

rastvejitev

prvih $1,89341556 \times 10^9$ sekund

Rastvejitev – prvih $1,89341556 \times 10^9$ sekund

Nacionalni inštitut za biologijo 1960–2020

Uredniški odbor: Marina Dermastia, Metka Filipič, Kristina Gruden, Tamara Lah Turnšek, Maja Ravnikar,
Valentina Turk, Meta Virant Doberlet, Marjan Žiberna

Glavna urednica: Marina Dermastia

Izvršni urednik: Marjan Žiberna

Urednik fotografije: Davorin Tome

Besedila: Marjan Žiberna in avtorji

Oblikovanje in prelom: Branka Smodiš

Jezikovni pregled: Tina Vehovec

Elektronska verzija

Založil in izdal: Nacionalni inštitut za biologijo

Zanj: Matjaž Kuntner

Ljubljana, 2020

Brezplačna publikacija

Naslovnica: Proces odpadanja cvetnega peclja paradižnika, presewni elektronski mikroskop, 10.500-kratna povečava.

(Foto: Magda Tušek Žnidarič)

rastvejitev

prvih $1,89341556 \times 10^9$ sekund

Nacionalni inštitut za biologijo 1960–2020

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni
in univerzitetni knjižnici v Ljubljani

COBISS.SI-ID=28555011

ISBN 978-961-94802-3-6 (pdf)

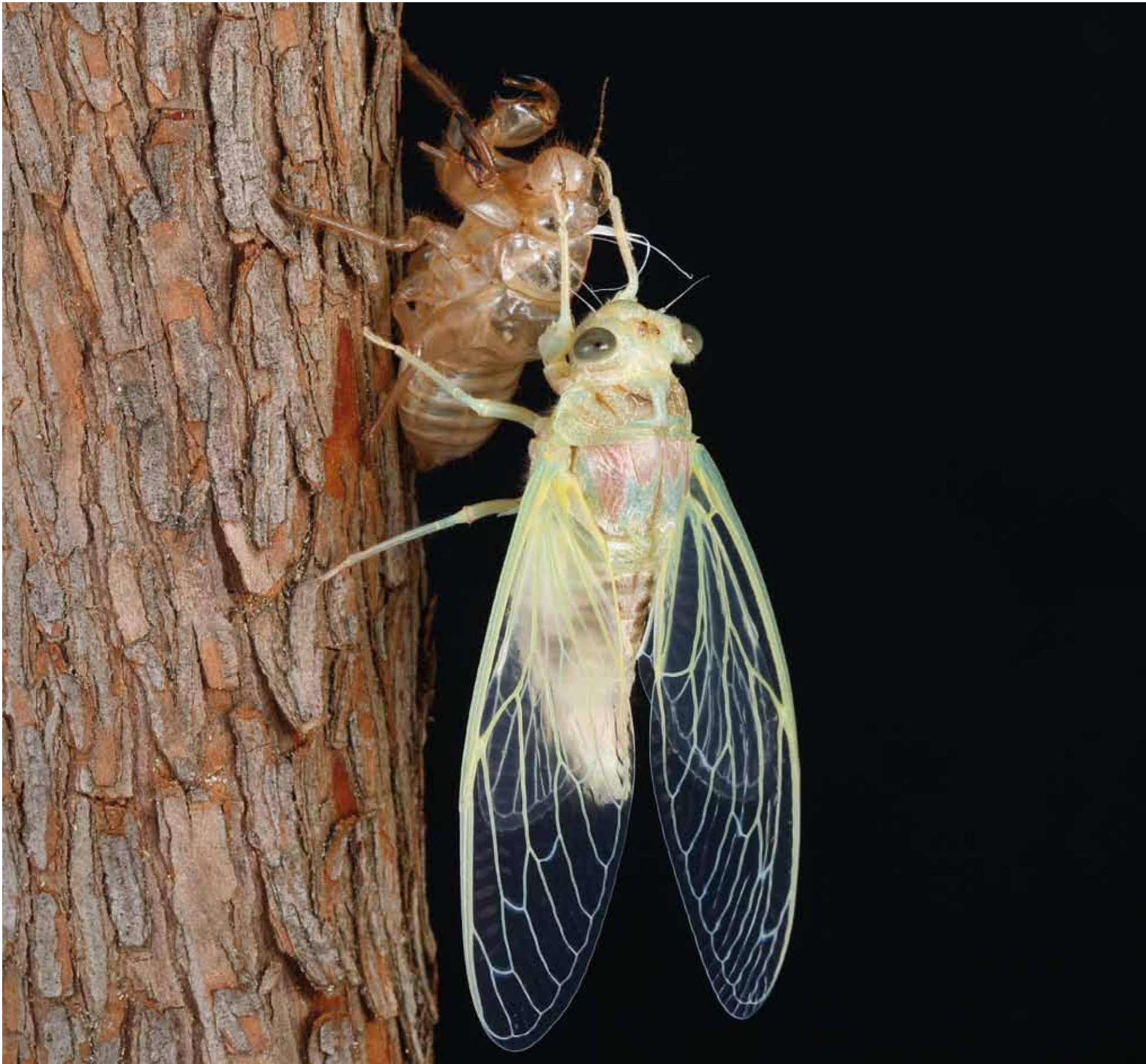




Vsebina

Začetek časa: <i>Marina Dermastia</i>	8
NIB skozi čas: 1960–1996 <i>Andrej Čokl</i> 1996–2020 <i>Tamara Lah Turnšek</i>	10 18
Vse živo	
Širši pogled: <i>Al Vrezec</i>	30
Raznolikost mnenj: Raznoživost okoli nas, <i>Anamarija Žagar</i>	38
Raznolikost mnenj: Slovensko morje, porodnišnica morskih psov, <i>Lovrenc Lipej</i>	46
Raznolikost idej: Virusi: kako se spreminjajo, <i>Denis Kutnjak</i>	54
Kdo bo koga	
Širši pogled: <i>Kristina Gruden</i>	60
Raznolikost mnenj: O krompirjevih virusih, sušnem in slanostnem stresu, cirkadianem ritmu, <i>Maruša Pompe Novak</i>	64
Raznolikost idej: Na sledi za povzročitelji rastlinskih bolezni, <i>Tanja Drevo, Nataša Mehle</i>	72
Raznolikost mnenj: Vibracijska komunikacija žuželk, <i>Jernej Polajnar</i>	78
Raznolikost mnenj: Opraševalci in ekologija opraševanja, <i>Danilo Bevk</i>	86
V eni kaplji vode so vse skrivnosti oceanov	
Širši pogled: <i>Patricija Mozetič</i>	96
Raznolikost mnenj: Severni Jadran skozi oči oceanografa, <i>Vlado Malačič</i>	102
Raznolikost mnenj: Mikrobi v morju, <i>Valentina Turk</i>	110
Raznolikost mnenj: Živi svet podzemnih voda je izpostavljen mikroplastiki, <i>Nataša Mori</i>	118
Raznolikost mnenj: Ocenjevanje ekološkega stanja celinskih voda, <i>Tina Eleršek</i>	126
Raznolikost mnenj: Le slovenska voda je naravno brez okusa, <i>Ion Gutierrez Aguirre</i>	134
Današnja znanost je tehnologija prihodnosti	
Širši pogled: <i>Maja Ravnikar</i>	142
Raznolikost mnenj: Gensko spremenjeni organizmi, <i>Jana Žel</i>	146
Raznolikost mnenj: Preurejanje genoma, <i>Anna Coll Rius</i>	152
Raznolikost idej: Pionirska uporaba 3D celičnih struktur, <i>Bojana Žegura</i>	158
Raznolikost mnenj: Zdravila za gensko terapijo, <i>David Dobnik</i>	164
Raznolikost mnenj: O vsestranski uporabnosti hitrih molekularnih metod, <i>Polona Kogovšek</i>	170
Raznolikost idej: Tudi tumorji poskrbijo za svoje okolje, <i>Metka Novak, Bernarda Majc</i>	176
Raznolikost mnenj: Ostanke citostatikov v okolju, <i>Matjaž Novak</i>	182
Onkraj obzorij: <i>Matjaž Kuntner</i>	190
Korala življenja	
Prilogi: Odkritja in dogodki, ki so zaznamovali biologijo in z njo svet (1960–2020)	194
NIB-ova korala življenja	194

◀ Telo perjaničarja (*Sabella spallanzanii*), ki živi tudi v slovenskem morju, tiči v pokončni, do 40 centimetrov dolgi pergamentni cevki. (Foto: Tihomir Makovec)



” Vselej sem skušal po najboljših močeh upoštevati različnost mnenj raziskovalcev in raznolikost dejavnosti enot Inštituta. Ne glede na različno provenienco in tudi razhajanja sem spodbujal sodelovanje, če je bilo to za vse koristno. Brez sodelovanja znanstvenikov ni šlo ne takrat in ne gre danes. In še eno stvar sem se naučil v časih, ko je bila politika še posebno močna in vplivna – politike in znanosti ne gre nikoli mešati med sabo.

Akad. prof. dr. **Matija Gogala**, direktor NIB-a v letih 1976–1979

◀ Po letih, ki jih nimfa velikega škržada (*Lyristes plebejus*) preživi v tleh, spleza na drevo, kjer zleze iz svoje stare kože. Ko se krila napolnijo s tekočino in nova koža otrdi, je škržad pripravljen za svoje kratko odraslo življenje. To vključuje značilne napeve, ki jim Matija Gogala prisluškuje že več desetletij. (Foto: Davorin Tome)

Začetek časa

» Knjige na izviren način v določenem trenutku zaustavijo čas in nam govorijo: »Ne pozabimo tega!«

Dave Eggers, ameriški pisatelj



▲ Odkrivanje našega edinega sveta je visoko na prednostni listi Marine Dermastia. Njegove biološke skrivnosti razkriva najmlajšim bralcem in tudi zahtevnim recenzentom znanstvenih člankov. (Foto: Tom Turk)

Pred vami je knjiga o rojstvu in prvih šestdesetih letih življenja Nacionalnega inštituta za biologijo. Kako povezati kuščarice, morje, viruse in krompir z gorskimi potoki in trenutno najdražjim zdravilom na svetu je bil velikanski izziv za novinarja in pisatelja Marjana Žiberno. Veseli smo, da ga je sprejel. Zahtevne naloge se je lotil salomonsko – k besedi je povabil kopicu raziskovalk in raziskovalcev Inštituta, ki so v intervjujih spregovorili o stvareh, s katerimi se ukvarjajo. Kar so, drugače kot običajno, napravili v neznanstvenem, splošno razumljivem jeziku. Žiberna pravi, da se je najzahtevnejših tem lotil s preprosto prošnjo – skušajte mi svoje delo predstaviti tako, kot bi ga predstavili radovednemu šestošolcu ... Metoda se je očitno obnesla. Knjiga, ki jo imate pred seboj, najprej kratko odstira zgodovino Inštituta, v nadaljevanju pa prinaša predvsem vpogled v raziskovalne izzive, ki so postali aktualni v zadnjih letih in bodo v prihodnje samo še bolj vznemirjali raziskovalnega duha njegovih sodelavcev.

Povezati raznolike teme knjige z naslovom in oblikovanjem naslovnice je bil dodaten izziv za uredniško ekipo. Ko smo zagledali elektronsko mikrofotografijo plasti, v kateri s stebela odpadajo cvetovi paradiznika, smo si bili edini: grafično čista, abstraktna, biološko pomenska slika, ki bi bila lahko sprejemljiva za vse. In naslovnice ni brez naslova. Običajno imaš najprej naslov in mu iščeš obliko, a

tudi če je pot obratna, ni nič narobe. *Rastvejitev – prvih $1,89341556 \times 10^9$ sekund.* Ko je ta predlog slišal naš glavni pisec, je dejal, da se sliši kot ime novoodkritega kometa v daljni galaksiji. Asociacija se mi je zdela odlična – to je naš Inštitut, zdaj je še v naši Mlečni cesti, a zanj ni meja, saj nenehno *raste in se veji.*

V knjigi boste našli osebne poglede na zgodovino in razvoj Inštituta skozi oči dveh, ki sta ga vodila pred nastopom mandata zadnjega direktorja, skozi oči naših najbolj uveljavljenih raziskovalcev na posameznih področjih, skozi intervjuje in članke mlajših sodelavcev in ne nazadnje, kako vidi Inštitut v prihodnosti sedanji direktor. V njej boste spoznali, kako so bili inštitutski raziskovalci že v davnih 60. letih prejšnjega stoletja povezani s svetovno znanostjo in jo prenašali v svoje raziskave doma. Kako je leta 1996, dve leti po preoblikovanju Inštituta v javni zavod, njegovi evoluciji od raziskovalnega priveska Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete sledila revolucija, ki jo je podčrtalo več kot dvajsetletno delo direktorice prof. dr. Tamare Lah Turnšek, ki je bila v vsaj dveh pogledih prva: prva direktorica in prva oseba v vodstvu Inštituta, ki po svoji osnovni izobrazbi ni bila iz vrst biologov. Bila pa je tudi mednarodna uveljavljena raziskovalka. Z njenim prihodom je Inštitut dobil resničen pospešek, viden predvsem v veliki rasti in razvejitvi raziskovalnih področij ter oddelkov.

Odlična znanost ostaja temelj vsega, kar počnejo raziskovalci Inštituta, in njeni izsledki se odražajo v vse številnejših znanstvenih objavah v najodličnejših znanstvenih revijah. Prav na osnovi takih objav so povabljeni k sodelovanju pri mnogo projektih iz najrazličnejših evropskih shem, čedalje več takih projektov tudi vodijo. Čeprav so bili strokovno delo in uporabne raziskave vedno pomemben del dejavnosti Inštituta, se danes meje med temeljnimi in uporabnimi raziskavami vse bolj brišejo – kar lepo zaokrožuje zadnje poglavje knjige, ki govori o tem, da je današnja znanost tehnologija prihodnosti. Kar je še nedavno veljalo za izrazito področje povsem »temeljnih raziskav«, kot je vibracijska komunikacija žuželk, postaja del smelih načrtov njihove uporabe. S proučevanjem rastlinskih virusov so raziskovalci Inštituta izpopolnili tehnike njihovega čiščenja in koncentriranja do mere, ko izvor virusov ni več pomemben.

Danes lahko čistimo tudi take viruse, ki so del najsodobnejših zdravil na svetovnem trgu, namenjenih za zdravljenje najhujših genetskih bolezni. Podobne izzive raziskovalcem Inštituta predstavlja tudi sledenje toksičnim ostankom zdravil v okolju ali izdelava uporabnih snovi iz nam nadležnih morskih meduz.

Inštitut, ki ima danes 160 zaposlenih, je prerasel v največji neodvisni javni raziskovalni inštitut za vede o življenju v Sloveniji. Pri svojem delu tesno sodeluje s sorodnimi visokošolskimi in raziskovalnimi ustanovami doma in v svetu. Od leta 2003 nekateri naši laboratoriji delujejo skladno s standardom ISO/IEC 17025, leto zatem pa je Inštitut pridobil certifikat ISO 9001. Inštitut je tudi nosilec nacionalnega etalona za področje »množina snovi/bioanalize nukleinskih kislin«, zlasti na področju GSO in mikroorganizmov, ter je od leta 2019 imenovan v konzorcij prvih evropskih referenčnih laboratorijev za viruse, viroide, fitoplazme in bakterije. Glede na vse je seveda prostorska stiska velikanska, a z izgradnjo Biotehnoškega stičišča se bomo leta 2023 z velikim veseljem preselili v nove prostore.

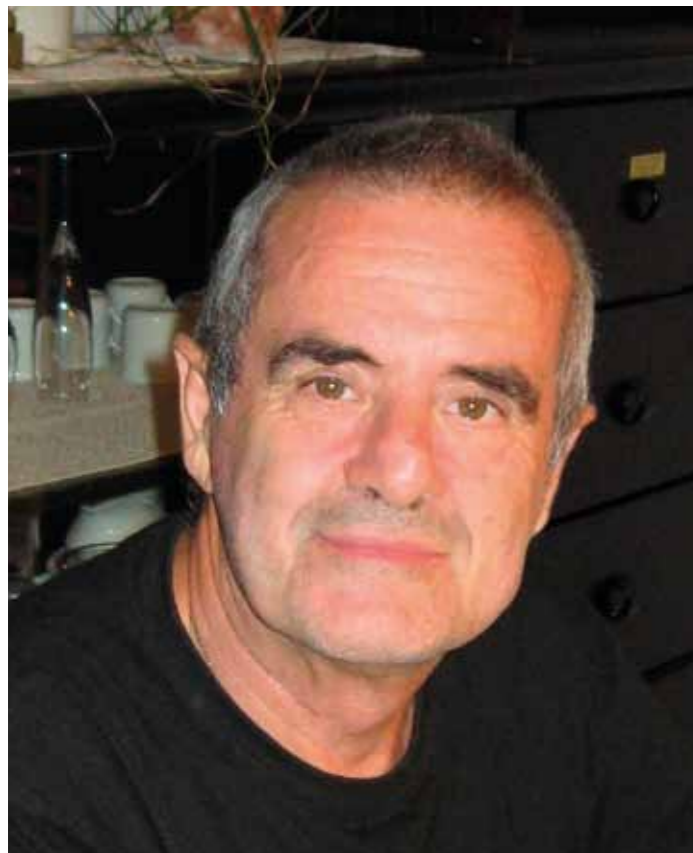
Ponosna in vesela sem, da sem bila v različnih obdobjih Inštituta tudi njegov del. Verjamem, da je njegova prihodnost svetla, in želim mu, kot je v *Benškem trgovcu* zapisal William Shakespeare: Z veseljem in smehom naj pridejo gube časa.

Prof. dr. Marina Dermastia, urednica

NIB skozi čas 1960–1996

ANDREJ ČOKL

» Zadnji korak k potrditvi razvoja Inštituta v samostojno raziskovalno ustanovo je bila njegova statusna pretvorba v javni raziskovalni zavod leta 1994.



Svoj pogled na zgodovino, rojstvo in odraščanje NIB-a posvečam vsem kolegom, prijateljem in sopotnikom na tej poti. Imeli smo cilj in pot do njega. Zahvaljujem se jim v imenu generacije, ki je šla po tej poti – sedanji in prihodnjim generacijam pa ga v blag opomin ter vodilo pri razmišljanju posvečam z večno resnico, da »nič ne nastane iz nič in nič ne izgine v nič«.

◀ Že v 70. letih minulega stoletja so študenti imeli profesorja Andreja Čokla za zgled, kako postati mednarodno priznan biolog. (Foto: Jernej Polajnar)



▲ Spomin na čase sobivanja NIB-a z Oddelkom za biologijo Biotehniške fakultete v tretjem in četrtem nadstropju ljubljanske Filozofske fakultete. (Foto: Davorin Tome)

Vsak pogled nazaj spremljajo osebne izkušnje in spomini na čas, kraj in kontekst dogodkov, ki so skupaj sprožali takšne ali drugačne vedenjske vzorce. Z leti spomini na slabo bledijo, ostaja blag spomin, ki nezavedno postavi dejstva v pišček duhovni okvir. Zato je poglavje o razvoju Inštituta v obdobju 1960–1996 moje videnje dogodkov in procesov, ki so spremljali in vodili ustanovo od njene ustanovitve do pretvorbe v javni raziskovalni zavod ter preselitve v Biološko središče. S tem se je Inštitut za biologijo umestil v slovenski znanstvenoraziskovalni prostor kot močna in avtonomna ustanova z odličnimi kompetencami na različnih temeljnih in mejnih področjih biologije.

Pri nastanku in razvoju Inštituta je imela pomembno vlogo Univerza v Ljubljani, ki je Inštitut s sedežem na Filozofski fakulteti na Aškerčevi cesti 12 ustanovila 29. aprila 1960. Njegov prvi upravnik je

bil prof. dr. Hubert Pehani (1960–1966), nasledila pa sta ga prof. dr. Miran Vardjan (1966–1968) in prof. dr. Franc Sušnik (1968–1976) kot ravnatelja. Sodelavci Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani (v nadaljevanju Oddelka za biologijo) so bili učitelji in mentorji prvih generacij mladih raziskovalcev, ki so se pozneje zaposlili na Inštitutu in prevzemali odgovornost za njegov razvoj. Uvedli so jih v raziskovalno delo in jim s svojimi poznanstvi odpirali možnost usposabljanja in uveljavljanja doma in v tujini. Inštitut je v tem obdobju z nekaj zaposlenimi v administraciji predstavljal možnost večje prožnosti pri izvajanju raziskovalnih projektov Oddelka za biologijo.

Prve zamatke Inštituta kot samostojne in avtonomne znanstvenoraziskovalne ustanove lahko zasledimo leta 1969, ko je bila v Portorožu kot dislocirana enota Inštituta ustanovljena Morska biološka

postaja (MBP). V tem času so začeli zaposlovati prve raziskovalce tudi na Inštitutu v Ljubljani. Pomen MBP-ja za nadaljnji razvoj Inštituta je večplasten. V celotni zgodovini Inštituta je ta skupina predstavljala njegov najtrdnjši temelj; prva je izvajala samostojne inštitutske projekte in na ta način zagotavljala pomemben delež njegove finančne avtonomije. Prva je s svojimi raziskavami prodrla tudi izven meja Slovenije in tako pomembno prispevala k njegovi mednarodni uveljavitvi. S svojim zgle-dom, notranjo organizacijo in razvojem izven neposrednega vpliva okolja v Ljubljani je MBP nehote krepila samozavest tudi ljubljanskega dela Inštituta pri skupni želji po samostojni rasti in razvoju.

Zasluge za ustanovitev MBP-ja je treba v prvi vrsti pripisati prof. dr. Jožetu Štirnu, ki je z veliko truda in sposobnosti znal prepričati strokovno javnost o potrebi po ustanovitvi skupine, ki bi se v Sloveniji ukvarjala z raziskavami morja. Majhno skupino, ki jo je vodil, je sestavljalo šest mladih, ravnokar diplomiranih biologov in štirje tehnični sodelavci.

MBP je začela delovati v vili z lepim vrtom na Sončni poti v Portorožu. Prva leta so raziskave izvajali z najosnovnejšo laboratorijsko in vzorčevalno opremo ter z lesenim čolnom PI-50, ki je še vrsto let omogočal raziskovalno delo na morju. MBP se je v 70. in 80. letih pod vodstvom prof. Štirna in prof. dr. Miroslava Zeia utrdila v svojem okolju kot prepoznavna, kadrovska in strokovno močna pa se je uveljavila tudi v mednarodnem prostoru. Postala je aktivna v medvladnih organizacijah oz. njihovih programih. V tem obdobju so se njeni raziskovalci udeležili tudi več ekspedicij z vojaško raziskovalno ladjo Andrija Mohorovičič, ki je plula po Jadranu vse do severnega dela Jonskega morja. To je bilo tudi obdobje izjemno plodne izobraževalne dejavnosti v okviru mednarodne podiplomske polletne šole s tujimi predavatelji.

Prve raziskave MBP-ja so obsegale popise živalskih in rastlinskih posebnosti slovenskega morja. Raziskave biodiverzitete so še danes ena osrednjih usmeritev dejavnosti ne le MBP-ja, ampak celo-

- ▼ Selitev Morske biološke postaje Piran v prostore opuščene tovarne mila Salvetti na Fornačah. (Foto: arhiv MBP Piran)



- ▲ Staro raziskovalno plovilo Morske biološke postaje Piran, ki je pomenila prve zemetke NIB-a. (Foto: arhiv MBP Piran)

tnega NIB-a. Posebno pozornost so posvečali tudi ekonomsko pomembnim ribjim vrstam v severnem Jadranu. Dejavnost se je širila še na temeljna in aplikativna področja raziskav skladno s kadrovske in vsebinske širitvijo skupine ter potrebami domače in mednarodne strokovne javnosti. Zaradi hitrega razvoja MBP-ja so laboratoriji na Sončni poti kmalu postali premajhni. Leta 1980 se je ob pomoči piranske občine, takratne Raziskovalne skupnosti Slovenije, in delno tudi lastnega vložka preselila v preurejene prostore opuščene tovarne mila Salvetti na Fornačah v Piranu, kjer deluje še danes.

Razvoj ljubljanskega dela Inštituta je bil v prvem obdobju počasnejši. Šele v začetku 70. let so se na njem za določen čas zaposlovali posamezni mladi biologi in se vključevali v raziskovalno delo različnih kateder Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete. V času drugih možnosti zaposlitve so se mladi za Inštitut odločali v veliki meri zaradi zanimanja za raziskovalno delo. Njihov status je bil

negotov, saj je bila zaposlitev vezana na sredstva kratkoročnih projektov. V okviru raziskovalnega dela na Oddelku za biologijo so prvi sodelavci Inštituta magistrirali in doktorirali pod mentorstvom vodij kateder.

Na videz homogene univerzitetne skupine so sestavljali raziskovalci z različnim statusom. Medtem ko so imeli kolegi, zaposleni na Oddelku za biologijo, trdne pogodbe in jasno pot kariernega napredovanja, so bile zaposlitve tistih članov skupin, ki so bili zaposleni na Inštitutu, negotove, časovno omejene in vsebinsko vezane na okvir zanimanja vodje skupine, katerega primarna zadolžitev je bila pedagoško delo. Velika prednost zaposlenih na Inštitutu pa je bil čas, ki jim je omogočal polno predanost raziskavam in poglobljanje znanja v tujini. Tako je poleg že uveljavljene MBP tudi v Ljubljani nastajala prva generacija »inštitutskih« sodelavcev, ki je pozneje prevzela odgovornost za njegov razvoj v avtonomno znanstvenoraziskovalno ustanovo.

Leta 1976 je mesto direktorja Inštituta za tri leta prevzel prof. dr. Matija Gogala. Delovanje Inštituta je bilo še naprej pretežno odvisno od sredstev projektov, katerih odgovorni nosilci so bili zaposleni na Univerzi v Ljubljani. Delitev sredstev med institucijama je sprožala nesporazume, ki so prehajali na osebno raven. Povezanost med sodelavci Inštituta se je krepila, povezanost med institucionalno ločenimi kolegi v okviru univerzitetnih oz. oddelčnih kateder pa krhala. Mnogi sodelavci Inštituta so s svojimi raziskavami doma in v tujini prebili meje usmeritve skupine in so zaradi finančne odvisnosti od sredstev, ki jih je v največji meri prek Inštituta zagotavljal Oddelek za biologijo, težko uveljavljali svoje poglede na vsebino raziskav. To je vodilo v notranjo konkurenco, ki je sprožala nesporazume med upravnimi strukturami obeh ustanov.

S kadrovske širitvijo Inštituta je postajal problem prostorske utesnenosti v Ljubljani in tudi Portorožu vse večji. MBP je leta 1980 to začasno rešila z omenjeno selitvijo v Piran, v Ljubljani pa je delo še vedno potekalo v skrajno utesnenih prostorih Filozofske fakultete na Aškerčevi. To je onemogočalo uvajanje in razvoj novih eksperimentalnih metod, zaradi česar je bilo hitremu razvoju znanosti v svetu težko slediti, posledično pa je bilo težko izpolnjevati pogoje za financiranje projektov. Medtem ko je bil univerzitetni del stabilno financiran, je postajal nadaljnji razvoj projektne financiranega Inštituta vse bolj kritičen.

Konec 70. let je MBP, tedanje jedro Inštituta, začela poleg raziskovalnega programa izvajati prve dolgoročneje monitoringe stanja morja v Tržaškem zalivu. Čedalje tesneje se je povezovala z obmorskimi raziskovalnimi ustanovami na Hrvaškem in v Italiji. Kot prva je začela izvajati mednarodne programe v okviru Sredozemskega akcijskega načrta (Mediterranean Action Plan – MAP) Programa ZN za okolje (UNEP), ki je imel namen nuditi podporo sredozemskim državam pri oceni in nadzoru onesnaženja morja. Pomembno vlogo so pri tem imele tudi druge agencije Združenih narodov, na primer FAO in UNESCO.

V ljubljanskem delu Inštituta se je v tem času večalo število zaposlenih, v okviru kateder za botaniko, zoologijo, primerjalno anatomijo vretenčarjev, antropologijo, fiziologijo rastlin, fiziologijo živali ter

ekologijo rastlin in živali na Oddelku za biologijo so začele nastajati prihodnje inštitutske raziskovalne skupine. Inštitutski sodelavci so se občasno vključevali tudi v pedagoški proces. Tak razvoj je zahteval razmislek o nadaljnji poti. Proces, ki je vodil k večji samostojnosti ustanove, se je začel v prvi polovici 80. let, ko je Inštitut vodil dr. Milan Lovka (1979–1984). Predvsem je bilo treba jasno opredeliti odnose med Oddelkom in Inštitutom za biologijo, ki v tedanji obliki niso imeli perspektive. Na izbiro sta bila bodisi zlitje Inštituta z Univerzo v Ljubljani ali njegova osamosvojitve. Z zadnjo možnostjo so bila povezana številna vprašanja – delitev sredstev projektov, prostorov, lastništvo raziskovalne opreme ... Nesporazumi, sprva omejeni na uprave obeh ustanov, so se prenesli v raziskovalne skupine in pozneje na višjo raven izven ustanov. Kljub temu se vez med sodelavci Oddelka za biologijo in Inštituta ni pretrgala, med njimi je potekala tanka rdeča črta medsebojnega spoštovanja, ki je takrat ni nihče prestopil. Stisnjeni v majhne in neprimerne prostore na Aškerčevi cesti smo bili vsi globoko v sebi biologi, učitelji in njihovi učenci. Ta podzavestna povezava je omogočila uspešno načrtovanje, izgradnjo in poznejše sobivanje v Biološkem središču na Večni poti.

To za obstoj Inštituta kritično obdobje je predstavljalo najpomembnejšo fazo razvoja v smeri samostojne znanstvenoraziskovalne ustanove. Danes se lahko z večjo časovno distanco in izkušnjami, povezanimi z družbenimi spremembami, ki so sledile, vprašamo, ali je bila odločitev za samostojno pot optimalna. Bile so tudi druge možnosti. Smiselna združitev bi po eni strani okrepila položaj biologije, po drugi strani pa bi se razvoj omejil na okvirje Univerze v Ljubljani. Število zaposlenih na Inštitutu je preseгло kritično maso, ki bi jo Oddelek za biologijo še lahko absorbiral. Posledica bi bilo odpuščanje raziskovalcev in drugačne raziskovalne usmeritve. Zato je prevladala zamisel o osamosvojitvi. Žal so razdružitev ustanov v senci prihajajoče ekonomske krize v Jugoslaviji spremljali mnogi nesporazumi med obema ustanovama. V veliki meri se jim je izognila le MBP, ki je gradila svojo avtonomijo in se razvila v najmočnejšo skupino na Inštitutu. V tem času je bila najmočnejši steber, na katerem je Inštitut obstal.

Razvoj Inštituta v drugi polovici 80. let je potekal v zaostrenih pogojih ekonomske in politične krize v



▲ Stavba ne prav spodbudnega videza pod Karlovškim mostom v Ljubljani je pomagala premostiti prostorsko stisko pred selitvijo v nove prostore Biološkega središča. (Foto: Davorin Tome)

Jugoslaviji. Pod vodstvom direktorjev mag. Mitje Grosmana (1984–1988) in podpisanega prof. dr. Andreja Čokla (1988–1996) so se tedaj utrdile predvsem raziskave biologije morja, ekologije, rastlinske genetike ter fiziologije rastlin in živali. Tako se je vzpostavila dolgoletna usmeritev in notranja organizacija Inštituta. Močan kadrovski razmah je bil tudi posledica zaposlovanja mladih raziskovalcev, ki jih je do doktorata financirala Raziskovalna skupnost Slovenije. Mnogi od njih danes prevzemajo odgovornost za nadaljnji razvoj Inštituta.

Kljub postopnemu razdvajanju pa se je še vrsto let obdržala hierarhija odnosov med sodelavci Oddelka za biologijo in Inštituta znotraj skupin s podobno usmeritvijo. Skupine so vodili sodelavci Oddelka za biologijo, ki so bili praviloma tudi odgovorni nosilci projektov, prijavljenih prek Inštituta. Ostali člani skupine, zaposleni na Oddelku za biologijo ali Inštitutu, pa so izvajali programe raziskav teh projektov. Z izjemo sredstev za projekte, ki jih je

vodila in izvajala MBP, so tudi v tem času večino sredstev za delovanje Inštituta zagotavljali projekti, ki so jih vodili univerzitetni sodelavci, izvajali pa v čedalje večjem delu sodelavci Inštituta. Delitev sredstev je bila v težkih razmerah vir nesporazumov in nezaupanja. Želja po popolni odcepitvi in finančni samostojnosti Inštituta je hkrati večala pritisk za njegovo ukinitve in priključitev Univerzi v Ljubljani.

