

szym zakresie temperatur od 25 do 37°C. Pozwala to na rozwój pasożyta w ciepłe, jak i zimne pory roku oraz w ulach usytuowanych w różnej szerokości geograficznej [8].

Naukowcy z USA ustalili, że pszczoły eksperymentalnie zakażone *Nosema ceranae* mają większe straty energetyczne. Ilość syropu cukrowego spożywanego przez takie pszczoły jest większa niż w przypadku zarażonych sporami *Nosema apis*. Zostało to potwierdzone przez badaczy hiszpańskich, którzy oszacowali największą śmiertelność i zużycie syropu cukrowego przez pszczoły z nosemozą typu C [16].

Działalność człowieka przejawiająca się w stosowaniu pestycydów, takich jak Chlorpyrifos, Endosulfan lub Permethrin, dodatnio wpływa na liczbę spor *Nosema* u młodych pszczoł [23]. Wzrasta także śmiertelność pszczoł [21], ponieważ *Nosema ceranae* wpływa ujemnie na system detoksykacyjny pszczoły, przez co nie jest w stanie pozbywać się z organizmu stosowanych przez człowieka chemicznych środków ochrony roślin. W badaniach Antúnez i wsp. [1] udowodniono, że *Nosema ceranae* hamuje odpowiedź immunologiczną pszczoły. Blokowana jest supresja genów kodujących ważne peptydy antybakteryjne. W przypadku zakażenia *Nosema apis* synteza tych peptydów przebiega prawidłowo.

W 2006 roku potwierdzono obecność *Nosema ceranae* u pszczoły miodnej występującej w Hiszpanii [10], a także wyjątkową zjadliwość tego grzyba u pszczoł miodnych eksperymentalnie zarażonych sporami [9]. W 2007 roku wykryto *Nosema ceranae* u polskich pszczoł [20] oraz u pszczoł miodnych w Kanadzie oraz USA [22]. Potwierdziło to obawy o wysokim stopniu zagrożenia sektora gospodarki pasiecznej nie tylko w Europie, ale także na kontynencie amerykańskim.

Jak więc radzić sobie ze sporowcem i wywoływaną przez niego chorobą? Spory mogą być zabijane w wysokiej temperaturze, poprzez opalenie lub ogrzewanie do temperatury co najmniej 60°C przez 15 minut składowych części uli oraz narzędzi pszczelarskich. Plastry mogą być sterylizowane przez ogrzewanie do 49°C przez 24 godziny. Inną sprawdzoną metodą jest wystawianie skażonych plastrów lub narzędzi pszczelarskich na działanie oparów 60% kwasu octowego, który zabija spory w kilka godzin. Przy proporcjonalnie większym stężeniu kwasu możliwe jest zabicie spor w kilka minut. Przed użyciem, dezynfekowane plastry i sprzęt powinny być poddane wentylacji przez około 14 dni. Powyższe praktyki podlegają regulacjom prawnym w poszczególnych krajach [3].

Do 2004 roku chorym pszczołom można było podawać antybiotyk Fumidil B (otrzymywany z *Aspergillus fumigatus*) lub Fumagilin DC zmieszany z syropem cukrowym, hamujący reprodukcję zarodników. Jednak taki sposób leczenia jest obecnie zabroniony we wszystkich krajach Unii Europejskiej i w wielu innych krajach poza Unią. W 2004 roku został zaprezentowany nowy lek o nazwie Protofil, zawierający ekstrakty roślinne, witaminy i mikroelementy, jako środek zapobiegawczy, który zwiększa odporność pszczoł i szanse na łagodniejszy przebieg choroby [24]. Od niedawna stosuje się

także lek o nazwie Nozevit, który pobudza komórki nabłonka jelita środkowego pszczoły do wydzielania śluzu, a ten, odkładając się na powierzchnię, tworzy warstwę ochronną zabezpieczającą przed infekcją spor [19]. Często przeciwko pasożytom, np. *Varroa destructor*, grzybom i bakteriom używany jest tymol, od niedawna z powodzeniem stosowany także przeciwko nosemozie typu C. Choć pszczoły karmione syropem zawierającym tymol żyją dłużej, a liczba spor w ich organizmie ulega zmniejszeniu o ponad połowę [2]. Niestety wszystkie powyższe metody, choć pozytywnie rokujące na przyszłość, nie są w pełni skuteczne.

Najsukurszym sposobem na posiadanie zdrowych pszczoł jest kompleksowa i regularnie prowadzona profilaktyka w pasiece. Zdrowe rodziny pszczele rozwijają się prawidłowo, uzyskując odpowiednio dużą siłę w okresie pożytkowym. Z kolei silne rodziny lepiej wykorzystują dostępne pożytki, co daje znaczną gwarancję odpowiednich zbiorów miodu i innych pozyskiwanych produktów pszczelich. Zdrowe pszczoły, to także znaczne ograniczenie kosztów prowadzenia pasieki (nie trzeba ponosić kosztów zakupu leków i leczenia), a co za tym idzie zwiększenie jej rentowności. Profilaktyka nabiera szczególnego znaczenia zwłaszcza wtedy, gdy pojawiają się nowe jednostki chorobowe, na które nie ma jeszcze skutecznych metod leczenia, a tak właśnie jest w przypadku *Nosema ceranae*.

