

WIELKOŚĆ GENOMÓW JĄDROWYCH  
I KOMÓREK U ZWIERZĄT:  
MECHANIZMY RÓŻNICOWANIA ORAZ KONSEKWENCJE  
FIZJOLOGICZNE I EKOLOGICZNE\*

NUCLEAR GENOME SIZE AND CELL SIZE IN ANIMALS:  
MECHANISMS OF DIFFERENTIATION, PHYSIOLOGICAL  
AND ECOLOGICAL CONSEQUENCES

Jan KOZŁOWSKI<sup>1</sup> i Józefa STYRNA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instytut Nauk o Środowisku oraz <sup>2</sup>Zakład Genetyki i Ewolucjonizmu Instytutu  
Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego

*Streszczenie:* Wielkość genomów jądrowych zwierząt różni się tysiące razy i zupełnie nie koreluje ze stopniem złożoności organizmów. Wynika to stąd, iż większość genomu stanowią niekodujące sekwencje powtarzalne. Krótko przypomniano najważniejsze typy i sposoby powstawania tych sekwencji. Przedstawiono hipotezy na temat powstawania tak dużego zróżnicowania ilości niekodującego DNA. Według obecnego stanu wiedzy istnieje łańcuch przyczynowo-skutkowy od ilości DNA poprzez wielkość jądra do wielkości komórek. Ponieważ rozmiary komórek silnie wpływają na tempo metabolizmu i rozwoju, ilość DNA i mechanizmy wpływające na jej zmiany znajdują się także pod silną presją selekcyjną. Zatem zróżnicowanie ilości DNA jest odzwierciedleniem zróżnicowania równowagi mutacyjno-selekcyjnej.

*Słowa kluczowe:* sekwencje powtarzalne, ewolucja wielkości genomu, tempo metabolizmu, tempo rozwoju.

*Summary:* Nuclear genome size differs thousands-fold in animals and does not correlate with their complexity. Such pattern results from domination of non-coding, most often repetitive sequences in genomes. Most common types of repetitive sequences and their origin are mentioned. Then, some hypotheses on the origin of so great variability in the amount of non-coding DNA are presented. According to the present state of knowledge, a cause-and-effect chain exists, from the amount of DNA, through nucleus volume, to cell size. Because cell size affects strongly the metabolic rate and developmental rate, the amount of DNA and mechanisms changing this amount must be also under strong selection pressure. Thus, the variability of DNA amount reflects the variability of mutation-selection balance among organisms.

*Key words:* repetitive sequences, genome size evolution, metabolic rate, developmental rate.

\*Praca była finansowana z subsydium profesorskiego FNP (JK), tematu DS/757/UJ(JK) i DS/IZ/775/UJ(JS).

*Publikację tę dedykujemy  
Śp. Profesorowi Henrykowi Szarskiemu  
jednemu z pionierów badań związków między  
ilością DNA, wielkością komórek i tempem metabolizmu.*

Wprawdzie Jego najśłynniejszy artykuł na ten temat publikowany był w 1970 r. w *Nature* [35], ale już w 1974 r. Profesor omówił obszernie te zagadnienia w pierwszym tomie *Postępów Biologii Komórki* [36].

## WSTĘP

Cała informacja genetyczna, zawarta w chromosomach jakiegoś gatunku lub w DNA mitochondrialnym czy chloroplastowym, nosi nazwę genomu. Badając skład DNA genomu jądrowego stwierdzono, że w chromosomach większości zwierząt można znaleźć zarówno odcinki unikatowe, jak i takie, które powtarzają się wielokrotnie. Struktura genomu organizmów zwierzęcych to mozaika sekwencji kodujących rozmieszczonych na przemian z niekodującymi, niepowtarzalnych na przemian z powtarzającymi się. Bakterie zawierają niewielką ilość (kilka procent) takich sekwencji, jednokomórkowe Eukaryota, takie jak drożdże, zajmują pozycję pośrednią, a wśród Protista i innych organizmów eukariotycznych jest pod tym względem ogromne zróżnicowanie.

Choć zsekwencjonowano dotychczas niewiele genomów, i to organizmów o niewielkiej ilości DNA, liczba funkcjonalnych genów zdaje się dobrze odzwierciedlać stopień złożoności, mierzonej choćby liczbą typów komórek. Inaczej wygląda sprawa z całkowitą ilością DNA. W 1971 roku Thomas [9] zauważył brak korelacji między wielkością genomu jądrowego, mierzoną w pikogramach (pg) lub w milionach par zasad (Mpz) a złożonością organizmów. Ponieważ ilość DNA w haploidalnej komórce nazwano *C-value*, zjawisko to zostało nazwane *C-value paradox* (paradoks wartości C). Rozwój genetyki wyjaśnił całkowicie ten paradoks poprzez stwierdzenie, że ogromna większość materiału genetycznego Eukaryota nie koduje informacji. Znikł więc paradoks wartości C, ale pozostała zagadka wartości C (*C-value enigma* [9]): dlaczego istnieją tak wielkie, nieskorelowane ze złożonością organizmów różnice w ilości niekodującego DNA? A różnice te są rzeczywiście ogromne. Genomy Protozoa pokrywają cały zakres zmienności wartości C u Eukaryota, od ułamka pg do kilkuset pg (z pominięciem ekstremalnej wartości znalezionej dla ameby, powodowanej zapewne silną poliploidyzacją lub błędem pomiarowym) [9]. Zmienność wśród roślin naczyniowych, zwłaszcza okrytozalążkowych jest też ogromna [24]. Metazoa mają zakres wielkości haploidalnego genomu od 0,03 pg u nicienia *Meloidogyne graminicola* do 130 pg u ryby dwudysznej *Protopterus aethiopicus*, ale niewiele ustępują jej płazy ogoniaste (od 10 do 120 pg) [12]. Co interesujące, płazy bezogonowe nie tylko mają mniejsze genomy (wartość C mniej więcej od 1 do 14 pg), ale zakres zmienności prawie nie zachodzi na zakres zmienności wielkości genomów płazów ogoniastych. Inne kręgowce mają genomy mniejsze, z wyjątkiem ryb chrzęstnoszkieletowych, u których zarówno minimalna (ok.

2,5 pg), jak i maksymalna (ok. 17 pg) wartość C jest znaczna [12]. Małe genomy mają ryby kostnoszkieletowe (C od 0,35 do 4,90), a także ptaki (C od 0,97 do 2,16) i ssaki (C od 1,73 do 8,40). Wśród pozostałych Metazoa zakres zmienności w obrębie poszczególnych grup jest spory. Najmniejszy zakres zmienności opisano dotychczas u nicieni, a stosunkowo duży u skorupiaków [12]. Jest charakterystyczne, że dla większości grup systematycznych średnia wielkość genomu jest stosunkowo niewielka, mamy więc do czynienia z mocno prawoskośnymi rozkładami. Jest to szczególnie widoczne w przypadku grup o dużej zmienności wielkości genomów [13].

Wyjaśnienie zagadki wielkości genomów musi obejmować trzy zagadnienia [10]:

- (i) mechanizm zmian ilości DNA (rozdz. 2),
- (ii) mechanizm związku między ilością DNA, wielkością jądra i wielkością komórki (rozdz. 3) i
- (iii) siły selekcyjne mogące prowadzić do wzrostu lub spadku ilości DNA, a więc konsekwencje wielkości genomów dla cech fizjologicznych i ewentualnie anatomicznych organizmów.