Prostorska stiska na Oddelku za biologijo in Inštitutu, ki sta bila še vedno na Aškerčevi cesti, je tedaj dosegla kritično točko. Z začasnimi lesenimi pregradami so sodelavci obeh ustanov zožili hodnike in dobili nekaj prostora za majhne kabinete in skladišča nujne terenske opreme. Zahtevnejše eksperimentalno delo pa na Aškerčevi ni bilo več mogoče. Zaradi nevzdržnih razmer se je skupina sodelavcev Oddelka za biologijo in Inštituta preselila v zgornje nadstropje bližnje gostilne Lipa. Tam se je razvijala v močno skupino, ki je delovala

na področju ekologije rastlin in sladkih vod. Ideja o gradnji Biološkega središča, kjer bi skupaj delovala Oddelek za biologijo in Inštitut, je vzniknila sredi 80. let. Odločitev je združila obe ustanovi in dolgočasno vplivala na njune medsebojne odnose in razvoj. Da je čez nekaj let na Večni poti gradnja stekla, pa je bilo treba veliko skupnih naporov, sprejemanja kompromisov in dokazovanja, kakšen je resnični pomen biologije kot vede.

Za razvoj Inštituta ni bila nič manj pomembna istočasna odločitev o nakupu, adaptaciji in začasni preselitvi z Aškerčeve v staro stavbo pod Karlovškim mostom. Tja so se poleg uprave preselile skupine, katerih temeljna področja dela so bila citogenetika, fiziologija rastlin in živali ter ekologija sladkih voda. Nekateri sodelavci so ostali še v prostorih nad gostilno Lipa, prav tako pa so ostale sodelavke Inštituta v prostorih Biološke knjižnice. Preselitev Inštituta na Karlovško leta 1988 je bil še zadnji korak k popolni osamosvojitvi, saj je fizična odcepitev dvignila samozavest in zavest o skupni odgovornosti za lastni razvoj. Prostor na Karlovški so omogočili boljše pogoje za eksperimentalno delo in krepili občutek pripadnosti, fizična ločitev pa je pomenila tudi prenos reševanje težav na raven uprav.

Močna inštitucionalna odcepitev Inštituta je pustila globoko sled v odnosih med ustanovama. Inštitut je bil prvič povsem odvisen od lastnih sredstev, ki jih je pridobil z različnimi projekti. Oddelek za biologijo in Inštitut sta si na razpisih konkurirala, vendar pa se vezi niso pretrgale. Skupaj sta odgovorno izpeljala zahtevno gradnjo in sredi 90. let preselitev v novo Biološko središče ob Večni poti, kar je bila najpomembnejša naloga tistega časa. V tem za delo primernem okolju sta se ločeni ustanovi spet zblížali na pedagoškem in raziskovalnem področju.

V tem obdobju se je MBP razvila v eno najmočnejših raziskovalnih skupin ob severnem Jadranu. V obdobju 1990–1993 je sodelovala v dotlej največjem projektu v okviru delovne skupine Alpe Adria. Ta projekt je povezal raziskovalce iz Rovinja, Pirana, Trsta in Benetk z namenom, da bi raziskovali sluzenje morja, enega večjih ekoloških problemov tistega časa. Leta 1994 je ta skupina pridobila prvi evropski projekt iz 4. okvirnega

programa EU, ki je bil sploh prvi tovrstni projekt Inštituta. Sledili so številni mednarodni projekti, ki so omogočili raziskovalno delo, mreženje, pridobitev opreme za operativno oceanografijo in posodobitev visokega šolstva. Omeniti velja še več kot 30 dvostranskih projektov s kolegi iz 12 držav. Pomembna prelomnica za Inštitut je bila tudi ustanovitev infrastrukturnega centra na MBP-ju leta 1995.

Pomemben in zadnji korak k potrditvi razvoja Inštituta v samostojno raziskovalno ustanovo je bila njegova statusna pretvorba v javni raziskovalni zavod leta 1994. Ustanovitelja sta bila Vlada RS in Univerza v Ljubljani. Pretvorba je resda sprožila zahtevne administrativne spremembe, po drugi strani pa je zagotovila stabilnejši razvoj Inštituta in njegovo trdnjše umestitev v sistem raziskovalnih inštitutov v Sloveniji.

Pot do statusnega priznanja je bila dolga, težka in polna nesporazumov. Obdobje razvoja Inštituta konec 80. in v prvi polovici 90. let so zaznamovali hiperinflacija in razpad Jugoslavije, osamosvojitve Slovenije, družbene spremembe in vzpostavitev novih institucij, spremembe organizacijskih in vsebinskih struktur na področju znanosti, hitro menjavanje ministrov za znanost ter ciklične spremembe pri vrednotenju temeljnih in aplikativnih raziskav, ki so v kratkih obdobjih sprožale nihanja usmeritev dela zaradi zagotavljanja finančnih sredstev za obstoj ustanove. Vse to je zahtevalo hitro prilagajanje ter odgovorne in pogumne odločitve, ki so dale temelje za nadaljnji razvoj Inštituta. Kljub vsem težavam pa je bilo to lepo obdobje, zaznamovano z enotnostjo, nesebično medsebojno pomočjo, entuziazmom in občutkom pripadnosti skupni viziji o razvoju lastne ustanove. Bilo nam je težko, a vendar lepo.

Sredi 90. let je raziskovalno delo Inštituta potekalo v okviru petih raziskovalnih skupin na področjih biologije morja, genetike rastlin, ekologije sladkih vod ter fiziologije rastlin in živali. Vse skupine so tesno sodelovale z drugimi ustanovami v domačem in mednarodnem okolju. Vsebine raziskav so nadgradili vse številnejši sodelavci z izobrazbo na področjih kemije, fizike, matematike in drugih ved, zato se je začelo raziskovanje tudi na področjih biotehnologije, biofizike, biokemije. Knjižnica,

ki sta jo skupaj upravljala Oddelek za biologijo in Inštitut, je zagotavljala učinkovito informacijsko podporo.

Bistveni cilji razvoja Inštituta so bili 35 let po njegovi ustanovitvi doseženi. V tem obdobju je deloval v težkih ekonomskih razmerah, prišlo je do osamosvojitve Slovenije, ki so jo spremljale hitre in globoke družbene spremembe, te pa so vplivale tudi na pogoje dela v znanosti. V takih razmerah je Inštitut lahko obstal le kot homogena, piramidalno organizirana in vodena ustanova, v kateri raziskovalne skupine niso bile samostojne ekonomske enote. To je po eni strani zagotavljalo učinkovito vodenje v času, ko je bil obstoj Inštituta kritično ogrožen, po drugi strani pa je dolgoročno v normalnih razmerah dušilo iniciativnost raziskovalcev in skupin. Sledilo je obdobje stabilnejših in predvidljivejših pogojev za raziskovalno delo, zato

je bilo treba spremeniti stare vzorce vodenja, razširiti in profesionalizirati upravo ter utrditi avtonomijo posameznih raziskovalnih skupin.

Na temeljih prvega, 35 let dolgega obdobja razvoja, se je nato nadaljevala rast Inštituta do današnjega dne, ko s ponosom in lepimi spomini proslavljammo njegovih 60 let.

Prof. dr. Andrej Čokl je bil v obdobju 1988–1996 direktor NIB-a.

▼ S preselitvijo v Biološko središče ob Večni poti v Ljubljani so se Inštitutu odprla povsem nova obzorja. (Foto: Davorin Tome)



NIB skozi čas 1996–2020

TAMARA LAH TURNŠEK

»Moje vodilo pri delu je vedno bila misel ameriškega predsednika Franklina Delana Roosevelta: »Naredi, kar moraš, s tistim, kar znaš, tam, kjer si.«



»Iz take smo snovi kot sanje,« je dejal Shakespeare. Jaz pa pravim: Iz take smo snovi kot znanje, ki se ujame v nam neznan splet nevronov in išče nove misli. In ko ujamemo pravo misel – spoznanje, jo umestimo v svoje zanke in udejanjimo v znanstvenem poskusu. Potem znanje lahko okameni in postane stvarnost. Znanje postavimo v nek nov kontekst. Kamenček, morda začasno napačno umeščen v mozaik, a vendar bo prej ali slej v tem mozaiku našel pravo mesto. Ali pa tudi ne. Saj, kje bo naša današnja znanstvena misel jutri, ko bo mozaik našega spoznanja dobil spet drugo podobo – tega ne vemo. Ne vemo, ali nam bo kdaj dano končno spoznanje, saj je eno človeško življenje prekratko – rodimo se in umremo v ne-vedenju!

◀ Inštitut, ki je bil izven bioloških krogov pred tem le malo poznan, je pod vodstvom prof. dr. Tamare Lah Turnšek dobil mesto najprej na slovenskem in nato tudi na svetovnem zemljevidu. (Foto: osebni arhiv)

Lepo je pisati lepe zgodbe s srečnim koncem, a ko sem stopila v zgodovino Nacionalnega inštituta za biologijo (NIB), nisem vedela, kakšen bo ta konec. Čeprav nekateri spomini zbledijo, se drugi skozi zgodovinsko prizmo izostrijo. Nepozaben bo dan, ko sem vstopila v le malo pred tem zgrajene prostore Biološkega središča, kamor se je preselil Inštitut za biologijo, da bi v sosedstvu z Oddelkom za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani začel pisati novo poglavje o (skupni) usodi. Tedaj se je zgodba Inštituta začela prepletati z mojo osebno zgodbo. Vznemirjenje ob prevzemu vodenja Inštituta se je mešalo z občutki tesnobe ob vstopanju v nov svet, svet biologije, ki ga kot biokemičarka nisem prav dobro poznala. Prihajala sem s tedanjega Oddelka za biokemijo Inštituta Jožef Stefan (IJS), kjer je bil prvi biolog, s katerim sem se srečala, prof. Drago Lebez. Vodil me je skozi podiplomski študij in njemu se moram zahvaliti, da mi je vzbudil zanimanje za biologijo. Vendar sem osnovne principe biologije začela razumevati šele v številnih pogovorih z novimi sodelavci na Inštitutu za biologijo.

Radovedna po naravi sem želela z njimi preživeti čim več časa, ne le na sestankih, ampak v naravi, ki so jo proučevali, gozdovih in travnikih, ob gorskih jezerih, rekah in seveda morju. Razumevati sem začela svet orhidej, krompirja in žuželk, jamskih hroščev, stenic in čebel, pa rakov in skrivnostnih sov, kot je viden in razumljiv samo tistim znanstvenikom, ki se poglobljajo v srž življenja. Biološka znanja, oplemenitena s sorodnimi vedami – biokemijo, biofiziko, bioinformatiko, in danes tudi že umetno inteligenco, so temelj novih tehnologij na številnih področjih, na primer farmacevtske biotehnologije in virologije, dolgoročno pa predvsem okoljske biotehnologije. To sem tedaj le slutila, a že od začetka me je obhajal občutek, da vem, kaj mi je storiti za to, da bi postavili biologijo v našem prostoru na njeno pravo mesto – med najboljše med naravoslovnimi vedami. Žal prav ta veda v preteklosti družbeno ni bila prepoznana na tak način. A resnici na ljubo, v začetku 90. let prejšnjega stoletja tudi marsikateri biolog ni razmišljal o biologiji kot znanosti ob boku ali prepletajoči se z atomsko fiziko ali elektroniko ali podjetništvom. Vse to je danes realnost.

Na IJS-ju sem z vmesnimi nekajletnimi bivanji v tujini skoraj dve desetletji pridobivala izkušnje na raziskovalnem in tudi organizacijskem področju. Oblikovala sta me tamkajšnje zelo tekmovalno vzdušje, ki je ciljalo na znanstveno odličnost, in že tedaj, morda celo še bolj kot danes, tesna povezanost znanosti z gospodarstvom na skoraj vseh raziskovalnih področjih; sama sem na primer v 80. letih sodelovala s tovarno Krka. Vse to sem želela prenesti na Inštitut za biologijo. Izkušnje s podoktorskih izpopolnjevanj v ZDA in vodenja Laboratorija za raziskave metastaziranja v Medicinskem centru Albert Einstein v Philadelphii in domače izkušnje, pridobljene ob ustanavljanju Centra za stomatološke raziskave na IJS-ju, so bile dobra potnica tudi v poslovnem smislu. Vodila me je misel Franklina Roosevelta: »Naredi, kar moraš, s tistim, kar znaš, in tam, kjer si!«

Inštitut za biologijo (IB)

Po besedah mojega predhodnika prof. Andreja Čokla leta 1996 IB ni bil več pripet Univerzi v Ljubljani in se je pravkar oblikoval kot enotna in samostojna znanstvena ustanova – javni raziskovalni zavod (JRZ). Raziskovalno delo je potekalo v okviru petih raziskovalnih laboratorijev, med katerimi so bile raziskave naravnega okolja že tedaj rdeča nit. Raziskave biologije morja so potekale na Morski biološki postaji (MBP), raziskave sladkovodnih in kopenskih ekosistemov v Laboratoriju EKO, s površinskimi vodami, školjčiči in algologijo se je ukvarjal Laboratorij za ekotoksikologijo in ekotoksikologijo (EKOTOKS), rastline sta proučevala Laboratorij za fiziologijo rastlin (FITO) in Laboratorij za rastlinsko citogenetiko (CITO), Laboratorij za nevrobiologijo (ENTOMO) pa se je posvečal žuželkam. S prenesenimi projekti z IJS-ja, pridruženo kolegico prof. Metko Filipič in obstoječimi kapacitetami sem ustanovila še Laboratorij za molekularno biologijo in biokemijo (GEN) z namenom krepiti te metodologije tudi na drugih področjih biologije. V tem smo več kot uspeli, saj se danes pristopi genskih tehnologij in tako imenovanih »omik« vraščajo v veliko bioloških raziskav in nas uvrščajo med vodilne na področju sistemske biologije in bioinformatike.

Prva petletka – pozicioniranje in znanstvena politika

Leta 1999 smo se preimenovali v Nacionalni inštitut za biologijo (NIB) z vizijo pokrivati široko področje biologije in se jasno razlikovati od nekaj inštitucij s podobnimi imeni v Sloveniji. Ključni za uspešen razvoj pa sta bila administrativna prenova za učinkovitejšo podporo raziskovalcem in okrepljeno financiranje. Oboje nam je v nekaj letih uspelo doseči. Z izjemo MBP-ja, ki se je v svojem okolju že takrat dobro profilirala, je bil NIB v raziskovalni sferi in javnosti relativno slabo prepoznaven. Za to so obstajali zgodovinski razlogi. Kljub temu da si je NIB v samostojni Sloveniji pridobil enak status JRZ-ja kot Kemijski inštitut in IJS, pa njegovi ustanovitvi leta 1960 ni botrovala politika z jasnimi cilji sodelovanja z gospodarstvom in pospeševanja znanosti na področjih, ki jih je družba v povojnem času potrebovala. NIB je tako kot samorastniški JRZ iskal svoj prostor in si poslanstvo ustvarjal sam.

Kljub pridobljeni avtonomiji in novemu statusu JRZ-ja je od Ministrstva za znanost in tehnologijo (MZT) oz. tedaj ustanovljene Agencije za raziskovalno-razvojno dejavnost (ARRS) dobil le tretjino svojih prihodkov. Prav to pa je NIB krepilo v zavedanju, da mora sam poskrbeti za svoje delovanje. Začetno rast NIB-a je v času, ko večina slovenske raziskovalne sfere o takih projektih ni niti razmišljala, podpiralo presenetljivo veliko mednarodnih projektov, predvsem na MBP-ju in EKO. Raziskovalci MBP-ja so sodelovali že v 4. okvirnem programu EU, NIB-ovci pa so zatem močno zagrizli tudi v 5., 6. in 7. okvirni program EU. Predvsem pa so NIB vseskozi »držale nad vodo« številne strokovno-raziskovalne naloge in manjše naloge za uporabnike, kar žal pomeni tudi hudo razdrobljenost raziskovalnega dela. Jasno je, da taka nestabilnost, ki so jo politiki še celo desetletje zatem ocenjevali kot »stimulacijo za boljšo konkurenčnost in kakovost«, ne vodi v znanstveno odličnost.

O finančni podhranjenosti NIB-a je bilo zato treba vseskozi prepričevati našega ustanovitelja, Vlado RS, kjer pa so se njeni ministri, odgovorni za znanost, od leta 1992 dalje vrstili nič manj pogosto kot danes. Ministri Peter Tancig, Rado Bohinc, Andrej Umek, Alojzij Marinček in Lucija Čok so nas

navsezadnje le prepoznali kot propulzivno ustanovo. Za časa ministra Umeka leta 1999 je MZT umestil prenovu MBP-ja v svoje investicijske načrte in leto zatem smo lahko tudi nabavili večje raziskovalno plovilo, imenovano Sagita. Leta 2004, ko je resorno ministrstvo prevzel Jure Zupan, se je vanj vtihotapilo tudi visoko šolstvo (MVZT). Le-to je hotel minister umestiti kar na inštitute. S tem je zamajal temelje poslanstva JRZ-jev in na drugi strani zaostрил odnose JRZ-jev z univerzami. A tudi dialog med JRZ-ji in resornim ministrstvom je postal vse glasnejši v zahtevi po primernem financiranju, ki je ob prelomu stoletja začelo hitro usihati.

Ustanovili smo KORIS (Koordinacija javnih raziskovalnih zavodov) kot skupinskega sogovornika resornemu ministrstvu in soustvarjalca raziskovalne politike, ki ne sme biti odvisna od trenutno vladajoče politike oz. ideologije. Poudarili smo odlično znanost kot poslanstvo JRZ-jev in osnovo razvojnega dela za gospodarstvo in strokovno sodelovanje z državnimi telesi v izvajanju področnih politik. Ob tem pa naj bi inštituti imeli tudi pomembno vlogo v terciarnem izobraževanju – kjer si še danes prizadevamo za partnersko sodelovanje z univerzami. Poslanstvo JRZ-jev pa je bilo, še posebej ob vstopu v EU, pogosto pod vprašajem in ob menjavah vlad ter pisani politični paleti ministrov, kot so bili Slavko Gaber, Jure Zupan, Gregor Golobič, Žiga Turk, Mojca Kucler Dolinar, Jernej Pikalo, Stanislava Setnikar Cankar, Klavdija Markež, Maja Makovec Brenčič, tema vročega političnega dialoga.

Politični dialogi, ki so bili nujni v prvem obdobju mojega delovanja, mi niso bili tuji. Nasprotno, ves mandat sem, ob zavedanju, da je od tega odvisna tudi usoda raziskovalcev NIB-a, bolj ali manj uspešno poskušala soustvarjati slovensko znanstveno politiko kot predsednica KORIS-a, Sveta za znanost in tehnologijo in Odbora Republike Slovenije za podelitev nagrad in priznanj za izjemne dosežke v znanstvenoraziskovalni in razvojni dejavnosti. Nazadnje, a ne najmanj pomembno, sem si kot večletna predsednica Komisije za enake možnosti žensk v znanosti in visokem šolstvu, osnovani pri Ministrstvu za šolstvo, znanost in šport v času ministrice Čokove, prizadevala vplivati na zavedanje o subtilnih, a lahko usodnih diskriminacijah raziskovalk v naši sferi in tudi na NIB-u. Delo zdaj

nadaljujejo naše raziskovalke tudi v sklopu EU projekta. Kljub temu poudarjam, da danes, ko so na NIB-u raziskovalke v kreпки večini, ne smemo izgubiti prepotrebne ravnotežja med spoloma v raziskovalnih skupinah, saj le različnost v kompleksnem psihofizičnem ravnotežju kot jin-jang privede do sinergij v kreativnem znanstvenem delovanju.

Desetletje rasti in poti do odličnosti

»Razvita znanost je že sama po sebi pogoj za nadaljnji razvoj, podobno kot je bila včasih pismenost. Prav tako naj bo jasno, da je znanost nepogrešljiv del narodne kulture, tiste kulture, ki poleg drugih dejavnikov daje človeškim skupinam značaj narodnosti,« je dejal moj vzornik prof. Milan Osredkar, dolgoletni direktor IJS-ja, ki je prav ob

tem vodilo že v 70. letih prejšnjega stoletja polovico odličnih znanstvenih kapacitet vlagal v razvoj nekaterih ključnih gospodarstev Slovenije. V tej luči je vsaka dilema o temeljnem ali aplikativnem raziskovanju, ki še danes razburja nekatere politike in je bila tudi na NIB-u ob pripravi nove vizije predmet mnogih razprav, popolnoma brezpredmetna. Ob bok vročim razpravam o jeziku v znanosti in bojazni, da bi z izgubo slovenskega jezika izgubili narodnost, pritrjujem prof. Osredkarju, da je za narod še toliko bolj usodna izguba lastne znanosti in znanja.

Ob koncu stoletja smo se organizirali v programske skupine in predlagali šest programov. A že prve evalvacije v letu 2002 so pokazale na šibke točke ocenjevanja, ki nam je tedaj ob izključno domačih recenzentih odneslo poldrugi program. Nekaj let kasneje smo po tako imenovani obvezni

- ▼ Na sejmu EXPO leta 2000 v Hannoveru je slovenska vlada predstavitev osnovnih tematik – varovanja okolja in podnebne spremembe – dodelila NIB-u. Predsednica delegacije je bila prof. dr. Aleksandra Kornhauser (skrajno levo), direktorica NIB-a prof. dr. Tamara Lah Turnšek (v sredini) pa je predstavila okoljevarstveno problematiko z vidika skrbi Inštituta za ohranjanje biodiverzitete ter prizadevanj za razvoj »zelenih« biotehnologij. (Foto: arhiv NIB-a)



»samoevalvaciji«, skupnem razmisleku o viziji in strategiji NIB-a začeli svoje programe smiselno združevati in jih dobro oblikovali v dveh glavnih smereh: v raziskave za varstvo okolja in v razvoj modernih genskih tehnologij, predvsem za raziskave rastlinske in medicinske biotehnologije. V letih 2006–2007 smo kot prvi med JRZ-ji k ocenjevanju NIB-a sami povabili mednarodne eksperte. Skozi prizmo naših zmožnosti na eni strani in dosežkov na drugi so ti jasno in ne ravno pohvalno ocenili tudi splošno stanje v naši raziskovalni politiki in praksi. Ob tem so bili presenečeni nad relativno dobrimi dosežki NIB-a glede na nizko javno vlaganje v znanost.

Skupaj z razvojem NIB-a je bila nujna notranja reorganizacija in tako je najprej prišlo do združevanja laboratorijev v organizacijske enote, ki so se leta 2005 iz »laboratorijev« preimenoval v oddelke. Leto 2006 nam je prvič uspelo zaključiti s presežki in naslednja

»petletka« je bila zaznamovana z rastjo NIB-a v vseh pogledih.

V tem duhu je NIB razvijal znanstveno odličnost do današnje prepoznavnosti in uvrstitve med tri elitne JRZ-je na področju tehnike in naravoslovja v državi s prepletajočimi se poslovnimi povezavami doma in na tujem. Tako se je program »Rastlinska fiziologija in biotehnologija« uvrstil med najboljših 20 skupin v Sloveniji. Zaradi novih usmeritev se je kasneje preimenoval v program »Biotehnologija in sistemska biologija« in se z vpeljavo najsodobnejših tehnologij vključil v center odličnosti »Biotehnologija s farmacijo«, podprt s strukturnimi skladi EU in sredstvi podjetja LEK d. d. Laboratorij za določanje gensko spremenjenih organizmov, ki deluje v okviru programa, je postal prvi mednarodno akreditiran laboratorij na NIB-u. Raziskovalci programa že od leta 1997 izvajajo storitve na večji raziskovalni opremi v okviru instrumentalnega Centra PLANTA.

- ▼ Na temeljih manjše stare stavbe na Fornačah danes stoji sodobno opremljena Morska biološka postaja Piran. Z raziskovanjem, ki prinaša nova spoznanja, prispeva k ohranjanju našega morja in nasploh vseh morskih okolij sveta. (Foto: Tihomir Makovec)



Program »Ekotoksikologija, toksikološka genomika in karcinogeneza« je predstavljal združen program treh prvotnih laboratorijev in se je z novo opremo osredotočil na zaznavanje in delovanje cianobakterij ter njihovih toksinov, na genetsko toksikologijo in iskanje bioloških označevalcev za sodobno klinično diagnostiko raka. Nove slikovne tehnologije so nam omogočale vpogled v matične in rakave celice ter študije napredovane malignosti. Skupina se je tesneje povezala z ljubljansko Medicinsko fakulteto, Univerzitetnim kliničnim centrom in Onkološkim inštitutom. Na drugi strani pa so prve raziskave vpliva okoljskih onesnaževalcev na potencialno karcinogene poškodbe jedrnega materiala posegale na področje varstva okolja in omogočile povezave v mednarodne konzorcije in projekte EU.

K varstvu okolja prispeva predvsem program »Združbe, odnosi in komunikacije v ekosistemih«, v katerem so združene raziskave o biodiverziteti, varstvu okolja, specifičnih ekosistemih ter raziskave žuželk, obogatene s pristopi študije vpliva fizikalnih, trofičnih in informacijskih interakcij na vedenjske vzorce ter podprte s senzoričnimi, ekološkimi in ekofiziološkimi raziskavami. Ta program se je dopolnjeval s programom ekotoksikologije v okoljskih sledenjih, tradicionalno v rekah, visokogorskih jezerih in podzemskih vodah, pa tudi drugih specifičnih sledenjih in proučevanju naravnih habitatov.

Obdobje ob prelomu desetletja je bilo najbolj produktivno za program »Raziskave obalnega morja«, saj je bila v Piranu na Fornačah v letu 2006 dokončno zgrajena prostorna in sodobno opremljena stavba MBP-ja. Dodatna infrastruktura, kot so predavalnice in dormitoriji za gostujoče skupine raziskovalcev, v poletnih mesecih predvsem mednarodne, je omogočila povezovanje raziskav z izobraževanjem. Kmalu po prenovi MBP-ja so skokovito poskočile objave znanstveno odličnih člankov, okrepile so se mednarodne raziskave in v zadnjem času tudi domači projekti. Pomemben doprinos k aplikativnim raziskavam tega programa omogoča tudi instrumentalni center MBP, ki je bil ustanovljen že leta 1999. Pokazalo se je torej, kako pomembni sta infrastruktura in oprema za kakovost raziskav ter inovativnih aplikacij.

Hkrati smo v ljubljanskem delu NIB-a v Biološkem središču kmalu začutili stisko s prostorom. V zadnjih 20 letih smo tako »prizidek« Biološkega središča iz pomožnih prostorov in garaž preurejali in prenavljali v prepotrebne laboratorije, ki pa danes ne vzdržijo več zahtev sodobne biotehnologije. Projekt prenove in posodabljanja »prizidka«, v katerem danes poteka več kot polovica raziskav NIB-a, smo predstavljali že v letih 2010–2011 tedanjemu ministru za znanost Gregorju Golobiču. Po dolgoletnem, vztrajnem in požrtvovalnem prizadevanju za iskanje investicijskih sredstev smo večinoma z lastnimi vložki v marcu 2020 projekt le pripeljali do podpisa dokumenta o financiranju s strani Ministrstva za izobraževanje, znanost in šport in Urada za kohezijsko politiko, čeprav v okrnjeni višini. Na prehojeni poti so nas podpirala priporočila Univerze v Ljubljani, Koordinacije samostojnih raziskovalnih inštitutov Slovenije (KO-sRIS), skupine domačih in tujih ekspertov KEN (Knowledge Economy Network) ter Slovenskega inovacijskega stičišča, ki smo jih prosili za strokovno oceno predlaganega projekta. Bodrila so nas tudi priporočila partnerskih biotehnoških podjetij in farmacevtske firme LEK, ki so utemeljevala učinek sodobno načrtovane infrastrukture na skupne raziskave in razvojne centre, ne nazadnje tudi na možnosti ustanavljanja odcepljenih podjetij, kot je firma Biosistemika, NIB-ov »paradni konj«, ki je izšel iz naših laboratorijev.

Vstop v novo desetletje

Leto 2011 je bilo za NIB v dotedanjem več kot 50-letnem obstoju najuspešnejše. To velja za naše raziskovalne, razvojne, strokovne in pedagoške dejavnosti, predvsem pa za finančno uspešnost, ki bi lahko omogočila osvajanje sodobnih trendov biologije. A žal je že grozila ekonomska kriza, ki je najprej zarezala prav v znanost. Čeprav nam je dokument »Drzna Slovenija 2011–2020«, ki je nastal na pobudo resornega ministra Golobiča, vzbujal optimizem, so bile napovedi za leto 2012 zloglasne. Dokument je bil sprejet v državnem zboru in naj bi bil za vladno obvezujoč. Vizija razvoja visokega šolstva, združena z raziskovalno in inovacijsko strategijo Slovenije (RISS), je na podlagi odlične analize stanja v znanosti in prenosu znanj in tehnologij



▲ Na proslavi 40-letnice, ki jo je NIB praznoval leta 2000 na prostem pred stavbo ob Večni poti v Ljubljani, je bil častni govorec pokojni prof. dr. Miroslav Zei, začetnik morske biologije pri nas in pobudnik ustanovitve Inštituta za biologijo v Ljubljani. (Foto: arhiv NIB-a)

med raziskovalnimi inštitucijami in inovativnimi podjetji v podrobnosti izdelala cilje in ukrepe, ki so Sloveniji obljubljali svetlo prihodnost. Ta ambiciozni program, ki naj bi ga izvajala Ministrstvo za šolstvo, znanost in šport ter Ministrstvo za gospodarstvo, bi nas uvrstil med razvite evropske države z vlaganjem najmanj enega odstotka BDP-ja v znanost. Vse je pogoltnila ekonomska kriza, ki je sledila v naslednjih petih letih. Pravzaprav ne kriza sama, pač pa skrajno nespametna odločitev vladajočih, ki so se na RISS-u poživžgali in prav znanosti odrezali najmanjši kos kruha med vsemi resorji javnega sektorja. Tako je financiranje znanosti, ki je leta 2010 znašalo 0,76 odstotka BDP-ja, do leta 2019 padlo na zgolj 0,33 odstotka. Kot predsednica Sveta za znanost in tehnologijo prav v tem obdobju sem bila priča nerazumljivemu zavračanju pozivov Vladi RS k izpolnjevanju zakonskih obveznosti do strategije RISS-a. Opozarjali smo, da se s takim

ravnanjem le še pogloblja in podaljšuje gospodarska škoda, saj zastaja lastni razvojni potencial, mladi možgani pa bežijo v tujino. Škoda je bila neizmerljiva in nas bo tepla še v prihodnosti.

V uvodu k letnemu poročilu 2013–2014 sem zapisala, da »naj bo torej ta uvod kratko in jasno sporočilo našemu Ministrstvu za izobraževanje, znanost, kulturo in šport, Javni agenciji za raziskovalno dejavnost RS in bralcem glasno opozorilo, da s krčenjem javnih sredstev na področju znanosti in razvoja počasi, a zanesljivo režejo vejo, na kateri sedimo vsi. Še več, taka znanstvenoraziskovalna politika, če se tako sploh še lahko imenuje, je v popolnem nasprotju s politiko razvitih držav Evrope in EU kot celote, ki v času recesije in finančne krize pospešeno vlagajo v znanost, da čim prej poženejo razvoj in gospodarstvo po kriznem obdobju«. In še v uvodu leta 2016, da »smo priča najbolj drastičnemu



▲ Leta 2006 je bil podpisan prvi sporazum o sodelovanju med NIB-om, ki ga je zastopala direktorica prof. dr. Tamara Lah Turnšek (desno), in Univerzo v Ljubljani, ki jo je predstavljala rektorica prof. dr. Andreja Kocijančič (levo). (Foto: arhiv NIB-a)

krčenju raziskovalne dejavnosti v Sloveniji po drugi svetovni vojni, saj smo z vlaganjem državnega denarja v znanost pristali na repu evropskih držav – celo pridruženih članic, med katerimi smo v času pridruževanja EU vodili«. Pokojni akademik Robert Blinc je na vprašanje, ali nas znanost v krizi lahko rešuje, izjavil: »Znanost sama po sebi res ne rešuje nobenih kriz – ne finančne ne ekološke – a brez znanosti se iz nobene krize ne moremo rešiti!«. Ali se bo ob (po)virusni krizi morda le kaj spremenilo?

V času gospodarske krize se je NIB, navajen boja za preživetje, začel močneje povezovati z gospodarstvom in krepiti uporabne potenciale ter poslovne aktivnosti. Poslovni odbor, ki smo ga osnovali že leta 2006 in si je kmalu zatem pridobili standard za poslovanje ISO 9001, je NIB-u omogočal kredibilnejše in učinkovitejše povezave s podjetji. Danes vsakoletne presoje na področju sistema kakovosti delovanja celotnega Inštituta, še posebno laboratorijev, ki izpolnjujejo zahteve standarda SIST EN ISO/IEC 17025 in imajo akreditirane metode za določanje GSO in mikroorganizmov (bakterij, fitoplazem) ter za delovanje laboratorija za

študije mutagenosti skladno z načeli dobre laboratorijske prakse (GLP), vključuje vse raziskovalce, ki so privzeli sistem kakovosti kot nujnost, ki vodi tudi k višji kakovosti temeljnih raziskav. V poslovnem smislu naj izpostavim skoraj ilegalno ustanovitev prej omenjenega podjetja Biosistemika, ki je izšlo iz Oddelka za biotehnologijo in sistemsko biologijo. Pri ustanovitvi smo njegovemu prvemu direktorju, našemu nekdanjemu mlademu raziskovalcu, nudili vso podporo. Podjetje ima po desetih letih obstoja že skoraj 50 zaposlenih in hčerinsko izpostavo v ZDA. S trženjem proizvodov in storitev se na NIB-u sistemsko ukvarja leta 2010 ustanovljena Pisarna za prenos tehnologij. Leta 2017 je skupaj s sorodnimi pisarnami v slovenskem prostoru vstopila v prenovljen konzorcij tovrstnih pisarn. Postala je nepogrešljiva pri dogovorih s partnerji iz gospodarstva za prenos metodologij, ki so bile na NIB-u razvite do stopnje komercializacije. Spodbuja k inovacijam in patentom, izmed katerih nam je na področju ekotoksikologije leta 2019 uspela potrditev v Evropskem patentnem uradu (EPO).