Literatura: 1. Antúnez K., Martín-Hernández R., Prieto L., Meana A., Zunino P., Higes M., 2009 – Environ. Microbiol. 11(9), 2284-2290. 2. Costa C., Lodesani M., Maistrello L., 2010 – Apidologie 41(2), 141-150. 3. De Ruiter A., Van Der Stein J., 1989 – Apidologie 20, 503-506. 4. Didier E.S., 2005 – Acta Trop 94(1), 61-76. 5. Elekonich M.M., Schulz D.J., Bloch G., Robinson G.E., 2001 – J. Insect Physiol. 47, 119-125. 6. Fries I., Feng F., Silva A., Selemenda S.B., Pieniżek N.J., 1996 – Europ. J. Protistol. 32, 356-365. 7. Fries I., Martín R., Meana A., García-Palencia P., Higes M., 2006 – J. Apicult. Res. 45(4), 230-233. 8. Higes M., García-Palencia P., Botías C., Meana A., Martín-Hernández R., 2010 – Environ. Microbiol. Rep. 2(6), 745-748. 9. Higes M., García-Palencia P., Martín-Hernández R., Meana A., 2007 – J. Invertebr. Pathol. 94(3), 211-217. 10. Higes M., Martín R., Meana A., 2006 – J. Invertebr. Pathol. 92(2), 93-95. 11. Higes M., Martín-Hernández R., Botías C., Bailón E.G., González-Porto A.V., Barrios L., Del Nozal M.J., Bernal J.L., Jiménez J.J., Palencia P.G., Meana A., 2008 – Environ. Microbiol. 10(10), 2659-2669. 12. Huang W.F., Jiang J.H., Chen Y.W., Wang C.H., 2007 – Apidologie 38(1), 30-37. 13. Ironside J.E., 2007 – BMC Evolutionary Biology 7, 48. doi:10.1186/1471-2148-7-48. 14. Keeling P., 2009 – PLoS Pathog. 5(9), e1000489. 15. Larsson R., 2004 – Cytology and taxonomy of the microsporidia. Lund University. 16. Martín-Hernández R., Botías C., Barrios L., Martínez-Salvador A., Meana A., Mayack C., Higes M., 2011 – Parasitol. Res. 109(3), 605-612. 17. Ptaszyńska A., Borsuk G., Anusiewicz M., Mułenko W., 2012 – Med. Weter. 68(10), 618-621. 18. Ptaszyńska A., Borsuk G., Mułenko W., Olszewski K., 2012 – Med. Weter. 68(10), 622-625. 19. Tlak Gajger I., Kozaric Z., Berta D., Nejedli S., Petrinec Z., 2011 – Veterinari Med. 56(7), 344-351. 20. Topolska G., Kasprzak S., 2007 – Med. Weter. 63(11), supl., 1504-1506. 21. Vidau C., Diogon M., Aufauvre J., Fontbonne R., Viguès B., Brunet J.L., Texier C., Biron D.G., Blot N., El Alaoui H., Belzunces L.P., Delbac F., 2011 – PLoS ONE 6, e21550. 22. Williams G.R., Shafer A., Rogers R., Shtler D., Stewart D.T., 2007 – J. Invertebr. Pathol. 97, 189-192. 23. Wu J.Y., Smart M.D., Anelli C.M., Sheppard W.S., 2012 – J. Invertebr. Pathol. 109(3), 326-329. 24. Yucel B., Dogaroglu M., 2005 – Pakistan J. Biol. Sci. 8(8), 1142-1145.

Ryś euroazjatycki – od biologii gatunku do genetyki molekularnej

Maria Borucka, Brygida Ślaska

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Codziennie z powierzchni Ziemi znika coraz więcej środowisk naturalnych, a co z tym związane, także gatunków roślin i zwierząt [4]. Skuteczna ochrona zwierząt, szczególnie dużych drapieżników, jak

wilk czy ryś, stanowi jeden z najpoważniejszych problemów dla ochrony przyrody, wymagający specjalnego potraktowania i zastosowania metod odmiennych od powszechnie uznanych. Sama ochrona prawna w drodze rozporządzenia jest rozwiązaniem koniecznym, ale dalece niewystarczającym [26].

Skuteczna ochrona rzadkich gatunków zwierząt wymaga poznania ich rozmieszczenia, liczebności, wielkości arealów osobniczych, dynamiki populacji i najpoważniejszych zagrożeń dla ich przetrwania. W odniesieniu do zwierząt, które prowadzą skryty tryb życia, mają duże areale i są bardzo mobilne, jest to zadanie trudne. Obecność takich gatunków ustala się często na podstawie pozostawionych przez nie śladów, na przykład odchodów czy sierści. Jednak taka identyfikacja nie zawsze jest wiarygodna, ze względu na trudności w rozróżnieniu śladów pochodzących od różnych gatunków na podstawie ich cech morfologicznych. Niezbędne jest w



Fot. Ryś euroazjatycki – charakterystyczne pędzelki na uszach (fot. A. Tarabula)

dość długimi uszami, zakończonymi charakterystycznymi czarnymi pędzelkami włosów (fot.). Oczy duże, o źrenicy pionowej, barwy szarzielonej. Ogon krótki, tępo zakończony, z czarną końcówką. Sierść ze strony grzbietowej jest barwy od szarozółtej do ciemnorudej, strona brzuszna jaśniejsza, biała lub kremowa. U większości osobników na kończynach i bokach ciała występują cętki, plamy lub kreski, czarne bądź ciemnobrązowe. Rysie nizinne, zamieszkujące północno-wschodnią część kraju, są najczęściej ubarwione jednolicie, ze słabo wyrażoną plamistością futra, a różnej wielkości plamy i cętki są bardziej widoczne tylko na łapach. Z kolei rysie karpackie mają zwykle futro z wyraźnym plamistym wzorem, niekiedy bardzo intensywnym (fot. 3, IV str. okł.). W zimie u samców wyraźnie widoczne są bokobrody.

Ryś jest dużym drapieżnikiem. Masa ciała dorosłych osobników wynosi od 15 do 35 kg. Wyraźny jest dymorfizm płciowy – samce są większe od samic. Ma bardzo dobry węch, dobrze pływa i znakomicie wspina się po drzewach. Potrafi skoczyć z miejsca na wysokość 2 metrów. Ma także świetny wzrok. Łacińska nazwa rysia *Lynx* pochodzi od greckiego słowa *lygx* lub *lenkos*, co oznacza „świecający”, a odnosi się właśnie do bystrego wzroku tego zwierzęcia [9, 13, 16, 25].