Terminologia związana z badaniami ilości DNA jest ciągle nieuporządkowana [16]. Na potrzeby tej pracy przyjęliśmy, że wartość C oznacza haploidalną ilość DNA (mierzoną w pg lub milionach par nukleotydów), natomiast wymiennie używamy terminów „ilość DNA” lub „wielkość genomu” tam, gdzie nie ma potrzeby określać tych wartości ilościowo. Natomiast termin „wielkość genomu” nie określa liczby funkcjonalnych genów.

## 2. MECHANIZMY PROWADZĄCE DO ZMIANY ILOŚCI DNA U ZWIERZĄT

Synteza nowych cząsteczek DNA odbywa się głównie w wyniku replikacji już istniejących, trzeba więc założyć, iż zwiększenie się zawartości materiału genetycznego zachodziło drogą wielokrotnego podwojenia się, czyli duplikacji sekwencji wyjściowych. Badania nad strukturą genów i kodowanych przez nie białek, a w szczególności rozwinięte w ostatnich latach metody sekwencjonowania czy klonowania DNA oraz metody analiz komputerowych, umożliwiające szybką ocenę podobieństwa między sekwencjami, dostarczają licznych danych świadczących o wspólnym pochodzeniu wielu genów lub ich fragmentów [1,6].

### 2.1. Mechanizmy zwiększania wielkości genomów: duplikacje genów i sekwencji niekodujących

W zwiększaniu ilości materiału genetycznego Eukaryota ważną rolę odgrywają duplikacje genów, zachodzące w wyniku poprzecznych pęknięć chromosomów i łączenia się powstałych fragmentów w odmiennym układzie. Zjawiska takie zachodzą zwykle spontanicznie, ale mogą się nasilać pod wpływem działania czynników mutagennych. Duplikacje mogą też zachodzić na skutek przemieszczania się transpozonów, czyli

ruchomych elementów DNA w chromosomach. Jednym z mechanizmów powstawania duplikacji jest niesymetryczny *crossing over*, spowodowany wzajemnym przesunięciem koniugujących chromosomów w czasie mejozy. Obecność jednej duplikacji sprzyja powstawaniu następnych, gdyż wskutek podwojenia identycznych odcinków w chromosomach zwiększają się szanse ich niesymetrycznej koniugacji. Jeżeli proces taki zajdzie wielokrotnie, powstaje szereg, tzw. tandem zduplikowanych genów. Zwielokrotnione odcinki DNA mogą pozostawać razem w chromosomach albo też w wyniku dalszych zmian rozproszyć się w różne miejsca genomu [19,22].

Duplikacja genów może przynosić pewne korzyści ewolucyjne. Na przykład, jeżeli istnieje duże zapotrzebowanie metaboliczne na produkty jakiegoś genu, to wcielenie do genomu wielu identycznych kopii tego genu umożliwia znacznie wydajniejszą syntezę kodowanych przez nie związków. Jeżeli zaś obecność jednego genu wystarcza w zupełności dla utrzymania ważnej życiowo funkcji, to jego druga kopia – jako dodatkowa i w zasadzie zbędna – zostaje wyzwolona spod rygorystycznej presji selekcyjnej i może poprzez mutacje przekształcić się w jakościowo nowy, nieistniejący poprzednio gen. Klasycznym przykładem takiego procesu są rodziny genów kodujących globiny. Np. w genomie ludzkim zakodowanych jest pięć różnych łańcuchów  $\beta$  globiny. Każdy z nich ulega ekspresji na innym etapie rozwoju, od zarodka po dojrzały organizm. Geny te ułożone są tandemowo na 11 chromosomie [19].

Proces duplikacji segmentów genomu obserwuje się także dość często w komórkach organizmów wyższych hodowanych przez kilka pokoleń w obecności związków toksycznych. Podczas barwienia chromosomów można w nich zaobserwować jednorodnie barwiące się fragmenty nieobserwowane wcześniej w komórkach wyjściowych. Struktury te zawierają dużą liczbę kopii segmentów DNA o długości 1 Mb lub dłuższych, w których obrębie znajduje się zazwyczaj gen, którego produkt umożliwia zneutralizowanie efektu czynnika toksycznego wprowadzonego do medium. Te struktury zwane są amplikonami. Amplifikacja zachodzi przez wielokrotną replikację w jednym lub kilku sąsiednich replikonach podczas jednego cyklu komórkowego lub przez niesymetryczny *crossing over*. Zjawisko to obserwuje się często w komórkach nowotworowych, ale można przypuszczać, że podobny proces mógł towarzyszyć powstawaniu w chromosomach regionów zawierających dużą liczbę kopii genów kodujących rRNA czy histony. Należy zaznaczyć, że duplikacje różnych segmentów chromosomów u ludzi mogą być przyczyną chorób, ponieważ takiej duplikacji może towarzyszyć wzrost ekspresji genów położonych w zduplikowanych obszarach.

Do grupy wielokrotnie powtarzających się w genomie odcinków DNA należą, oprócz funkcjonalnych genów, także liczne sekwencje niekodujące, występujące w setkach czy tysiącach kopii. Spośród wielu klas niekodujących sekwencji powtarzających się do najważniejszych należą tandemowe sekwencje satelitarne. Występują one praktycznie u wszystkich organizmów wyższych, stanowiąc niekiedy nawet do połowy DNA chromosomowego. DNA satelitarny występuje głównie w okolicy centromerów, gdzie zajmuje setki tysięcy par zasad, a składa się z rodzin obejmujących tysiące krótkich sekwencji po około 10 pz. DNA satelitarny występuje także w rejonach telomerowych chromosomów [19]. Przez pewien czas istniały wątpliwości co do tego, czy pełni on jakąś funkcję. Obecnie uważa się, że jego rolą jest tworzenie heterochromatyny, a

więc regionów, w których włókno chromatynowe jest silnie skondensowane i które są niezbędne dla poprawnego funkcjonowania chromosomów [23].

Oddzielną klasę sekwencji powtarzających się stanowią minisatelity i mikrosatelity. Są to regiony wykazujące bardzo dużą zmienność, a zmienna liczba tych odcinków może wynikać z błędów (poślizgu) polimerazy w czasie replikacji DNA. Sekwencje minisatelitarne ułożone są w odcinki o długości kilkuset par zasad do ponad 20 kpz i składają się z tandemowo ułożonych sekwencji 9–80 pz. Mikrosatelitami nazywamy powtarzające się odcinki sekwencji o długości jednostki powtarzalności od jednego do kilku nukleotydów i o liczbie powtórzeń, która nie przekracza na ogół kilkudziesięciu nukleotydów.

W genomie zwierzęcym może znajdować się także pewna liczba tzw. pseudogenów, a więc sekwencji nukleotydowych przypominających geny, lecz transkrypcyjnie nieaktywnych. Wyróżnia się dwa rodzaje pseudogenów. Pierwszy z nich powstaje w wyniku duplikacji odcinka DNA w procesie np. niesymetrycznego *crossing over*. W takiej kopii zdublikowanego genu, poprzez mutacje, może dojść do wygaszenia jego ekspresji. Taki pseudogen zachowuje zwykle strukturę genu, od którego pochodzi. Drugi rodzaj pseudogenów powstaje w wyniku integracji do chromosomu segmentu DNA utworzonego przez retrotranskrypcję cząsteczki RNA z udziałem odwrotnej transkryptazy. Takie pseudogeny nie mają intronów ani promotora, natomiast towarzyszy im sekwencja poli A na końcu 3'. Niektóre segmenty DNA generują w ten sposób ogromną liczbę kopii.