Na področju promocije, kjer je ledino orala MPB, smo ob zavedanju pomena te dejavnosti leta 2007 tudi v Ljubljani ustanovili Promocijski odbor in se načrtno usmerili k učinkovitejšim predstavitev ter sporočanju svojih znanstvenih izsledkov javnosti. Tedaj smo naredili velik preskok v miselnosti raziskovalcev, jih spodbujali h komuniciranju z mediji, s katerimi imamo danes vzpostavljen dober partnerski odnos. Vidnost NIB-a smo širili tudi med politiki in diplomati, ki so nas promovirali in ponekod pomagali vzpostavljati mednarodne povezave. V spominu mi bo ostal obisk predsednika dr. Janeza Drnovška ob otvoritvi prvega dela MBP-ja leta 2004, ki ga je malce zatem obiskal še princ Albert Monaški. V priznanje naši pomembni vlogi v slovenski znanosti so nas ob praznovanju 50-letnice NIB-a poleg ministra za znanost obiskali tudi predsednik države ter predsednika Vlade RS in državnega zbora. Predstavili smo jim igrani

film o okoljevarstvenem poslanstvu NIB-a s pomenljivim naslovom *Kdaj-Kje-Zakaj*, ki je prejel v svojem žanru tudi mednarodne nagrade. Pogosto smo med prejemniki nagrad Slovenske znanstvene fundacije Prometej znanosti in mednarodnih projektov na temo promocije znanosti. Ob vsakoletnih Dnevu odprtih vrat, Dnevu očarljivih rastlin, Noči raziskovalcev, Znanstivalu, Dnevu oceanov sta naši hiši v Piranu in pod Rožnikom prepolni obiskovalcev, še posebno pa smo veseli mladih razvednežev – morda prihodnjih biologov.

Pedagoški odbor, ki je bil ustanovljen leta 2006, je bedel predvsem nad vključevanjem NIB-a v visokošolsko izobraževanje. Poudarim naj, da večina raziskovalcev NIB-a pridobiva akademske nazive s sodelovanjem z različnimi slovenskimi univerzami in visokimi šolami. Med posebne uspehe sodi Sporazum o sodelovanju z Univerzo na Primorskem. V

tem okviru je bil leta 2004 skupaj z Univerzo v Trstu in tamkajšnjim Inštitutom za geofiziko in oceanografijo v Sloveniji vzpostavljen edini tovrstni mednarodni program »Joint Degree of Marine Biology«. Z Univerzo v Novi Gorici sodelujemo v okoljevarstvenih programih in vinogradništvu. Leta 2016 smo osnovali nov program Senzorske tehnologije na Mednarodni podiplomski šoli IJS, ki smo se ji partnersko pridružili tudi v drugih programih. Žal nam nerazumno zakonsko pogojeno ločevanje med institucijami univerzitetne in znanstvenoraziskovalne sfere že leta grenijo tesnejša sodelovanja z univerzami in tudi zastrupljajo odnose med Univerzo v Ljubljani in NIB-om. Pa čeprav sta to le dve strani iste medalje znanja. Na moje veliko zadovoljstvo smo se na pobudo Univerze v Ljubljani odločili presekat ta gordijski vozle nasprotij in leta 2020 pristopili k univerzi kot pridruženi član. Kajti veže nas desetletja dolga skupna pot, ki jo je slikovito opisal moj predhodnik prof. Andrej Čokl, zadnjih 25 let pa tudi skupo bivanje v Biološkem središču.

njegov trajnostni razvoj – za okolje, ki naj ga človeška roka varuje in ne uničuje, globalno in lokalno: naj bela Ljubljana ostane bela (in tudi zelena), naj naše morje ostane modro.

Naj povzamem: na poti, ki jo je doslej prehodil NIB, so bili vzponi in padci, v zadnjem obdobju suhih krav smo se skrčili kar za tretjino, a vedno znova nas je poneslo še višje. Verjamem, da bomo ne le nadomestili izgubo, ampak segli do novih obzorij v znanosti, z izobraževanjem mladih in uresničevanjem smelih poslovnih idej, ki se bodo vraščale v nove ključne gospodarske trende. Tako smo se v letu 2020 s hitro preusmeritvijo nekaterih raziskav odzvali na krizo, ki jo je povzročil koronavirus SARS-CoV-2. Predvsem pa je naš trajni izziv skrb za zdravje narave globalno in v naši deželi.

Ob nedavnem srečanju EuropaBio v evropskem parlamentu je poslovnež Carlo Incerti, generalni direktor firme Genzyme, poudaril, da se »moramo zavedati, da noben drug sektor v znanosti ne obljublja tako velikega prispevka h kakovosti življenja, zmogljivosti in okoljski trajnosti z inovativno tehnologijo kot prav biologija in biotehnologija. A ti hkrati zagotavljata gospodarsko rast z bogatenjem znanj o temeljnih načelih, ki vladajo v naravi okoli nas«.

▼ Leta 2010 je v Prešernovi dvorani SAZU potekal posvet o raziskavah na področju biomedicine in zdravstva. Direktorica NIB-a prof. dr. Tamara Lah Turnšek v pogovoru z zdravnikom akademikom prof. dr. Jožetom Trontljem, predsednikom SAZU. (Foto: arhiv NIB-a)



Novi izzivi

Ker sta skoraj dve tretjini raziskav neposredno ali posredno vezani na okolje, ki ga proučujemo z naravnega, biološkega gledišča, bi se skoraj lahko imenovali »Inštitut za raziskave okolja«. Predvsem sledimo njegovim počasnim in hitrim spremembam, segamo od zgodovinskih odtisov narave do njenih grozilnih signalov v prihodnost. Že več kot pred dvema desetletjema so namreč biologi NIB-a na podlagi svojih opažanj začeli resneje opozarjati na možne oblike globalnih podnebnih sprememb, ki smo jim danes priča. In zapisali, da moramo krivdo za ekološke katastrofe iskati v nas samih, v samozaverovanosti in egocentričnem vedenju – antropocentrizmu, v nagonu človeka po samoohranitvi in moči, ki žene posameznike, narode, politike in gospodarstvenike v osvajanju prostora ne glede na posledice. Naloga znanstvenikov, biologov pa je, da opozarjajo na neobhodnost sožitja vsega – žive in nežive narave. Zavedati se moramo, da travniki in gozdovi, živali in rastline, reke in oceani niso tu zaradi nas, a brez njih tudi nas ne bo več. Še več, biologi na NIB-u ponujamo in predlagamo rešitve za ohranjanje zdravega okolja ter

Prof. dr. Tamara Lah Turnšek je bila v obdobju 1996–2018 direktorica NIB-a.



Vse živo

” To je ta razpon biodiverzitete,
za katerega moramo skrbeti,
za vse – ne le za eno ali dve zvezdi.

David Attenborough, angleški naravoslovec
in avtor dokumentarnih filmov

◀ Koliko dreves! A že eno samo je dom ali le prostor, v katerem se najde hrana za neskončno število mikroskopsko majhnih in velikih organizmov. (Foto: Miha Krofel)



▲ Vsakemu terenskemu biologu pride na njegovi raziskovalni poti nasproti vrsta, ki mu odpre vrata v neznan svet naravnih pojavov in biodiverzitete – raziskovalni vodič Ala Vrezca je kozača (*Strix uralensis*). (Foto: Pertti Saurola)

AL VREZEC

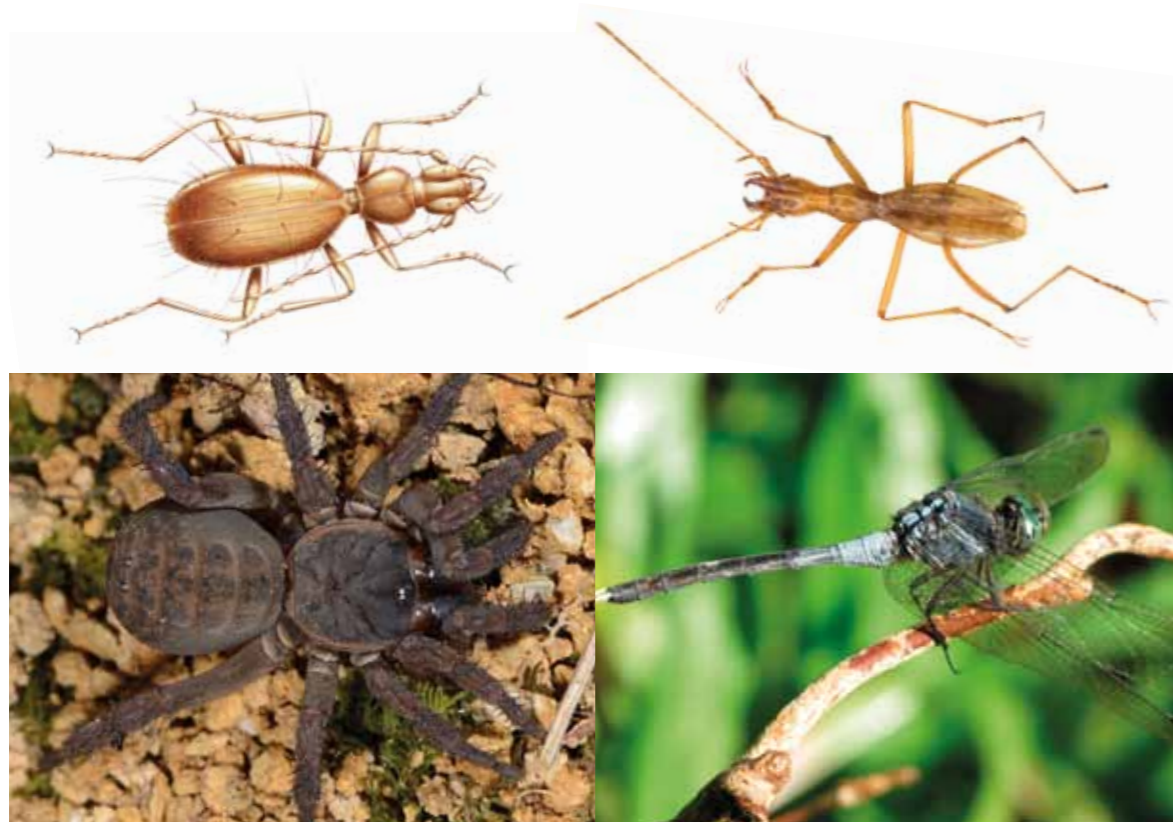
» **Naravo je potrebno varovati za človeka in če je potrebno, zato da se ohrani, tudi proti človeku.**

Andrej O. Župančič, slovenski patofiziolog, antropolog in akademik

Ko je imel Nacionalni inštitut za biologijo 30 let, jaz pa približno pol toliko, sem se z njim srečal prvič. Takrat v vlogi nadobudnega srednješolskega raziskovalca, ki je pred komisijo uglednih raziskovalcev, samih NIB-ovcev, dr. Antona Brancija, dr. Mihaela Briclja in dr. Marine Dermastie, na državnem tekmovanju predstavljal svojo raziskovalno nalogo. Srečanje ni bilo naključno, saj se NIB-ovi strokovnjaki ob raziskovalnem delu veliko posvečajo tudi prenosu znanja o biodiverziteti in njeni vlogi na vseh ravneh izobraževanja, od osnovnih pa do visokih šol, in tudi izobraževanju splošne javnosti. Kot entuziastičnega opazovalca narave me je že od malih nog prevzemala pestrost življenja. Sprva kot pojavna fascinacija sama, že kmalu pa v duhu Linnejevske klasifikacije, kjer vsaka vrsta nosi svoje ime in s tem obstoj v ljudskem umu. Vrsta, ki ni poimenovana in znanstveno opisana, za ljudi sploh ne obstaja, česar se je že v 18. stoletju zavedal sloviti idrijski naravoslovec Joannes A. Scopoli (1723–1788), začetnik znanstvenih raziskav biodiverzitete Slovenije. Presenetljivo pa je le-ta tako razsežna, da še danes, po 250 letih, Scopolijevo popisovanje kranjske favne in flore ni končano.

Ob NIB-ovi 40-letnici sem postal mladi raziskovalec. Osebna strast po odkrivanju narave in biodiverzitete se je spremenila v profesionalno zadolžitev. Takrat sem ugotovil, da znanstvenoraziskovalno delo ni poklic, ampak način življenja. Na moji poti v hram modrosti so me po harry-potterjevsko spremljale sove, v nočno mističnost zamolklih glasov zaviti končni plenilci v ekosistemu. Te glasove sem »prevajal« v znanstvene članke, sove pa so mi ob tem odpirale vrata v kompleksni svet odnosov med vrstami, ki določajo, kdo in kako bo v danem ekosistemu preživel. Dokaj kruta darwinovska igra naravnega odbiranja vodi evolucijski razvoj vrst, zaradi katerega so do danes preživeli le zmagovalci in zaradi katerega se narava nenehno spreminja. Že starogrški filozof Heraklit Mračni je rekel, da v isto reko ne moreš stopiti dvakrat, a to velja tudi za travnik, gozd ali morje.

Na področju beleženja okoljskih sprememb, zlasti sprememb v biodiverziteti, je NIB oral ledino. Čeprav monitoring sam po sebi še ni znanost, pa daje znanosti in družbi ključne informacije o tem, kaj se z biodiverzitetijo dogaja in predvsem, kar je najpomembnejše, zamenjuje anekdotično paberkojanje



▲ NIB-ov prispevek k odkrivanju biodiverzitete so taksoni, ki so jih prvič za znanost opisali raziskovalci NIB-a, na primer: jamski hrošč *Anophthalmus pretneri ceji* Vrezec, 2001 (zgoraj levo); jamski hrošč *Petraphaenops unguiculatus* Delič, Kapla & Colla, 2019 (zgoraj desno); pajek *Heptathela sumiyo* Xu, Ono, Kuntner, Liu & Li, 2019 (spodaj levo); kačji pastir *Orthetrum andamanicum* Bedjanič, Kalkman & Subramanian, 2020 (spodaj desno). (Ilustracija: Žarko Vrezec, foto: Andrej Kapla, Xin Xu, Matjaž Bedjanič)

z nepristranskimi podatki. V tem smislu so bile pionirske raziskave dr. Davorina Tometa o soodvisnosti plenilske male uharice (*Asio otus*) od njenega plena, voluharic. Te niso razkrile le dobro poznanega fenomena, da je število plenilcev odvisno od števila njihovega plena in ne obratno, pač pa, da se ekosistem Ljubljanskega barja spreminja s silovito hitrostjo. Eden zadnjih, ki je naravo Ljubljanskega barja proučeval pred začetkom izsuševanja, ko je bilo le-to še prvobitni »morost«, je bil v 18. stoletju Scopoli. Tome pa je bil eden prvih, ki je s svojim dolgoročnim zbiranjem podatkov ugotovil, da so posledice izsuševanja in izrabe barjanske zemlje za edinstveno barjansko biodiverzitetno usodne. Sam sem pod njegovim vplivom temu dodal še monitoring gozdne biodiverzitete. Zapomnimo si štiri vrste: plenilsko sovo kozačo (*Strix uralensis*), vsejedo rumenogrlo miš (*Apodemus flavicollis*), žuškojedega vrbjega kovačka (*Phylloscopus collybita*) in hrošča pokača

(*Aptinus bombardia*). V letih mojih NIB-ovskih začetkov so bile vse štiri vrste v gozdovih krimskega pobočja dokaj številne, a kako se je njihova populacijska usoda razpletla do NIB-ove 60-letnice, bomo videli kasneje.

Spoznanje o šestem, antropocenskem izumiranju vrst je prineslo spremembe na družbenem in raziskovalnem področju. Prelomnici sta bili evropski naravovarstveni direktivi, Ptičja in Habitatna direktiva, ki sta v državah članicah zakoličili omrežje najvrednejših koščkov evropske narave, omrežje Natura 2000. Omrežje je bilo osmišljeno na osnovi »jagodnega izbora« vrst evropskega varstvenega pomena, za katere je bilo treba vzpostaviti varstvene ukrepe in seveda monitoring. Država je z Ministrstvom za okolje in prostor odprla povsem novo polje raziskav, ki so se lotevale vrst, o katerih nihče pri nas in v Evropi pravzaprav ni vedel prav dosti. To za raziskovalca sicer ni težava, prej izziv, pri katerem se je treba zanašati na

lastno intuicijo in ustvarjalnost, četudi v jeziku matematike in eksaktno zbranih podatkov. Za primer si vzemimo eno od vrst evropskega varstvenega pomena, škrlatnega kukuja (*Cucujus cinnaberinus*). Vrsto je pred več kot 250 leti kot prvi iz naših krajev opisal prav Scopoli. Kasneje so našli še kakšne tri primerke, ki so se porazgubili v muzejskih zbirkah, in nič več. Raziskovalni vrelec pa je bil zaradi spodobnih finančnih spodbud doma in na tujem tako silovit, da je iz popolnoma nepoznanega hrošča naredil ključno indikatorsko vrsto, povezano z odmrlo lesno maso. Izkazalo se je, da je škrlatni kuku ne le dokaj številen, pač pa tudi vrsta z jasnim trendom širjenja, kar je posledica človeškega razsipniškega sajenja hitro rastočih in odmirajočih topolovih nasadov ter invazivnega divjanja tujerodne robinije (*Robinia pseudoacacia*). Še en dokaz o spreminjanju ekosistemov, ki ob srečnem razpletu naključij celo človeško poseganje v okolje spremeni v vsaj kratkoročno zgodbo o uspehu.

Ob NIB-ovi polstoletnici se je svet že jasno zavedal, kako daleč je človeški rod zavozil s pretečimi podnebnimi spremembami in nekajkrat pomnoženo hitrostjo izumiranja vrst. Smela evropska biodiverzitetna strategija o ustavitvi upadanja biodiverzitete in propadanja ekosistemov v Evropi, ki jo je sprožil prav slovenski komisar Janez Potočnik, se je na koncu izkazala za preveč ambiciozna, a je kljub temu globoko zaorala v biodiverzitetne in ekosistemske raziskave. Na površje so priplavala odkritja o velikih upadih žuželk. Ob tem je še bolj strašljivo dejstvo, da ob teh trendih izgubljam tudi biodiverzitetno, ki je sploh še ne poznamo. Denimo, za napeve drobnih travniških škrtatkov (*Aphrodes*) so naša ušesa gluha in jih je mogoče zaznati le s posebnimi laserskimi vibrometri. Ob reki Dragonji je dr. Meta Virant Doberlet s sodelavci ravno s takim laserskim prisluškovanjem odkrila še nepoznano vrsto, ki je z zdaj veljavnimi metodami odkrivanja novih vrst s pojavnimi ali genetskim

▼ Šele intenzivnejše raziskave in monitoring v Sloveniji opisanega škrlatnega kukuja (*Cucujus cinnaberinus*), vrste evropskega varstvenega pomena, so pokazali na lokalno veliko številčnost te za odmrlo lesno maso indikatorske vrste. (Foto: Davorin Tome)



ustrojem sploh ni mogoče zaznati. To pa je gotovo le vrh neosvojene ledene gore, ki se pod vplivom podnebnega segrevanja nezadržno topi. Težava je, da s tem izginjajo tudi nekatere žuželke, ki so neobhodne celo za človeško dobrobit, denimo oprasevalci. Zanašanje na zgolj gojeno medonosno čebelo (*Apis mellifera*) se je pri oprasevanju izkazalo za slepo ulico, saj se o zanesljivosti oprasevanja le-te ob sočasnem oprasevanju divjih oprasevalcev do nedavnega ni spraševal nihče – dokler ni dr. Danilo Bevk opozoril, da so začeli čmrlji in čebele samotarko preprosto izginjati.

Zakaj vrste izumirajo? Ravno zaradi tega vprašanja, ki ni več zgolj zamisliva tuhtajočega in vase zadržega znanstvenika, pač pa globalni družbeni problem, se v ekoloških raziskavah čedalje pogosteje sprašujemo, zakaj določene vrste nekje ni, kot zakaj je. Preživetje vrste v okolju je odvisno od kompleksnega sovpliva neživih in živih dejavnikov, zato vrsta nikoli ne more izkoristiti svojega celotnega potenciala, čeprav bi ga lahko, če bi se nekaj

v okolju spremenilo. Kako to ugotoviti? Odgovor se morda skriva v inovativnem ekofiziološkem pristopu laboratorijskega merjenja metabolizma organizmov, ki ga je začela razvijati dr. Tatjana Simčič. Zdaj vemo, da so površinske (*Gammarus fossarum*) in jamske postranice (*Niphargus stygius*) ne le po videzu, temveč tudi fiziološko različne, in da bi bilo preživetje prvih zaradi potratne izrabe okoljskih virov v prehransko revnem podzemeljskem okolju nemogoče.

Okoljski pritiski naravnega odbiranja pa so se izkazali celo za tako velike, da se v evlucijskem iskanju najučinkovitejših in konkurenčnih načinov metabolizma narava ne ozira na predhodne zgodovinske sorodstvene vezi. Tako imajo denimo organizmi, ki živijo na višjih nadmorskih višinah, drugačno metabolno strategijo izrabe energije v relativno kratkem, metabolno ugodnem sezonskem oknu, kot nižinske vrste, vajene manj ostrih razmer. In to, kot je ugotovila dr. Anamarija Žagar s sodelavci, ne glede na to, ali govorimo o plazilcih, dvoživkah

ali hroščih. Vendar pa se ob podnebnih spremembah metabolno ugodna sezonska okna na višinah naglo širijo. Za prilagajanje ni časa! Čas je za beg, saj je prodor konkurenčnejših nižinskih vrst hitrejši od evlucijskih procesov, ki v tem primeru nekdanje višinske zmagovalce spreminjajo v podnebne poražence.

Vrste moramo danes gledati v globalnem prostorskem kontekstu. Lokalne ekološke študije zamenjujejo kontinentalne študije, ki povezujejo raziskovalce in z njimi ekosisteme. Mednarodna povezovanja so vse bolj ključna pri doseganju odmevnih znanstvenih rezultatov, česar se zavedajo tudi evropske integracije s t. i. projekti znanstvenega mreženja. Pri enem od njih, ki ga je nedavno financirala Evropska znanstvena fundacija, smo se ukvarjali s plenilskimi pticami in vplivi onesnaževal nanje. V skupnih razpravah o istih vrstah so na dan prišla spoznanja, da različni raziskovalci vidi-

mo iste vrste popolnoma drugače preprosto zato, ker se splošne prilagoditvene zmožnosti vrst razblinijo v lokalnih posebnostih. Kozača je denimo borealni plenilec malih sesalcev, ki pa na jugu naseljuje predvsem gorske mešane gozdove. Medtem ko se naše kozače zanašajo na poletno in jesensko gostijo s polhi (*Glis glis*), je bilo nenavadno opazovati, kako v finski tajgi tamkajšnje kozače čakajo na velikanske, kot kunec velike voluharje (*Arvicola amphibius*). Še bolj nenavadna pa je bila izkušnja prof. Perttija Saurole z Univerze v Helsinkih, ko je obiskal naše gozdove in mu je pot prekrizala popolnoma črna melanistična kozača, ki je v svoji skoraj 50-letni študiji vrste na Finskem še nikoli ni videl. Ob tem je prostodušno pripomnil: »Here you have everything in black version too, black ural owl, black dormouse and black proteus!« Zakaj imamo pri nas vse tudi v črni različici – črno kozačo, črnega polha, črno človeško ribico – ostaja še vedno neodgovorjen znanstveni izziv.

- ▼ Ekološki potenciali vrst se v naravi zaradi okoljskih omejitev težko odrazijo v celoti, zato jih je lažje izmeriti v laboratoriju, denimo z ekofiziološkimi pristopi merjenja metabolnega potenciala. (Foto: Tatjana Simčič)



- ▼ Mednarodno sodelovanje postavlja raziskave v globalni prostorski kontekst, raziskovalcem pa razkriva širšo sliko biologije vrst, denimo kozače (*Strix uralensis*) iz zmernih gozdov Slovenije in borealnih gozdov Finske. Na fotografiji Al Vrezec s finsko eminenco na področju raziskav sov prof. Perttijem Saurolo. (Foto: Petra Vrh Vrezec)





▲ Antropocen je s seboj prinesel ekosistemске spremembe, ob katerih nekatere vrste izumirajo, druge, na primer uhati klobučnjaki (*Aurelia aurita*), pa se v slovenskem morju pojavljajo v pravih populacijskih eksplozijah. (Foto: Tihomir Makovec)

Danes, ob 60-letnici NIB-a, zremo v dokaj negotovo prihodnost. Podnebne in druge globalne ekosistemске spremembe so se počasi začele odražati ne le v upadanju nikdar vidnih vrst, pač pa kažejo učinke tudi na nas samih. Odkrivanje lastnosti potencialov vrst ima zato še drugo razsežnost, ki presega še tako črne podnebne scenarije. Medcelinske meje med oddaljenimi ekosistemi, ki so jih nekoč povezovale le v milijonu let evoluirane selitvene poti ptic in redkih ostalih vrst, so hitro padle ob tehnološko brezobzirnem vrvenju človeške vrste. Kako intenzivno je to vrvenje, smo bili priča ob eksplozivnem širjenju koronavirusa SARS-CoV-2, ki je v le nekaj mesecih zajel celoten planet. Danes ni prav nič nenavadnega, če na domačem vrtu opazimo celo kopico azijskih, avstralskih, afriških in ameriških vrst, vrst, ki v naš evropski ekosistem ne sodijo. Pa vendar so tu in bodo tu verjetno tudi ostale, ob tem pa z obličja slovenske in globalne Zemlje za vedno izbrisale nekatere domorodne

specialiste. Za razumevanje, kako hitra sta lahko prenos in širjenje tujerodnih vrst, je morda pomemben predvsem primer potočnih rakov. Leta 2000, ob NIB-ovi 40-letnici, so naše vode poseljevale le tri domorodne vrste, deset let pozneje sta se jim pridružili že dve tujerodni vrsti, danes, ob 60-letnici, pa je bilo pri nas zabeleženih že šest tujerodnih vrst potočnih rakov!

Kako pa je z našimi vrstami? Vrnimo se na štiri prej omenjene gozdne vrste. Kozača in njen plen, rumenogrla miš, sta v velikem porastu, hrošč pokač in žužkojedi vrbji kovaček pa vztrajno upadata. Nestabilnost ekosistemov se zaradi podnebnih in lokalnih vplivov, denimo povečevanja izkoriščanja naravnih virov in drobljenja življenjskih prostorov, povečuje. V določenem trenutku nekatere vrste lahko v večji meri izkoristijo svoje potenciale in se razbohotijo, kar za druge pomeni pogubo, skupen rezultat pa je upadanje biodiverzitete.

Naš dvajsetletni vpogled v populacijsko dinamiko vrst v gozdnem ekosistemu pa je le delček dolgotrajnega procesa sprememb v ekosistemu, ki smo ga z vsakoletnim monitoringom uspeli zaznati in preliti na ta papir. Že pred 20 leti so bile nekatere vrste v zadnjih vzdihljajih in smo jih zabeležili še zadnji hip, danes pa o njih ni več ne duha in ne sluha. Takšen je tudi debeloglavi krešič (*Carabus irregularis*), ki pospešeno izginja iz evropskih gozdov. Je le ena od antropocenskih žrtev. Samo med velikimi krešiči rodu *Carabus* v Sloveniji je v svoji zgodovinski analizi NIB-ova mlada raziskovalka Urška Ratajč pri 70 odstotkih vrst ugotovila lokalna izumrtja, vsaj dve vrsti pa sta na tleh Slovenije že v celoti izumrli. Nič drugače ni v drugih ekosistemih. Dr. Martina Orlando Bonaca s sodelavci po eni strani ugotavlja postopno izginjanje endemičnega jadranskega bračiča (*Fucus virsoides*) v morju, po drugi strani pa dr. Alenka Malej s sodelavci poroča o vse številnejših in rednih populacijskih izbruhih uhatega klobučnjaka (*Aurelia aurita*) in drugih meduz. Na eni strani se torej soočamo z izumiranjem, na drugi pa z ekspanzijo.

Stanje biodiverzitete, ki se iz desetletja v desetletje vse bolj spreminja, postaja kritično. Več uglednih svetovnih znanstvenikov že opozarja, da ljudje, ki smo sprožili obdobje šestega izumiranja, lahko tudi sami postanemo ena od žrtev. Pisateljica Elizabeth Kolbert, prejemnica Pulitzerjeve nagrade, nam ponuja dve možnosti. Prva je, da bomo zaradi preoblikovanja ekološke krajine izumrli tudi sami. Druga pa, da nas bo genialnost, s katero smo sprožili to ekološko katastrofo, pred njo tudi rešila. In to genialnost posestljajo predvsem znanost in raziskave, ki morajo hočeš nočeš postati temelj političnega odločanja, družbenega razvoja in dolgoročnega preživetja človeka kot vrste. V nasprotnem primeru nam ostane le še prva možnost – da se kot vrsta razblinimo v geološko preteklost.

Doc. dr. Al Vrezec je višji znanstveni sodelavec Oddelka za raziskave organizmov in ekosistemov na NIB-u.



▲ Znanost je ustvarjalno delo, zato Al Vrezec rad skoči po navdih v umetnost, natančneje v glasbo. Kot najbolj matematična umetnost je blizu številnim naravoslovcem. (Foto: Niko Samsa)

Raznoživost okoli nas



Posledice človekovega delovanja, vključno s podnebnimi spremembami, imajo močan vpliv na zmanjševanje biodiverzitete. Rastlinske in živalske vrste danes izumirajo tako hitro, da govorimo o šestem velikem izumiranju. Tudi Slovenija v tem pogledu ni in ne bo nobena izjema. Na nekatera vprašanja v zvezi s tem odgovarja dr. Anamarija Žagar. V času priprave doktorske disertacije se je posvetila raziskovanju hladnokrvnih živali (kuščaric, dvoživk in hroščev) in njihovih najmanj poznanih življenjskih lastnosti, kot sta uravnavanje temperature in presnova. Po doktoratu se je usmerila v proučevanje vplivov napovedanih podnebnih sprememb na presnovo nekaterih živali, pri čemer sodeluje tudi z raziskovalci iz Nemčije, Španije in Portugalske.

◀ Anamarija Žagar – od inovacij pri znanstvenih raziskavah ali kuharskih receptih je odvisen končni rezultat. (Foto: Daniela Vlačič)



▲ Dinarski gozdovi skrivajo bogato življenje, a so vse prej kot neobčutljivi za človeške vplive. (Foto: Miha Krofel)

O zmanjševanju biodiverzitete je zelo veliko govora. K temu nedvomno veliko prispevajo različni dejavniki, večinoma povezani s človekovim delovanjem. Kateri so glavni?

► Naj za začetek povem, da se pod pojmom biodiverziteta, ki v ušesih mnogih zveni kot čudna tujka, skriva nekaj zelo preprostega. Nekaj, kar smo še ne dolgo nazaj, ko sem bila jaz v osnovni šoli, imenovali živa narava. Marjana Hönigsfeld Adamič, kolegica pri projektu LIFE Naturaviva, s katerim se trudimo pojem biodiverziteta približati splošni javnosti, je skovala bolj opisno slovensko besedo – raznoživost. Malce bolj abstraktno jo opisuje tudi naš naslov LIFE projekta Biodiverziteta – umetnost življenja. V pravem pomenu besede pa biodiverziteta zajema vsaj vsa živa bitja, torej raznolikost vrst na Zemlji, in še več. S tem pojmom opredeljujemo tudi vse povezave in odnose

med vrstami, ki so ključne za življenjske procese. Vrste imajo tudi vzpostavljene različne povezave z neživim okoljem. Med živimi bitji in neživim okoljem nenehno potekajo zapleteni procesi. Brez vseh teh povezav življenje ne bi bilo mogoče.