Rysie to samotniki. Zarówno samice, jak i samce posiadają własne rozległe terytoria, sięgające nawet do kilkuset km². Terytorium dorosłego samca obejmuje zazwyczaj arealty 2-3 samic. Dojrzałość płciową osiągają w wieku 2 (samica) i 3 (samiec) lat. Dorosłe osobniki znakują teren moczem, wydzieliną gruczołów przyodbytowych i kałem. W trakcie godów, odbywających się pod koniec zimy, samiec odwiedza poszczególne samice. Kilkudniowe zaloty są niezwykle burzliwe, a po ich zakończeniu samiec odchodzi i nie uczestniczy w wychowaniu potomstwa. Po ciąży trwającej około 70 dni rodzą się kocięta. W górach obserwuje się samice z jednym lub dwoma młodymi, rzadziej z trzema. Samica rodzi w ustronnym miejscu, często w rozpadlinach skalnych lub w gęstych młodnikach. Codziennie dostarcza młodym niezbędnego pokarmu, bardzo intensywnie polując. Przez dwa pierwsze miesiące życia kocięta przebywają w gnieździe, gdzie się urodziły, potem matka przenosi lub przeprowadza je do tymczasowych ukryć, coraz częściej w miarę ich wzrostu. Kotka stopniowo uczy kocięta trudnej sztuki polowania i samodzielnego zdobywania pokarmu, początkowo podprowadza je jednak do zabitych przez siebie ofiar. Śmiertelność młodych przed usamodzielnieniem się jest bardzo wysoka [13, 20]. Młode pozostają z matką do kolejnej rui, a następnie zaczynają poszukiwać własnego terytorium. Samice starają się osiedlić niedaleko matczynego arealu, samce migrują czasami po kilkaset kilometrów [10].

Rysie są mięsożerne. Dorosły osobnik zjada dziennie do 2,5 kg mięsa. Główny składnik diety stanowią ssaki kopytne, jeśli tylko współwystępują z nimi na danym obszarze. Skład pokarmu zależy

jednak w dużej mierze od szerokości geograficznej na jakiej żyją. W północnej części Polski główną zdobyczą rysia stanowią zające i ptaki, a na południu – ssaki kopytne [22]. Z populacji jeleni wybierane są głównie osobniki młode i o słabej kondycji. Wpływ rysia na populacje współwystępujących z nimi ssaków kopytnych, a zwłaszcza sarny, może być bardzo znaczący. Dorosły samiec zabija średnio jedną sarnę lub jelenia co 5-6 dni, a samica prowadząca młode co 2-5 dni. Niezwykle rzadko atakują zwierzęta hodowlane [13].

Ryś zamieszkuje duże kompleksy leśne i prowadzi skryty tryb życia. Biorąc pod uwagę, iż większość pokarmu zdobywa czatując w zasadzce na konarze drzewa, las w jego bezpośrednim otoczeniu musi spełniać określone wymagania – muszą w nim być co najmniej pojedyncze stare drzewa. Rysie ukrywają zabite zwierzęta, zaciągając je pod gałęzie drzew lub w gęste zarośla, albo przykrywają ściółką. Czasem wciągają ofiarę na drzewo [22, 30].

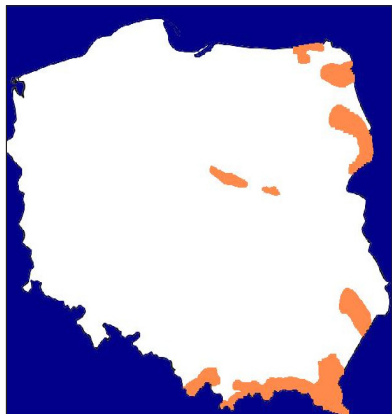
Przejawy aktywności rysia są bardzo trudne do zaobserwowania w terenie. Znacznie łatwiejsze jest to w zimie, w okresie zalegania pokrywy śnieżnej. Charakterystycznymi śladami obecności rysia na danym terenie mogą być tropy, ślady żerowania czy znakowanie terenu. Tropy są owalne, czteropalczaste, często otoczone „aureolą” odbitą przez futro okalające łapę. Jedną z przednich opuszek palcowych jest wysunięta bardziej ku przodowi, a trójkątna poduszka piętowa ma trójpłatową podstawę. Chowają pazury podczas chodzenia, dlatego zazwyczaj nie odbijają się one na podłożu. Wymiary tropów najczęściej nie przekraczają 9,5 × 9 cm. Rysie są ciekawskie i niezwykle sprawne. Dlatego podążanie za ich tropami jest trudne [6, 25]. Spryskują moczem oraz wydzieliną gruczołów przyodbytowych charakterystyczne punkty w terenie: przewrócone drzewa, karpy korzeniowe, kamienie, słupki oddziałowe. Zapach ten jest bardzo ostry i charakterystyczny. Kiedy intensywnie znakują (zwłaszcza w okresie cieczki), trasa ich wędrówki, np. wzdłuż dróg czy przesiek leśnych, ma bardzo charakterystyczny zygzakowaty przebieg [13]. Często też ostrzą pazury na ścianach pasterkich szalasów, szop i paśników. Bardzo trudno znaleźć ich odchody, ponieważ zakopują je w śniegu lub ściółce [11].

Ryś jest aktywny głównie nocą, w ciągu dnia odpoczywa i śpi. W miejscach spokojnych oraz w czasie zwiększonego zapotrzebowania pokarmowego (zima, wychowywanie młodych) bywa także aktywny w dzień. Bardzo niechętnie przekracza duże, otwarte obszary polne. Nieciągłość terenów leśnych i brak możliwości migracji to główne czynniki hamujące rozprzestrzenianie się populacji rysia w naszym kraju [9]. Ryś nie ma właściwie naturalnych wrogów. Sporadyczne zdarzają się przypadki zabijania rysia przez wilki. Aktualnie największym jego wrogiem jest człowiek [13].