W genomach zwierzęcych znajdują się także rozproszone ruchome elementy DNA, z grupy retrotranspozonów. Są to sekwencje przepisywane przy pomocy rewertyazy (odwrotnej transkryptazy) z RNA na DNA, a następnie włączane do chromosomów powiększając zawartość DNA w komórce. Wyróżniamy dwa rodzaje tych sekwencji LINES i SINES. Sekwencje typu LINES (*long interspersed repetitive elements*) mają długość 1–5 kpz i powtarzają się 20–40 000 razy [19]. Duży procent genomu stanowią sekwencje typu SINES (*short interspersed repetitive elements*), do których należą np. sekwencje Alu występujące u człowieka. Sekwencja Alu ma długość około 300 pz i występuje w około 500 000 kopii obejmujących ponad 5% genomu [19].

## 2.2. Nadliczbowe chromosomy

Ilość DNA w komórce mogą zwiększać nadliczbowe chromosomy, czyli chromosomy typu B. Charakteryzuje je duża zmienność kształtu, wielkości i liczby. Występują u niektórych osobników w populacji. Po raz pierwszy opisano je u *Hemiptera* w 1907 r. Dziedziczenie tych chromosomów różni się od dziedziczenia chromosomów z zestawu podstawowego. W komórkach poszczególnych tkanek danego osobnika liczba tych chromosomów jest zwykle jednakowa, wyjątek stanowią tu komórki linii płciowej, gdzie liczba chromosomów B może ulegać zmianom. W większości przypadków chromosomy B nie zawierają genów wpływających na fenotyp osobnika. Wpływać jednak mogą na cechy ilościowe, takie jak żywotność czy płodność nosicieli. W literaturze spotkać można różne teorie dotyczące mechanizmów powstawania tych chromosomów. Sugeruje się, że w wyniku błędnych podziałów komórkowych mogły najpierw powstawać trisomiki, mogło dochodzić także do translokacji czy fuzji materiału genetycznego, co

prowadziło do powstania w komórce dodatkowych pojedynczych elementów. Elementy te początkowo wykazywały sekwencje homologiczne do autosomów, z których pochodziły. Następnie część DNA nabierała własności heterochromatyny i traciła homologię z autosomami. Chromosomy B opisano u roślin i u wielu gatunków zwierząt. Występują u wielu owadów, np. u szarańczy (*Locusta migratoria*), u błonkówki (*Nasonia vitripennis*), ale także u ssaków należących do ponad 50 gatunków, przy czym największą grupę stanowią tu gryzonie. Chromosomy B znaleziono np. u jenoty (*Nyctereutes procyonoides*), u lisa pospolitego (*Vulpes vulpes*) czy u azjatyckiej myszy drzewnej (*Apodemus peninsulae*) [38].

### 2.3. Mechanizmy zwiększania wielkości genomów: duplikacje genomów

Najbardziej radykalny mechanizm zwiększania się ilości materiału genetycznego stanowi poliploidyzacja, czyli zwielokrotnienie podstawowej liczby chromosomów następujące w wyniku zahamowania cytokinezy w trakcie tworzenia komórek rozrodczych. Jeżeli proces taki odbywa się w obrębie jednego gatunku, powstają autoploidy o zwielokrotnionych identycznych genomach, natomiast w wyniku skrzyżowania dwu spokrewnionych gatunków mogą się tworzyć allopoliploidy zawierające sumy chromosomów obu gatunków wyjściowych. Zwielokrotnienie genomów jest zjawiskiem częstym u roślin, zwłaszcza wyższych, będących organizmami obupłciowymi. Szacuje się, że poliploidy stanowią około połowę lub nawet znacznie więcej roślin kwiatowych [24]. U zwierząt poliploidyzację spotyka się znacznie rzadziej, przypuszczalnie m.in. dlatego że może naruszać mechanizmy chromosomowej determinacji płci i prowadzić do powstania bezpłodnych interseksów. Jednak i wśród zwierząt zgromadzono już wiele przykładów poliploidalności, głównie w tych grupach, w których nie wyodrębniły się zróżnicowane chromosomy płci. Dotyczy to także kręgowców, zwłaszcza ryb i płazów.

### 2.4. Mechanizmy zmniejszania wielkości genomów

Duże różnice w zawartości DNA znalezione pomiędzy poszczególnymi Eukaryota mogą powstawać, jak opisano powyżej, wskutek duplikacji fragmentów chromosomów, poliploidii, utrwalania nadliczbowych chromosomów czy ekspansji satelitarnego DNA i transpozonów. W toku ewolucji obserwuje się jednak nie tylko zwiększanie ilości materiału genetycznego, ale także jego ubytek. Ważną rolę odgrywają tu wspomniane już wcześniej ruchome elementy DNA, czyli transpozony. Między dwoma transpozonomi mającymi tę samą sekwencję nukleotydową może dojść do *crossing over*. Jeżeli uprzednio zostały one wbudowane w chromosom w tej samej orientacji, to rekombinacja między nimi prowadzi do wycinania, czyli do delecji położonych między nimi odcinków. Jeżeli zaś oba transpozony zostały wbudowane w cząsteczkę DNA w orientacji przeciwnej, to w wyniku zachodzącej między nimi rekombinacji dochodzi do inwersji położonego między nimi odcinka [19].

Charakterystyczna korelacja zachodzi pomiędzy spontanicznymi delecjami i insercjami a wielkością genomów. Na przykład u *Drosophila*, która ma stosunkowo

mały genom, utrata DNA zachodzi szybciej w toku ewolucji niż u ssaków, które mają znacznie większe genomy. Badano także średnią wielkość delecji u niektórych gatunków świerszczy (*Laupala*), których genom jest średnio 11 razy większy niż genom *Drosophila*. Stwierdzono, iż delecje są tu przeciętnie 4 razy mniejsze niż u *Drosophila* [29].

### 3. ZWIĄZEK MIĘDZY WIELKOŚCIĄ GENOMU I WIELKOŚCIĄ KOMÓREK

Ogromne zróżnicowanie wielkości genomów (ilości DNA) u Eukaryota przekłada się na podobne zróżnicowanie wielkości komórek [5]. Mechanizm tego zjawiska nie jest do końca jasny. Wielkość jąder komórkowych jest silnie skorelowana z ilością DNA, choć na wielkość jądra wpływa dodatkowo stopień upakowania chromatyny, różny nie tylko u różnych grup organizmów, ale zależny także od typu komórki i jej stanu fizjologicznego [5]. Z kolei istnieje silna korelacja pomiędzy objętością jądra i objętością komórki, przy czym wydaje się, że zależność ta jest silniejsza niż bezpośrednia korelacja ilość DNA – wielkość komórki [9]. Historycznie ta właśnie korelacja została najwcześniej zauważona, bo jeszcze w XIX wieku [13]. Jednak już w połowie XX wieku Mirsky i Ris [5,13] zauważyli, że ilość DNA koreluje z masą jądrzastych erytrocytów. Statystyczny związek między ilością DNA i wielkością komórek został następnie potwierdzony u roślin, zwierząt i pierwotniaków. Istnienie statystycznie istotnego związku nie przesądza ani o mechanizmie, ani nawet o łańcuchu przyczynowo-skutkowym. Do dziś występują w tej materii kontrowersje omówione w rozdziale 6.