Na vprašanje, kateri so glavni dejavniki zmanjševanja raznoživosti, če ostanem pri tem poimenovanju, pa je težko na kratko odgovoriti, ker so na različnih krajih za izumiranje vrst odgovorni različni dejavniki. V splošnem, in to velja tudi za Slovenijo, pa na primer na travniške ekosisteme slabo vplivajo intenzivno kmetijstvo z uporabo težke mehanizacije in pesticidi. Uporaba pesticidov ima negativne posledice tudi na druge ekosisteme, kot sta rečni in podzemni, saj lahko nevarne snovi s površja prehajajo v vode in podzemlje. Pomemben dejavnik, ki negativno vpliva na raznoživost, je tudi izginjanje zelenih površin zaradi pozidav in širjenja cestne infrastrukture. Nezanemarljiv je

vpliv hidroelektrarn na rečne ekosisteme, kjer lahko pride celo do popolnega uničenja vseh vrst, saj izgine celoten ekosistem. Zaradi intenzivnega upravljanja gozda so lahko ogrožene gozdne vrste, ki so vezane na mrtev les. Seveda ne moremo niti mimo podnebnih sprememb. Te morda včasih težje povežemo z upadanjem biodiverzitete v svojem lokalnem okolju, ampak lažje razumemo, kako delujejo globalno. Kažejo se recimo v taljenju ledu na polih, pogostejših pojavih različnih vremenskih ujm, vse to pa vpliva na živi svet. Slovenija je glede na podatke o hitrosti segrevanja ozračja v svetovnem vrhu in tudi to pomeni posledice za naše vrste. Najbolj ogrožene zaradi podnebnih sprememb so tiste iz gorskih ekosistemov, ki so prilagojene na hladnejše in bolj vlažno okolje. Vrste, ki so že zdaj blizu ali na gorskih vrhovih, se nimajo več kam umakniti. Krajsanje dolžine obdobja s snežno odejo tudi povzroča, da se živali bolj zgodaj »zbudijo« iz zimskega spanca in imajo daljša obdobja aktivnosti, na kar niso prilagojene. Zmanjkuje jim lahko hrane ipd.

Kako se živali odzivajo na spremenjene podnebne in druge razmere? V kolikšni meri se lahko prilagodijo?

► Prvi odziv na spremenjene razmere je vedenjski; tako na primer vrste, ki se lahko premikajo, gredo drugam. Dobro mobilne vrste, kot sta pri nas recimo volk in vrana, se lažje prilagodijo – gredo v nek drug habitat, zato posledica ni izumrtje. Vrste, ki jim pravimo generalistične, se lahko prilagodijo, saj izrabljajo raznolike vire – se prehranjujejo z različno hrano, živijo v različnih okoljih. Prav tako je mogoče, da se pri vrstah prek procesa epigenetike spremenijo nekatere njihove lastnosti, ne da bi se spremenil njihov genski zapis, ampak se pod določenimi pogoji le izrazijo drugi geni. Temu pravimo tudi plastičen odziv. Najbolj raziskani so primeri epigenetskih odzivov pri rastlinah. Ko se v nekem okolju recimo spremeni padavinski režim in nekdanje vlažno okolje postane bolj suho, je rastlinam na voljo manj vode. Do določene mere lahko rastejo v bolj suhih razmerah od običajnih, če aktivirajo del genoma, ki omogoča, da rastejo z manjšo količino vode. Ker bo takšna strategija uspešnejša, se bo tak način izražanja genov prenesel v naslednje generacije.

V prednosti so tudi kratkožive vrste, ki se hitro razmnožujejo, saj imajo kratkoročno več generacij in se iz generacije v generacijo lahko spreminja tudi njihov genski zapis. Zato se na spremenjene razmere lažje prilagodijo. Takšni so predvsem manjši organizmi, na primer žuželke, v nasprotju z njimi pa se na spremembe težje prilagajajo dolgožive, počasi razmnožujoče se in na majhen prostor vezane vrste. Še na slabšem so tiste, ki so poleg tega še slabo mobilne.

» Prvi odziv na spremenjene podnebne in druge razmere je vedenjski. Dobro mobilne vrste, kot sta volk in vrana, gredo v drug habitat, zato posledica ni izumrtje.

Ali lahko navedete nekaj primerov živali, ki so zaradi vsega naštetega pri nas najbolj ogrožene?

► Nanizala bom le nekaj primerov vrst, ki so pri nas ogrožene zaradi različnih dejavnikov. Za nekatere vrste je ogroženost poznana, ker njihove populacije redno spremljamo, za mnoge pa žal manjka ustrezen način spremljanja, zato njihovega statusa ogroženosti ne poznamo. Med živalmi, ki so vezane na travnike in jih je zelo prizadelo intenzivno kmetijstvo, je zelo znana vrsta ptice kosce (*Crex crex*). Gnezda z jajci in mladiči kosca pogosto končajo pod rezili kosilnic, prav tako pa jih prizadene intenzivno gnojenje travnikov. V gozdu so zaradi odstranjevanja mrtvih dreves iz gozda zelo prizadeti saproksilni hrošči, prav tako tudi različne vrste žoln in detlov. Močvirska sklednica (*Emys orbicularis*), edina naša avtohtona vrsta želve, ki živi 30, 40 ali morda celo več let, pa je primer, kako močno so lahko prizadete vrste, ki so zelo slabo mobilne. Člani herpetološkega društva, ki spremljamo sklednice na Ljubljanskem barju, zadnja leta še vedno najdemo odrasle živali, mladiče pa le zelo redko. Želve odlagajo jajca na kmetijske površine, kjer pa jih težki kmetijski stroji lahko uničijo. Ker gre za dolgoživo vrsto, sklednica izginja postopoma. Na Horvatovo kuščarico



▲ Med dolgožive vrste, pri katerih je izumiranje težje opaziti, spada želva močvirna sklednica (*Emys orbicularis*). Pri nas živi v močvirnatih in zaraščenih vodnih okoljih. (Foto: Miha Krofel)

(*Iberolacerta horvathi*), hladnoljubno gorsko vrsto kuščarice, ki je hkrati ozko razširjena, saj je endemit južnih Alp in severnega dela Dinaridov, pa bodo lahko negativno vplivale podnebne spremembe. S postopnim segrevanjem okolja se bo bolj toploljubna vrsta pozidne kuščarice (*Podarcis muralis*) začela premikati v višje lege, in ker je tekmovalno močnejša, bo začela izpodrivati Horvatovo kuščarico, ki se postopoma ne bo uspela več umikati v višje lege.

Kako naj si po drugi strani razlagamo rast populacije volkov in medvedov pri nas? Obojih je bilo še pred 20, 30 leti veliko manj, kot jih je danes.

► V veliki meri gre pri izumiranju vrst za to, da vrste izginjajo zaradi izgubljanja habitatov. Vendar pa imamo tudi vrste, ki so, kot pravimo, generalisti in niso vezane na nek določen habitat. Mednje

spadata medved in volk. Ti dve vrsti sta prilagojeni, da lahko preživita tudi v degradiranem okolju, torej v okolju, kjer živi človek. V Španiji na primer je mogoče volka videti celo na obdelanih poljih. Degradacija habitata na ti dve vrsti nima takšnega vpliva in sta se zato lahko razširili. Poleg tega se je v zadnjih letih pri nas odnos do velikih zveri izboljšal, tako da si ljudje želijo sobivanja z njimi, in ko se je zmanjšal pritisk nanje, so posledično lahko narasle njihove populacije.

Kako pa je z izginjanjem živalskih vrst drugod po svetu? Ko govorimo o tem, imamo običajno v mislih le najbolj »karizmatične« živali, začeni z velikimi sesalci. Kaj pa nekoliko nižji organizmi, kot so kače, kuščarji, dvoživke?

► Res je, medijsko najodmevnejše so velike »karizmatične« živali, medtem ko se drugim vrstam

namenja mnogo manj pozornosti. Danes pa vemo, da so v svetovnem merilu najbolj ogrožena skupina dvoživke. Pri njih gre za največji relativni vrstni upad, in sicer v največji meri zaradi izgube habitatov, kjer so dvoživke najbolj pestre – to je tropski gozd, ki ga izsekavajo. Izginjajo tudi zaradi pojava bolezni hitridiomikoza, ki jo povzroča gliva *Batrachochytrium dendrobatidis*. Ta bolezen naj bi po nekaterih raziskavah pokončala ali resno ogrozila preživetje šestih odstotkov vseh vrst dvoživk po svetu. Prav tako so zelo na udaru nevretenčarji oziroma žuželke, za katere so nove raziskave pokazale, da imajo velik upad v številčnosti in vrstni pestrosti. Razlog za to je predvsem intenzivno kmetijstvo. To posledično neposredno slabo vpliva na veliko drugih živalskih skupin, recimo dvoživke, plazilce, ptice in manjše vrste sesalcev, ki se prehranjujejo z nevretenčarji. Vplivi pa so še obsežnejši, saj so vrste v ekosistemu med seboj tesno povezane. Dvoživke in nevretenčarji sta le dva

primera živali, za katere njihovo izumiranje ni tako medijsko pokrito kot za velike živali, a še zdaleč nista edina. Žal je upadanje vrstne pestrosti zaznati tako rekoč pri vseh organizmih.

Dosedanje dinamično ravnovesje v živem svetu se bo s spreminjanjem biodiverzitete porušilo, spremenilo. Kakšni so, poleg očitnega osiromašenja števila vrst, možni scenariji?

► Kadarkoli pride do porušanja ravnovesja v naravi, takšen ekosistem postane še bolj dovzeten za različne dejavnike, ki ga bodo še dodatno destabilizirali. Mednje spadajo tudi pojav tujerodnih vrst, novih bolezni itd. Stabilno ravnovesje v naravi si lahko predstavljamo kot stolp iz kart (veliko število kart pomeni veliko število vrst), ki ima močne temelje in veliko povezav. Ko odvezamo eno ali dve karti, se stabilnost strukture zmanjša. Ko pa

▼ Ker kosec (*Crex crex*) gnezdi na tleh, ga sodobni načini kmetovanja močno ogrožajo. Travniki so v Evropi med najbolj ogroženimi ekosistemi. (Foto: Davorin Tome)



odstranjujemo vedno več kart, se njena stabilnost in odpornost pospešeno manjšata. Posledice izgubljene narave tako niso le lokalne, vedno imajo vpliv tudi širše, saj v naravi obstaja ogromno povezav. Vplivi segajo mnogo širše kot le na izgube vrst, saj izgubljam tudi njihove t. i. ekosistemske storitve, kot so zagotavljanje hrane, čist zrak, čista voda, rodovitna prst, naravna zaščita pred poplavami, plazovi in blaženje katastrofalnih vremenskih pojavov. Ljudje smo del narave in naše preživetje je povsem odvisno od nje, zato jo hočeš nočeš moramo varovati, drugače tudi mi ne bomo preživeli.

☞ **Kadarkoli pride do porušanja ravnovesja v naravi, postane takšen ekosistem še bolj dovzeten za različne dejavnike, ki ga bodo še dodatno destabilizirali.**

Omenili ste širitev tujerodnih vrst v primeru porušanja naravnega ravnovesja, pri čemer ste najbrž imeli v mislih invazivne vrste. Ali lahko navedete kakšen primer?

► Bolje je reči najprej tujerodna vrsta, saj ni nujno, da vrsta, ki je iz različnih razlogov umetno prenesena iz drugih okolij, v novem okolju postane invazivna. Z gibanjem ljudi po svetu in prevozom različnega tovora smo začeli raznašati vrste po svetu, velik vir pa je tudi trgovina z eksotičnimi živalmi. Ko pride neka vrsta v novo okolje, lažje uspe, če je okolje degradirano. Če imamo močno naravno okolje, kjer je prisotnih veliko vrst, med katerimi so močne povezave, se nova vrsta težko »vrine«. Zato se na primer japonski dresnik najbolj razraste tam, kjer je avtohtona vegetacija uničena, denimo na brežini potoka, kjer je bilo rastlinje temeljito odstranjeno. Če bi bil tam gost sestojev podobno visokih rastlin, bi imel dresnik veliko težje delo.

Drug vidik pa je, da tujerodne vrste vnesejo bolezni, ki lahko močno prizadenejo lokalne vrste, ker te nimajo razvitih ustreznih obrambnih mehanizmov.

Tak je primer pojava račje kuge, ki je pomorila številne populacije rakov po Evropi in tudi pri nas. Bolezen je v naše potoke in reke prišla s signalnim rakom, tujerodno severnoameriško vrsto raka. Ameriška vrsta raka okužbo z račjo kugo lažje prenese, ker se gliva, ki jo povzroča, razraste le po njihovem zunanjem skeletu, medtem ko se pri naših domorodnih vrstah potočnih rakov gliva razširi tudi v notranjost telesa in povzroči pogin. Pri tej tujerodni vrsti je treba vložiti napore v to, da se je ne zanaša v vodotoke, kjer še ni prisotna, medtem ko je v nekaterih vodotokih že tako razširjena, da je bitka z njo že izgubljena.

Če razmišljamo lokalno – kaj lahko Slovenija napravi za ohranjanje pestrosti živega sveta na svojem območju? Kako aktivni smo pri tem?

► Največji del slovenske biodiverzitete je vezan na gozd, saj smo v osnovi gozdnata država. Zato je bistveno, da v prihodnje še naprej ohranjamo gozdove, vendar moramo z njimi upravljati na čim bolj sonaraven način. Pri tem je predvsem pomembno, da bi ohranjali gozd tako, da se vsaj v določenih delih ohranijo mrtev les in velika, stara drevesa. Tako kot pri gozdu bi morali tudi v drugih ekosistemih zagotavljati površine ohranjenega naravnega okolja. Pomembne so tudi renaturacije, kjer lahko degradirano okolje spremenimo spet v naravno in s tem znova privabimo vrste, ki so od tam izginile. Slovenija nima več toliko naravnih in ohranjenih habitatov, kot jih je imela v preteklosti, a na srečo še nismo na točki, da bi morali veliko vlagati v renaturacijo. Predvsem moramo čim bolj zaustaviti uničevanje naravnih habitatov, tako da renaturacija ne bo potrebna. Vedeti moramo, da naravni in renaturirani habitat nista enaka. Proces renaturacije je dejansko zelo dolg, saj je v naravnem okolju vzpostavljenih toliko povezav, da se te zlepa ne obnovijo, ko so enkrat uničene.

Bojim se, da se pritisk na naravne habitate še vedno stopnjuje, vendar pa imamo po drugi strani tudi parke in projekte, ki aktivno delajo na ohranjanju narave. Tako se na primer na novo vzpostavljajo mokrišča na Cerknškem jezeru. Del potoka Stržen, ki je nekoč počasi vijugal, je bil spremenjen v raven kanal, zdaj pa so začeli znova vzpostavljati staro strugo, kar bo upočasnilo tok in se



▲ Horvatova ali velebitska kuščarica (*Iberolacerta horvathi*), endemit južnih Alp in severnih Dinaridov, živi tudi v Sloveniji. Ker živi na višjih nadmorskih višinah in v vlažnejših okoljih, jo bodo podnebne spremembe verjetno bolj prizadele kot druge vrste. (Foto: Miha Krofel)

bodo habitati, vezani na razlivajočo se vodo, lahko ponovno povečali. Krajinski park Ljubljansko barje odkupuje zemljo, na kateri ne bo več intenzivnega kmetijstva, zato bodo sčasoma tu spet nastala mokrišča. Herpetološko društvo je na Barju za deset let tudi zakupilo manjše območje. Izkopali smo šest mlak za žabo plavčka in močvirsko sklednico. Tu je bil nekoč poplavni gozd, a se je po poseku sestoj črne jelše leta 2009 zemlja izsušila. Na mokriščih se lahko, če so predolgo suha, razširijo celo sušoljubne vrste. Sestoj jelše se tu lepo obnavlja, v mlake se hitro nateka voda in lahko opazujemo naseljevanje vrst oz. ekološko sukcesijo, kot pravimo strokovno. Že prvo leto so začele žabe odlagati mrest, saj je v bližini še nekaj ohranjenih habitatov, iz katerih so lahko prišle sem v novonastale mlake. Če jih ne bi bilo, bi bila taka renaturacija veliko težja. Tudi zato je izredno pomembno, da obstoječe naravne habitate ohranjamo.

Kako se slovenski raziskovalci pri raziskovanju upadanja biodiverzitete oz. preprečevanja le-tega vključujete v dogajanje po svetu?

► Delo raziskovalca je v splošnem zelo mednarodno in ne moreš delovati samo striktno lokalno. Ko raziskuješ, osredotočen na neko vrsto, proces ali ekosistem, se nenehno izobražuješ na svojem področju, tako da spremljaš delo drugih raziskovalcev po svetu, ki se ukvarjajo s podobno tematiko. Od drugod črpaš tudi ideje za delo doma. Prav tako svoje delo v obliki rezultatov predstavljaš v znanstvenih člankih, ki so večinoma objavljeni v mednarodnih revijah in na ta način svoja dognanja razširiš po svetu. Srečujemo se tudi na različnih kongresih, simpozijih in delavnicah, pri projektih se mednarodno povezujemo v konzorcije. S skupnimi projekti si delimo znanje, gre pa tudi za to, da

pri proučevanju različnih vplivov na biodiverzitetu potrebujemo primerjavo na večji skali. Da lahko tako primerjavo izvedemo, je treba vključiti veliko število raziskovalcev z različnih koncev sveta. Sama sem na primer sodelovala pri raziskavi, v kateri nas je bilo vključenih 45 raziskovalcev iz držav Evrazije in Afrike. Tako smo lahko pri kuščaricah iz skupine Lacertini ugotovili, katere vrste se ne bodo uspele prilagajati podnebnim spremembam prek svoje vedenjske termoregulacije (to je način, s katerim regulirajo svojo telesno temperaturo, tako da se premikajo med toplimi in hladnimi prostori) in zaradi izgube vode. Vsak od nas je v preteklosti proučeval te lastnosti pri lokalnih vrstah, a šele ko smo združili svoje podatke, smo lahko preverili hipoteze, ki omogočajo vpogled v to, ali gre pri opazovanih lastnostih za prilagoditve med zgodovinskim časom ali za plastičen, torej hiter odziv. Na podlagi teh rezultatov smo ugotovili, da bodo najmanj sposobne odzivov na hitro rast temperature okolja in na izsuševanje vrste iz tropov in hladnoljubne ter vlažnoljubne vrste iz zmernih podnebij – to so pri nas predvsem vrste iz gorskih in mokriščnih habitatov.

Je mnenje nekaterih, da bi bila lahko Slovenija s svojo geografsko lego, vodnatostjo, obsežnim gozdom in relativno dobro ohranjenim naravnim okoljem nekakšna Noetova barka, preveč optimistično?

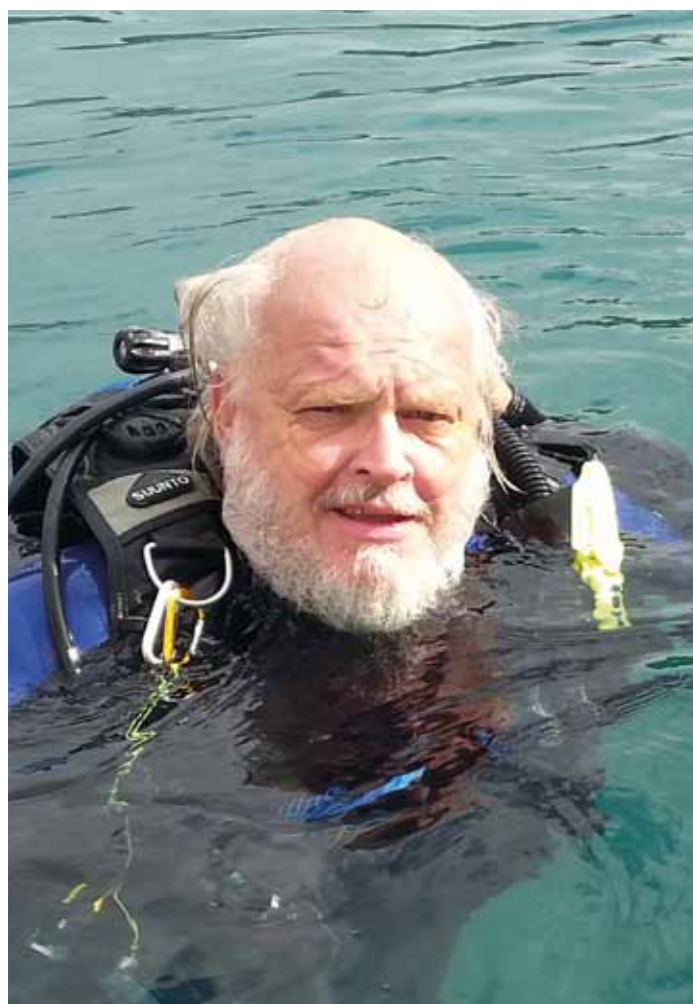
► V Sloveniji smo na stičišču štirih velikih geografskih regij in tako raznoliko okolje je eden ključnih razlogov, zakaj imamo v Sloveniji veliko biodiverzitetu. Ta je razporejena na sorazmerno majhni površini, zato je to v evropskem smislu nekaj posebnega in na to smo lahko ponosni. Ampak tudi pri nas imamo degradirane habitate in stanje se marsikje poslabšuje, tako da ponekod izgubljam ohranjeno naravo. Prav tako je ozemlje Slovenije po površini precej majhno že v evropskem prostoru in pri nas živijo le nekatere vrste; mnogih vrst, ki živijo na drugih koncih Evrope, pri nas ni. Zato koncept Noetove barke ne »drži vode« v tem, da bi na takšen način lahko učinkovito ohranili biodiverzitetu. Obstaja precej problemov s takšnim razmišljanjem ohranjanja narave. Eden od njih je, da ko se ohrani le nekaj osebkov ene vrste,

to pomeni zelo osiromašen genetski bazen te vrste. Pri številnih poskusih ohranitve vrst, pri katerih je preživelo le nekaj osebkov, je problem osiromašenega genetskega bazena ta, da med preživeli osebki lahko prihaja do težav zaradi izgubljenih lastnosti ali parjenja v sorodstvu. Slednje lahko vodi v porast bolezni ali genetskih napak, kot se je zgodilo tudi pri ponovni naselitvi evrazijskega risa leta 1973 pri nas. Ker so bili naseljeni risi med seboj v sorodu, prihaja pri novonastali populaciji do parjenja v sorodstvu in pojavljanja genetskih napak, ki slabo vplivajo na preživetje osebkov. Bolj smiselno je, da ohranjamo številčnost populacij, kar pa lahko zagotovimo le z ohranjanjem njihovih habitatov.

” Slovenija je na stičišču štirih geografskih regij, kar je eden ključnih razlogov za veliko biodiverzitetu. Ker je ta razporejena na dokaj majhni površini, smo v Evropi nekaj posebnega.

Vesela bom, če se bomo v Sloveniji posvetili ohranjanju narave na takšen način. Ohranjena narava dokazano dviga kakovost našega življenja, saj nam zagotavlja bolj zdravo hrano, čistejšo vodo, zrak, prostor za oddih in navdih. Tudi zato se moramo truditi, da jo bomo v Sloveniji in v svetovnem merilu varovali in ohranjali zase in za naslednje generacije.

Slovensko morje, porodnišnica morskih psov



Slovenskega morja je, če ga postavimo ob bok razsežnostim svetovnih oceanov, komaj kaj več kot za dobro kapljo. Kar pa ne pomeni, da ni izjemno pomembno za tiste, ki živimo ob njem. In tudi ne, da je v pogledu pestrosti življenja siromašno, pa čeprav imamo pogosto tak vtis. O njegovem bogastvu lahko zlasti veliko pove dr. Lovrenc Lipej, ki raziskuje biodiverzitetu slovenskega obalnega morja. Na Morski biološki postaji v Piranu je zaposlen od konca 80. let prejšnjega stoletja. Sprva se je ukvarjal z zooplanktonom, od leta 1997 pa proučuje favno in habitatne tipe. Njegova ožja specialnost je ribja združba, veliko pa raziskuje tudi procese bioinvazije in tropikalizacije. Vpeljal je nedestruktivne, na uporabi avtonomne potapljaške opreme utemeljene metode popisa živalstva, ki nimajo posledic na morskem življu in okolju. Vodil je številne domače in mednarodne raziskovalne projekte. Je redni profesor za ekologijo in predavatelj na več univerzah ter avtor trinajstih znanstvenih monografij. Dejaven je tudi kot urednik znanstvene revije *Annales* (Anali za istrske in mediteranske študije) ter član uredniških odborov več znanstvenih revij.

◀ Lovrenc Lipej združuje znanstvenoraziskovalne izzive s svojo strastjo do potapljanja. (Foto: Boris Suligoj)



▲ Rumeni sprehajalček (*Tripterygion delaisi*), ki prebiva na skalnatem dnu, je živopisan sorodnik babic. (Foto: Lovrenc Lipej)

Slovenski mediji pogosto poročajo, da je naše morje vse bolj siromašno, ribiči se pritožujejo, da rib tako rekoč ni več. Se vaše raziskave s tem ujemajo?

► V javnosti je res veliko slišati o tem, a raziskave kažejo povsem drugačno stanje. Seveda obstajajo težave, a smo na srečo daleč od tega, da bi lahko govorili, da je naše morje osiromašeno. Prav nasprotno, in morda se to zdi na prvi pogled paradoksalno, ampak število vrst, katerih prisotnost popisujemo, počasi celo narašča. Razlogov za to je več. Po letu 2010 se s temi raziskavami ukvarjamo bolj intenzivno, uporabljati smo začeli nove metode, začeli smo proučevati stanje pod morjem, posvečati pozornost nekaterim redkim habitatom, kot so biogene formacije, prekoraligen, biocenoza fotofilnih alg in druge. Ugotavljamo, da se zmanjšujejo populacije nekaterih ribjih vrst, ampak takih je v bistvu malo. V našem morju smo doslej potrdili prisotnost kar 243 vrst rib. Nekatere so bile opažene le enkrat ali kvečjemu nekajkrat, nekatere so bile opažene že dolgo nazaj, druge se pojavljajo sezonsko, kakšnih 90 ali 100 vrst pa je bolj ali manj stalnih. Če upoštevamo še vso ostalo favno, je bilo v

našem morju zabeleženih najmanj 2250 vrst. Poleg rib še razni nevretenčarji, predvsem mehkužci, ki so najpogostejša skupina, členonožci, na primer raki, pa spužve, ožigalkarji ... Kar je zelo veliko, če vemo, da je bilo doslej v Jadranskem morju popisanih okoli 5500 vrst. Pri tem moramo upoštevati, da smo začeli za popisovanje med prvimi uporabljati nedestruktivne tehnike in da je naše morje, ki je

” Naše morje je vse prej kot siromašno, saj je bilo v njem doslej zabeleženih najmanj 2250 vrst, kar je zelo veliko, če vemo, da je bilo na Jadranu popisanih okoli 5500 vrst.

majhno in plitvo, kar dobro popisano. Države, ki imajo več morja, imajo zahtevnejše delo in gotovo je številka 5500 za Jadran zelo podcenjena. Da je naše morje v resnici še vedno zelo bogato, premalo poudarjamo, zato v javnosti prevladuje zmotno prepričanje, da je prazno, turobno, izropano ...



▲ Perjaničar (*Sabella spallanzanii*) je eden večjih in lepših mnogoščetincev v našem morju. (Foto: Lovrenc Lipej)

V kakšni meri je k povečanju števila vrst prispevala tropikalizacija?

► Prispevek tega je majhen, gre le za nekaj vrst. Tropikalizacija pomeni, da vrste, ki so značilne za južni Jadran in Mediteran, zaradi povišanih temperatur prihajajo k nam, na sever. Primer tropikalizacije je skakavka (*Pomatomus saltatrix*), riba, ki je prišla okoli leta 2003 na severni Jadran v večjem številu. Problem je, da je izredna plenilka in povzroča težave za zdaj predvsem hrvaškimi ribičem. Hrani se s ciplji, pa čeprav ni veliko večja od njih. Dokazov, da bi pri nas skakavke, ki so v slovenskem morju prisotne v veliko manjšem številu, povzročale take težave, za zdaj nimamo.

Kaj pa prihod invazivnih tujerodnih vrst?

► Tujerodne vrste prihajajo iz druge biogeografske regije, med katerima je določena bariera. Pri tropikalizaciji je taka (nevidna) bariera le temperatura. V primeru tujerodnih vrst govorimo o donorskem in recipientskem habitatu. Bariero med njima mora vrsta nekako preskočiti, na primer z balastnimi vodami ladij. Od rib smo v Tržaškem zalivu doslej našli štiri tujerodne vrste; eno od njih, modro gospico (*Chrysiptera cyanea*), je namerno v morje izpustil neki akvarist.

Navadno pride k nam le po en ali nekaj primerkov tujerodne vrste in v veliki večini niso uspešni – v

novem okolju propadejo. Tiste, ki se uspejo obdržati in povzročajo dokazano ekološko in ekonomsko škodo, pa razumemo kot invazivne tujerodne vrste. Od vseh tujerodnih vrst je invazivnih le okoli deset odstotkov. Primer invazivne tuje vrste je veliki seržant (*Abudefduf saxatilis*), v tropskih morjih pogosta ribica, ki smo jo pri nas odkrili leta 2019. Našli smo tudi že na primer terapona (*Terapon theraps*), ki je značilen za vode okoli Vietnama. K nam so te ribe prišle prek Sueškega prekopa. Ko so ga leta 1869 odprli, so začele v Sredozemsko morje prihajati mnoge vrste iz tropskega Rdečega morja; v druge dele Mediterana bistveno bolj kot k nam.

Od invazivnih tujerodnih vrst imamo pri nas tudi rebračo *Mnemiopsis leidyi*, ki spada med zooplankton, školjko *Arcuatula senhousia*, polžka *Haloa japonica*, ki se je razširil v Škocjanskem zatoku in na koprski Bonifiki. Sicer pa je invazivnih vrst zelo malo. Od tujerodnih vrst imamo še školjko japonsko ostrigo (*Magallana gigas*), vendar se nekateri ne strinjamo povsem, da gre za invazivno vrsto, saj ne izriva nobene avtohtone vrste. Najdemo jo v bibavičnem pasu od Debelega rtiča do Sečoveljskih solin. Našla je izpraznjeno nišo, ki ni ravno zanimiva, saj gre za okolje, ki je podvrženo izmenjavi plime in oseke in v njej lahko preživijo le najbolj trpežni organizmi.

Imamo pa še t. i. kriptogene vrste, za katere ne vemo, kje je njihov primarni habitat. Morska biologija je stara slabih 200 let in ne vemo, ali so neko vrsto našli najprej v Mediteranu, kjer je bilo raziskovanje bolj razvito, ali na primer v ZDA, kjer je morda prav tako prisotna, a je bila opažena pozneje. Ne moremo torej vedeti, ali je prišla od nas k njim ali pa je bilo obratno. Te vrste vedno najdemo v pristaniščih ali njihovi bližini, kar pomeni, da so se razširile s pomorskim prometom. Take tujerodne kriptogene vrste so na primer nekatere vrste rakov vitičnjakov.

So posamezne vrste rib in nasploh morske favne, kljub prej omenjeni pestrosti našega morja, ogrožene?

► Imamo kar veliko ranljivih in ogroženih vrst, ki imajo v mediteranskem okolju poseben status. Ogrožene so nekatere vrste rib, npr. vrana (*Homarus gammarus*), navadni morski pes (*Mustelus*

mustelus) in črnopikasti morski pes (*Mustelus punctulatus*), ogrožen je jastog (*Homarus gammarus*) in še nekatere manj znane in pozabljene vrste. Velike težave ima tudi sredozemska kamena korala (*Cladocora caespitosa*). Posebno hud primer so leščurji (*Pinna nobilis*). Njihova smrtnost je

” V slovenskem delu Jadrana se biodiverziteteta sooča s spremembami, ki so povezane s prihodom tujerodnih vrst, tropikalizacijo in številnimi antropogenimi dejavniki, ki jo ogrožajo.

zadnja leta v zahodnem Mediteranu več kot 90-odstotna. Razlog za to je enoceličar *Haplosporidium pinnae*, za leščurja specifičen zajedavec. Od leta 2019 se to dogaja tudi na Jadranu. Temu posvečamo veliko časa, povezujemo se s kolegi iz Italije in Hrvaške. Opravljena so bila preseljevanja leščurjev v Škocjanski zatok, saj se je izkazalo, da so v lagunah pred tem zajedavcem bolj varni. Obstajajo tudi ukrepi na mednarodni ravni – združujejo se razni inštituti, ki imajo nekakšen rdeči telefon, izmenjujejo si izkušnje, pristojne organizacije promovirajo raziskave in povezujejo ljudi med seboj, da bi se umiranje zaustavilo.

Ribe, ki spadajo v t. i. kriptobentoško skupino, večinoma veljajo za slabo raziskane, saj se skrivajo v različnih podvodnih skrivališčih. Imate na tem področju še veliko dela?