Występowanie rysia

Geograficzny zasięg występowania gatunku *Lynx lynx* rozciąga się od Europy Środkowej i Skandynawii, przez Turcję, Irak, Iran, Rosję i Mongolię, aż do Azji Wschodniej. Po całkowitym wyćpieniu został ponownie reintrodukowany do Szwajcarii, Francji, Czech, Włoch, Niemiec i Słowenii. Liczebność europejskiej populacji tych drapieżników jest szacowana na ok. 7000 osobników [3]. Występuje w różnych strefach klimatycznych i ekologicznych. Wielkość ciała, kolor futra i nawyki żerowania są prawdopodobnie dostosowaniem do warunków środowiskowych terenu zamieszkiwanego przez daną populację [23].

W Polsce do okresu średniowiecza ryś był gatunkiem dość powszechnym, a proces szybkiego kurczenia się jego zasięgu nastąpił w ciągu ostatnich 300 lat. Do dramatycznego spadku liczebności przyczynił się rozwój cywilizacyjny, połączony z wyrębem lasów. Na przełomie XIX i XX wieku rysie stwierdzano na całym obszarze polskich Karpat. Wynikało to z pewnością z mniejszego rozczłonkowania kompleksów leśnych. W Bieszczadach rysie występowały stale, chociaż w stosunkowo niskich zagęszczeniach. Po II wojnie światowej zostały objęte ochroną gatunkową, dzięki której ich liczebność stopniowo rosła. Na początku lat 70. oprócz Karpat, nieliczne osobniki pojawiły się także w puszczech północno-wschodniej Polski [26].



Rys. Występowanie rysia w Polsce

Obecnie rysie w Polsce występują w dwóch izolowanych regionach: w północno-wschodniej (populacja nizinna) i południowo-wschodniej (populacja karpacka) części kraju (rys.), a ich liczebność jest szacowana na ok. 200 osobników [15].

Populacja nizinna występuje w Puszczy Białowieżskiej, Knyszyńskiej, Augustowskiej, Piskiej, Rominckiej, Boreckiej. Od 1993 r. niewielka reintrodukowana populacja występuje w Puszczy Kampinoskiej i lasach Gostyńsko-Włocławskich. Prawie połowa polskich rysie żyje w Karpatach i na Pogórzu Karpackim. Niewielką populację stwierdzono także na Roztoczu, a pojedyncze osobniki odnotowano na Polesiu Lubelskim. Na południu kraju rysie zamieszkują Bieszczady, Pogórze Przemyskie i Dynowskie, Beskid Niski, Beskid Sądecki, Gorce, Pieniny, Tatry oraz Beskid Żywiecki i Śląski [26].

Ochrona gatunkowa rysia

Ze względu na geograficzne położenie, nasz kraj stanowi swego rodzaju łącznik między obszarami wschodniej Europy, gdzie występują zwarte i liczne populacje tych drapieżników, a kompleksami leśnymi Europy Zachodniej, gdzie są one od dawna wytępione [6].

Na podstawie przeprowadzanych inwentaryzacji rysie oraz porównania ich wyników z danymi historycznymi stwierdza się, że zasięg tego gatunku w Polsce zmniejszył się znacznie w ciągu ostatniego dziesięciolecia. Obecne rozmieszczenie rysie, zwłaszcza w północno-wschodniej części kraju, nie obejmuje wszystkich kompleksów leśnych, które są wystarczająco duże i zwarte, aby odpowiadać wymaganiom środowiskowym tych zwierząt. Stan populacji wskazuje, że uznanie rysia za gatunek chroniony w 1995 r. było posunięciem niezbędnym, ale dalece niewystarczającym [6].

Rys jako gatunek nie jest zagrożony w skali świata, natomiast jego populacja w Polsce doświadcza lokalnych zagrożeń. Kłusownictwo jest zasadniczym czynnikiem śmiertelności dorosłych rysie w naszym kraju. Jest to przede wszystkim ginięcie rysie we wnykach stawianych na sarny i jelenie, a w mniejszym stopniu nielegalne polowanie [13].

Ważnym czynnikiem mogącym wpływać na liczebność populacji ssaków drapieżnych jest również charakterystyka środowiska, decydująca na przykład o dostępności miejsc odpowiednich do polowania lub odpoczynku. Zmiany w siedliskach najczęściej są efektem intensyfikacji gospodarki ludzkiej. Uproszczenie struktury lasu, czyli jednowiekowe monokultury sosnowe lub świerkowe, brak gęstego podszytu uniemożliwia rysiom skuteczne polowanie, ukrycie się przed ludźmi i wychowanie młodych. Poważnym niebezpieczeństwem jest także fragmentacja lasów, rozwój zabudowy, modernizacja dróg, a szczególnie ich grodenie. Fragmentacja środowiska dotyczy głównie obszaru północno-wschodniej Polski, gdzie odpowiednie dla rysie tereny leśne rozmieszczone są wyspowo, co utrudnia bądź uniemożliwia migracje zwierząt i łączność poszczególnych subpopulacji. Coraz bardziej poważnym zagrożeniem jest rozwój sieci dróg szybkiego ruchu. Są one nieprzekraczalnymi barierami pomiędzy kompleksami leśnymi, utrudniającymi rysiom swobodną migrację [8, 10, 22]. Warunkiem trwałości występowania rysie w Polsce jest z jednej strony stałe połączenie z populacjami zamieszkującymi sąsiednie kraje (Białoruś, Litwa, Słowacja i Ukraina), a z drugiej – zapewnienie ciągłości odpowiednich dla rysie środowisk na terenie naszego kraju [25]. Zagrożenia te są wspólne dla dużych drapieżników i wielu innych zwierząt.