### 4. SKUTKI ZRÓŻNICOWANIA WIELKOŚCI KOMÓREK: TEMPO METABOLIZMU I TEMPO ROZWOJU

Wyobraźmy sobie dwa blisko spokrewnione gatunki zwierząt, o identycznych rozmiarach. Niech gatunek A będzie zbudowany ze stosunkowo małej liczby dużych komórek, a gatunek B ze stosunkowo dużej liczby małych komórek. Można iść o zakład, że gatunek B będzie miał wyższe tempo metabolizmu podstawowego. Wynika to z faktu, że duża część energii jest zużywana na utrzymywanie gradientów stężeń między wnętrzem każdej komórki i jej otoczeniem, co jest tym kosztowniejsze, im większy jest stosunek powierzchni do objętości, co ma miejsce przy małych komórkach [37]. Bardzo ważne jest tu założenie, że porównanie odnosi się do gatunków blisko spokrewnionych, gdyż dodatkowym czynnikiem, który mógłby różnicować gatunki bardziej ewolucyjnie odległe, jest przepuszczalność błon komórkowych. Przepuszczalność błon komórkowych jest prawdopodobnie skorelowana z przepuszczalnością błon mitochondrialnych, a utrzymanie gradientu protonów w mitochondriach należy do najbardziej kosztownych

procesów w komórce [30]. Tak więc o tempie metabolizmu w przeliczeniu na jednostkę masy ciała, gdyby go mierzyć na poziomie komórkowym, decydują rozmiary komórek i przepuszczalność błon. Zarówno małe rozmiary komórek, jak i dobrze przepuszczalne błony umożliwiają wydajny transport substratów (substancji odżywczych i tlenu) i metabolitów, ale są związane z wysokimi kosztami utrzymania. Jest to idealna strategia w sytuacji dobrego zaopatrzenia, ale fatalna w czasach niedostatku. Z kolei posiadanie dużych komórek i (lub) słabo przepuszczalnych błon uniemożliwia pełne zagospodarowanie bogatych źródeł energii, ale pozwala lepiej przeżyć czasy niedostatku. Szarski [37] zaproponował, by nazwać pierwszą strategię rozrzućną (*wasteful*), a drugą oszczędną (*frugal*). Rozpatrywał on jednak tylko skutki różnic w wielkości komórek. Wydaje się, że warto w tej klasyfikacji uwzględnić także kryterium przepuszczalności błon.

Łatwo sobie wyobrazić warunki środowiskowe preferujące strategię rozrzućną lub oszczędną. Jeśli w środowisku jest wiele pokarmu, a tlenu też nie brakuje, strategia rozrzućna będzie prowadziła do wyższego dostosowania, zwłaszcza, jeśli doda się omówione dalej wyższe tempo rozwoju organizmów o małych komórkach. Jeśli pokarmu jest permanentnie mało, zdarzają się dłuższe okresy niedostatku, albo zdarzają się często braki tlenu, strategia oszczędna będzie dawać wyższe dostosowanie. W rzeczywistości spodziewamy się kontinuum możliwych strategii. Można jeszcze dodać jedną strategię, polegającą na przełączaniu się ze strategii rozrzućnej na oszczędną w ciągu życia, oczywiście nie poprzez zmianę wielkości komórek, lecz zmianę przepuszczalności błon. Wydaje się jednak, że kręgowce (a nimi przede wszystkim w tym artykule się zajmujemy) mają w tej materii dość ograniczone możliwości, w przeciwieństwie do wielu bezkręgowców, takich jak owady czy pająki, które potrafią wykazywać bardzo wysoki metabolizm, a w sytuacji braku pokarmu radykalnie metabolizm obniżają, dzięki czemu mogą żyć bardzo długo nawet bez pokarmu.

Istnieją bardzo przekonujące dowody związku ilości DNA lub wielkości komórek z tempem metabolizmu. Goniakowska [7] badała *in vitro*, przy zastosowaniu bardzo precyzyjnej metody nurka kartezyjańskiego, tempo oddychania tlenowego erytrocytów u dziewięciu gatunków płazów ogoniastych i bezogonowych. Objętość erytrocytów zmieniała się w zakresie od 1300 do 7800  $\mu\text{m}^3$ , a tempo oddychania w przeliczeniu na jednostkę masy erytrocytu malało z objętością erytrocytu niemal idealnie liniowo na skalach logarytmicznych, przy czym zależność ta wyjaśniała ponad 96% zmienności międzygatunkowej tempa respiracji (obliczenia własne na podstawie danych z pracy Goniakowskiej [7]). Po dodaniu substancji zmniejszającej przepuszczalność błon komórkowych dla jonów sodu i potasu tempo respiracji malało o 47% u żaby mającej małe erytrocyty i o 27% u traszki o dużych erytrocytach [8]. Wprawdzie zakres zmienności wielkości genomu u organizmów stałocieplnych jest znacznie mniejszy niż u zmiennocieplnych (stosunek największej do najmniejszej ilości DNA wynosi około cztery w przypadku ssaków i dwa w przypadku ptaków [9]), ale i tu można stwierdzić związek między tempem metabolizmu i wielkością komórek, mierzoną pośrednio jako ilość DNA. Vinogradov [39] stwierdził, po statystycznym wyeliminowaniu rozmiarów ciała, bardzo silną ujemną zależność tempa metabolizmu podstawowego, w przeliczeniu na gram masy ciała, od ilości DNA. Po wyeliminowaniu wpływu rozmiarów ciała

tempo metabolizmu podstawowego na jednostkę masy ciała maleje wraz z ilością DNA [11,40] i bezpośrednio z wielkością erytrocytów [11] również u ptaków.