► Kriptobentoške ribe so zelo pomemben del našega dela, z njimi se ukvarjamo že od konca prejšnjega tisočletja. Uporaba podvodne avtonomne tehnike popisovanja in nedestruktivnih metod raziskovanja omogoča številne nove pristope. Ker so te metode neškodljive, jih lahko uporabljamo tudi na zavarovanih območjih. Poleg rib dobimo tudi podatke o njihovem habitatu, življenju, okolju ... Kontinuirana raziskava biodiverzitet našega morja se je začela leta 1999, ko sem vodil večji projekt, poimenovan Evidentiranje favne, flore in habitatnih

tipov v slovenskem morju. Zame je bil to velik preskok, saj sem s tem raziskovalno odšel v čisto novo sfero in s skupino sodelavcev začel uporabljati potapljanje in potapljaške metode raziskovanja v znanstvene namene. Popisovanje biodiverzitete ima kar lepe rezultate.

Omenili ste podvodne avtonomne tehnike popisovanja in nedestruktivne metode. Za kakšne tehnike oz. metode gre?

► Če uporabljate klasične metode, lov z mrežami, ki je tipična destruktivna metoda, dobite le podatke o vrsti, dolžini in teži ribe, to pa je skoraj vse. Nedestruktivne metode pa pomenijo potapljanje z jeklenko, pri čemer rib ne ubijemo niti jih ne poškodujemo, prav tako pa ne povzročamo škode v habitatu. S tako potapljaško metodo na primer delamo popis obrežne ribje združbe. Postavimo profil, kar pomeni 30-, 50- ali 100-metrski označevalni trak. Ko je merilni trak, ki ga imenujemo transekt, potegnen vzporedno z obalo, gre za paralelni census. Globina je torej konstantna, kar pomeni, da proučujemo bolj ali manj v istem habitatnem tipu, na primer morskem travniku, algalnem pasu itn. Lahko pa uporabljamo tudi navpične cenzuse – to pomeni od obale v čedalje večjo globino. Zanima nas, kako si sledijo habitatni tipi, in ugotavljamo, kako to vpliva na ribjo združbo. Doslej smo v dvajsetletnem obdobju opravili prek 1300 takih transektov, kar je zelo velik vzorec. Ugotovili smo nekaj sprememb, prav drastičnih pa ne. Nekatere ribe so res prisotne v bistveno manjšem številu, kot so bile nekoč, druge so v večjem, ampak globalno gledano lahko rečem, da je naša obrežna ribja združba še vedno razmeroma bogata. Gostote so od 40 do 100 primerkov na 100 kvadratnih metrov.

Zdi se nenavadno, da v naše morje, ki je le del Tržaškega zaliva, žepa na severu Jadrana, kar pogosto zaidejo tudi morski psi.

► Ja, to je zanimivo. V slovenskem morju je res mogoče občasno videvati tudi morske pse, ki tako kot skati spadajo med hrustančnice. Po letu 2000 je dokaj redno opažen morski pes orjak (*Cetorhinus maximus*), ki zraste lahko celo do 13 metrov v dolžino in se prehranjuje z zooplanktonom. Naj samo

spomnim, da je bil aprila 2016 pred Piranom opažen 8,5 metra dolg primerek, manj kot dve leti pozneje pa pred Izolo osemmetrski. Moram tudi povedati, da so ribiči pri Umagu le malo zatem morskega psa orjaka, ki so ga ujeli, še živega izpustili. Da ribiči spustijo morskega psa – to je presedan! Stvari se torej spreminjajo. Morda prepočasi, a se!

Ali je res, da je Tržaški zaliv ena od le dveh »porodnišnic« morskih psov in skatov v Sredozemskem morju?

► Seveda je res! Pri nas se v ribiške mreže ne ujamejo samo mladiči različnih vrst morskih psov, ampak tudi drugih hrustančnic – raž in skatov, kot so električni skat (*Myliobatis aquila*), navadni in vijoličasti morski bič (*Dasyatis pastinaca*, *D. violacea*), navadni morski golob (*Myliobatis aquila*) in kljunati morski golob (*Aetomylaeus bovinus*). Najdeni so bili tudi zelo majhni primerki morskega psa orjaka; eden od njih je meril le 217 centimetrov, kar je izredno malo. Šlo je torej za mladiča.

» Pri nas se v ribiške mreže ujamejo mladiči različnih vrst morskih psov, pa tudi drugih hrustančnic – raž in skatov, kot so električni skat, navadni in vijoličasti morski bič ...

Pred leti se je v ribiške mreže zapletla samica morskega psa šesteroškrjarja (*Hexanchus griseus*), za katero smo ocenili, da je zelo mlada, stara okoli šest let. Gre torej za okolje, kjer so bili mladiči najdeni, kar je za nekatere vrste dokaz, da se tu tudi kotijo. Naše okolje je primerljivo z okoljem v Gabeškem zalivu v Tuniziji, ki je ravno tako plitvo in ima za razmnoževanje hrustančnic zelo pomembno vlogo. Svoje podatke smo primerjali s podatki kolegov iz Tunizije in Francije, ki imajo glede tega več znanja kot mi, in ugotovili, da je severni Jadran, in s tem naše morje, zelo pomemben za razmnoževanje hrustančnic. Razlog, da imajo pri nas mladiče, je plitvina – tu mladiči morskih psov in skatov dozori v odrasle osebk. Strokovno temu pravimo

ontogenetski preskok. To pomeni, da se kot mladiči hranijo tako rekoč z vsem, kar najdejo na morskem dnu. Pri nas je morje plitvo in pridnenih organizmov veliko. Ko so starejši, pa postajajo vse bolj specializirani, odločijo se za druge vrste plena. Takega, ki je pogostejši, saj tako porabijo za lov manj energije, s plenom pa jo veliko dobijo. V našem morju torej nabirajo izkušnje. To velja tudi za morske želve karete (*Caretta caretta*). Mlade karete pridejo v naš del Jadrana, kjer so običajno od aprila do septembra, in se hranijo na morskem dnu. Ko primereno zrastejo, gredo v globlje morje in se prehranjujejo v vodnem stolpcu.

Kako sploh raziskujete morske pse in druge hrustančnice, saj jih je veliko manj kot drugih vrst rib?

► Opazovanje hrustančnic pod vodo s potapljaškimi metodami, s kakršnimi spremljamo druge

vrste, ni mogoče, saj so res veliko preredke, pa tudi preveč plašne. Dobivamo jih od ribičev, ki jih slučajno ujamejo; v bistvu so kolateralna škoda pri ribolovu. Gre za t. i. prilov oz. netarčni lov. Dobivamo primerke morskih psov, kot so navadni in črnopikasti, mala (*Scyliorhinus canicula*) in velika morska mačka (*Scyliorhinus stellaris*), morski pes trnež (*Squalus acanthias*) in pa tudi druge hrustančnice. Sliši se preprosto, ampak niti slučajno ni. Za to porabimo veliko časa in energije. Veliko smo v stikih z ribiči, se z njimi družimo in jih veliko sprašujemo, da pridemo do zelenih podatkov. Ko vidijo, da je to za nas zelo pomembno, so mnogi pripravljeni sodelovati. Po potrebi pridemo tudi v soboto ali nedeljo, da pobereмо material, saj se hrustančnice zelo redko ujamejo. Kar se ujame, po navadi prej ali slej dobimo v roke ter obdelamo in izmerimo, kar je mogoče izmeriti, ter pošljemo inštitutom, s katerimi sodelujemo, vzorce tkiv v nadaljnjo preiskavo.

▼ Kit grbavec (*Megaptera novaeangliae*), nevsakdanji obiskovalec slovenskega morja pred Piranom. (Foto: Lovrenc Lipej)





▲ Dolgonosi morski konjiček (*Hippocampus guttulatus*) se pojavlja v morskih travnikih, najdemo pa ga tudi med algami. (Foto: Lovrenc Lipej)

Med posebnosti našega morja spadata albino primerka električnega morskega skata. Leta 2009 sta bila ob izpustu piranske kanalizacije najdena bledeča samička in samček. Kako si to razlagate?

► Najprej se s tem nismo nameravali kaj dosti ukvarjati, saj je albinizem nekaj zelo redkega, a smo vseeno mislili, da se o tem kaj ve. Ko pa smo videli, da se še nihče na svetu ni ukvarjal s tem in da je bilo doslej ugotovljenih le 14 primerov albinizma med vsemi vrstami hrustančnic, smo to objavili. Postavlja se vprašanje, kako to pojasniti. Povezali smo se s francoskimi kolegi, s katerimi smo spoznali, da bi lahko bil albinizem pri hrustančnicah povezan z onesnaževanjem morja. Nekaj podobnega so namreč našli v Braziliji, Nemčiji in ZDA. Ampak povezava med albinizmom in onesnaženjem je bolj kot ne le domneva, špekulacija. Vzorec je zelo majhen in ni znano, kako bi lahko okoljski dejavniki vplivali na albinizem. Hoteli smo le poudariti, da je to pač zanimiv pojav.

Kako se pri raziskovanju povezujete z raziskovalci v sosednjih državah, s katerimi si delimo isto morje in zato najbrž tudi podobne raziskovalne izzive?

► Zelo me veseli, da s kolegi iz Italije, Hrvaške in Črne gore zelo dobro sodelujemo. Že od leta 2012 na primer raziskujemo koralni greben v Velem jezuru na otoku Mljet. To je največji koralni greben v zmernem pasu v Sredozemlju, zelo zanimiv je in ima tudi izjemno pestrost rib, ki jih popisujemo. Delamo tudi na brionskem arhipelagu, kjer sodelujemo s kolegi z univerze v Münchnu in pomagamo osebju Nacionalnega parka Brioni. Tu označujemo različne vidike biodiverzitete, od ribje združbe v algalni zarasti do raznih skupin rakov. S kolegi iz Črne gore sodelujemo že dalj časa; popisovali smo biodiverzitetu v Boki Kotorski, predvsem favno polžev zaškrjarjev in tudi našli nekaj za Jadran novih vrst.

Omenili ste koralni greben na Mljetu, le slabo pa je znano, da imamo koralni greben tudi v slovenskem morju.

► Res je. Pri rtu Ronek pri Izoli imamo približno 200 metrov dolgo, 120 metrov široko in okoli

11 metrov visoko podvodno formacijo, ki se kot nekakšna trdnjava dviga iz muljastega dna. Je do desetkrat bolj bogata s favno kot njena okolica, in sicer v smislu števila primerkov ter tudi števila vrst. Raziskava je pokazala, da jo lahko štejemo za koralni greben, še posebno zato, ker jo sestavljajo mrtvi deli koral. V celoti jo tvorijo nekakšni majhni »makaroni«, na katere razpadejo korale, ko odmrejo. Poleg tega so na njej številne kolonije koral – tu je gostota koral največja v našem morju. Temu smo namenili veliko pozornosti in leta 2016 objavili knjigo *Biogenic Formations in the Slovenian Sea*, ki znanstveno opisuje ta greben in podobne druge strukture te vrste v našem morju.

Podvodno formacijo, ki se pri rtu Ronek pri Izoli kot nekakšna trdnjava dviga iz muljastega dna, sestavljajo mrtvi deli koral, zato jo lahko štejemo za koralni greben.

Ali zaradi zviševanja temperature morja tudi pri nas že prihaja do beljenja koral, ki je značilno za koralne grebene v tropih?

► Žal tudi pri nas, podobno kot na Mljetu, že prihaja do tega. Zaradi zvišanja temperature enocelična alga, ki je simbiot, koralo zapusti. Tako ni več prehranskega dualizma. Alga namreč s fotosintezo producira organsko snov, ki jo koral uporablja. Življenje koral zato temelji le še na njenem lastnem sprejemanju hrane, kar ni dobro.

Kako pa vplivajo podnebne spremembe na ribjo populacijo in nasploh živi svet v našem morju?

► O tem smo veliko objavljali. Spremembe so povezane s procesom tropikalizacije. Poleg že omenjene skakavke se pojavljajo tudi druge vrste rib, na primer napihovalka (*Sphoroides cutaneus*), pojavlja se tudi knez (*Coris julis*), ki ga pred letom 1999 ni bilo. A treba je poudariti, da mnogim vrstam, ki so zašle na sever Jadrana, ni uspelo preživeti. Naše »ruske« zime so zanje prehude.

Virusi: kako se spreminjajo

» **Temeljne raziskave so pomembne zlasti zato, ker odpirajo vprašanja, kakršnih si sicer sploh ne bi znali zastaviti in so osnova za nadaljnje raziskave.**

Virusi, nevidni prebivalci sveta, vzbujajo zanimanje znanstvenikov že od konca 19. stoletja, ko so njihov obstoj le slutili, dokazati pa ga še niso znali zanesljivo. Odtlej je virologija doživela nesluten razvoj. Vse širše znanje in sodobne tehnologije omogočajo nove in nove pristope k njihovem raziskovanju. Med raziskovalci na NIB-u, ki virusom namenjajo posebno pozornost, je **dr. Denis Kutnjak**. Natančneje, posveča se evoluciji rastlinskih virusov. Del njegovih raziskav je temeljnega značaja – a prav na tej osnovi se lahko, kot pravi, razvijajo aplikativne raziskave in praktične rešitve.

Virusi se razmnožujejo izjemno hitro, pri čemer prihaja v njihovem genomu do mutacij (napak). Te mutacije so popolnoma naključne. Njihovo število je odvisno od velikosti virusnega genoma in od tega, kako natančno deluje mehanizem pomnoževanja, a do mutiranja vedno prihaja vsaj v manjšem obsegu. Včasih postane neka mutacija v virusni populaciji prevladujoča (se fiksira),

s čimer nadomesti neko prej v populaciji prevladujočo mutacijo in s tem morda spremeni njene lastnosti. Ko v medijih slišimo o mutaciji virusa, navadno govorimo o taki spremembi. Takšne fiksirane mutacije so tudi predmet podrobnejših znanstvenih raziskav.

Pri rastlinskih virusih na primer raziskujejo, kako nek virus mutira in kako se mutacije ohranjajo v virusni populaciji, ko nek virus prenesejo na različne vrste rastlin ali na rastline iste vrste, ki pa so proti virusu različno odporne. Tako raziskavo je dr. Kutnjak opravil v okviru svoje doktorske naloge. V laboratorijskih razmerah je opazoval, kako se virus Y krompirja (PVY) spreminja na različnih sortah krompirja. Kot testno sorto je vzel običajni *désirée*, zelo razširjeno rdečo sorto krompirja, ki je na virus občutljiva, a ob okužbi ne izrazi močnih bolezenskih znamenj. Odzive te sorte krompirja je primerjal z odzivi gensko spremenjenega *désirée*ja, ki je na virus zelo občutljiv in razvije močna bolezenska znamenja. V poskus je vključil še tretjo, tolerantno sorto, ki jo virus okuži, a rastlina ne razvije bolezenskih znamenj.



▲ Z okuževanjem različnih vrst rastlin v kontroliranih razmerah v rastlinjakih je na primer mogoče določiti nabor rastlin, ki jih nek virus lahko okuži. (Foto: Denis Kutnjak)

Z metodami visokozmogljivega sekvenciranja (ang. *high throughput sequencing*, HTS) je skozi čas spremljal spreminjanje virusa ob prenosu z rastline na rastlino. Ugotavljal je, kako se spreminja genski zapis virusa, kako se populacija virusa v vsaki generaciji spremeni in do kakšnih razlik prihaja, če se virus prenaša med različno občutljivimi sortami krompirja. Pri tem je bilo mogoče zaznati določene vzorce, ki sami po sebi še niso pomenili neke očitne spremembe. Opaženo pa je bilo, da se struktura virusnih populacij v rastlinah, ki so manj dovzete za virus, in v rastlinah, ki so zanj bolj dovzete, spreminja različno. To na virus vpliva dolgoročno – kako evolvirajo skozi daljše časovno obdobje je odvisno od tega, ali se razmnožuje v bolj ali manj odporni sorti. Tako se je v tej raziskavi izkazalo, da je razmnoževanje virusa v bolj dovzetnih sortah krompirja vodilo do nastanka večje raznolikosti med evolviranimi virusi, medtem ko so si bili virusi, ki so evolvirali v manj dovzetnih sortah krompirja, med sabo bolj podobni. Poenostavljeno povedano, pričakujemo lahko, da bo na polju v bolj dovzetnih sortah krompirja nastalo več novih genetskih oblik virusa kot v manj dovzetnih sortah.

Dr. Kutnjak je sodeloval tudi pri zelo zanimivi raziskavi, pri kateri je NIB združil moči z raziskovalnima inštitucijama iz Španije in ZDA. Osredotočili so se na vprašanje, kako se virus Y krompirja spreminja skozi generacije, če so poti prenosa z rastline na rastlino različne. Virusi se med rastlinami prenašajo na različne načine, med drugim z žuželkami (PVY se s krompirja na krompir prenaša z ušmi), stikom, ko se okužen list podrgne ob list zdrave rastline, in t. i. vegetativno propagacijo. Slednje pomeni, da bo, kadar se za seme uporabi okužen gomolj, verjetno okužena tudi nova rastlina.

Raziskava je pokazala, da pride, kadar se virus prenese z ušmi, do velikega zmanjšanja raznolikosti virusnih populacij. Virus se pojavlja v različnih genetskih oblikah, a ko ga v novo rastlino prenese uš, se skoraj vse izničijo. Ostaneta le ena ali dve, ki pa se začeta znova diverzificirati. To pomeni, da začnejo z mutacijami spet nastajati nove genetske oblike virusa. Če se virus prenaša s stikom ali prek okuženega gomolja, pa se raznolikost virusa zmanjša v veliko manjši meri. Raznolikost se torej ohranja in prav zato se virus iz populacije v populacijo manj spreminja.



▲ Opazovanje bolezenskih znamenj na rastlinah lahko pomaga določiti prisotnost in patogenost virusov, ki okužujejo rastline. (Foto: Aleš Rosa)

Te ugotovitve pomenijo pot k boljšemu razumevanju dogajanja na polju, pri čemer pa je treba upoštevati zapleteno povezavo različnih dejavnikov. Na krompirjevi njivi verjetno poteka hkraten prenos virusa Y krompirja na vse tri opisane načine. Prenos ob dotikanju okužene in zdrave rastline ali prenos prek gomoljev bo omogočil virusu, da bo le-ta zelo raznolik. Uš pa »vzame« le določen različek virusa in ga prenese na drugo rastlino, kjer se bo virus začel iz »ničelnega stanja« diverzificirati. Te podatke bo mogoče v prihodnosti vnesti v epidemiološke modele, ki se uporabljajo za napovedovanje, kako se bo virus širil na nekem območju. Ob poznavanju prenašalcev in poti prenosov virusov, ki vplivajo na virusno populacijo, je mogoče izboljšati epidemiološke modele in s tem kakovost napovedi. Podobne raziskave potekajo tudi na virusih, ki okužujejo ljudi in živali.

Dr. Kutnjak poudarja, da so to zelo temeljne raziskave, ki so najpomembnejše zato, ker odpirajo vprašanja, kakršnih si sicer sploh ne bi znali zastaviti in na osnovi katerih se lotevajo novih raziskav. Raziskave lahko vodijo v različne smeri in na koncu prinesejo aplikativna, za vsakdanjo prakso uporabna znanja in pristope. Znanja in

veščine, pridobljeni pri takih temeljnih raziskavah, so tako na NIB-u na eni strani omogočili vpeljavo rutinskega testiranja z visokozmogljivim sekvenciranjem za zaznavanje virusnih boleznih pri rastlinah s polja. Na drugi strani je to znanje omogočilo sodelovanje s farmacevtskimi podjetji, ki izdelujejo biološka zdravila ali zdravila za gensko terapijo, kjer raziskovalci NIB-a uporabljajo visokozmogljivo sekvenciranje za nadzor čistosti proizvodov ali procesov. Raziskave populacij rastlinskih virusov pa so na primer omogočile sodelovanje s podjetji, ki razvijajo cepiva za ljudi in prav tako želijo slediti spreminjanju virusnih populacij med razvojem cepiv.

Dr. Kutnjak in tudi drugi raziskovalci z NIB-a sodelujejo z drugimi inštituti v Sloveniji in podjetji na področju temeljnih in aplikativnih raziskav. Med drugim je dr. Kutnjak sodeloval z Inštitutom za mikrobiologijo in imunologijo pri ljubljanski Medicinski fakulteti pri raziskavi, v kateri so s tehniko visokozmogljivega sekvenciranja iskali viruse, ki okužujejo človeka ali v specifičnih primerih netopirje. Odkrili so nov virus, ki okužuje človeka. Pred tem je bil zelo podoben virus najden le pri netopirjih v Evropi.



▼ Modelne rastline navadnega repnjakovca (*Arabidopsis thaliana*) v laboratoriju okužijo z rastlinskimi virusi in eksperimentalno proučujejo njihovo evolucijo ter odzive rastlin na okužbo. (Foto: Denis Kutnjak)

Kasneje so ugotovili prisotnost virusa z zelo podobnim zaporedjem nukleotidov pri netopirjih v Sloveniji. Sklepajo, da je prišlo do prenosa tega virusa na človeka prav z netopirjev.

Na NIB-u se z večkrat omenjenim visokozmogljivim sekvenciranjem veliko ukvarjajo. To je širok pojem, ki vključuje različne tehnološke platforme. Ena od novejših, ki jo zadnja leta vpeljujejo v svoje delo, je sekvenciranje z nanoporami. Z njim določajo genski material organizma, pri čemer molekulo – genski material – spustijo skozi nanoporo, izredno majhno odprtino v membrani. Na ta način lahko preberejo njeno nukleotidno zaporedje. Za to so včasih uporabljali sekvenatorje, ki so zasedali polovico sobe, zdajšnje naprave z nanoporami pa imajo podobne dimenzije kot ključek USB. Zato so primerne za zelo majhne laboratorije ali delo na terenu. Dr. Kutnjak ocenjuje, da bo verjetno mogoče že čez nekaj let biološke vzorce iz narave pripraviti z uporabo kemikalij in laboratorijskih tehnik na zelo preprost način, nato pa z majhnim sekvenatorjem z nanoporami, vključenim v prenosni računalnik, analizirati ves genski material takih vzorcev.



► S krompirjevimi virusi se je Denis Kutnjak seznanil v domovini krompirja, Peruju, in z dopolnjevanjem znanja nadaljeval v Evropi. (Foto: Martin Gustinčič)

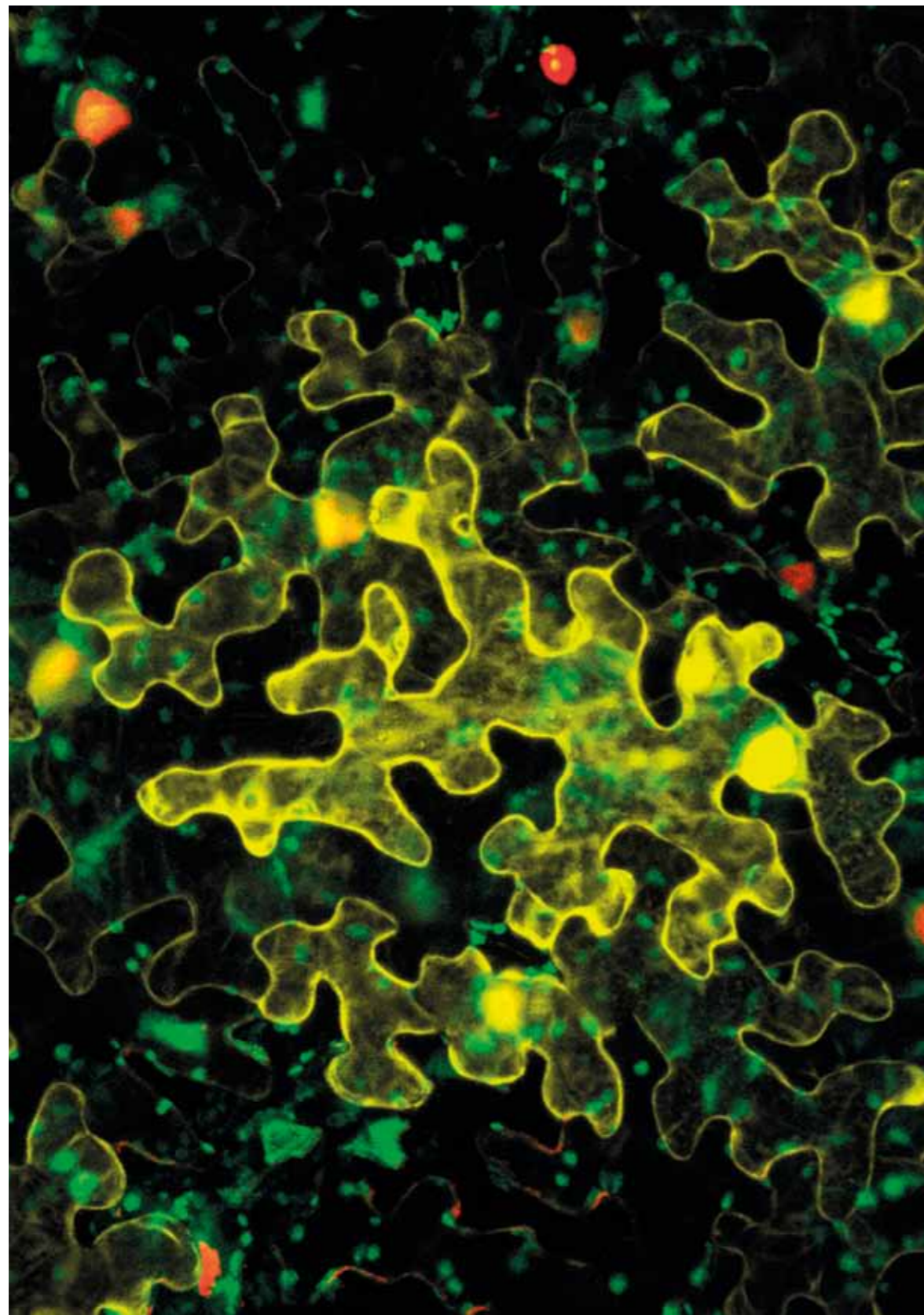


B Kdo bo koga

” Potemtakem je kar verjetno, da navzočnost večjega števila mačk s poseganjem k mišim in od tod k čmrlem lahko določa, koliko bo katerih cvetlic v okolici!

Charles Darwin, angleški naravoslovec
O nastanku vrst (prevod Bogdan Gradišnik)

◀ Vrtni čmrlij (*Bombus hortorum*) na čistecu (*Betonica officinalis*). Dobro poznavanje interakcij živih organizmov z njihovo okolico ima za človeka tudi povsem oprijemljive koristi. (Foto: Davorin Tome)



▲ Celice povrhnjice lista rastline *Nicotiana benthamiana*. Z rdečo so obarvana jedra, z rumeno jedra in citoplazma, z zeleno kloroplasti. Posneto s konfokalnim mikroskopom. (Foto: Tjaša Lukan)

KRISTINA GRUDEN

» Na Zemlji so vse življenjske oblike tesno prepletene – od najdrobnejših organizmov do največjih ekosistemov in absolutno obstaja prepletenost med vsemi ljudmi.

Bryant McGill, ameriški pisec in aktivist na področju človekovih pravic

Organizmi v okolju med seboj bijejo stalen boj – za boljši življenjski prostor, za vire hrane. Živali se lahko iz neugodnega okolja umaknejo, vsi pritrjeni organizmi pa imajo razvite drugačne mehanizme za boj za obstanek. Za življenje rastline potrebujejo dober vir hranilnih snovi in vode ter dostop do svetlobe, kar jim omogoča samoprodukcijo vseh njihovih gradnikov. Hkrati pa seveda ne smejo postati hrana kakšnemu drugemu organizmu. Na rastline »preži« cel kup napadalcev, od majhnih virusov, bakterij in gliv pa do rastlinojedih živali. Rastline so proti njim razvile različne oblike obrambe, od mehanske do kemijske, proti mikroorganizmom pa imajo razvit tudi svojstven imunski sistem.

Organizme, ki se prehranjujejo s poljščinami, smo z antropocentričnega vidika poimenovali škodljivci, kadar govorimo o večjih organizmih, kot so žuželke, in patogeni, kadar govorimo o organizmih, ki jih zaradi majhnosti ne vidimo s prostim očesom. Če se napadalci niso uspeli prilagoditi obrambnim mehanizmom rastline, so morali zamenjati vir prehrane. Na drugi strani so prilagojeni organizmi razvili mehanizme, s katerimi zaobidejo obrambne pasti rastline. In kot odgovor nanje so se rastline spet prilagodile z dodatnimi načini obrambe. Skozi evolucijo interakcij med organizmi se je ponovilo več takih ciklov, zato so interakcije večplastne. Za njihovo razumevanje moramo poznati vse vpletene mehanizme. Ker je mreža teh mehanizmov zelo prepletena, jo s standardnimi raziskovalnimi

pristopi težko proučujemo. Za raziskovanje zato na NIB-u uporabljamo sistemsko biološki pristop. Ta se že nekoliko dalj časa uporablja v medicini in pri raziskavah delovanja mikroorganizmov, na področju proučevanja rastlin s sistemsko biologijo pa smo na NIB-u med pionirskimi skupinami v svetovnem merilu.

In kaj sploh je sistemsko biologija? Vsi poznamo besedo sistematika. Je torej sistemsko biologija malo drugačen izraz za sistemsko biologijo? Ne, to ni veda o razvrščanju organizmov v taksonomske enote, temveč veda, ki celostno proučuje delovanje organizmov. V kontekstu sistemske biologije celostno pomeni, da za razumevanje delovanja organizma v svoje raziskave vključujemo vse njegove elemente – od organov in transportnih mehanizmov med njimi, različnih tipov celic ter njihovega medsebojnega sporazumevanja, do vseh molekularnih komponent, ki celico sestavljajo. Tako na primer na ravni celice hkrati obravnavamo dejavnost vseh genov, dejavnost proteinov ter interakcije med njimi, proizvodnjo metabolitov in odsev vseh teh dejavnosti na celico kot celoto. V klasičnih raziskavah s(m)o se molekularni biologi osredotočili na eno samo komponento celice, na en protein ali en gen, in proučevali vse naloge te komponente. S takim pristopom seveda povečujemo znanje o delovanju biološkega sistema, ne moremo pa ga v celoti razumeti, saj določene lastnosti sistema nastanejo šele s povečevanjem njegove kompleksnosti.



▲ Test patogenosti za hrušev ožig. Bolezenska znamenja, ki jih na nezrelah hruškah povzroča bakterija *Erwinia amylovora* (levo). Bolezenska znamenja, ki jih povzroča bakterija *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* na orehu. (Foto: Tanja Dreo)

To lahko lepo ponazorimo na primeru vode. Če proučujemo posamezno molekulo vode, se lahko o njej veliko naučimo. Vemo, kako se molekule povezujejo, vemo, zakaj nastane led in kakšne so povezave med molekulami pare. Ne moremo pa iz takih raziskav predvideti, da lahko voda v velikih količinah postane zelo uničujoča in lahko na primer povzroči poplave. Koncept celostnega proučevanja je že dolgo doma v tehniških vedah. Na primer elektroinženir mora poznati vse komponente radia in vse povezave med njimi, da bo popravljen radio lahko popravil.

S skokovitim napredkom tehnologij za proučevanje celičnih komponent je postal mogoč tudi sistemski pristop raziskovanja na področju biologije, in sicer s pridihom matematike in inženirstva. Sistemskobiološki pristop uporabljamo tudi v raziskavah na NIB-u. Z njim smo postavili model imunske signalizacije pri rastlinah, ki je nekaj podobnega kot načrt elektronskega vezja za preprostejše aparature, ki jih je sestavil človek. S celostnim proučevanjem smo našli enega od signalizacijskih križišč, kar je zelo pomembno za uspešno obrambo rastlin, in tako dokazali, da sistemska biologija uspešno razrešuje sivino neznanja v razumevanju interakcij med organizmi.

Zakaj sploh proučujemo interakcije med organizmi? Naš cilj je samovzdržno in za okolje manj obremenjujoče kmetijstvo. Trenutno se za zaščito

rastlin pred napadalci na poljih uporabljajo različna škropiva. Ta so nevarna za kmeta in tudi okolje, na primer za podtalnico, ki je vir pitne vode. Zdaj že vemo, da se v določenih kombinacijah rastline, napadalnega organizma in okoljskih razmer lahko vzpostavi ravnotežje v interakciji. Rastlina lahko vzdržuje življenje drugega organizma, če je le-ta ne poškoduje preveč. Včasih interakcija celo postane koristna za oba organizma. Mikrobi na primer imajo v svojih genomih zakodirane poti za sintezo metabolitov, ki jih rastline na morejo proizvajati. So pa taki metaboliti v določenih primerih za rastlino koristni; z njimi denimo lažje preživi sušna obdobja. Ker na ravnovesje med organizmi zelo vplivajo tudi okoljske razmere, v svoje raziskave vključujemo tudi ta dejavnik. Ugotavljamo, kako na interakcijo vpliva, če rastlina nima na voljo dovolj hranil ali svetlobe ali če so temperature visoke podnevi in ponoči. Raziskujemo tudi, kako ekstremne okoljske razmere, kot je kombinacija vročine in pomanjkanja vode, vplivajo na izid interakcije. Z izsledki takih raziskav bomo lahko pomagali pri prilagajanju kmetijske pridelave rastlin na prihajajoče podnebne spremembe.