Wydaje się, że najważniejsze działania, jakie można obecnie podjąć w celu ochrony dużych drapieżników, w tym rysie, to:

- wyznaczenie sieci korytarzy migracyjnych łączących główne kompleksy leśne, a następnie objęcie ich stosowną ochroną prawną;
- zwiększenie lesistości;
- walka z kłusownictwem;
- ochrona miejsc rozrodu wilków i rysie poprzez utworzenie dodatkowych ostoi zwierzyzny;
- prowadzenie monitoringu występowania dużych drapieżników;
- edukacja ekologiczna na temat ochrony dużych drapieżników i ich roli w środowisku [6].

Zgodnie z obowiązującymi w Polsce przepisami: *nie wolno rysie zabijać, okaleczać, chwycić, przetrzymać, wybierać młodych z gniazd, nie wolno także preparować ich zwłok, sprzedawać skór i innych fragmentów martwych osobników* [31]. Nie respektowanie przepisów podlega karze aresztu lub grzywny. W szczególnych przypadkach, na przykład na potrzeby badań naukowych, odpowiednie zezwolenie może wydać Minister Środowiska. Zakaz odłowu rysie nie dotyczy także sytuacji, gdy konieczne jest schwywanie zwierząt rannych i osłabionych w celu udzielenia im pomocy weterynaryjnej, a po wyleczeniu powinny być wypuszczone na wolność [11].

Rys objęty jest w Polsce ścisłą ochroną gatunkową. Jego szczególny status podkreśla obecność w „Polskiej Czerwonej Księdze Zwierząt” z kategorią NT (bliski zagrożenia) [17]. Podlega także podstawowym europejskim aktom prawnym z zakresu ochrony zwierząt: Konwencji Berneńskiej (ratyfikowanej przez rząd RP w 1995 r.) oraz Dyrektywie Habitatowej. Zgodnie z zaleceniami Rady Europy rys jest jednym z gatunków wskaźnikowych do typowania obszarów proponowanych do ochrony w ramach sieci NATURA 2000 [6].

W celu zachowania lub odtworzenia chronionych populacji oraz utrzymania zmienności genetycznej tworzone są specjalne programy ochrony zasobów genetycznych, w które czynnie angażują się rządy państw, instytucje naukowe i uczelnie [8]. Na straży populacji dużych drapieżników w Polsce stoi także WWF (World Wide Fund for Nature), międzynarodowa organizacja ekologiczna, która stara się wprowadzać w życie rozwiązania pozwalające na zachowanie ich w przyrodzie. W przypadku rysie najczęściej dotyczą one zabiegów reintrodukcji [32].

Monitoring populacji rysie prowadzony jest od kilkunastu lat przez naukowców z Zakładu Badania Ssaków w Białowieży, głównie dr. hab. Krzysztofa Schmidta, oraz Instytutu Ochrony Przyrody PAN w Krakowie. Informacje dotyczące obecnego rozmieszczenia i liczebności rysie opierają się w głównej mierze na danych uzyskanych w ramach programu „Inwentaryzacja wilków i rysie w nadleśnictwach i parkach narodowych Polski” [25]. W jego ramach zebrano blisko 2500 wszelkiego rodzaju informacji o obecności rysie w różnych regionach kraju, co pozwoliło na śledzenie zmian liczebności i zasięgu występowania tego gatunku, identyfikacji czynników odpowiedzialnych za zmiany oraz wpływu fragmentacji środowiska na stabilność populacji [9]. Ma to zasadnicze znaczenie dla podejmowania właściwych decyzji w zakresie ochrony drapieżników. Pozwoli także na ocenę presji ludzkiej i zmian cywilizacyjnych na funkcjonowanie najbardziej wrażliwych leśnych układów przyrodniczych [23, 26].

Możliwości wykorzystania mtDNA w badaniach rysie

Klasyczne metody badań, polegające na zbieraniu danych za pomocą bezpośrednich obserwacji, tropień, wyszukiwaniu nor, czy też odłowu i znakowania prostymi znacznikami (obrączki, plakiety itp.), mają wiele ograniczeń. Są one najbardziej widoczne podczas badań gatunków żyjących w niskich zagęszczeniach, prowadzących skryty, nocny tryb życia, wykorzystujących specyficzne środowiska, czy też użytkujących ogromne arealy osobnicze i mających zdolność do dalekich migracji. Rozróżnianie zdobytego materiału na podstawie cech morfologicznych sprawia wiele trudności. Nawet doświadczeni badacze popełniają wiele błędów, a wiarygodne stwierdzanie obecności gatunków na danym terenie ma

szczególne znaczenie dla populacji zagrożonych wyginieciem. Istotnych danych na temat ekologii gatunków takich jak ryś, dostarczają analizy genetyczne [2, 5, 14].

Monitoring genetyczny oparty jest na analizie DNA izolowanego z prób nieinwazyjnych, np. włosów i odchodów. Małe próbki odchodów umieszczane są w specjalnych próbkach z alkoholem, wraz z pełnym opisem. Włosy zbierane są przy użyciu pułapek włosowych (niewielki, 8x8 cm fragment szorstkiej wykładziny dywanowej, nasączony strojem bobrowym – feromonem wytwarzanym przez gruczoł przyodbytowy bobra) rozmieszczanych na drzewach lub innych obiektach (najlepiej takich, które są znakowane przez rysie), na wysokości ok. 60-70 cm w miejscach ich prawdopodobnego przebywania [11]. Analizy genetyczne odchodów oraz włosów mają na celu identyfikację poszczególnych genotypów i ustalanie minimalnej liczby osobników na danym terenie, a także określenie stopnia izolacji poszczególnych populacji i kierunku przepływu genów [5]. Ważnym wskaźnikiem, choć trudnym do określenia w populacjach dziko żyjących, jest także poziom zmienności genetycznej, który obrazuje kondycję danej populacji i znacząco wpływa na trwałość gatunku [8]. Ułatwieniem tego procesu stało się opracowywanie skutecznych metod ekstrakcji, oczyszczania i analizowania DNA, a dzięki zwiększaniu mocy obliczeniowej komputerów i rozwojowi bioinformatyki możliwa staje się szybka identyfikacja gatunków tylko na podstawie sekwencji ich DNA [1, 4, 24].