Negatywny związek między tempem rozwoju i wielkością komórek lub ilością DNA znaleziono w wielu badaniach, choć nie jest to zjawisko uniwersalne [10]. Negatywne przykłady niekoniecznie świadczą o braku takiego związku, a mogą wynikać z trudności metodycznych zarówno przy definiowaniu, jak i mierzeniu tempa rozwoju, które nie jest w dodatku jednoznaczne z tempem wzrostu, a także z nieuwzględniania w dostatecznym stopniu dodatkowych czynników, takich jak temperatura czy stopień rozwoju w momencie zakończenia pomiarów. Najprawdopodobniej właśnie ten ostatni czynnik jest odpowiedzialny za to, że u organizmów stałocieplnych nie udało się jednoznacznie wykazać związku między wielkością genomu i tempem rozwoju [10]. Natomiast wykonane na płazach badania zdają się potwierdzać ujemną korelację między tempem rozwoju i ilością DNA (w pracy ref. [10] zestawiono nie tylko pozytywne wyniki, ale także wyjątki). Istnieje też silny związek między tempem rozwoju i ilością DNA u owadów [13]. Tempo mitotycznych podziałów komórek zależy silnie od ilości DNA [9], nie więc dziwnego, że embriogeneza przebiega szybciej przy małych genomach, a zatem i z reguły przy małych komórkach. Musimy jedynie pamiętać, że ilość materiałów zapasowych wpływa bezpośrednio na wielkość komórek jajowych, ale wpływ pośredni na tempo rozwoju zależeć będzie od typu embriogenezy; nie należy zatem opierać się we wnioskowaniach na mechanicznych porównaniach, zwłaszcza dla szerokich grup systematycznych różniących się typem embriogenezy. Dalsze etapy rozwoju, polegające w dużej mierze na procesach wzrostowych, są zależne od ilości dostarczanych zasobów, możliwości ich metabolizowania i sposobu lokowania we wzrost, bieżące koszty utrzymania, naprawę DNA, naprawę czy wymianę innych elementów komórek i wreszcie wymianę uszkodzonych komórek. Optymalna alokacja zasobów zależy nie tylko od właściwości fizjologicznych organizmu, ale także od tempa śmiertelności, gdyż przy niskiej śmiertelności wszelkie inwestycje w somę są bardziej opłacalne [20]. Można zatem popełnić ogromne błędy porównując na przykład gniazdowniki, zdolne do przeznaczania ogromnej części dostarczanych zasobów we wzrost i zagniazdowniki, które zużywają większość zasobów na koszty lokomocji i wyższy w związku z aktywnym trybem życia metabolizm podstawowy. Wydaje się, że przedstawiona wcześniej koncepcja kontinuum od oszczędnego do rozrzutnego stylu życia ma tu w pełni zastosowanie i przy dobrze przeprowadzonych badaniach znalezienie związku między ilością DNA (wielkością komórek) i tempem rozwoju będzie bardzo prawdopodobne dla wszystkich grup organizmów. Zależności takie są dobrze udokumentowane u roślin [13]. Co interesujące, wśród roślin jednorocznych, a więc wymagających szybkiego rozwoju, brak jest przedstawicieli o dużych genomach. Podobnie owady o pełnym przeobrażeniu, a więc przechodzące najpierw embriogenezę, a potem budowę wszystkich narządów i tkanek niemal od nowa, mają genomy mniejsze niż przeciętnie wśród owadów [13]. Płazy bezogonowe, których larwy zamieszkują zbiorniki efemeryczne, mają małe genomy [13].

## 5. ILOŚĆ DNA I WIELKOŚĆ KOMÓREK A MASA CIAŁA

Jest podręcznikowym uogólnieniem, iż ilość DNA i masa ciała nie są ze sobą związane. Rzeczywiście, jeśli rozpatrujemy problem na przykład w skali gromady płazów, trudno dopatrzeć się takiego związku: niektóre miniaturowe amerykańskie salamandry mają wielkie genomy, a stosunkowo duże żaby i ropuchy – genomy małe. Inaczej sprawa może wyglądać, jeśli przyjrzymy się węższym grupom systematycznym. Przede wszystkim musimy pamiętać, że zmiana rozmiarów ciała w linii filogenetycznej może następować przez zmianę albo liczby komórek, albo wielkości komórek. Najczęściej zmianom rozmiarów ciała towarzyszą zarówno zmiany liczby, jak i wielkości komórek, różny jest natomiast ich udział. Tylko przy dużym udziale zmian wielkości komórek możemy spodziewać się statystycznego związku między ilością DNA i masą ciała. Niekiedy udaje się ustalić udział wielkości komórek w kształtowaniu rozmiarów ciała. W przypadku gekkonów z rodziny *Eublepharidae* udział ten jest rzędu 15–20% [34]. Można się spodziewać, że korelacja rozmiarów ciała z ilością DNA byłaby też istotna. Istnieje też bardzo silna korelacja między ilością DNA i objętością ciała u wirków i widłonogów [15].

Dobór sztuczny prowadzony w kierunku zwiększenia lub zmniejszenia rozmiarów odwłoka w populacjach laboratoryjnych *Drosophila subobscura* pokazuje również rolę zmian zarówno liczby, jak i rozmiarów komórek [27]. Masa ciała zmieniła się po około 100 pokoleniach o 10–27%, w zależności od płci i kierunku selekcji, a powierzchnia skrzydła aż o 34–50%. W przypadku powierzchni skrzydeł możliwe było oszacowanie udziału zmiany wielkości i liczby komórek. Co interesujące, w linii selekcyonowanej na większe rozmiary prawie cały wzrost nastąpił poprzez zwiększenie liczby komórek, natomiast w linii selekcyonowanej na małe rozmiary poprzez zmniejszenie wielkości komórek. Byłoby niezmiernie istotne stwierdzenie, czy skarleniu komórek towarzyszyło zmniejszenie ilości niekodującego DNA, czy też występowały jedynie zmiany w genach kierujących cyklem komórkowym. To drugie rozwiązanie jest możliwe, na co wskazuje przykład radykalnego zmniejszenia rozmiarów ciała *Drosophila* poprzez zmniejszenie wielkości komórek, spowodowane jedną mutacją *dS6K* biorącego udział w regulacji cyklu komórkowego [24]. To, że dobór na małe rozmiary działa przede wszystkim poprzez zmniejszenie wielkości komórek, nie powinno być zaskoczeniem. Znane są wprawdzie przypadki miniaturyzacji poprzez zmniejszenie liczby komórek, na przykład u salamander, szczególnie z rodziny *Bolitoglossini*, ale miniaturyzacja taka prowadzi do uproszczenia morfologicznego nawet tak ważnych struktur jak mózg [31]. Oczywiście kompensacją jest uzyskanie skrajnie oszczędnego stylu życia, wymagającego niewielkiej ilości pokarmu i to dostarczanego w nierównomiernym tempie.

Współczynniki nachylenia regresji logarytmów ilości DNA od logarytmów masy ciała wykazują statystycznie istotną heterogenność na poziomie rzędów zarówno u ptaków, jak i ssaków [21]. Wskazuje to na różny w poszczególnych rzędach tych dwóch gromad udział zmian liczby komórek i wielkości komórek w kształtowaniu masy ciała. W kilku rzędach ptaków i ssaków zależność jest ujemna, czyli ilość DNA maleje z masą ciała, jednak tylko w przypadku nietoperzy taka negatywna zależność jest istotna

statystycznie. Podobną heterogenność na poziomie rzędów wykazują współczynniki nachylenia zależności logarytmów tempa metabolizmu podstawowego od logarytmów masy ciała [21]. W dodatku zarówno u ptaków, jak i ssaków współczynniki kątowe regresji ilości DNA i regresji tempa metabolizmu od masy ciała wykazują istotną statystycznie ujemną korelację [21]. Wskazuje to po pierwsze na rolę ilości DNA, zapewne poprzez jego wpływ na wielkość komórek, w kształtowaniu tempa metabolizmu. Po drugie, heterogenność nachyleń obu regresji przy równoczesnej ujemnej korelacji współczynników nachyleń jest argumentem za zróżnicowanym pomiędzy rzędami udziałem zmian wielkości komórek i ich liczby w kształtowaniu masy ciała. Ponieważ, przynajmniej teoretycznie, różnice masy ciała mogą być uzależnione od różnic w rozmiarach komórek w przedziale od 0 do 100%, powinno się to przekładać na zakres możliwych nachyleń regresji tempa metabolizmu od masy ciała w przedziale od 0,67, gdyby masa ciała różnicowała się międzygatunkowo wyłącznie poprzez powiększanie komórek, do 1,0, gdyby masa ciała różnicowała się wyłącznie poprzez zmiany liczby komórek. Ponieważ oba te procesy występują łącznie, współczynniki nachylenia regresji metabolizmu podstawowego przyjmują wartości pośrednie, najczęściej w przedziale 0,6–0,8 [21]. Tak więc badania ilości niekodującego DNA mogą przyczynić się do rozwiązania starego i wciąż nierozwiązanego zadowalająco problemu skalowania tempa metabolizmu zgodnie z równaniem: tempo metabolizmu =  $a$  masa <sup>$b$</sup> , gdzie współczynnikowi  $b$  przypisuje się najczęściej wartość bądź 0,67, bądź 0,75, pomimo dobrze udokumentowanej jego heterogenności [21].