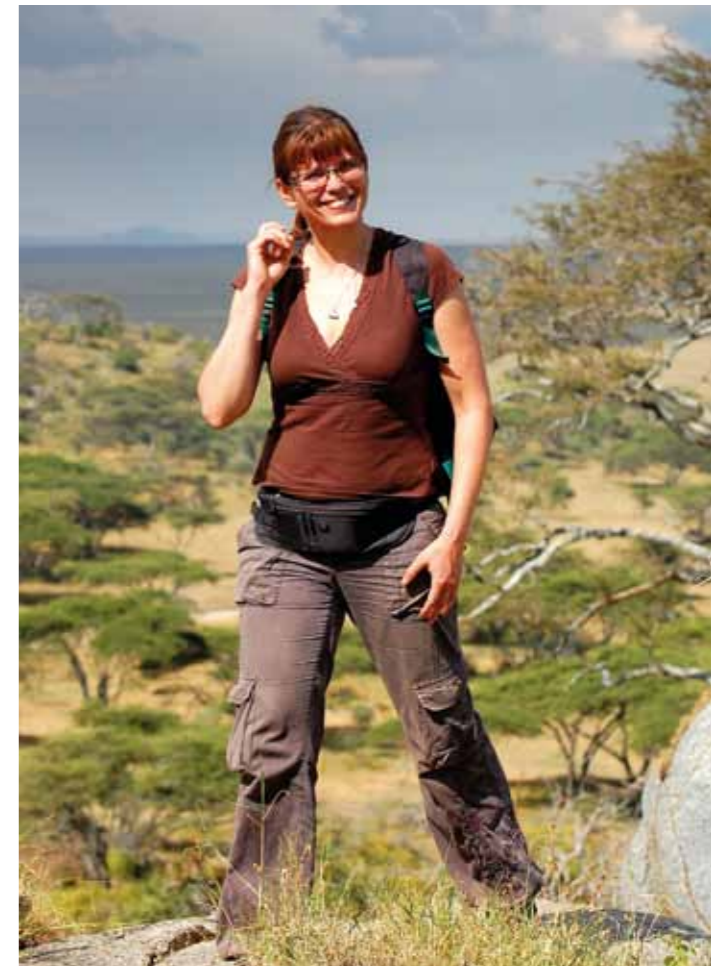
V evoluciji interakcij med rastlino in drugimi organizmi se je med njimi velikokrat vzpostavilo tudi sožitje, v katerem organizma ne tekmuje več med seboj, temveč si pomagata v boju za obstanek. Primer take skupne evolucije je sožitje med rastlinami

in njihovimi opraševalci. Rastline za opraševalce pridelujejo hrano, ti pa v zameno poskrbijo za to, da se pelod prenese na drug cvet z bistveno večjo učinkovitostjo, kot če rastlina uporablja za prenos veter. Ravnovesje tega odnosa pa je zelo krhko; opraševalcev mora biti dovolj in morajo biti dovolj močni, da oprašijo tudi oddaljene populacije rastlin. Prav tako mora biti rastlina energetsko preskrbljena, da lahko uspešno vzdržuje populacijo opraševalcev.

Drug tak primer sožitja pa je interakcija rastline z določenimi mikroorganizmi. V zadnjih letih smo z razvojem novih tehnik visokozmogljivega sekvenciranja nukleinskih kislin začeli odkrivati celo vrsto pomočnikov, ki živijo v sožitju z rastlino. V njenih tkivih, včasih celo v samih celicah, prebiva vrsta mikroorganizmov, od virusov do preprostih enoceličnih živali in gliv, ki ji omogočajo dostop do določenih metabolitov ali hranilnih snovi, rastlina pa jim, podobno kot pri opraševalcih, v zameno ponuja vire hrane in varen življenjski prostor. Ta tako imenovani mikrobiom rastline lahko bistveno pripomore k njeni odpornosti proti stresnim dejavnikom okolja. Na osnovi takih raziskav smo danes že razvili pripravke mikroorganizmov, ki na polju zaščitijo rastline bolj kot okolju škodljivi pesticidi.

Ker je to povsem nova veja v rastlinski biologiji, je neznank in vprašanj še veliko. Zakaj včasih taki mikroorganizmi prenehajo s svojo podporno funkcijo in postanejo patogeni? Zakaj jih včasih rastlina ne sprejme v svoje okrilje? Kako se mikrobi med seboj borijo za življenjski prostor v rastlini? Kako so paritvene značilnosti žuželk povezane z mikrobnimi okužbami rastlin? Kako je prehranjevanje žuželk povezano s spolnim razmnoževanjem rastlin? Ali ura dneva vpliva na virusno okužbo rastline? Na ta in podobna vprašanja poskušamo na NIB-u poiskati prave odgovore. Svoje raziskave želimo čim bolj približati naravnim razmeram, v katerih praviloma prihaja do interakcij na različnih ravneh med več organizmi hkrati. Tako se jih tudi lotevamo – s pristopi sistemske biologije in interakcijami med raziskovalci različnih oddelkov.

Prof. dr. Kristina Gruden je znanstvena svetnica na Oddelku za biotehnologijo in sistemska biologijo na NIB-u.



▲ Življenje Kristine Gruden je razpeto med laboratorijskimi raziskavami in pohajkovanji z nahrbtnikom širom sveta. (Foto: osebni arhiv)

RAZNOLIKOST MNENJ

MARUŠA POMPE NOVAK

O krompirjevih virusih, sušnem in slanostnem stresu, cirkadianem ritmu



Rastlinski virusi na kmetijskih pridelkih povzročajo veliko gospodarsko škodo in lahko ogrožajo našo prehransko varnost. Zato je raziskovanje virusov, še zlasti tistih, ki prizadenejo za prehrano ljudi in domačih živali najpomembnejše rastline, izjemnega pomena. Dr. Maruša Pompe Novak veliko raziskuje predvsem interakcije med krompirjem in temu zelo nevarnim virusom PVY, pa tudi interakcije vinske trte z različnimi dejavniki v okolju. Vpeta je v številne domače in mednarodne raziskovalne projekte. Delno je zaposlena na Univerzi v Novi Gorici, kjer je izredna profesorica. Je vodja Infrastrukturnega centra Planta, ki deluje v okviru NIB-a in je namenjen podpori raziskovalni in pedagoški dejavnosti, podjetjem in različnim državnim organom. Njena znanstvena področja so predvsem rastlinska fiziologija, biotehnologija in molekularna biologija. Izsledki nekaterih raziskav imajo uporabno vrednost, drugi širijo temeljno znanje. Dr. Pompe Novak pravi, da je slednje izjemno pomembno za to, da bi iz raziskav izšlo nekaj, kar je uporabno v vsakdanjem življenju. Hipoteza o vplivih cirkadianega ritma (ritma dnevne biološke aktivnosti) na okužbo rastline z virusi je njena izvirna zamisel.

◀ Maruša Pompe Novak se izjemno skrbno loteva vsega, od znanosti in vodenja Infrastrukturnega centra Planta do navduševanja otrok za rastline ob Dnevih očarljivih rastlin. (Foto: Aleš Rosa)

Kaj natančno je predmet raziskav, s katerimi se ukvarjate?

► Raziskujem interakcije rastlin z okoljem. To okolje je bodisi biotsko, pri čemer imam v mislih povzročitelje bolezni, bodisi abiotsko; med slednjimi proučujemo odziv rastlin na sušni in slanostni stres. Glavni modelni rastlini, na katerih raziskujem, sta krompir in vinska trta. Na krompirju proučujemo njegovo interakcijo z virusom Y krompirja (ang. *potato virus Y*, PVY), ki je uvrščen na seznam desetih virusov, ki v svetovnem merilu povzročajo največjo gospodarsko škodo v kmetijstvu. Ta virus ima več različkov, ki so različno agresivni oziroma povzročajo različna bolezenska znamenja na občutljivih sortah krompirja. Najbolj agresiven je različek NTN, ki se je leta 1988 razširil k nam z Madžarske. Povzročila obročasto nekrozo gomoljev, zato je krompir za prehrano, pa tudi za industrijsko rabo, neuporaben. Pred tem je okoli 60 odstotkov vse slovenske proizvodnje krompirja predstavljala

sorta igor, ki je bila znana kot »ta beli krompir«. Spada med najbolj občutljive na ta virus, zato je v samo nekaj letih z naših njiv povsem izginila. Nadomestile so jo druge, proti temu virusu odporne sorte.

V zadnjem času smo v raziskave interakcij krompirja z virusom začeli poleg časovne dimenzije vključevati tudi prostorsko dimenzijo. Na mestu, kjer virus vstopi v list krompirja, je odgovor celic nekoliko drugačen kot odgovor celic, ki so poleg mesta vstopa, in tistih celic, ki so bolj oddaljene. Zato liste krompirja razrežemo na milimetrske koščke in spremljamo dogajanje v koščkih, v katerih nastane točkasta nekroza, in dogajanje v koščkih lista poleg nekroz. Tako lahko spremljamo izražanje genov ne le na ravni celega lista, ampak tudi v posameznih delih lista, iz česar lahko natančneje vidimo, kako rastlina odgovori na okužbo. Ugotovili smo, da je odziv rastline v točkastih nekrozah drugačen kot v sosednjih celicah; procesi so različni ali pa potečejo ob različnem času.

▼ Nanos kapljic soka okuženih rastlin krompirja na zdrave rastline s ciljem proučevanja njihovega odziva. (Foto: Aleš Rosa)



Ali je krompir, okužen z virusom PVY, neuporaben zato, ker ob zaužitju povzroča zdravstvene težave?

► Ne, tega ne povzroča. Virus PVY za človeka ni nevaren. Ampak krompirja, ki ima vidne nekrotične obroč, pridelovalec ne more prodati. Poleg tega se nekroze pojavijo tudi na listih in stebelu krompirja, zaradi česar slabše raste, oslabi in se lahko tudi posuši.

Imamo dovzetne sorte krompirja in sorte, ki so odporne. Dovzetne so tiste, ki jih virus lahko okuži. Nekatere od teh sort so občutljive in izražajo moč na bolezenska znamenja. Druge so tolerantne, kar pomeni, da je virusov v njih sicer veliko, bolezenskih znamenj pa ni. Odporne sorte pa so lahko odporne na različne načine. Za ene je značilna preobčutljivostna reakcija – na mestih, kjer virus vstopi v rastlino, na primer na listih, vidimo črne pike, to so točkaste nekroze. Na teh mestih celice zelo hitro odmrejo in virus se ne uspe razširiti po rastlini, zato ta ostane zdrava. Pri ekstremni odpornosti sorte pa niso vidna niti znamenja nekroz.

Če bi v začetni fazi okužbe pogledali občutljivo sorto in odporno sorto, za katero je značilna preobčutljivostna reakcija, bi videli, da obe pokažeta bolezenska znamenja. Vendar prva širjenja ni sposobna zaustaviti, druga pa ga je. Naše raziskave kažejo, da v obeh potečejo podobni procesi, le da so v občutljivi sorti prepočasni. Na videz sta si podobni tudi tolerantna in ekstremno odporna sorta. Tolerantna je polna virusa, a bolezenskih znamenj ne kaže, pri ekstremno odporni pa virus ni prisoten, zato tudi ni znamenj boleznj.

Verjetno vas zanima predvsem odgovor, zakaj so nekatere sorte krompirja odporne. Kaj v zvezi s tem torej natančno raziskujete?

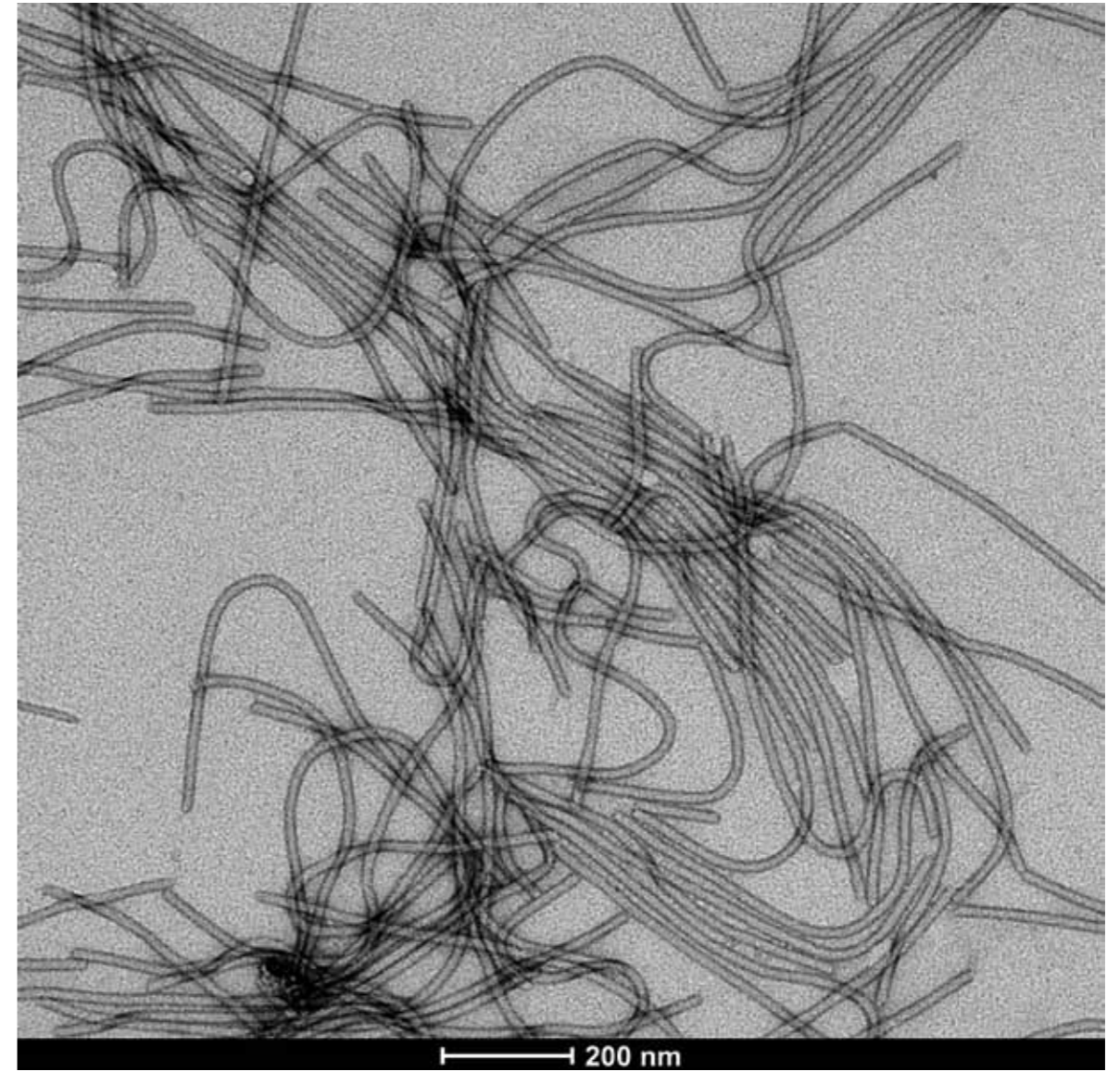
► Eno naših glavnih raziskovalnih vprašanj je, zakaj ena rastlina uspe širjenje virusa zaustaviti, v drugi pa se lahko namnoži in po njej potuje. To raziskujemo s pristopom sistemske biologije. Medsebojno primerjamo izražanje genov v občutljivi in odporni rastlini in tako ugotovimo, kateri geni se različno izražajo. Izmed najbolj zanimivih genov izberemo tiste, ki jim želimo določiti njihovo vlogo

» Medsebojno primerjamo izražanje genov v občutljivi in odporni rastlini in tako ugotovimo, kateri geni se različno izražajo.

v odgovoru rastline na okužbo. V ta namen uporabljamo gensko spremenjene rastline; te so za neki gen spremenjene. Na primer, če odporni rastlini krompirja vstavimo gen, ki razgrajuje salicilno kislino – to je rastlinski rastni regulator oz. rastlinski hormon – se le-ta spremeni v občutljivo. Mesta izražanja genov znotraj lista raziskujemo s spajanjem genov z zapisi za fluorescentna barvila in opazovanjem s konfokalnim mikroskopom. V sodelovanju s tujimi laboratoriji interakcijo krompirja z virusom proučujemo tudi na ravni vsebnosti proteinov in metabolitov. Nepogrešljiva sta tudi fenotipizacija rastlin, to je opazovanje izraženih lastnosti, in vpogled v ultrastrukturo rastlin s pomočjo presevne elektronske mikroskopije. Močna točka naše raziskovalne skupine so tudi bioinformatične analize in računalniško modeliranje. Pri raziskavah interakcije krompirja z virusom gre za bazične raziskave, ki pa so nujne za razvoj aplikativnih, v kmetijski praksi uporabnih znanj, na primer za žlahtnjenje.

Kako potekajo ti preskusi? Omenili ste gensko spremenjen krompir, preskusov torej najbrž ne izvajate na poljih.

► Ne, vsi naši poskusi potekajo v nadzorovanih razmerah. Krompir gojimo v rastnih komorah. S ciljem proučevanja njihovih odzivov zdrave rastline krompirja namažemo s sokom okuženih rastlin. Virus PVY torej vnesemo v krompir nadzorovano in točno vemo, za kateri različek virusa gre. V svoji zbirki imamo več različkov. Poleg omenjenega različka NTN je še na primer novejši, prav tako agresiven različek N-Wilga, ki v nekaterih državah že povzroča več škode kot NTN. Imamo tudi različek N, ki smo ga označili s fluorescentnim proteinom, tako da širjenju virusa po krompirjevem listu sledimo s konfokalnim mikroskopom.



▲ Virus Y krompirja, posnet s presevnim elektronskim mikroskopom Talos. (Foto: Magda Tušek Žnidarič)

Ali morda poleg virusa PVY oz. njegovih različkov proučujete še kakšen drug virus ali stresni dejavnik nasploh, ki lahko škoduje krompirju?

► V naši raziskovalni skupini potekajo tudi raziskave odgovora krompirja ob napadu koloradskega hrošča, ki je ekonomsko najpomembnejši škodljivec krompirja. Potekajo pa tudi tako imenovane tritrofične raziskave, to so raziskave, pri katerih je krompir sočasno okužen z virusom PVY in napaden s koloradskim hroščem. Ena izmed zelo zanimivih ugotovitev teh raziskav je bila, da ličinke koloradskega hrošča rastejo hitreje, če se hranijo s

krompirjem, ki je okužen z virusom PVY, kot če se hranijo z zdravim krompirjem. Okužba z virusom PVY namreč povzroči spremembe v poteku metabolnih procesov v krompirju in s tem spremembo v sestavi lista krompirja, ki je hrana koloradskega hrošča.

Omenili ste tudi vinsko trto. Kaj pa proučujete pri njej?

► Po eni strani ugotavljamo njene interakcije z abiotičnimi, torej neživimi dejavniki okolja, po drugi strani pa interakcije z živimi organizmi. Pri raziskovanju slednjih smo se v preteklosti ukvarjali z

virusom pahljačavosti listov vinske trte (ang. *grapevine fanleaf virus*, GFV). Zdaj smo bolj usmerjeni v interakcije vinske trte s fitoplazmami; to so bakterije brez celične stene. Fitoplazme na vinski trti povzročajo bolezen trsne rumenice. Pri nas poznamo navadno trsno rumenico, ki je prisotna že dolgo, leta 2005 pa je bila prvič potrjena tudi zlata trsna rumenica. Slednja je pred desetletjem povzročila izginotje celih vinogradov. Od kod izvirajo fitoplazme, ne vemo natančno. Vemo, da so nekatere rastline, na primer kopriva, navadni srobot in jelša, z njimi okužene. Na njih se prehranjujejo nekatere žuželke in fitoplazmo prenesejo tudi na vinsko trto. Med trsi pa fitoplazmo, ki povzroča zlato trsno rumenico, raznaša ameriški škržatek. Ta pol centimetra velika žuželka se prehranjuje s sokom vinske trte. V svojih raziskavah se ukvarjamo z odgovorom rastline, ko se ta okuži s trsno rumenico, in sicer na transkriptomski ravni. Pogledali smo vzorce izražanja genov v okuženih trslih in jih primerjali z zdravimi. Ugotavljali smo, kateri geni so v okuženih trslih izraženi drugače kot v zdravih. V okuženih trslih smo zaznali povečano

izražanje genov vpletenih v metabolizem sladkorjev in s patogenezo povezanih genov. Zanimivo je to, da smo razlike v izražanju genov v okuženih trslih zaznali že zgodaj v sezoni, to je pred razvojem bolezenskih znamenj.

Povedali ste, da proučujete tudi interakcije med trto in abiotičnim, neživim okoljem. Takih interakcij je zelo veliko, zato ste se verjetno morali pri raziskavah omejiti. Katere vplive proučujete?

► Osredotočamo se na raziskovanje odzivov trte na sušni in slanostni stres. Pri raziskovanju odzivov na pomanjkanje vode sodelujemo z raziskovalci iz Italije. Iz okolice Vidma smo dobili vzorce dveh novih genotipov vinske trte. Napravili so križance, ki so odporni proti dvema najpogostejšima glivama, in zanima jih, kako ti križanci odreagirajo na sušne razmere. Tudi tu gre za raziskovanje odzivov rastline na transkriptomski ravni. Tako ugotavljamo, kateri geni so se na rastlini, ki je bila izpostavljena suši, izrazili drugače kot pri rastlini, ki je

▼ Raziskovalci proučujejo izražanje genov v listih in tudi jagodah vinske trte (*Vitis vinifera*). (Foto: Maruša Pompe Novak)



▲ Vinograd pri Gočah v Vipavski dolini. (Foto: Davorin Tome)

bila dobro zalita. Ugotavljamo odzive v različnih časovnih točkah, zato delamo analize na vzorcih rastlin, ki so bile izpostavljene suši različno dolgo. Dan ali dva po začetku sušnega stresa ne pričakujemo nobenih sprememb, nato pa se razlike v primerjavi s trto, ki je normalno zalivana, večajo. Ugotavljamo, kako se vinska trta odziva na pomanjkanje vode in katere presnovne poti, ki ji omogočajo prestopiti sušo brez hujših posledic, pri tem aktivira.

V ta namen v našem laboratoriju iz vzorcev vinske trte izoliramo RNK. V pošiljkah iz Italije so bili vzorci shranjeni na suhem ledu, nato pa smo jih v laboratoriju hranili pri temperaturi -80°C , na kakršni morajo biti ves čas, sicer so za testiranja neuporabni. Te vzorce zmeljemo v terilnici v tekočem dušiku, pri čemer moramo zelo paziti, da jih ne bi uničili. Če pridejo v stik s kožo ali slino, kjer imamo encime RNaze, niso več uporabni. Pazljivo izolirano RNK nato pošljemo v enega od servisov v tujini, ki se s tem ukvarja rutinsko, da nam odčita zaporedja nukleotidov v zelo velikem številu RNK. Ogromno količino odčitkov, ki nam jih

pošljejo, razvrstimo na ustrezna mesta v genomu vinske trte. Število odčitkov na posameznem delu genoma nam pove, kako močno se določen gen izraža. Dobljene podatke obdelamo z različnimi statističnimi orodji in vizualiziramo z aplikacijo, ki smo jo razvili skupaj z nemškimi raziskovalci. Iz

” Ugotavljamo, kako se vinska trta odziva na pomanjkanje vode in katere presnovne poti, ki ji omogočajo prestopiti sušo brez hujših posledic, pri tem aktivira.

tega ugotovimo, katere presnovne poti so pod določenimi pogoji bolj izražene. Na ta način lahko tudi presodimo, kateri genotipi trte so proti suši bolj odporni, saj je v njih v sušnih razmerah različno izraženo manjše število genov v primerjavi z dobro zalitimi rastlinami, kot pri na sušo bolj občutljivih genotipih.

Je uporabna vrednost tega znanja v predvidevanju, kako bo trta odreagirala na verjetno čedalje bolj sušne razmere zaradi podnebnih sprememb?

Uporabnih vrednosti je več. Čisto bazična je, da razumemo, kaj se v rastlini zgodi, ko je izpostavljena sušnemu stresu. Če primerjamo proti suši odporno sorto s sorto, ki proti njej ni odporna, lahko ugotovimo, v katerih procesih se ti dve rastlini razlikujeta. To lahko žlahtnitelji upoštevajo in s križanjem ali kakšno novo metodo vnesejo gen za te lastnosti v rastlino; vanjo torej vnesejo gene in jo tako napravijo odporno proti suši. Ko pa imamo že neke nove genotipe, kot sta tudi omenjena križanca trte, ki smo ju dobili iz Italije, pogledamo, kako se odzivajo na okolje. Če v sušnih razmerah ne vklopijo stresnih presnovnih poti, lahko sklepamo, da se bodo v suši dobro obnesli.

» **Če rastline z virusom okužimo zvečer, se na njih pojavijo močnejša bolezenska znamenja, ki se pojavijo tudi prej, kot če rastline okužimo zjutraj. Interakcija med rastlino in virusom torej ni vedno enaka.**

Kaj pa slanostni stres? Za kaj gre pri tem?

► Gre za ugotavljanje, kako se vinska trta odzove na zalivanje z vodo, v kateri je veliko različnih soli. Kot partnerji v mednarodnem projektu smo dobili vzorce listov, korenin in jagod vinske trte iz Španije in Izraela. Vzorce RNK pripravimo enako kot v primeru raziskav vodnega stresa, jih pošljemo na sekvenciranje in nato analiziramo dobljene odčitke. Tudi tu ugotavljamo, kako se pri rastlinah, ki so izpostavljene slanostnemu stresu, izražajo različni geni.

Za to znanje so v Izraelu in Španiji zelo zainteresirani. V Izraelu se namreč preprosto odločijo, da bodo nekje pač imeli vinograd, in to je lahko kar sredi puščave. Ker tam ni vode, morajo vinograd namakati, za kar uporabljajo reciklirano vodo. Vodo,

ki je že bila v uporabi, na različne načine prečistijo. Pri tem se znebijo mikroorganizmov in drugih zdravju škodljivih snovi, zelo težko pa je iz nje izločiti različne soli, ki jih vsebuje. Ta voda je torej običajno bolj slana.

Veliko časa posvečate tudi raziskovanju cirkadianega, dnevnega biološkega ritma rastlin. Kaj poskušate ugotoviti?

► Dobro znano je, da imajo rastline med dnevom vklopljene različne gene. Opazili smo, da ni vseeno, če rastline okužimo z virusom zjutraj, opoldne ali zvečer. Če rastline z virusom okužimo zvečer, se na njih pojavijo močnejša bolezenska znamenja, ki se pojavijo tudi prej, kot če rastline okužimo zjutraj. Interakcija med rastlino in virusom torej ni vedno enaka. Naša hipoteza je, da rastline varčujejo z energijo, in ker je največji pritisk žuželk, ki prenašajo viruse, zjutraj, menimo, da imajo zjutraj rastline obrambne mehanizme bolj vklopljene kot opoldne ali zvečer. To je zdaj predmet obširne raziskave. Rastline smo okužili v različnih delih dneva in spremljali njihov odziv; opazovali smo izražanje njihovih genov.

Poleg tega pa smo se raziskovanja tega problema v sodelovanju z Inštitutom Jožef Stefan lotili tudi s popolnoma drugačnim pristopom. Uporabljamo t. i. rudarjenje besedil (ang. *text mining*), pri čemer skušamo s primerjavami znanstvenih člankov iz dveh različnih domen priti do besed, ki povezujejo obe domeni in bi nas lahko napeljale na nove zamisli. Te je treba nato v laboratoriju preveriti, s čimer pa bi lahko prišli do novega znanja. V zadnjem času smo s sodelavci iz Inštituta Jožef Stefan preizkusili še en, čisto nov pristop rudarjenja besedil. Primerjali smo vektorske relacije med izrazi v znanstvenih člankih iz dveh različnih domen. Tudi ta metoda se je izkazala kot obetavna za uporabo v bioloških znanostih.

Kakšna je potencialna uporabna vrednost domneve, če se bo ta potrdila, kako vpliva del dneva, v katerem pride do okužbe, za proizvajalce krompirja in različnih rastlin nasploh?

► Za zdaj je največja uporabna vrednost tega za same raziskovalce. Ko načrtujejo nek poskus, je



▲ Proučevanje dnevnega biološkega ritma rastlin. (Foto: Aleš Rosa)

včasih vzorcev ogromno. Včasih smo vzorce pobrali cel dan, od jutra pa do večera. Ampak razlika v izražanju genov med vzorci, ki smo jih pobrali zjutraj, in tistimi, ki smo jih pobrali zvečer, je bila morda večja zaradi različnega dela dneva kot pa zaradi tretmaja. Prvo sporočilo je torej, da je treba poskuse izpeljati vedno v istem delu dneva, saj imajo rastline svoj notranji cirkadiani ritem. Tako bodo raziskave zares primerljive med sabo in uporabne tudi za naprej. V znanstvenih člankih je zelo natančno navedeno, pri kakšni temperaturi in vlagi so bile rastline gojene ter kakšna je bila fotoperioda. Ni pa običajno, da bi v njih – izjema so članki, ki se izrecno ukvarjajo s proučevanjem cirkadianega

ritma – raziskovalci navedli, ob kateri uri dneva so bili rastlinski vzorci nabrani. Glede na ugotovitve iz naših raziskav menim, da bi to moralo v prihodnje postati standard.

RAZNOLIKOST IDEJ

Na sledi za povzročitelji rastlinskih bolezni

» Ker delamo s tako nevarnimi bakterijami, se pozitivnih rezultatov ne moremo razveseliti, saj pomenijo težave.

Zaznavanje zgodnje prisotnosti morebitnih povzročiteljev bolezni rastlin, ki so namenjene za prehrano ali krmo živali, je zelo pomembno, še zlasti zato, ker za številne rastlinske bolezni nimamo na voljo učinkovitih načinov zdravljenja, posledična gospodarska škoda pa je lahko izjemno velika. Strokovnjaki NIB-a imajo z določanjem povzročiteljev, kot so viroidi, virusi, fitoplazme in bakterije, bogato znanje ter dolgoletne izkušnje. Redno sodelujejo z Upravo RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, Inšpekcijo za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, Kmetijskim inštitutom, vzorce pa dobivajo v pregled tudi od zasebnikov iz Slovenije in tujine. NIB od njih dobiva v testiranje vzorce rastlin, ki jih uvažajo v Slovenijo za sajenje, hrano ali druge namene, ter vzorce rastlin s slovenskih polj, sadovnjakov in vinogradov. Na osnovi rezultatov testiranja, opravljenih na NIB-u, Slovenija odreja ukrepe, ki omejujejo in preprečujejo širjenje rastlinskih okužb. NIB je na tem področju vključen tudi v številne mednarodne povezave, projekte in sodelovanja.

Virusi in virusom podobni povzročitelji bolezni okužujejo tudi rastline

Mikroskopsko majhni virusi, viroidi in fitoplazme se izven gostitelja niso sposobni razmnoževati. Na velike razdalje se širijo z žuželjimi prenašalci, semeni, sadikami ali cepiči. Na krajše razdalje se prenašajo tudi z okuženim orodjem, dotikom ali koreninskimi mostički, ki nastanejo v gostih nasadih. Vir okužbe z nekaterimi virusi in viroidi je lahko kontaminirana voda, ki se uporablja za namakanje. Do okužbe lahko pride tudi z vodo, ki se izceja s komposta, ali pa se povzročitelji okužijo sproščajo iz okuženih rastlin, ki rastejo blizu vodnih virov. Teh mikrobov ni mogoče zaznati s klasičnimi mikrobiološkimi metodami, temveč le z najbolj občutljivimi molekularnimi pristopi. Z njimi lahko določijo posamezen tarčni virus; z vse bolj uveljavljenim visokozmogljivostnim sekvenciranjem (ang. *high throughput sequencing*, HTS) pa raziskovalci z eno samo reakcijo preverijo prisotnost kateregakoli virusa, ki je morda v vzorcu.

Rastlinski virus, na katerega so bili raziskovalci v Sloveniji v letu 2020 najbolj pozorni, je virus rjave

grbančavosti plodov paradižnika (ang. *tomato brown rugose fruit virus*, ToBRFV). Bolezenska znamenja so lahko opazna na vsej rastlini, se pa od sorte do sorte razlikujejo. Možna je tudi okužba paprike; pleveli, ki lahko predstavljajo rezervoar za okužbe, pa običajno ne kažejo znamenj bolezni. Ker je virus zelo stabilen, ostane kužen v rastlinskih ostankih več mesecev in se prenaša z dotikom, okuženim orodjem ali semenom. Prva znamenja okužbe so opazili leta 2014 v Izraelu, naslednje leto pa so virus v Jordaniji tudi določili. V Evropi so ga odkrili leta 2018, najprej v Italiji in Nemčiji, nato pa še v nekaterih drugih državah. Čeprav virusa v Sloveniji še niso potrdili, je nevarnost njegovega vnosa znatna prek transporta iz Luke Koper, skozi katero poteka dokaj velik uvoz paradižnika v Evropo. Za sledenje ToBRFV so v letu 2020 na NIB-u začeli koordinirati in izvajati program

preiskave, prve vzorce pa so analizirali že leta 2019. Morebitno prisotnost tega virusa v Sloveniji ugotavljajo tudi z analiziranjem vzorcev vod iz čistilnih naprav in vzorcev, nabranih v okolici nasadov paradižnika.