W 2003 r. Paul Hebert z Instytutu Bioróżnorodności Uniwersytetu Guelph w Kanadzie zaproponował sposób identyfikacji gatunków, który nazwał „DNA barcoding” (*barcode* – kod paskowy). *Barcoding* pozwala na identyfikację gatunków wyłącznie na podstawie kodu genetycznego składającego się z jednej lub kilku sekwencji DNA. Realizacją tego przedsięwzięcia zajmuje się międzynarodowe Consortium for Barcoding of Life, którego celem jest tworzenie genetycznych kodów identyfikacyjnych dla wszystkich żyjących gatunków [1, 4].

W królestwie zwierząt do ustalania kodu paskowego DNA wybrano fragment długości około 650 nukleotydów genu I podjednostki oksydazy cytochromowej (*COI*). Sekwencję *COI* cechuje mała zmienność wewnątrzgatunkowa oraz duża zmienność międzygatunkowa. Gen ten stanowi więc doskonałą „metkę biologiczną”. Dzięki *barcoding* możliwa stała się nie tylko identyfikacja nowych gatunków, ale także gatunków, które scharakteryzowano już wcześniej, ale trudno rozróżnić je metodami tradycyjnymi [1, 4].

Cytochrom c cechuje się wysokim konserwatywnością w związku ze ścisłym powiązaniem jego struktury z funkcjami, jakie pełni. Dzięki temu poszczególne podjednostki genu odpowiadającego za kodowanie cytochromu c są idealnymi markerami molekularnymi, wykorzystywanymi w celu wnioskowań porównawczych organizmów eukariotycznych. Do badań genetycznych korzysta się szczególnie z genów I i II podjednostki *CYTC*. Zdaniem naukowców, podjednostki te ewoluują u wszystkich organizmów w podobny sposób, dlatego też z powodzeniem mogą być wykorzystywane do określania powiązań filogenetycznych u różnych gatunków zwierząt [4, 29].

W badaniu pochodzenia dużą rolę pełni także cytochrom b (*CYTB*). Występowanie u niemal wszystkich organizmów eukariotycznych i prokariotycznych wskazuje na jego wczesne pojawienie się w trakcie ewolucji. W toku procesów ewolucyjnych mutacje w genie cytochromu b następowały rzadko, co pozwala dzisiaj na wykorzystanie go do określania pokrewieństwa filogenetycznego między gatunkami oraz odnajdywania przodków poszczególnych populacji [28, 29]. Sekwencja genu cytochromu b uważana jest za najbardziej konserwatywny region, w którym zmienność w obrębie gatunku jest bardzo niska. Sugeruje się, że może być ona traktowana jako część reprezentatywna dla gatunku. Dodatkowe geny cytochromu b obecne są u niemal wszystkich organizmów. Z tego powodu sekwencja ta wykorzystywana jest do identyfikacji gatunku, gdy pochodzenie badanego materiału biologicznego nie jest znane [18, 29].

Dzięki niewielkim rozmiarom, dość łatwym zadaniem jest analiza całego genomu mitochondrialnego, co w połączeniu z konserwatywnym układem genów umożliwia opracowywanie uniwersalnych starterów amplifikujących różne fragmenty mtDNA u wielu gatunków zwierząt. Taka uniwersalność możliwa jest dzięki temu, że u niektórych gatunków mogą występować sekwencje homologiczne, wykazujące względem siebie bardzo duży stopień podobieństwa, będącego skutkiem pochodzenia od tego samego genu wyjściowego. Na przykład ta sama para uniwersalnych starterów umożliwia amplifikację fragmentu mitochondrialnego cytochromu b co najmniej u 221 różnych gatunków zwierząt, w tym ssaków, ptaków, gadów, płazów i ryb, a uzyskane do tej pory sekwencje są specyficzne gatunkowo [4, 7]. W rezultacie prowadzi to do możliwości odczytania informacji genetycznej danego osobnika bez uprzedniej znajomości sekwencji jego mtDNA. Genom mitochondrialny jest znacznie odporniejszy na degradację i dlatego może być z powodzeniem wykorzystywany do analiz molekularnych, nawet po wielu latach przebywania w niesprzyjających warunkach [24].

Rozwiązaniem mającym na celu określenie sekwencji cytochromu b oraz I podjednostki cytochromu c może być analiza porównawcza gatunków pokrewnych [2, 12, 27]. Realizacja tego zadania możliwa jest dzięki ogólnodostępnym bioinformatycznym bazom danych (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>; DDBJ, <http://www.ddbj.nig.ac.jp/>; EMBL-Bank, <http://www.ebi.ac.uk/embl/>).

Analizy porównawcze *in silico* sekwencji fragmentów mtDNA (*CYTB*, *COI*) rysia z innymi gatunkami należącymi do rodziny koto-watych, wykazały wysoki poziom ortologii (85-95%) sekwencji genów w rodzinie kotowatych (*Felidae*) [2]. Wynika z tego, że poszczególne gatunki kotów choć odległe filogenetycznie, pod względem genetycznym są bardzo podobne. Obserwując stopień podobieństwa między sekwencjami można wnioskować o podobnym pochodzeniu ewolucyjnym [2, 12]. Wyniki badań Boruckiej [2] wskazują, że ryś euroazjatycki (*Lynx lynx*) wykazuje najbliższe spokrewnienie z rysiem kanadyjskim (*Lynx canadensis*). Przyczyną może być fakt, iż tysiące lat temu, gdy dzisiejsza Azja i Ameryka stanowiły jeden kontynent, dochodziło do licznych migracji zwierząt.

