., JR., 1998. *Artificial selection for increased wheel-running behavior in house mice*. *Behav. Genet.* 28, 227–237.
- SWALLOW J. G., KOTEJA P., CARTER P. A., GARLAND T., JR., 1999. *Artificial selection for increased wheel-running activity in house mice results in decreased body mass at maturity*. *J. Exp. Biol.* 202, 2513–2520.
- SWALLOW J. G., KOTEJA P., CARTER P. A., GARLAND T., JR., 2001. *Food consumption and body composition in mice selected for high wheel-running activity*. *J. Comp. Physiol. B* 171, 651–659.
- SWALLOW J. G., HAYES J. P., KOTEJA P., GARLAND T., JR., 2009. *Selection experiments and experimental evolution of performance and physiology*. [W:] *Experimental evolution: concepts, methods, and applications of selection experiments*. GARLAND T., JR., ROSE M. R. (red.) University of California Press, Berkeley, California. 301–351.