Raziskovalci na NIB-u so dokazali, da viroid vretenatosti gomoljev krompirja (ang. *potato spindle tuber viroid*, PSTVd), ki povzroča veliko škodo predvsem pri pridelavi krompirja in paradižnika, lahko preživi do sedem tednov izven gostitelja v vodi, ogreti na sobno temperaturo. Leta 2014 so viroid s posebnim postopkom za zaznavanje izredno nizkih količin PSTVd določili v vzorcih semen paradižnika. Vzorca so bili odvzeti iz večje pošiljke, ki je prispela iz tretje države v Luko Koper kot vstopno točko v EU. Pošiljko teh semen so uničili in s tem preprečili škodo, ki bi lahko nastala, če viroida ne bi odkrili.

▼ Plod paradižnika (*Solanum lycopersicum*), okuženega z virusom mozaika paradižnika. (Foto: Olivera Maksimović Carvalho)





▲ Preverjanje rasti bakterij, ki na rastlinah povzročajo bolezni, na trdnem gojišču. Glede na obliko kolonij, ki zrastejo iz ene celice, lahko določimo, kateri vrsti bakterije pripadajo. (Foto: Aleš Rosa)

Med povzročitelji bolezni, ki jih je treba zaradi preprečevanja škode čim hitreje določiti, je tudi fitoplazma, ki na vinski trti povzroča zlato trsno rumenico. Bolezen je v Evropi karantenska, zaradi česar je zakonsko določeno uničevanje obolelih trsov ali v primeru razširjene okužbe uničenje celotnega vinograda. To fitoplazmo z rastline na rastlino prenaša žuželka ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus*), ki so ga v Evropo nenamerno vnesli v 50. letih minulega stoletja iz ZDA. Prve okužbe z zlato trsno rumenico smo v Sloveniji zaznali leta 2005 v primorski vinorodni deželi, kasneje pa se je pojavila v vseh slovenskih vinorodnih deželah. V sklopu uradnih ukrepov preprečevanja zlate trsne rumenice, ki vključujejo zatiranje ameriškega škržatka in iskanje obolelih trsov, NIB opravlja laboratorijske analize. Zaradi njih lahko vinogradniki večinoma še pravočasno odstranijo obolele trse in tako preprečijo gospodarsko škodo. Na NIB-u so na podlagi enega od evropskih projektov razvili postopek,

s katerim lahko prisotnost te fitoplazme preverijo že kar v vinogradu. Rezultat analize je znan v manj kot dveh urah – v primerjavi s klasičnim postopkom, ki traja pet dni.

Poleg omenjenih diagnostičnih testov na NIB-u razvijajo tudi druge nove teste za zaznavanje virusov, viroidov in fitoplazem. Številni so vključeni v mednarodne diagnostične protokole in so v uporabi v laboratorijih iz različnih držav. NIB je del slovenskega konzorcija nacionalnih referenčnih laboratorijev za viruse, viroide in fitoplazme, v katerem ima vodilno vlogo.

NIB izvaja redna testiranja več kot desetih možnih bakterijskih okužb rastlin

Seznam testov za rastlinske bakterije je na NIB-u zelo dolg in vključuje povzročiteljice rjave in obročkaste gnilobe krompirja, zebraivosti gomoljev krompirja, bakterijskega hruševega

ožiga, ki napade hruške, jabolane, kutine, glog in še številne druge rastline, bakterijskega ožiga aktinidij in bakterijskega ožiga oljk. S takimi testiranjimi so odkrili in preprečili že številne okužbe. Leta 2003 so na primer v le enem mesecu odkrili 33 pošiljk krompirja s Poljske, okuženega z obročkasto gnilobo. Poleg preprečitve vnosa okužbe v Slovenijo je to Poljski omogočilo sprejem ukrepov, ki so v naslednjih letih pripeljali do pridelave zdravega krompirja. Podobno so ugotovili rjavo okužbo že posajenega krompirja, ki je izviral z Nizozemske. Testiranju je sledil uspešen ukrep, ki je obsegal uničenje krompirja, razkuženje kmetijske mehanizacije in večletno prepoved sajenja krompirja na njivi, saj bakterije v tleh lahko preživijo več let.

Leta 2000 je NIB uvedel testiranje na bakterijsko povzročiteljico hruševega ožiga. Testiranje vzorcev uvoženih rastlin je ob še drugih ukrepih omogočilo, da se je ta bolezen, ki se širi po naravnih poti, Slovenijo dosegla med zadnjimi

državami v Evropi. Posebna vrednost je, da je del Slovenije z njo še vedno neokužen, kar tam omogoča pridelovanje sadilnega materiala. Na NIB-u so razvili metode, ki ne zaznavajo le prisotnosti bakterije, ampak omogočajo tudi sledenje posameznim izolatom (podskupinam) te bakterije. To omogoča lažje določanje geografskega izvora okužbe, boljše analizo tveganj in pomaga pri odločitvi, kje nabavljati rastline, da te ne bodo okužene.

Med redna testiranja spada testiranje vzorcev krompirja, ki prihaja iz Egipta v Evropo skozi Luko Koper. V Egiptu prihaja do okužbe z bakterijo, ki povzroča karantensko bolezen – obročkasto gnilobo krompirja. Na NIB-u izvajajo tudi testiranje vzorcev različnih rastlin, zbranih v nasadih in poljih. Med vzorci so vzorci na videz zdravih rastlin, saj bakterije, ki so v njih, bolezni ne povzročajo. Kljub temu so rastline s takimi prikritimi okužbami lahko vir okužbe za druge rastline. Testirajo tudi vzorce, pridobljene

▼ Uničenje vinograda zaradi okužbe z zlato trsno rumenico. (Foto: arhiv NIB-a)





▲ Pomembno orodje za odkrivanje povzročiteljev bolezni rastlin so molekularne analize. Za pravilno interpretacijo rezultatov na NIB-u skrbi visoko usposobljeno osebje. (Foto: Aleš Rosa)

z območij, za katera se sklepa, da je verjetnost za širitev določene bolezni večja.

Zelo pomemben je prispevek NIB-a na področju novih, hitrejših in učinkovitejših metod in postopkov za ugotavljanje prisotnosti bakterij. Mnoge na NIB-u razvite metode so vključene v različne standarde, zanje pa se pogosto sami odločajo številni laboratoriji v Evropi in svetu. Ena takih inovativnih metod omogoča določanje prisotnosti bakterije *Xylophilus ampelinus* v realnem času. Bakterija povzroča bakterijski ožig vinske trte, resno bolezen, ki ogroža zlasti vinograde sredozemskih držav.

Leta 2019 je NIB za evropske nacionalne laboratorije organiziral tudi testiranje usposobljenosti za določanje za Evropo karantenske bakterije *Xylella fastidiosa*. Bakterija povzroča bakterijski ožig oljk in je v zadnjih letih katastrofalno prizadela nasade oljk v južni Italiji. Ker gojenje oljk na tem območju ni le danes pomembna gospodarska panoga, temveč je že tisočletja vpeto v vse pore tamkajšnjega življenja, ima škoda zaradi te bolezni tudi pomemben

družbeni pečat. Gostiteljice bakterije so številne rastline, kar ji omogoča širjenje po celotnem območju Sredozemlja.

NIB je del EURL za viruse, viroide, fitoplazme in del EURL za bakterijske povzročitelje bolezni rastlin

Na osnovi odličnih referenc je NIB leta 2019 pridobil status dveh evropskih referenčnih laboratorijev (EURL) za povzročitelje bolezni rastlin: EURL za viruse, viroide in fitoplazme ter EURL za bakterije. EURL za viruse, viroide in fitoplazme je konzorcij treh laboratorijev, ki ga vodi nizozemski nacionalni laboratorij, NIB in italijanski laboratorij CREA pa sta partnerja. EURL za bakterije pa je konzorcij štirih laboratorijev, ki ga vodi nizozemski nacionalni laboratorij, NIB, belgijski laboratorij ILVO in italijanski laboratorij CREA pa so partnerji. Laboratorija na NIB-u vodita **dr. Nataša Mehle**, ki je zadolžena za diagnostiko virusov in fitoplazem, in **dr. Tanja Drejo**, odgovorna za diagnostiko bakterij. Na podlagi EURL se NIB

med drugim ukvarja z dvema trenutno najpomembnejšima boleznima, s katerima ima dolgoletne izkušnje, in sicer zlato trsno rumenico in bakterijskim ožigom oljk. Z dodelitvijo preverjanja usposobljenosti laboratorijev za ugotavljanje prisotnosti teh dveh rastlinskih bolezni je konzorcij NIB-u izkazal prav posebno strokovno zaupanje.

NIB kot referenčni laboratorij EU zagotavlja pristojnim nacionalnim referenčnim laboratorijem in uradnim laboratorijem iz EU najnovejše informacije o diagnostičnih metodah in postopkih. Na podlagi referenčnega laboratorija NIB nadaljuje prakso, ki je bila uveljavljena še pred imenovanjem, in organizira medlaboratorijske primerjalne preskuse za preverjanje usposobljenosti laboratorijev z vsega sveta in za preverjanje ustreznosti njihovih diagnostičnih metod ter programov usposabljanja.



▲ Tako različni in obenem tako podobni v skrbi za zdravje rastlin. Dr. Tanja Drejo (levo) je vodja EURL za bakterije na NIB-u in imenovana članica panela European and Mediterranean Plant Protection Organization za diagnostiko bakterij. Pridr. prof. dr. Nataša Mehle (desno) je vodja EURL za viruse, viroide in fitoplazme na NIB-u in imenovana članica panela European and Mediterranean Plant Protection Organization za diagnostiko virusov in fitoplazem. (Foto: Marko Arandjelovic, Kraftart)

Vibracijska komunikacija žuželk

Zvočno sporazumevanje med žuželkami je več kot dobro znano; samo spomnimo se na poletje ob morju in na neutrudno oglašanje škržadov. Tudi o njihovi komunikaciji s pomočjo kemikalij, feromonov, vemo veliko. Veliko bolj neobičajno pa se sliši trditev, da žuželke »slišijo z nogami«. Govor je o t. i. vibracijski komunikaciji. Dr. Jernej Polajnar se ji posveča že skoraj 15 let. S tem področjem se je veliko ukvarjal že njegov mentor dr. Andrej Čokl, ki je bil nekoč študent dr. Matije Gogala. Prve strokovne članke na to temo sta dr. Gogala in dr. Čokl objavila že v začetku 70. let prejšnjega stoletja. Dr. Polajnar s sodelavci nadaljuje njuno v marsičem pionirsko delo. Iz rezultatov »čiste znanosti« se obetajo sodobni načini zatiranja nekaterih žuželk, ki v kmetijstvu povzročajo veliko škodo.

- ▶ Jernej Polajnar je poleg znanstvenega dela na področju biotremologije aktiven tudi kot organizator v skupnosti slovenskih wikipedistov. (Foto: Andrej Jakobčič/Wikimedia Commons; CC-BY-SA 3.0)



- ▲ Proučevanje vibracijskega vedenja marmorirane smrdljivke (*Halyomorpha halys*) bi lahko omogočilo boljši nadzor tega invazivnega škodljivca v kmetijstvu. (Foto: Jernej Polajnar)

Je raziskovanje vibracijske komunikacije v bistvu širjenje znanja o bioakustiki, katere pionir je bil v 30. letih minulega stoletja slovenski biolog Ivan Regen?

- ▶ Področji sta zgodovinsko tesno povezani, saj tudi v naravi med komunikacijo z zvokom in komunikacijo z vibracijami podlage ni vedno ostre ločnice. Logično je torej, da raziskovalce enega področja pritegne tudi drugo. Ironično je, da je imel Regen nasproten problem – zaradi enega od svojih kritikov je moral precej truda nameniti dokazovanju, da se murni ravna po zvoku, ki potuje po zraku, in ne po vibracijah podlage. Po drugi strani pa so bili nekateri recenzenti objav našega oddelka še v začetku 21. stoletja skeptični nad trditvijo, da lahko žuželke pridobivajo informacije iz vibracij podlage.

Raziskave vibracij dejansko izhajajo iz raziskav zvočne komunikacije. Sredi minulega stoletja je, če malo poenostavim, pozornost raziskovalcev

pritegnilo dejstvo, da imajo nekatere živali podobne strukture kot živali, ki med sabo komunicirajo z zvokom, pa tudi obnašajo se podobno. Kobilica na primer se ustavi, odda nek zvok in gre naprej iskat partnerja. Tako so se obnašale tudi nekatere druge živali, le da pri njih ni mogoče zaznati nobenega zvoka. Švedski entomolog Frej Ossiannilsson je to opazil pri škržatkih, ki jih je proučeval. Ker ni ničesar slišal, je dal škržatka v steklen tulec, si ga vtaknil v uho ter tako slišal šibke zvoke. Kasneje so

”Pozornost je pritegnilo dejstvo, da se nekatere živali obnašajo podobno kot živali, ki med sabo komunicirajo z zvokom, pa čeprav pri njih ni mogoče zaznati nobenega zvoka.

postavili na podlago gramofonske igle in lepo zaznali vibriranje žuželk. Speljali so signal na osciloskop, uporabljali pa so tudi kontaktne mikrofone. Lahko rečemo, da se je področje rodilo iz čiste improvizacije in pionirske uporabe tehnike, kar je pomembno še zdaj.

Ljudje specializiranih čutnic za vibracije nimamo, smo jih pa sposobni zaznati s čutili za tip v koži. Seveda je občutljivost temu primerno skromna, a z nekaj sreče je možno začutiti signal stenice, če jo imaš na prstu, ko »zapoje«. Ploske površine, kot so listi, na katerih stojijo žuželke, sicer z nihanjem zanihajo tudi zrak, vendar pa so ti zvoki izredno šibki in slišni le v idealnih razmerah z ušesom tik ob površini.

Kako bi lahko preprosto opisali vibracijsko komunikacijo?

► Najlažje kar kot seštevek obeh besed. Komunikacija je, poenostavljeno rečeno, prenos informacij

▼ Prek koščka odbojne folije, v katero je bil usmerjen laserski žarek, so raziskovalci ujeli predparitvene vibracijske signale ameriških škržatkov (*Scaphoideus titanus*). (Foto: Jernej Polajnar)

med oddajnikom in sprejemnikom, pridevnik »vibracijska« pa se nanaša na kanal, po katerem se te informacije prenašajo. Torej komunikacija, pri kateri oddajnik sproži mehansko nihanje podlage, sprejemnik pa to nihanje zazna s svojimi čutili. Podlaga deluje kot medij, po katerem se signali razširjajo. Na ta način komunicirajo večinoma majhne rastlinojede živali, ki jim za medij služi kar gostiteljska rastlina. Žuželke, ki imajo trd zunanji skelet, so zanj dobro opremljene.

Osnovni načini vibracijske komunikacije so štirje. Trkanje ob podlago, za katero je značilno, da je energetsko dokaj neučinkovito, saj se ob trku v podlagi vzbudi kaotično nihanje, pri katerem so zastopane vse frekvence, a se večina hitro uduši in sploh ne pride do sprejemnika; tremulacija, kar pomeni tresenje celega telesa; stridulacija ali drgnjenje serije zobcev ob trdo strukturo (na ta način kobilice proizvajajo zvok, še več drugih vrst žuželk pa vibracije); in še četrti način, vibriranje določenega

dela telesa s specializiranimi mišicami. Mnoge vrste kombinirajo različne načine. Vibracijski signali po svojih funkcijah niso nič bistveno drugačni od ostalih tipov signalov. Funkcije so raznolike, od označevanja prisotnosti pri teritorialnih žuželkah, novačenja članov kolonije pri socialnih žuželkah pa do klicanja mame, ko se gruča ličink približa plenilec. V večini znanih primerov pa gre za dvorjenje – prepoznavanje, izbiro in iskanje spolnega partnerja.

Katere žuželke pa se sporazumevajo z vibracijskimi signali?

► Vibracijska komunikacija je pri žuželkah izjemno razširjena, po nekaterih ocenah celo bolj kot kemična. Skoraj v vsakem redu žuželk najdemo predstavnike, celo v tako eksotičnih skupinah, kot so bogomolkasti paličnjaki (Mantophasmatidae). Splošno razširjena je pri termitih, kobilicah, nogoprelcih, vrbnicah, polkrilcih, velekrilcih, kamelovratnicah, mrežekrilcih in mladoletnicah; skupno gre za okrog 200.000 vrst žuželk. Pri tem ne smemo pozabiti, da so številne podskupine s tega vidika še povsem neraziskane, zato je prava številka verjetno še precej višja. Mnoge med njimi, kot so mali škržatki (Cicadellidae), sploh ne uporabljajo nobene druge modalitete za komunikacijo na daljše razdalje.

99 Osnovni načini vibracijske komunikacije so trkanje ob podlago, tremulacija ali tresenje celega telesa, stridulacija ali drgnjenje zobcev ob trdo strukturo in vibriranje dela telesa.

Kako žuželke, ki so jim vibracijski signali namenjeni, le-te zaznajo?

► Žuželke so poraščene s čutili za tip – dlačicami, ki zaznavajo mehanske odmike, poleg tega odmike zaznavajo tudi s tipalnicami. Mnogo bolj pa so občutljivi specializirani receptorji, t. i. hordotonalni organi, ki jih imajo žuželke v sklepnih nog. Ti

so pogosto uglaseni na frekvenčno območje, ki ga določena vrsta uporablja pri sporazumevanju.

Na kakšno razdaljo se na ta način lahko sporazumevajo?

► Doseg je načeloma omejen z neprekinjeno podlago, ki ima določene fizikalne lastnosti. V primeru žuželk je to rastlina, na kateri stoji žival. Na sosednje rastline gre vibracijski signal lahko prek fizičnih stikov (kjer se listi in stebela naslanjajo drug na drugega), v grobem pa govorimo o velikostnem razredu enega metra ali dveh. Nekaj malega se sicer lahko prenaša še prek stika korenin ali v obliki zračnega valovanja čez nekajcentimtrske razdalje med listi. Kar je vseeno ogromno – tako na primer pri škržatku, ki je velik približno pol centimetra, dobimo pri dosegu enega metra faktor od 200 do 400 telesnih dolžin! To je podobno, kot če bi se midva pogovarjala na razdaljo kakšnega pol kilometra.

Je ta vrsta komunikacije enakovredna drugim komunikacijam med živalmi? Katere so njene slabosti in katere prednosti?

► Vsak način komunikacije ima prednosti in slabosti, zato v naravi različni načini obstajajo hkrati in se uporabljajo glede na okoliščine in strategijo komunikacije posamezne vrste. Glavni pomembni vidiki so energetska zahtevnost, možnost nadzora signalov, izkoriščanje komunikacije s strani tekmecev in plenilcev ter hitrost. Če primerjamo komunikacijo s feromoni, ki jih mora raznesti veter, je vibracijska komunikacija veliko hitrejša in natančnejša, praktično je hipna. Vendar so vibracije še vedno dovolj počasne, da določeni členonožci iz njih izluščijo informacijo, od kod prihajajo – podobno kot ljudje s sluhom zaznamo, od kod prihaja nek zvok. Stenice, ki so dokaj velike, imajo, ko se razkročijo, približno en centimeter razmika med nogami. Ko samec išče mesto, s katerega samica »poje« in ga vabi k sebi, gre v smeri izvora. Medtem ji odgovarja, s čimer jo spodbuja k nadaljnjemu »petju«, saj lahko tako najde stalno mesto, s katerega se samica oglašuje. Ko pride do razvejišča, kjer se pecelj stika s stebлом, se mora odločiti, kam bo šel. Po deblu gor ali dol ali pa na drug pecelj? Zato raztegne noge (ima jih šest) in jih nekaj



postavi na en, nekaj pa na drug del razvejišča. Tako vsak val doseže najprej en, potem pa še drug del nog. Fazni zamik je majhen, manj kot pol milisekunde, a zadošča, da razbere, kje je izvor »petja« in gre v pravo smer.

Ali te signale zaznavajo tudi žuželke druge vrste in nežuželke?

► Nobena žival v naravnem okolju ni izolirana. Govorimo o komunikacijskem omrežju, pri katerem so signali v dosegu potencialno številnih živali izven para oddajnik – sprejemnik. Gre za različne vrste interakcij – kompeticijo, plenilstvo in šum. Pri kompeticiji oz. tekmovanju lahko, če spet vzamemo za primer škržatka, drug samec zazna komunikacijo para in se ravna po odgovorih samice. Tako jo najde brez truda in se ima priložnost spariti z njo. Temu pravimo »satelitsko vedenje«. Pri plenilstvu gre za to, da se po signalih ravna plenilci; tak primer so pajki, ki lovijo iz zasede. Ker so samci bolj aktivni »pevci«, predstavljajo večji delež plena kot bi pričakovali po razmerju med spoloma. Šum pa predstavljajo signali drugih živali, ki uporabljajo isti komunikacijski kanal in s tem ovirajo komunikacijo ostalih.

99 Vibracijsko komunikacijo uporabljajo tudi nekateri sesalci, denimo sloni. Njihovo kruljenje se prek nog prevaja v tla in se kot vibracije širi več kilometrov daleč.

Na kakšen način zaznavate vibracijske signale, glede na to, da jih naša čutila praktično niso sposobna zaznati?

► Zaradi omejenosti svojih čutov v svet vibracijske komunikacije res lahko vstopimo samo z uporabo specializiranih naprav. Najuporabnejši so laserski vibrometri – ti pošiljajo laserski žarek proti proučevani površini in lastnosti odboja pretvorijo v zapis nihanja te površine. Njihova prednost je izjemna občutljivost, še bolj pa to, da jih ni treba

pritrjevati, kar bi spremenilo mehanske lastnosti podlage. Vendar pa je to draga in nepriločna oprema, zato marsikje uporabljajo akcelerometre, kakršne poznajo inženirji, ali pa že omenjene gramofonske igle. Te alternative laserjem so predvsem uporabne za terensko snemanje.

Signale, ki jih zajema naprava, posnamemo z računalnikom na enak način kot zvok in jih lahko tudi prikazujemo ter obdelujemo s programi za obdelavo zvoka. Ker so frekvence večinoma v območju človeškega sluha, si lahko te zapise, da jih bolje razumemo, predvajamo kot zvok.

Kako potekajo te raziskave v praksi?

► Konkreten potek raziskovanja vibracijske komunikacije je povsem odvisen od vprašanja, ki si ga raziskovalec zastavi. Laboratorijska raziskava v osnovi vključuje areno – naravno ali umetno podlago (substrat), na kateri stoji žival in oddaja signale. To je lahko prožna membrana ali sadika gostiteljske rastline te živali. Nekje na tej podlagi je prilepljen košček odbojne folije, v katero usmerimo laserski žarek in nato zaznavamo vse vibracije te točke. Pri raziskavi spolne komunikacije sta v areni običajno samec in samica, ki si začneta dvoriti in se iskati. Raziskovalec opazuje to vedenje in snema vibracije, lahko pa snema tudi video zapis. Poleg tega včasih manipuliramo vedenje s predvajanjem prej posnetih vibracij; areno lahko zanimamo z zvočnikom ali pa je nanjo pritrjen vzbujevalnik vibracij.

V naravi za zdaj v glavnem opazujemo, torej usmerimo enega ali več laserjev na izbrano točko v rastlinju in beležimo signale.

Kako ugotovite, kateri žuželki pripadajo neki signali, ki jih zaznate?

► Pri snemanju v naravi je to lahko zelo težavno! V prepletu listov, vejic, stebel in travnih bilk se znajo žuželke zelo dobro skriti, zato konkretnega »pevca« pogosto ni mogoče identificirati, tudi če so signali zelo močni. Zato se problema običajno lotevamo v obratni smeri: v laboratoriju snemamo vrste, ki smo jih določili po telesni zgradbi in potem iščemo znane signale v posnetkih iz narave. Naša knjižnica signalov je še dokaj skromna in za razliko od zvočnih posnetkov za zdaj ni dostopnega arhiva



▲ Terensko snemanje vibracijske krajine na Ljubljanskem barju. (Foto: Jernej Polajnar)

posnetkov. Iz posnetkov vibracijske krajine na Ljubljanskem barju znamo po signalih na primer identificirati kakšno šestino vrst. V laboratoriju večinoma opazujemo posamezne živali ali živali v parih, tako da običajno ni dilem.

Ali tudi druge živali, poleg žuželk, uporabljajo vibracijsko komunikacijo?

► Žuželke še zdaleč niso edine, so le ene od najbolj znanih in proučenih. Med ostalimi znanimi uporabniki so tudi sesalci. Verjetno fizično najbolj impresiven primer so sloni, ki jih včasih slišimo, kako zamolklo krulijo. Ti signali se po zraku ne slišijo prav daleč, prek nog pa se prevajajo v tla in se kot vibracije tal lahko razširjajo tudi po več kilometrov daleč. Druge živali jih zaznavajo s posebnimi receptorji v stopalih, pa tudi z notranjim ušesom. Poleg tega obstaja med sesalci še nekaj specializiranih primerov vibracijske komunikacije. Na primer slepa

kužeta, glodavci, ki živijo pod zemljo. Imajo ojačano lobanjo, s katero udarjajo po stenah rovov, ki jih kopljejo. To zaznajo druge živali in se umaknejo. Tako preprečijo, da bi med kopanjem prišlo do ključnega neposrednega stika, saj so to zelo teritorialne živali.

Zelo znan je tudi primer puščavskega zlatega krta, ki ga je v svojih dokumentarnih filmih predstavil David Attenborough. To je popolnoma slep žužkojed, ki živi v puščavah Namibije in ima močno preoblikovane slušne koščice. Hrani se s termiti, ki se v goli puščavi običajno zadržujejo okoli redkih šopov trave. Travnne bilke v stalnem vetru nihajo in vzbujajo vibracije tal, ki se nato širijo po pesku. Krt jih zazna tako, da položi čeljust na tla, zaradi česar zanihajo njegove občutljive ušesne koščice. To ga usmeri k šopu trave, podobno pa tudi zazna vibracije, ki jih termiti oddajajo med tekanjem po pesku.

Od ostalih živalskih skupin je vibracijska komunikacija razširjena med pajki, znani pa so tudi posamezni primeri v številnih skupinah od glist dalje. Skoraj povsod, kamor pogledamo, najdemo vibracije in tu je še ogromno prostora za raziskave.

Ali obstaja kakšna potencialna uporabna vrednost rezultatov, pridobljenih z raziskovanjem vibracijske komunikacije?

► Biotremologija, kot pravimo vеди, ki proučuje vibracijsko komunikacijo, je kot panoga razmeroma skromno razvita, med drugim zaradi tehnološke zahtevnosti raziskav, ki nimajo neposredne uporabne vrednosti. Kljub temu pa kaže v preteklih desetletjih pridobljeno temeljno znanje potencial za uporabo in nekaj pristopov v svetu že aktivno razvijajo. Danes so v razvitem svetu veliko pozornosti deležne alternativne metode nadzora škodljivcev v kmetijstvu. Javno mnenje se pospešeno

obrača proti pesticidom, pa tudi regulacije EU so močno poosttrile pravila in mnogo učinkovin je prepovedanih. Zato se razvijajo ideje o uporabi vibracijskih signalov, ki jih poznamo, za manipulacijo vedenja žuželk. To je eden od osnovnih pristopov integriranega nadzora škodljivcev, ki ga s pridom izkoriščajo pri feromonskih pasteh. A če upoštevamo, da mnoge žuželke komunicirajo samo z vibracijami, lahko včasih edino biotremologija nudi orodja za tak pristop.

Ali lahko navedete kakšen konkreten primer?

► Naša skupina na NIB-u se v sodelovanju z italijanskimi raziskovalci ukvarja z dvema vrstama. Ena je ameriški škržatek, ki je hud škodljivec, saj prenaša zlato trsno rumenico, zelo nevarno bolezen, zaradi katere mora vinogradnik po zakonu ves vinograd izrjavati in zažgati, če je z njo okuženih več

kot petina sadik. Pri škržatkih samci in samice komunicirajo z vibracijskimi signali. Če se znajde na isti rastlini drug samec, ju skuša zmotiti s kaotičnimi vibracijami, ki jih oddaja, in sam dobiti priložnost za parjenje. Ta naravni motilni signal smo posneli in ga močno ojačenega predvajamo v vinogradih. Situacija je za tak pristop ugodna, saj so trte v vrsti povezane z žico. Vibracije se po žici prenašajo tudi na vitice in listje trte. V teku so preskusi v vinogradu in upamo, da bo v nekaj letih tehnologija razvita do stopnje, ki bo praktično uporabna. Preskušanje je namreč zamudno. Škržatki imajo ličinke le enkrat letno in učinek prekinitve parjenja je opazen šele naslednje leto z zmanjšanjem njihovega števila. Pri tem nam je v korist, da so monofagi, kar pomeni, da se prehranjujejo le z vinsko trto, in če jih onemogočimo v vinogradu, nimajo druge možnosti.

Ali drži, da smo Slovenci na področju raziskovanja vibracijske komunikacije med vodilnimi, če ne celo vodilni na svetu?

► Biotremologija je razmeroma mlada in tudi svoje ime je dobila šele pred nekaj leti. Slovenci imamo v njej res eno vodilnih vlog skoraj od začetka 70. let prejšnjega stoletja, ko se je razširilo zavedanje o vibracijski komunikaciji pri žuželkah. Dr. Andrej Čokl je s svojim mentorjem dr. Matijem Gogalo izvedel nekaj pionirskih študij, na NIB-u pa je pod njegovim vodstvom nastala ena redkih raziskovalnih skupin na svetu, ki se osredotoča na biotremologijo. Zdaj jo vodi dr. Meta Virant Doberlet. V zadnjih letih denimo orjemo ledino pri umeščanju vibracijske komunikacije v širši ekološki kontekst, v sodelovanju z italijanskimi kolegi z inštituta Fundacije Edmunda Macha pa tudi na področju uporabe za nadzor škodljivcev. Svojo vlogo bomo leta 2021 podkrepili z organizacijo tretjega mednarodnega kongresa o biotremologiji.

▼ V kraju San Michele al'Adige na severu Italije je vzpostavljen poskusni vinograd, kjer preskušajo zamisel prekinitve parjenja ameriških škržatkov s predvajanjem motilnih vibracijskih signalov. (Foto: Jernej Polajnar)



99 **Na NIB-u obstaja ena redkih raziskovalnih skupin na svetu, ki se osredotoča na vibracijsko komunikacijo. Zadnja leta orjemo ledino pri njenem umeščanju v širši ekološki kontekst.**

Še bolj škodljiva je marmorirana smrdljivka, invazivna tujerodna žuželka iz družine ščitastih stenic, ki je bila pri nas prvič opažena leta 2017. Po Evropi in ZDA povzroča veliko škodo v sadovnjakih na koščičastem sadju; v Italiji imajo pridelovalci breskev in marelic z njo že hude težave. Gre pa tudi na paradižnik, fižol ... Njihovo zatiranje je zahtevnejše, saj drugače kot škržatki, ki se sporazumevajo izključno z vibracijami, smrdljivke komunicirajo tudi s feromoni, poleg tega se prehranjujejo z zelo različnim rastlinjem in so dobri letalci. S feromoni samci privabijo samice v bližino, recimo na isto rastlino, nato pa uporabijo vibracijske signale. Zato zamisel o zatiranju marmorirane smrdljivke temelji na kombinaciji feromonov in vibracij, kjer vibracijski signali samic spodbudijo samce, da vstopijo v past – feromoni sami povzročijo le, da se ogromno stenic pojavi v okolici pasti.

RAZNOLIKOST MNENJ

DANILO BEVK

Opraševalci in ekologija opraševanja



Opraševanje rastlin, ki so odvisne od žuželk, je z vidika človeštva zelo pomembno zlasti zaradi kmetijstva oziroma prehranske varnosti. Pri tem verjetno najprej pomislimo na kranjsko čebelo, za katero smo prepričani, da opravi veliko večino opraševanja. A je na srečo opraševalcev v naravi še veliko več in človeštvo ni odvisno le od kranjske sivke oziroma medonosne čebele, ki jo gojijo čebelarji. Divji opraševalci so že dolgo predmet znanstvenega, pa tudi zasebnega zanimanja dr. Danila Bevka. Tudi sam je čebelar, a je že veliko prej, pri desetih letih, začel gojiti čmrlje. Dr. Bevk se ukvarja z vprašanji ekologije, monitoringa in varovanja divjih opraševalcev – čmrljev in čebel samotark – pa tudi z uporabo čebel pri zaščiti rastlin, z vplivi pesticidov nanje ... Njegovo delovanje se razteza tudi na področje popularizacije znanosti.