Określeniem poziomu zróżnicowania genetycznego i powiązań filogenetycznych między populacjami rysia euroazjatyckiego na obszarze wschodniej i północnej Europy, obejmującym Karpaty, północno-wschodnią Polskę, Ukrainę, Białoruś, Litwę, Finlandię, Skandynawię i Rosję, zajmują się w ostatnich latach Schmidt i wsp. [21]. Badania te pozwolą ustalić, czy europejskie rysie należą do jednej linii filogenetycznej i czy dochodzi między nimi do wymiany genów. Pozwolą także określić wpływ czynników na kształtowanie się obecnej struktury genetycznej populacji.

Badania Randi'ego i wsp. [19], w których porównywano populacje dzikich i udomowionych kotów wskazują, iż markery genetyczne stosowane w badaniach kota domowego mogą być także wykorzystywane do badań populacji kotów dzikich, a także ich powiązań filogenetycznych. Dzięki analizie mtDNA możliwa jest wewnątrzgatunkowa ocena populacji, ustalanie pokrewieństwa między osobnikami jednej populacji, jak również między populacjami tego samego gatunku zasiedlającymi odrębne terytoria [19].

Wykorzystanie markerów molekularnych, jakimi są między innymi sekwencje mitochondrialnego DNA, pozwala na kompleksową analizę struktury genetycznej różnych gatunków zwierząt. Umożliwia jednocześnie monitorowanie zmienności genetycznej, której określenie stanowi ważny element programu ochrony bioróżnorodności [2, 27]. Dostępność genotypów specyficznych gatunkowo powoduje, że są one wykorzystywane w wielu różnych dziedzinach orzecznictwa sądowego dotyczącego ochrony przyrody, z których jedną z najważniejszych jest walka z nielegalnym handlem zagrożonymi zwierzętami i roślinami, a także kłusownictwem [4].

Literatura: 1. Bogdanowicz W., Draber-Mońko A., Malewski T., 2008 – Biologiczna metka – nowe możliwości identyfikacji gatunków. Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa. 2. Borucka M., 2012 – Wykorzystanie genów

CYTB i COI do identyfikacji gatunkowej rysia. Praca inżynierska. UP w Lublinie. **3. Breitenmoser U., Breitenmoser-Wursten C., Okarma H., Kaphegyi T., Kaphegyi U., Muller U.M.**, 2000 – Nature and Environment 112, 1-83. **4. Freeland J.R.**, 2008 – Ekologia molekularna. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa. **5. Garcia-Alaniz N., Naranjo E.J., Mallory F.F.**, 2010 – Tropical Conserv. Sci. 3(4), 403-411. **6. Jędrzejewski W., Nowak S., Schmidt K., Jędrzejewski B.**, 2002 – Kosmos. Problemy nauk biologicznych 51(4), 491-499. **7. Kocher T.D., Thomas W.K., Meyer A., Edwards S.V., Paabo S., Villablanca F.X., Wilson A.C.**, 1989 – Proc. National Academy Sci. USA 86, 6196-6200. **8. Litwińczuk Z.**, 2011 – Ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich i dziko żyjących. PWRiL, Warszawa. **9. Makomaska-Juchiewicz M.**, 2010 – Monitoring gatunków zwierząt. Podręcznik metodyczny (cz. 1). Biblioteka monitoringu środowiska, Warszawa. **10. Mysłajek R.W., Pierużek-Nowak S.**, 2008 – Ryś w zachodniej części Karpat. Stowarzyszenie dla Natury „Wilk”, Twardorzeczka. **11. Nowak S., Mysłajek R.W.**, 2007 – Studia i Materiały Centrum Edukacji Przyrodniczo-Leśnej, z. 2/3 (16), 438-445. **12. Nowak Z., Gruszczyńska J.**, 2007 – Wybrane techniki i metody analizy DNA. Wyd. SGGW, Warszawa. **13. Okarma H., Olszańska A.**, 2004 – Poradniki ochrony siedlisk i gatunków Natura 2000 – podręcznik metodyczny. Ministerstwo Środowiska, Warszawa, t. 6, 395-399. **14. Pilot M., Rutkowski R., Malewska A., Malewski T.**, 2005 – Zastosowanie metod molekularnych w badaniach ekologicznych. Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa. **15. Podgórski T.**, 2006 – Wybiórczość i charakterystyka miejsc odpoczynku

i polowania u rysia euroazjatyckiego (*Lynx lynx*) w Puszczy Białowieskiej. Praca magisterska, Wrocław. **16. Podgórski T., Schmidt K., Kowalczyk R., Gulczyńska A.**, 2008 – Acta Theriol. 53(2), 97-110. **17.** Polska Czerwona Księga Zwierząt – Kręgowce, 2001 – Praca zbiorowa. PWRiL, Warszawa. **18. Prusak B., Grzybowski T., Bednarek J.**, 2005 – Anim. Sci. Pap. Rep. 23(4), 229-236. **19. Randi E., Pierpaoli M., Beaumont M., Ragni B., Sforzi A.**, 2001 – Mol. Biol. Evol. 18(9), 1679-1693. **20. Schmidt K.**, 2008 – Acta Theriol. 53(1), 1-16. **21. Schmidt K., Kowalczyk R., Jędrzejewski W., Okarma H., Ratkiewicz M., Sidorovich V.E., Balčiauskas L.**, 2001 – Ryś (*Lynx lynx*) – Wpływ historii ewolucyjnej i czynników antropogenicznych na strukturę genetyczną populacji. (www.zbs.bialowieza.pl/artukul/346.html). **22. Schmidt K., Podgórski T., Kowalczyk R.**, 2007 – Studia i Materiały Centrum Edukacji Przyrodniczo-Leśnej, z. 2/3 (16), 446-456. **23. Schmidt K., Ratkiewicz M., Konopiński M.K.**, 2011 – Mammal Rev. 41(2), 112-124. **24. Słomski R.**, 2011 – Analiza DNA – teoria i praktyka. Wyd. UP w Poznaniu. **25. Szymczuk R.**, 2004 – Dzikie Życie 7-8 (121-122). **26. Szymczuk R.**, 2004 – Dzikie Życie 5 (119). **27. Ślaska B.**, 2010 – Rozprawy Nauk. UP w Lublinie, nr 348. **28. Ślaska B., Grzybowska-Szatkowska L.**, 2011 – Mitochondrial DNA 22(4), 105-110. **29. Ślaska B., Zięba G., Rozempolska-Rucińska I., Grzybowska-Szatkowska L., Jeżewska-Witkowska G., Prus J.**, 2010 – Annales UMCS XXVIII(4), 44-51. **30. Świątkiewicz P.**, 1999 – Dzikie Życie 3 (57). **31.** Ustawa o ochronie przyrody z dnia 16 kwietnia 2004 (Dz.U. 92, poz. 880). **32.** [www.panda.org/co_robimy/gatunki_glowna/ryś](http://panda.org/co_robimy/gatunki_glowna/ryś)