## 6. MECHANIZM ZWIĄZKU MIĘDZY WIELKOŚCIĄ GENOMU I ROZMIARAMI KOMÓREK

Skoro wielkość komórek zależy, choćby tylko pośrednio, od ilości DNA w jądrze, a jak pokazano w poprzednim rozdziale, ich wielkość ma ogromny wpływ na tak ważne dla cyklu życiowego cechy jak tempo metabolizmu i tempo rozwoju, wielkość genomu musi znajdować się pod silną presją selekcyjną. Należy zdecydowanie odrzucić pojęcia, takie jak „DNA śmieciowy” czy „złomowy” („*junk DNA*”). Niestety przesadna fascynacja zapisem informacji genetycznej w ostatnich dekadach, przy równoczesnym osłabieniu całościowego spojrzenia na funkcjonowanie organizmów żywych, przyczyniła się do utrwalenia przekonania, że zróżnicowanie wielkości genomów jest czysto mechanicznym skutkiem właściwości DNA, prowadzących do powstawania opisanych w rozdz. 2 sekwencji powtarzalnych. To prawda, że zwiększanie się genomów wynika z natury DNA, ale istnieją przecież także mechanizmy usuwania niepotrzebnego DNA (rozdz. 2). Co więcej, w wielu liniach ewolucyjnych genomy zostały konsekwentnie wyczyszczone ze znacznej części niekodującego DNA; jako przykład mogą służyć płazy bezogonowe [35] lub ryby kostnoszkieletowe [17].

Zwolennicy poglądu, że ilość DNA wynika jedynie z samolubnego charakteru DNA i nie wywiera wpływu na właściwości organizmów, musieli jakoś wyjaśnić statystyczny związek między wielkością genomu i wielkością komórek. Ich wyjaśnienie zakłada, że

u gatunków o małych komórkach dobór naturalny działał silniej na wyczyszczanie genomu z niepotrzebnych elementów niż u gatunków o dużych komórkach. Wynika to stąd, że przy szybkich podziałach charakteryzujących małe komórki duży nadmiar DNA byłby zbyt wielkim balastem i konieczność powielania tego niepotrzebnego DNA opóźniałaby procesy podziałowe, a zatem także tempo rozwoju. Zatem małe rozmiary komórek byłyby przyczyną, a mała ilość zawartego w nich DNA jedynie skutkiem [26]. Poglądy te łatwo jest sfalsyfikować, jeśli wielkość komórek zmieniałaby się natychmiast wraz ze zmianami ilości DNA. A tak jest w istocie. Sztucznie wyprodukowane triploidy łososia mają większe komórki [2,33], podobnie jak naturalne triploidy ryby kozy *Cobitis taenia* [4] lub triploidy wynikłe z krzyżowania diploidalnych żab *Hyla chrysoscelis* z tetraploidalnymi *Hyla versicolor* [18]. U rzadko pojawiających się chimer  $1n/3n$  żaby *Rana esculenta* występują równocześnie duże i małe erytrocyty [3]. U drożdży, mogących występować albo w formie diploidalnej, albo haploidalnej, haploidy mają zaledwie 58% objętości diploidów [32]. Obecność większej liczby chromosomów B także skutkuje większymi rozmiarami komórek [9]. Jest to bardzo ważne, gdyż trudno sobie wyobrazić, by geny odpowiedzialne bezpośrednio za rozmiary komórek miały swe kopie akurat w tych chromosomach. Wreszcie endopoliploidyzacja [14] lub dyminucja chromatyny [41] przekładają się natychmiast na wielkość komórek w obrębie tego samego organizmu.

Od wielu lat Cavalier-Smith [5] forsuje inny scenariusz zależności między ilością DNA, wielkością jąder komórkowych i wielkością komórek. Rozmiary komórek są zależne od genów regulujących przebieg cyklu komórkowego, zatem są całkowicie niezależne od samej ilości DNA, która wpływa jednak bezpośrednio na rozmiary jądra. Ponieważ istnieje optymalny stosunek wielkości jądra do wielkości cytoplazmy, w przypadku zmiany genetycznej zwiększającej lub zmniejszającej rozmiary komórki pojawia się nacisk doboru na odpowiednie zwiększanie lub zmniejszanie ilości DNA, tak aby przywrócić optymalny stosunek jądrowo-cytoplazmatyczny. Oczywiście przywrócenie tego stosunku możliwe byłoby także poprzez zmiany w genach prowadzące odpowiednio do luźniejszego lub ciaśniejszego upakowania chromatyny, ale zmiany takie są dużo mniej prawdopodobne niż niespecyficzne zmiany w niekodujących sekwencjach prowadzące do zwiększania lub zmniejszenia ilości DNA. Tak więc według scenariusza Cavalier-Smitha zmiany rozmiarów komórek są pierwotne, a zmiany ilości DNA reprezentują jedynie wtórne procesy odtwarzające optymalny stosunek jądrowo-cytoplazmatyczny. Ponieważ dobór w kierunku zwiększania się lub zmniejszania rozmiarów komórek nie musi mieć charakteru skokowego, lecz może reprezentować dłuższą tendencję w toku ewolucji danego gatunku, nadążająca za tymi zmianami alteracja ilości DNA będzie miała także mniej czy bardziej ciągły charakter. Cavalier-Smith pisze więc o koewolucji wielkości komórek i wielkości jąder (poprzez ewolucję ilości DNA). Choć wiele argumentów przytaczanych przez tego autora wydaje się przekonujące, zwłaszcza wiedza o genetycznych uwarunkowaniach cyklu komórkowego, pozostaje do wyjaśnienia zjawisko natychmiastowego reagowania rozmiarów komórek na zmiany ilości DNA. Koncepcja Cavalier-Smitha w swej oryginalnej postaci wydaje się tu bezsilna. Nie można jednak wykluczyć, że optymalność stosunku jądrowo-

cytoplazmatycznego ma tak kluczowe znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania komórki, że program genetyczny cyklu komórkowego obejmuje również natychmiastowe dopasowanie wielkości komórki do każdej zmiany ilości DNA. Gdyby posiadanie nieoptymalnych rozmiarów komórek było zdecydowanie „mniejszym złem” niż posiadanie nieoptymalnego stosunku jądrowo-cytoplazmatycznego, to wbudowanie takiego mechanizmu jest prawdopodobne. Stan nieoptymalności wielkości komórek byłby tylko przejściowy, gdyż powolny proces równoczesnego zmniejszania małymi krokami komórek i zmniejszania ilości DNA lub równoczesnego zwiększania komórek i ilości DNA dopasowywałby wielkość komórek do optymalnych rozmiarów bez fazy zachwianej równowagi jądrowo-cytoplazmatycznej.

Najstarszą próbą wyjaśnienia związku pomiędzy ilością DNA, wielkością jąder i rozmiarami komórek jest koncepcja nukleotypu, wprowadzona przez Commonera w 1964 r. i rozwijana dalej przez Bennetta [ref. 9, 25]. Według tej koncepcji ilość DNA miałaby bezpośrednio lub pośrednio poprzez wielkość jądra wpływać na rozmiary komórki. Mechanizm polegałby na niewyjaśnionym zadowalająco wpływie na długość cyklu komórkowego, oczywiście we współdziałaniu z genami bezpośrednio ten cykl regulującymi. Ponieważ wielkość komórek ma bardzo istotny wpływ na fenotyp (rozdz. 3 i 4), dobór działałby bezpośrednio na ilość DNA, a pośrednio na wielkość komórki. Wydaje się, że z tą koncepcją najbardziej sympatyzuje Gregory [9], choć stara się obiektywnie przedstawić pozostałe koncepcje. Jednak mechanizm oddziaływania ilości DNA na długość cyklu komórkowego przedstawiony przez tego autora jest wysoce hipotetyczny i nie przeszedł, przynajmniej na razie, weryfikacji empirycznej. Koncepcja nukleotypu, i z dotychczasowo proponowanych tylko ona, pozwala łatwo wyjaśnić natychmiastową reakcję rozmiarów komórek na zmiany ilości DNA. Jednak proponowana przez nas modyfikacja modelu Cavalier-Smitha radzi sobie także z tym zagadnieniem. Jedynie model zakładający czysto śmieciowy charakter niekodującego DNA, a więc nieoddziałujący na fenotyp poza niewielkim kosztem związanym z koniecznością duplikacji dużej ilości DNA, wydaje się zupełnie nieprzydatny do wyjaśniania takich natychmiastowych zmian.

## 7. WNIOSKI

Powyżej przedstawiliśmy dwa zasadniczo różne podejścia do wyjaśniania ogromnej zmienności w ilości niekodującego DNA wśród zwierząt. W pierwszym podejściu zasadniczą rolę w kształtowaniu tej zmienności przypisuje się właściwościom DNA. W drugim podejściu zakłada się istotny wpływ samej ilości DNA na fenotypy organizmów, przede wszystkim tempo metabolizmu i tempo rozwoju. W rzeczywistości przeciwstawianie tych mechanizmów nie jest metodologicznie poprawne. Opisane w rozdz. 2 mechanizmy zwiększania lub zmniejszania ilości niekodującego DNA stanowią nacisk mutacyjny [28]. Należy się spodziewać zróżnicowania między taksonami częstości delecji i insercji, a one przecież u zwierząt, w przeciwieństwie do roślin [25], stanowią

najistotniejszy mechanizm zmian ilości DNA. Także przeciętna wielkość delecji i insercji różni się między taksonami. Zatem różny będzie też wynik netto, a więc presja mutacyjna na zmiany wielkości genomu, podobnie jak różna bywa presja mutacyjna w przypadku mutacji punktowych. Jednak zarówno dla sekwencji kodujących, jak i zmian ilości DNA presja mutacyjna nigdy nie działa samodzielnie, lecz zawsze w połączeniu z doбором lub dryfem genetycznym. Tak jak częstości alleli są wynikiem równowagi mutacyjno-selekcyjnej, w małych populacjach dodatkowo modyfikowanym dryfem, tak i ilość niekodującego DNA musi być wynikiem równowagi tych procesów [28]. Mutacje szkodliwe są tym częstsze, im silniejsza jest presja mutacyjna i słabszy dobór. Podobnie ilość niekodującego DNA będzie tym większa, im silniejsza jest presja netto w kierunku zwiększania genomów i im słabszy jest dobór przeciwko nadmiarowi DNA. Dopóki uważano, że szkodliwy wpływ nadmiaru DNA polega jedynie na kosztach powielania DNA i związanego z tym spowolnienia podziałów komórkowych, rola presji mutacyjnej wydawała się dominująca. Jednak związek ilości DNA z wielkością komórek, a poprzez ten parametr z wieloma bardzo istotnymi cechami fenotypu (rozdz. 4) powoduje, iż równowaga mutacyjno-selekcyjna może być przesunięta, i to w kierunku zarówno mniejszej, jak i większej ilości DNA niż wynikałoby to jedynie z równowagi między pojawianiem się delecji i insercji. Mechanizm może być tu dwojaki: same mechanizmy genetyczne wpływające na częstość i wielkość delecji i insercji mogą być kontrolowane przez dobór, a dodatkowo osobniki o mniejszej (lub większej) ilości DNA mogą pozostawiać więcej lub mniej potomstwa. W miarę poznawania genomów kolejnych gatunków coraz lepiej potrafimy szacować częstość i wielkość delecji i insercji [28], ale często zapominamy, że szacunki te nie określają wyłącznie presji mutacyjnej, ale wynik równowagi mutacyjno-selekcyjnej. 11 razy większe niż u muszki owocowej *Drosophila* genomy u hawajskich świerszczy z rodzaju *Laupala* współwystępują z mniejszą u tego gatunku częstością delecji, większą insercji, mniejszymi średnio delecjami i większymi insercjami [29], ale nie jest to dowód na większy nacisk mutacji na zwiększanie ilości DNA, bo nic nie wiemy o sile doboru na wielkość komórek w obu tych taksonach.

Jak widać, kluczową rolę w wyjaśnieniu różnorodności wielkości genomów odgrywać będzie zrozumienie relacji: ilość DNA – wielkość jąder – wielkość komórek – cechy fenotypowe organizmów. Weryfikacja i modyfikacja poszczególnych modeli wymaga na pewno dalszych badań na gruncie genetyki (mechanizmy zmian ilości DNA), biologii komórki (związek między ilością DNA i rozmiarami komórek) i ekologii (związek między rozmiarami komórek i cechami ekofizjologicznymi wpływającymi na kierunek doboru). Konieczne jest w nich bardziej całościowe podejście do biologii, nie tylko poprzez pryzmat informacji zapisanej w sekwencji nukleotydów.

## PODZIĘKOWANIA

Serdeczne podziękowania składamy Marcinowi Czarnołęskiemu, Markowi Konarzewskiemu, Marii Ogielskiej, Marii Olszewskiej i Barbarze Śliz za cenne uwagi w trakcie przygotowywania do druku tego artykułu.