Biogazownia rolnicza – czy to się opłaca?

Magdalena Szwarz, Wojciech Będkowski,
Adam Kupczyk

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Na obszarach wiejskich szczególnym źródłem energii jest biomasa, wykorzystywana przez spalanie lub fermentację metanową w biogazowniach. Program „Polityka energetyczna Polski do roku 2030” zakłada, że wykorzystanie biomasy będzie podstawowym kierunkiem rozwoju odnawialnych źródeł energii. Zdaniem Ministra Gospodarki, do 2014 roku biomasa pochodzenia rolniczego powinna stanowić 60% ogółu jej wykorzystania [7]. Zainteresowanie produkcją biogazu pociąga za sobą tworzenie programów wsparcia, stymulujących powstawanie nowych inwestycji w tym zakresie. Rada Ministrów przyjmując w lipcu 2010 roku program „Kierunki rozwoju biogazowni rolniczych w Polsce w latach 2010-2020” założyła, iż w tym okresie powstanie przeciętnie jedna rolnicza biogazownia w każdej gminie [2]. Wziąwszy pod uwagę wysoki potencjał energetyczny krajowego rolnictwa, który szacuje się na niemal 5 mln m³ biogazu rocznie, możliwe jest prowadzenie blisko dwóch tysięcy biogazowni. Przepisy nie określają mocy zainstalowanych urządzeń do produkcji biogazu, nie determinują również kierunków jego zagospodarowania – aspekty te są w pełni pozostawione inwestorom [1].

Obecnie w Polsce działa 29 biogazowni rolniczych o łącznej zainstalowanej mocy 33,4 MWe i rocznej wydajności energii elektrycznej 262 026 MWe. Liczba biogazowni wzrasta powoli. Przyczyną tego może być brak funduszy wspierających ich rozwój, ograniczenia co do substratów służących do produkcji biogazu rolniczego, a także protesty przeciwników biogazowni i społeczności lokalnych, spowodowane niewiedzą lub przekazanymi im nieprawidłowymi informacjami.

Jednym z nowych pomysłów mających na celu spopularyzowanie inwestowania w biogazownie rolnicze jest idea stworzenia sze-

regu mikrobiogazowni o mocy 10-20 kWe (zwanymi kontenerowymi), które miałyby pracować w systemie przydomowym. Szacuje się, że w Polsce może z powodzeniem działać około 100 tys. takich biogazowni. Agencja Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa przewidziała specjalne możliwości dotacji do tego rodzaju przedsięwzięć. Problematiczną kwestią jest brak odpowiednich technologii tworzenia przydomowych instalacji, dlatego też inwestycje takie nie są podejmowane [2].

Podejmując decyzję o budowie biogazowni rolniczej, poza uwzględnieniem technologicznych, finansowych i logistycznych aspektów, należy szczególną uwagę zwrócić na możliwości pozyskiwania substratów do produkcji, co nierozdzielnie wiąże się z wyborem lokalizacji zakładu, spełnieniem wymagań formalno-prawnych czy środowiskowych [6].

W myśl definicji biogaz rolniczy jest to paliwo gazowe otrzymane w procesie fermentacji metanowej surowców rolniczych, produktów ubocznych rolnictwa, płynnych lub stałych odchodów zwierzęcych, produktów ubocznych lub pozostałości z przetwórstwa produktów pochodzenia rolniczego lub biomasy leśnej, z wyłączeniem gazu pozyskiwanego z surowców pochodzących z oczyszczalni ścieków oraz składowisk odpadów. W najlepszej sytuacji znajdują się ci producenci, którzy dysponują własnym zapleczem substratowym, pozostali muszą zaplanować drogi ich pozyskania.

Inwestowanie w sektor energetyczny jest ryzykowne, zwłaszcza z uwagi na konieczność poniesienia wysokich kosztów budowy instalacji, natomiast korzyści z eksploatacji są znacznie rozłożone w czasie. Realizacja planu budowy i prowadzenie biogazowni rolniczej poprzedzone są skomplikowanym procesem projektowania i wypełnieniem administracyjnych procedur, m.in. pozwolenie na budowę, decyzja o pozytywnym wpływie na środowisko, wpis do rejestru przedsiębiorstw energetycznych zajmujących się produkcją biogazu rolniczego [3].

Okres eksploatacji biogazowni również wiąże się z ryzykiem; najważniejszym jest możliwa zmiana cen energii elektrycznej i substratów, innym – możliwość nagłego wzrostu kosztu odtworzenia mocy wytwórczej. By właściwie zidentyfikować zagrożenia należy szczegółowo zaplanować łańcuchy dostaw, oszacować realny potencjał energetyczny wykorzystywanych źródeł. Aktualnie popyt na energię z OZE jest duży. Nie można zapomnieć, że przy wroście