## LITERATURA

- [1] BAILEY JA, GU ZP, CLARK RA, REINERT K, SAMONTE RV, SCHWARTZ S, ADAMS MD, MYERS EW, LI PW, EICHLER EE. Recent Segmental Duplications in the Human Genome. *Science* 2002; **297**: 1003–1007.
- [2] BENFEY TJ, SUTTERLIN AM. The haematology of triploid landlocked Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J Fish Biol* 1984; **24**: 333–338.
- [3] BERGER L, OGIELSKA M. Spontaneous haploid-triploid mosaicism in the progeny of a *Rana* kl. *Esculenta* female and *Rana lessonae* males. *Amphibia-Reptilia* 1994; **15**: 143–152.
- [4] BORON A. Use of erythrocyte measurements to detect natural triploids of spined loach *Cobitis taenia* (L.). *Cytobios* 1994; **78**: 197–202.
- [5] CAVALIER-SMITH T. Economy, Speed and Size Matter: Evolutionary Forces Driving Nuclear Genome Miniaturization and Expansion. *Ann Bot* 2005; **95**: 147–175.
- [6] FRAZER KA, TAO H, OSOEGAWA K, DE JONG PJ, CHEN XY, DOHERTY MF, COX DR. Noncoding Sequences Conserved in a Limited Number of Mammals in the Sim2 Interval Are Frequently Functional. *Genome Res* 2004; **14**: 367–372.
- [7] GONIAKOWSKA L. The respiration of erythrocytes of some amphibians *in vitro*. *Bull Acad Pol Sci, Ser sci biol* 1970; **18**: 793–797.
- [8] GONIAKOWSKA-WITALINSKA L. Effect of ouabain on oxygen consumption and on osmotic swelling of amphibian erythrocytes. *Bull Acad Pol Sci, Serie sci biol* 1976; **24**: 221–226.
- [9] GREGORY TR. Coincidence, Coevolution, or Causation? DNA Content, Cell Size, and the C-Value Enigma. *Biol Rev* 2001; **76**: 65–101.
- [10] GREGORY TR. Genome size and developmental complexity. *Genetica* 2002; **115**: 131–146.
- [11] GREGORY TR. A bird's-eye view of the C-value enigma: Genome size, cell size, and metabolic rate in the class aves. *Evolution* 2002; **56**: 121–130.
- [12] GREGORY TR. Animal Genome Size Database. [www.genomesize.com](http://www.genomesize.com). 2005.
- [13] GREGORY TR. The C-Value Enigma in Plants and Animals: a Review of Parallels and an Appeal for Partnership. *Ann Bot* 2005; **95**: 133–146.
- [14] GREGORY TR, HEBERT PDN. The Modulation of DNA Content: Proximate Causes and Ultimate Consequences. *Genome Res* 1999; **9**: 317–324.
- [15] GREGORY TR, HEBERT PDN, KOLASA J. Evolutionary Implications of the Relationship between Genome Size and Body Size in Flatworms and Copepods. *Heredity* 2000; **84**: 201–208.
- [16] GREILHUBER J, DOLEZEL J, LYSAK MA, BENNETT MD. The Origin, Evolution and Proposed Stabilization of the Terms „Genome Size’ and «c-Value» to Describe Nuclear DNA Contents. *Ann Bot* 2005; **95**: 255–260.
- [17] HARDIE DC, HEBERT PDN. Genome-Size Evolution in Fishes. *Can J Fish Aquat Sci* 2004; **61**: 1636–1646.
- [18] KELLER MJ, GERHARDT HC. Polyploidy Alters Advertisement Call Structure in Gray Treefrogs. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 2001; **268**: 341–345.
- [19] KLUG WS, CUMMINGS MR. Genetics: A molecular perspective. Published by Pearson Education, Inc Upper Saddle River, New Jersey 07458, 2003
- [20] KOZŁOWSKI J. Why life histories are diverse. *Pol J Ecol* 2006; w druku.
- [21] KOZŁOWSKI J, KONARZEWSKI M, GAWELCZYK AT. Cell size as a link between noncoding DNA and metabolic rate scaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**: 14080–14085.
- [22] LYNCH M. Genomics – Gene Duplication and Evolution. *Science* 2002; **297**: 945–947.
- [23] MARCAIS B, BELLIS M, GERARD A, PAGES M, BOUBLIK Y, ROIZES G. Structural organization and polymorphism of the alpha satellite DNA sequences of chromosome 13 and 21 as revealed by pulse field gel electrophoresis. *Human Genetics* 1991; **86**: 311–316.
- [24] MONTAGNE J, STEWART MJ, STOCKER H, HAFEN E, KOZMA SC, THOMAS G. *Drosophila* S6 kinase: a regulator of cell size. *Science* 1999; **285**: 2126–2129.
- [25] OLSZEWSKA MJ, SAKOWICZ T. Ewolucja rozmiarów genomów jądrowych u roślin okrytozalążkowych. *Post Biol Kom* 2006; **33**: 737–751.
- [26] PAGEL M, JOHNSTONE RA. Variation across species in the size of the nuclear genome supports the junk-DNA explanation for the C-value paradox. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1992; **249**: 119–124.

- [27] PARTRIDGE L, LANGELAN R, FOWLER K, ZWAAN B, FRENCH V. Correlated Responses to Selection on Body Size in *Drosophila Melanogaster*. *Genet Res* 1999; **74**: 43–54.
- [28] PETROV DA. Evolution of Genome Size: New Approaches to an Old Problem. *Trends Genet* 2001; **17**: 23–28.
- [29] PETROV DA, SANGSTER TA, JOHNSTON JS, HARTL DL, SHAW KL. Evidence for DNA Loss as a Determinant of Genome Size. *Science* 2000; **287**: 1060–1062.
- [30] PORTER, RK. Allometry of Mammalian Cellular Oxygen Consumption. *Cell Mol Life Sci* 2001; **58**: 815–822.
- [31] ROTH G, BLANKE J, WAKE DB. Cell size predicts morphological complexity in the brains of frogs and salamanders. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; **91**: 4796–4800.
- [32] SHERMAN F. Getting started with yeast. W: Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology. Ch. Guthrie & G.R. Fink (eds.) Academic Press, San Diego 1991; 3–21.
- [33] SMALL SA, BENFEY TJ. Cell size in triploid salmon. *J Exp Zool* 1987; **241**: 339–342.
- [34] STAROSTOVA Z, KRATOCHVIL L, FRYNTA D. Dwarf and Giant Geckos from the Cellular Perspective: the Bigger the Animal, the Bigger Its Erythrocytes? *Funct Ecol* 2005; **19**: 744–749.
- [35] SZARSKI H. Changes in the amount of DNA in cell nuclei during vertebrate evolution. *Nature* 1970; **226**: 651–652.
- [36] SZARSKI H. Zagadnienie rozmiarów komórek zwierząt kręgowych. *Post Biol Kom* 1974; **1**: 311–344.
- [37] SZARSKI H. Cell size and the concept of wasteful and frugal evolutionary strategies. *J Theor Biol* 1983; **105**: 201–209.
- [38] ŚWITOŃSKI M, SŁOTA E, JASZCZAK K. Diagnostyka cytogenetyczna zwierząt domowych. Wydawn. AR, Poznań 2006.
- [39] VINOGRADOV AE. Nucleotypic effect in homeotherms: body-mass-corrected basal metabolic rate of mammals is related to genome size. *Evolution* 1995; **49**: 1249–1259.
- [40] VINOGRADOV AE. Nucleotypic Effect in Homeotherms: Body-Mass Independent Resting Metabolic Rate of Passerine Birds Is Related to Genome Size. *Evolution* 1997; **51**: 220–225.
- [41] WYNGAARD GA, GREGORY TR. Temporal Control of DNA Replication and the Adaptive Value of Chromatin Diminution in Copepods. *J Exp Zool* 2001; **291**: 310–316.

*Redaktor prowadzący – Maria Olszewska*

*Otrzymano: 25.09. 2006 r.*

*Przyjęto: 16.10. 2006 r.*

*Gronostajowa 7, 30-387 Kraków,*

*kozlo@eko.uj.edu.pl*