◀ Danilo Bevk – ko pristočasna dejavnost postane resno raziskovalno delo. (Foto: Marko Čadež)

V javnosti je pogosto slišati Einsteinovo napoved, da bi ostalo po izginotju čebel človeški vrsti le še štiri leta življenja. Kako kot biolog, ki se raziskovalno ukvarja s tem področjem, komentirate to misel?

► Opraševanje je nedvomno nepogrešljiva ekosistemska storitev, torej brezplačna storitev narave. Težko si zamislimo, kako bi bilo brez opraševalcev. Vendar omenjena napoved ne vzdrži resne presoje. Ne le zato, ker ni nobenih dokazov, da bi Einstein to kdaj izrekel, ampak je preveč poenostavljena in pretirana. Medonosna čebela je le eden od opraševalcev, zato izumrtje samo te vrste ne bi bilo tako dramatično. Pa tudi če bi izumrli vsi opraševalci, le zaradi tega verjetno ne bi bilo konec človeštva. Vsaj

ne tako hitro. Dve tretjini hrane namreč ni odvisne od opraševanja žuželk. Žita na primer so vetrocvetke, pa tudi živina se v veliki meri hrani z vetrocvetkami. Tudi sadno drevje ne bi bilo povsem brez plovodov, bi pa bili količina in kakovost precej manjši.

Vsekakor bi bilo v primeru izginotja opraševalcev hrane manj, bila bi bolj enolična in zagotovo bi pri-manjkovalo nekaterih vitaminov, ki jih dobimo predvsem v hrani, ki potrebuje opraševanje. To bi zelo vplivalo na naše zdravje in življenjsko dobo. Hrana bi bila tudi precej dražja. Seveda se lahko vprašamo, ali bi bil svet, v katerem opraševalci ne bi mogli živeti, svet, v katerem bi si želeli ali zmogli živeti tudi mi. Ampak vprašanje danes ni, ali bodo čebele oziroma opraševalci preživel, ampak, ali jih bo dovolj za opraševanje v kmetijstvu.

▼ Najbolj znana opraševalka je medonosna čebela (*Apis mellifera*), a ni edina. Vsaj polovico opraševanja v kmetijstvu opravijo divji opraševalci. (Foto: Danilo Bevk)



Katere nevarnosti, ki bi lahko zmanjšale njihovo število, jim grozijo? Bo oprasovalcev za proizvodnjo hrane, po kateri bo zaradi rasti prebivalstva vse več potreb, premalo?

► Oprasovalce ogrožajo predvsem pomanjkanje hrane, pesticidi, bolezni in pomanjkanje mest za gnezdenje. Zaradi vedno večjega števila ljudi potrebe po hrani res hitro naraščajo. V večjem delu sveta narašča tudi število družin medonosnih čebel, vendar počasneje kot potrebe po oprasovanju. Nasprotno pa število divjih oprasovalcev hitro upada. Ti so bolj ogroženi kot medonosna čebela, ki pa njihovega izpada ne more nadomestiti. Ponekod v svetu se s pomanjkanjem oprasovalcev že srečujejo. Pri nas k sreči stanje še ni tako kritično, a če ne bomo ukrepali, lahko do tako imenovane krize oprasovanja pride tudi pri nas.

99 Vprašanje danes ni, ali bodo čebele oziroma oprasovalci preživeli, ampak, ali jih bo dovolj za oprasovanje v kmetijstvu.

Kakšen delež oprasovanja opravijo kranjske čebele, ki jih gojijo slovenski čebelarji, na sadnem drevju?

► Po naših raziskavah ocenjujemo, da v kmetijstvu medonosne čebele v povprečju opravijo do polovice oprasovanja, v naravi pa manj. To je povprečje, konkretno je odvisno od sadne vrste, lokacije in leta. Marsikomu se bo zdela ta ocena prenizka, saj v večini primerov v sadovnjakih številčno prevladuje medonosna čebela. A pri oprasovanju ni pomembno samo število oprasovalcev, ampak predvsem delo, ki ga opravijo, torej število pelodnih zrn, ki jih prenesejo na brazde pestičev. Tu so divji oprasovalci pogosto učinkovitejši, zato opravijo veliko več dela, kot bi sklepali po njihovi številčnosti. Seveda je tudi slaba polovica oprasovanja, ki ga opravijo medonosne čebele, velik delež. Čebela je nedvomno pomembna oprasovalka, a ne zmore vsega oprasiti sama. Slovenija je z več kot 200.000 čebeljimi družinami dežela z eno največjih

gostot čebel v Evropi, a tudi če bi jih imeli milijon, bi še vedno potrebovali divje oprasovalce. Ti so zelo pomembni, če želimo zanesljivo oprasovanje v kmetijstvu in če želimo ohraniti biodiverzitetu. Oprasovanje je »skupinski šport« in potrebuje različne »igralce«.

Ko govorite o medonosni čebeli, enkrat uporabljate ta izraz v ednini, drugič v množini. Zakaj? Ali je poleg kranjske sivke pri nas še kakšna druga vrsta medonosne čebele?

► Oboje je prav, podobno kot človek in ljudje. Veliko uporabljam ednino, da je bolj očitno, da gre za eno vrsto, pri divjih čebelah pa za množico vrst. Medonosna čebela (*Apis mellifera*) je na svetu namreč ena sama, ima pa številne podvrste. Pri nas je avtohtona le kranjska čebela (*Apis mellifera carnica*), uvoz drugih podvrst je prepovedan. Je pa na zahodu naravna meja z italijansko čebelo (*Apis mellifera ligustica*) in na meji se naravno pojavljajo križanci. Najdemo jih tudi v notranjosti Slovenije, predvsem zaradi prevažanja čebel.

Kateri so pomembni divji, prostoživeči oprasovalci, ki jih omenjate?

► Divji oprasovalci so v prvi vrsti divje čebele. V Sloveniji je bilo najdenih 35 vrst čmrljev in še več kot 500 vrst drugih divjih čebel, tako imenovanih čebel samotark. Oprasujejo pa tudi muhe trepetavke, metulji, ose, nekateri hrošči in še kaj bi se našlo.

Pa za oprasovanje v kmetijstvu res potrebujemo tolikšno pestrost ali bi bilo dovolj že nekaj vrst?

► V letu 2019 smo vzorčili oprasovalce v štirih tržnih sadovnjakih in samo na jablani dobili kar 39 vrst divjih čebel. Zagotovo niso vse enako pomembne. Če pogledamo posamezen sadovnjak, večino oprasovanja opravi nekaj vrst, npr. medonosna čebela, nekaj vrst čmrljev in še nekaj drugih divjih čebel. V drugem sadovnjaku je podobno, a je nabor teh vrst že drugačen. Razlike so tudi med leti. Torej na ravni enega sadovnjaka in enega leta gotovo ne potrebujemo stotine vrst oprasovalcev, a gledano



▲ Od oprasovanja ni odvisna samo količina, ampak tudi kakovost pridelka. Na cvetovih, ki so bolje opraseni, se razvijejo lepši, bolj hranljivi in obstojnejši plodovi. (Foto: Danilo Bevk)

širše se izkaže, da so ponekod pomembne tudi vrste, ki v večini sadovnjakov niso. Vsaka vrsta torej šteje. Moramo tudi upoštevati, da bo morda vrsta, ki je danes redka, v prihodnosti – na primer zaradi podnebnih sprememb – imela veliko bolj pomembno vlogo, kot jo ima trenutno. Seveda le, če jo danes uspemo ohraniti. Modro je torej ohraniti čim večjo pestrost vrst. Tako bomo bolje pripravljeni na spremembe, ki se nam obetajo.

Kot dobri divji oprasovalci so zlasti poznani čmrlji.

► Drži, čmrlji so izvrstni oprasovalci. Ena njihovih glavnih odlik je, da so dejavni tudi v slabem vremenu, torej v mrazu, dežju in vetru, kar za medonosno čebelo ne velja. V času cvetenja sadnega drevja je to zelo pogosto in takrat je vloga čmrljev še večja kot sicer. Čeprav so videti nerodni, so v resnici zelo hitri in v enakem času oprasijo dva- do

štirikrat toliko cvetov kot čebela. Zaradi hitrosti bi lahko trpela učinkovitost opravevanja, a ugotovili so, da ob enem obisku odložijo dvakrat več cvetnega prahu kot čebela, kar je za opravevanje seveda dobro. Njihova posebnost je tudi sposobnost opravevanja s stresanjem. Nekatere rastline, najbolj znana sta paradižnik in borovnica, imajo namreč cvetni prah v prašnikih in ta se sprosti samo ob močnem stresanju, česar pa medonosna čebela ne zmore. Ko čmrlj prileti na tak cvet, zabrenči in to lahko slišimo. Posebnost čmrljev je še zelo dolg jeziček, zato se lahko hranijo tudi na cvetovih, ki imajo medovnike globoko v cvetnem vratu in so za čebelo nedosegljivi.

- ▼ Cvetoče zelene strehe so za opravevalce lahko pomemben vir hrane, posebno poleti, ko hrane primanjkuje. (Foto: Danilo Bevk)

Raziskovalno se ukvarjate tudi z biokontrolo in uporabo čebel pri zaščiti rastlin pred boleznimi. Za kaj gre pri tem?

- Sodelovali smo pri evropskem projektu, pri katerem smo čebele uporabljali za raznos organizmov za biotično zatiranje sive plesni, najpomembnejše bolezni jagod. Čebele so pripravek s sporami glive, ki deluje proti sivi plesni, pobrale v posebnem razdelilniku na izhodu panja in ga nanesele na cvetove. Tako so hkrati opravevale in skrbele za zdravje plodov. Metoda je primerna za ekološko pridelavo jagod in je v nekaterih državah, na primer na Finskem, že v uporabi.

V intenzivni kmetijski proizvodnji so v uporabi različni pesticidi. Kako ti vplivajo na opravevalce?

- Ljudem so najbolj znane posledice množičnih zastrupitev čebel, ki zelo odmevajo tudi v medijih. Danes je to pri nas k sreči dokaj redek pojav. Vendar je to le vrh ledene gore. Veliko pogosteje so opravevalci izpostavljeni manjšim odmerkom, ki še ne povzročijo smrti, a vplivajo na vedenje in imajo zato dolgoročno lahko prav tako zelo negativen vpliv. Še posebno to velja v kombinaciji z drugimi dejavniki, kot sta pomanjkanje hrane in bolezni. Sodeloval sem pri eni prvih raziskav, ki je pokazala na učinke že zelo majhnih odmerkov zloglasnih neonicotinooidov na vedenje čebel in je bila podlaga za omejitve njihove uporabe v EU leta 2013. Z njimi so že pred setvijo zaščitili seme nekaterih rastlin, mi pa smo dokazali, da celo tako majhne koncentracije neonicotinooidov, kot jih najdemo v medicini rastlin, ki zrastejo iz takih semen, lahko vplivajo na pašno vedenje čebele. Velika uganka je tudi vpliv kombinacij pesticidov, s katerimi se srečujejo opravevalci. To je še zelo slabo raziskano področje, kombinacij pa je skoraj nešteto.

Kaj pomenita za opravevalce zgodnja košnja travnikov, ki je v navadi v intenzivnem kmetijstvu, in čezmerno gnojenje?

- V javnosti prevladuje prepričanje, da so za opravevalce največja težava pesticidi. Lokalno so lahko res, a v splošnem je še večja težava pomanjkanje hrane. Travniki so danes bolj gnojeni, pokošeni so bolj zgodaj in pogosteje ter tako rekoč vsi hkrati. Mogoče še zacveti regrat, nato pa se mnogi travniki spremenijo v zelene puščave. A kratko obdobje obilja ob cvetenju regrata je premalo za dolgo obdobje pomanjkanja hrane, ki mu sledi. Mnogi opravevalci potrebujejo hrano od pomladi do jeseni, da lahko zaključijo svoj življenjski krog. Tu je medonosni čebeli lažje. Ko ji primanjkuje hrane, jo čebelarji krmimo, divji opravevalci pa so prepuščeni sami sebi, zato je pomanjkanje hrane zanje še bolj usodno. Če želimo ohraniti opravevalce, je ključno ohraniti dovolj pisanih cvetočih travnikov. Na njih opravevalci tudi gnezdiijo. Ne bi pa rad s prstom kazal samo na kmete niti jih

ne bi obtoževal. Za nas pridelujejo hrano, kar ni lahko, ekonomski sistem, kakršnega imamo, pa jih sili v visoko produktivnost, če želijo preživeti. Težje pa razumem zelene puščave na vrtovih, tako imenovane angleške trate.

Opravevalci potrebujejo hrano, mesta za gnezdenje in zdravo okolje. Hrano in mesta za gnezdenje najbolj zagotovimo z ohranjanjem pisanih, pozno košenih, cvetočih travnikov in s pestrostjo kmetijske krajine. Vsaj nekaterim vrstam, tudi medonosni čebeli, lahko pomagamo še s sejanjem medovitih rastlin in postavljanjem umetnih gnezdišč. Zdravo okolje pa pomeni predvsem preudarno uporabo pesticidov.

» Množične zastrupitve čebel so danes na srečo redek pojav. Kako nanje vplivajo kombinacije različnih pesticidov, pa je velika uganka.

Se kmetje in drugi uporabniki pesticidov primerno zavedajo pomena spoštovanja predpisov o škropljenju v nočnem času, ko čebele in drugi opravevalci niso aktivni?

- Mislim, da se zavedanje povečuje. Napake se seveda še vedno dogajajo, bodisi zaradi nevednosti bodisi zaradi malomarnosti. Trenutno so navodila za škropljenje prilagojena samo za medonosno čebelo, zato se zanj nevarna sredstva lahko uporabljajo zgodaj zjutraj ali pozno zvečer in ponoči. Čebeli in mnogim drugim opravevalcem se s tem res izognemo, čmrljem, ki so dejavni že zgodaj zjutraj in tudi pozno zvečer, pa ne dovolj. Da je nesreča še večja, so spomladi pri čmrljih v sadovnjakih dejavne skoraj samo matice. Zastrupitev matice pomeni propad gnezda. Nasprotno pa čebelja matica nikoli ne nabira hrane, zato nikoli ni neposredno izpostavljena pesticidom. Pesticidi so torej za čmrlje potencialno veliko bolj nevarni kot za medonosno čebelo. Ker čmrlji živijo divje, njihovih zastrupitev največkrat sploh ne opazimo. Navodila se bodo zato v prihodnje verjetno spremenila in se bo lahko škropilo samo zelo pozno zvečer.



Opraševalci niso vezani samo na kmetijsko krajino, ampak živijo tudi v mestih, kjer je veliko vrtov, v zadnjih letih pa postaja priljubljeno tudi urbano čebelarjenje. Kako se v tem okolju znajdejo čebele in drugi opraševalci?

► Zaradi poslabšanja razmer na kmetijskih površinah postajajo mesta za opraševalce celo vedno bolj pomembno okolje. Ne samo za urbano čebelarjenje, ampak tudi za divje opraševalce. Čeprav na prvi pogled mesta delujejo neprijazna, pa v resnici ni tako. V njih je res veliko vrtov in cvetja, torej hrane za opraševalce. V mestih je tudi manjša uporaba pesticidov. A potencial mest še zdaleč ni izkoriščen. Za opraševalce lahko postanejo še veliko bolj prijazna, če zelene površine načrtno posadimo z avtohtonimi medovitimi rastlinami in dovolimo trati, da zacveti. Istočasno to pomeni zmanjšanje stroškov vzdrževanja, saj zahteva manj košnje in sajenja. Velik potencial imajo zelene strehe. Na strehah v Ljubljani in Škofji Loki smo raziskovali, koliko opraševalcev najdemo na njih v času cvetenja. Bili smo presenečeni, saj je bilo na njih celo več divjih kot medonosnih čebel, kar pomeni, da so strehe pomembne tudi z vidika varovanja biodiverzitete. Seveda se ne morejo kosati s cvetočimi travniki, a v primerjavi z golim betonom so zelene strehe velika izboljšava.

Kakšni so vplivi spreminjajočega se podnebja na opraševalce?

► Podnebne spremembe so pomemben dejavnik ogrožanja. Njihov vpliv je neposreden, na primer kdaj bodo matice čmrljev spomladi postale dejavne, in tudi posreden. Posreden je predvsem vpliv na razpoložljivost hrane. Zgodnjim pomladim pogosto sledi pozeba, ki uniči cvetove in s tem vir hrane. Tudi dolgotrajne poletne suše poslabšajo prehranske razmere. Pri vrstah, ki so bolj specializirane in se hranijo samo na določenih rastlinah, pa se lahko zgodi, da zaradi sprememb cvetenje rastline in dejavnost opraševalca nista več sinhronizirana. Pri čmrljih se glede na modele pričakuje, da bo do leta 2100 v Evropi skoraj polovica vrst čmrljev lahko izgubila od 50 do 80 odstotkov sedanjega območja razširjenosti. So pa tudi vrste, ki jim podnebne spremembe koristijo in že danes širijo

svoje območje razširjenosti. Tak primer je sredozemski čmrlj, nekdanja značilna vrsta v jugovzhodni Evropi, Turčiji in Iranu, ki pa se danes hitro širi proti Srednji Evropi. V Slovenijo je prispel pred manj kot dvema desetletjema, pričakovati pa je, da bo naselil tudi Zahodno Evropo in celo Skandinavijo. Ker je sredozemski čmrlj prišel sam, na naraven način, samo povečal je svoje območje razširjenosti, čeprav zaradi podnebnih sprememb, ga ne štejemo za tujerodno vrsto. Postal je del naše biodiverzitete.

» Modro je ohraniti čim večjo pestrost opraševalcev. Tako bomo bolje pripravljeni na podnebne spremembe, ki se nam obetajo.

Kakšna je prihodnost opraševalcev, glede na to, da bodo te spremembe najbrž še občutno večje?

► Prihodnost ni rožnata, pa vendar ostajam optimist. Pestrost opraševalcev pada, a je v Sloveniji, če se primerjamo z Zahodno Evropo, še vedno razmeroma velika. Ne zato, ker bi temu posvečali posebno pozornost, ampak ker naravne danosti onemogočajo, da bi cela država postala ena sama velika njiva. Potencial divjih opraševalcev je pri nas zato še vedno razmeroma velik, a ga brez strategije trajnostnega upravljanja že izgubljam. Vendar ima Slovenija ob hitrem ukrepanju še možnost, da postane model trajnostnega upravljanja pestrosti opraševalcev za zanesljivo pridelavo hrane in ohranjanje biodiverzitete ter tako postane zgled drugim državam. Naravne danosti nam to še omogočajo, imamo tudi znanje, potrebni so le še bolj odločni koraki v smeri varovanja tega, kar so mnoge države že izgubile. To je naša konkurenčna prednost, ki se je premalo zavedamo. In napredek v tej smeri je v zadnjih letih vendarle opaziti, je pa pred nami še veliko izzivov. Na NIB-u smo jih pripravljeno reševati.



▲ Brez pestrosti opraševalcev ni prehranske varnosti. (Foto: Danilo Bevk)



V eni kaplji vode so vse skrivnosti oceanov

” Voda je ključ življenja, a kadar je zamrznjena, je njena moč prikrita. In ko voda izgine, Zemlja postane Mars. Frans Lanting, nizozemski pisatelj in fotograf pri reviji *National Geographic*

◀ V združbi mehkega morskga dna je med številnimi kačjerepi vrste *Ophiothrix quinquemaculata* zelo živahno. (Foto: Tihomir Makovec)



▲ Pisan svet planktona v kapljici morja pod mikroskopom. (Foto: Patricija Mozetič)

PATRICIJA MOZETIČ

» Tisoči živijo brez ljubezni, a niti eden brez vode.

Wystan Hugh Auden, britansko-ameriški pesnik

Kahlil Gibran, veliki libanonsko-ameriški pesnik in pisatelj, ki je živel na prelomu iz 19. v 20. stoletje, je z mislijo, da so *v eni kaplji vode vse skrivnosti oceanov*, poetično povzel velikanski pomen vode. Pa tudi stari Grki, ki marsičesa od tistega, kar danes o oceanih in vodi nasploh vedo že otroci, niso vedeli, so se dobro zavedali njihovega velikega pomena. Ne nazadnje so jim podelili številne mitološke like, med njimi Okeanosa, očeta več kot tisoč rek, (cit.)¹, »božansko personifikacijo vode, ki obdaja zemljo kot neskončna reka, v kateri se vse poraja in kamor vse preminja«, in Pozejdona, (cit.)¹, »boga potresov in vode, med katerimi je najbolj veličastno morje v svoji neizmernosti in silovitosti«.

Danes vemo o vodah na Zemlji neprimerno več, kot so vedeli v antičnih časih. A veliko pomembnejše od nizanja podatkov in beleženja vsakovrstnih števil je zavedanje, kaj ta ogromna količina vode zares pomeni za naš modri planet. Odgovor na to vprašanje lahko strnemo v dveh besedah – *ekosistemske storitve*. Opredeljujemo jih kot nabor raznovrstnih naravnih uslug in dobrin za dobrobit človeštva, ki jih brezplačno ponujajo vsi Zemljini ekosistemi, ne zgolj vodni. Bolj ko so ekosistemi zdravi, večja sta brezplačna korist in blagostanje ljudi. Prostranost oceanske proste vode kot največjega ekosistema se zato odslkava tudi v denarni vrednosti oskrbovalnih, regulacijskih, podpornih

in kulturnih storitev. Tu se lahko vrnemo k številkam – denarna vrednost storitev morja je ocenjena na 29,5 bilijona ameriških dolarjev na leto². Kaj pomeni ta vrtoglava številka, si lažje predstavljamo, če povemo, da znaša letni BDP največje ekonomije na svetu, ZDA, manj kot polovico tega zneska. Oskrbovalne storitve, ki nudijo hrano iz morja, in biološke materiale (genetski in medicinski viri) lahko brez težav finančno ocenimo. Veliko težje pa ovrednotimo, kaj na primer pomeni več kot 50-odstotni doprinos fotosinteze fitoplanktona k svetovni proizvodnji kisika, koliko je vredna vloga bakterij pri kroženju snovi, kakšno vrednost predstavlja ponor ogljika prek ogljikove črpalke. Da o vrednosti tihega notranjega zadovoljstva, ki ga občutimo ob sprehodu ob pljuskajočem morju ali ob kakšni drugi vodi, niti ne govorimo.

Če zelo posplošimo in poenostavimo, bi za razumevanje strukture in delovanja oceanov zadoščal že pogled v kapljo vode. V eni kaplji morske vode, katere prostornina je le kakšen mililiter, lahko naštejemo okoli milijon bakterij in še desetkrat več virusov. V njej najdemo tudi do tisoč celic fitoplanktona, z malo sreče pa bi naleteli na kakšnega enoceličnega ali večceličnega predstavnika zooplanktona. Vendar to še ni vse. V majhni kaplji vode lahko najdemo tudi sledi, ki so jih v obliki okoljske DNK pustile veliko večje živali, od morskih

¹ Schmidt, J. Slovar grške in rimske mitologije. Ljubljana: Mladinska knjiga, 1997.

² <https://ocean-climate.org/?p=3895&lang=en> (citirano 28. 4. 2020)

ježkov do kitov. V kaplji vode izmerimo tudi temperaturo in slanost, ki določata tip oz. izvor vodne mase, izmerimo koncentracijo raztopljenih plinov, pa tudi anorganskih in organskih spojin in onesnaževal, vključno z delci mikroplastike, ki se stekajo v morje z rekami, podtalnico in odpadnimi vodami. Tako je morje ne zgolj končni zbiralnik za celinske vode in gonilna sila hidrološkega cikla, ampak žal tudi zbiralnik vseh sledi človekovega delovanja in bivanja.

Namen tega poglavja je s pričevanji intervjuvancev prikazati, kako njihova dolgoletna proučevanja in poznavanje lokalnega ter širšega okolja polnijo mozaik znanja o strukturi in delovanju vodnih ekosistemov in kaj ogroža njihovo zdravje. Morda zveni preprosto, vendar je, kot pač velja za raziskovanje procesov in zgradbe naravnih sistemov nasploh, daleč od tega. Težišče morskih raziskav na

Nacionalnem inštitutu za biologijo, katerega jedro so vedno predstavljali biologi, je bilo od vsega začetka usmerjeno na poznavanje biodiverzitete planktonskih, bentoških in nektonskih združb in njihove spremenljivosti v času in prostoru. Raziskovalci Inštituta so se res osredotočali na obalni ekosistem slovenskega morja, ki je del severnega Jadrana, a so se občasno odpravili raziskovat tudi na druga območja Jadrana, v druga morja in celo na oceane. Mednarodne ekspedicije so za raziskovalce še posebno dragocena strokovna in življenjska izkušnja in bi jih moral izkusiti vsak, ki je željan drugačne morske pustolovščine.

Vendar pa so aktualni problemi morja – od eutrofikacije in njenih posledic, onesnaževanja do ekoloških kriz, kot so bili želatinasti agregati, cvetenja alg, vključno s toksičnimi, do masovnega pojavljanja meduz – zahtevali širitev področij raziskav in s

- ▼ Polž gološkrigar *Cratena peregrina* se rad pase na grmičkih kolonijskih trdoživnjakov. (Foto: Tihomir Makovec)



- ▲ Morska cvetača (*Cotylorhiza tuberculata*) je ena izmed najlepših vrst sredozemskih klobučnjakov, ki se redno pojavljajo v slovenskem morju. (Foto: Tihomir Makovec)

tem interdisciplinarni pristop. Zato morski biologi že dolgo niso več osamljeni, ampak v pisani družbi kolegov iz drugih naravoslovnih in matematičnih ved ter računalništva. Mislim, da je bilo prav kopičenje obsežnih sluzastih agregatov v severnem Jadranu ob koncu 80. let prejšnjega stoletja, ki je z vmesnimi prekinitvami vztrajalo vse do prvih let tega stoletja, izjemno in je, vsaj po mojih izkušnjah, pomenilo prvi primer interdisciplinarnih raziskav tega ekološkega in gospodarskega problema, ki je združil najpomembnejše raziskovalne severno-jadranske institucije v projektu Alpe–Jadran. Gledano z današnje perspektive, ko je mednarodno sodelovanje nekaj samoumevnega, je težko razumeti, kako je bilo pred 30. leti mogoče organizirati časovno usklajena mesečna vzorčenja laboratorijev iz Benetk, Trsta, Rovinja in Pirana, ki so podala sinoptično sliko razmer v severnem Jadranu.

Pereča globalna tematika zlasti zadnjega desetletja, ki je ponovno združila raziskovalce k multi- in interdisciplinarnemu pristopu, so podnebne spremembe. Urejanje podnebja je zelo pomembna regulacijska storitev, ki jo nudijo morski ekosistemi, a ta storitev in z njo zdravje ekosistemov sta ogrožena. Različne posledice podnebnih sprememb, kot so segrevanje morja, dvigovanje morske gladine, ekstremni vremenski pojavi, kisanje oceanov in spremembe v razširjenosti vrst, skupaj še z drugimi antropogenimi pritiski (onesnaževanje, ribištvo, eutrofikacija, urbanizacija ...) kažejo značilen obraz antropocena, zadnje geološke dobe. Njen začetek označujejo zelo velike in sinhronne spremembe v zgradbi Zemlje in ekosistemih, ki so posledica človekovega delovanja.

Vendar imajo ekosistemi, ki so v »dobri kondiciji«, sposobnost, da prenesejo obremenitve, ne da bi te



▲ NIB se ukvarja tudi z raziskovanjem celinskih voda. Raziskovalci med drugim proučujejo vpliv tujerodnih vrst rakov na domače vrste. Na fotografiji je domorodni rak koščak (*Austropotamobius torrentium*). (Foto: Davorin Tome)

povzročile nepovratne spremembe. Ta sposobnost se kaže v vzdržljivosti in prožnosti ekosistemov, ki ju omogočajo velika biodiverziteta in mehanizmi, ki jo ohranjajo. Kako deluje ta mehanizem, se kaže na primeru tujerodnih vrst, ki so po raznih poteh prišle v novo okolje – svoj invazivni potencial lahko razvijejo le, če naletijo na izpraznjeno nišo, kot so degradirani habitati. Šele tedaj začnejo povzročati škodo ekosistemu. Ker pa v našem, slovenskem morju lahko naštejemo več kot 2000 vrst živali, takemu prišleku prav gotovo ne bo lahko. Primere prilagajanja na spremenljivo naravno okolje, ne zgolj na motnje, najdemo tudi pri fitoplanktonu. Ta se na spremembe

v svetlobi ali vsebnosti hranil odzove bodisi s fiziološkimi prilagoditvami bodisi s spremembo v sestavi združbe in s tem ohranja svojo sposobnost proizvodnje hranil za višje trofične ravni.

Naj zaključim to uvodno besedo tam, kjer sem jo začela – pri pomenu morij in oceanov za dobrobit planeta in človeštva. In s tem pri vlogi, ki jo bosta imela oceanska znanost in vsakovrstno proučevanje voda nasploh v naslednjem desetletju. Združeni narodi so zaradi Poročila o stanju svetovnega oceana na zasedanju Generalne skupščine decembra 2017 razglasili desetletje 2021–2030 za »Desetletje oceanografije za trajnostni razvoj«. Poročilo

je podalo skrb zbujujočo oceno, da človeštvu zmanjkuje časa, da začne trajnostno upravljati oceane, in s tem izzvalo mednarodno skupnost, da naredi vse za izboljšanje zdravja oceanov, še zlasti v luči podnebnih sprememb.

Mnogi vidijo Desetletje kot enkratno priložnost za razrešitev tega eksistenčnega vprašanja. Pri tem ima znanost ključno vlogo, saj nam lahko poda odgovore na vprašanja, kaj je treba storiti in kako. Izboljšanja zdravja oceanov pa ni mogoče doseči ločeno od drugih sistemov. Zaradi planetarne povezanosti hidrosfere in biosfere hodijo ukrepi Desetletja z roko v roki s prizadevanji (držav, znanosti, družbe) za trajnostno gospodarjenje z vodnimi viri, podnebnimi ukrepi in ukrepi za ohranjanje biodiverzitete.

Voda je vir življenja, zato morata biti poslanstvo in obveza znanstvenikov, da jo raziskujemo in s tem pomagamo obvarovati zase in za prihajajoče ro-dove.

Izr. prof. dr. Patricija Mozetič je vodja Morske biološke postaje Piran, ki je eden od oddelkov NIB-a.



▲ Patricija Mozetič zelo dobro pozna domačo kapljo morja, a ji tudi skrivnosti svetovnih oceanov niso tuje. (Foto: osebni arhiv)

RAZNOLIKOST MNENJ

VLADO MALAČIČ

Severni Jadran
skozi oči
oceanografa

▲ Vlado Malačič ima izostreno mnenje o skoraj vsem.
(Foto: osebni arhiv)

Med temelje, na katere se opira proučevanje življenja v morju, spada dobro poznavanje njegovih kompleksnih fizikalnih lastnosti. Zato je dr. Vlado Malačič, fizik, pristal v družbi biologov. Ko je kot gimnazijec gledal morje, je vedel, da hoče početi nekaj v zvezi z njim. Po diplomi iz fizike je kratek čas poučeval, sredi 80. let pa je prišel na Morsko biološko postajo Piran (MBP), ki jo je pozneje sedem let tudi vodil. Znanje in izkušnje o morju, predvsem s področja obalne oceanografije, je pridobival na številnih križarjenjih v Tržaškem zalivu in severnem Jadranu ter na izobraževanjih doma in v tujini. V mednarodno raziskovanje je tesno vpet; med drugim je vodil projekte s področja numeričnega modeliranja plimovanja Jadranskega morja in raziskave, s katerimi so ugotavljali fizikalne zakonitosti disperzije odplak v obalnih morjih. Je član več mednarodnih organizacij, bil je dolgoletni član Slovenske nacionalne komisije za UNESCO, ustanovni član Slovenske zveze za geodezijo in geofiziko (SZGG) ter predavatelj na več slovenskih univerzah. Vzpostavil je Nacionalni oceanografski podatkovni center, ki je registriran pri IOC UNESCO. Kot obalni oceanograf tesno sodeluje z morskimi ekologi. Priznanje njegovemu raziskovalnemu delu je bilo izkazano tudi z več gostovanji v tujini.

Ste eden redkih zaposlenih na MBP-ju, ki ni po izobrazbi biolog. Kako ste se znašli med njimi?

► Po diplomi iz fizike sem najprej dve leti poučeval na srednješolskem centru v Sežani, nato odšel na služenje vojske, potem pa sem se odločil, da grem »nazaj k morju«, ob katerem sem rojen. Že kot dijak sem opazoval gibanje vode okoli piranskega pomola in rušenje valov ter se spraševal, kje bi se lahko poučil o gibanju morskih mas. Ko sem prišel iz vojske, sem se obrnil na raziskovalca, kemika, ki je bil zaposlen na MBP-ju. Rekel mi je, da bom gotovo lahko začel kot mladi raziskovalec, zato sem dal na šoli, kjer so mi medtem priskrbeli stanovanje, odpoved. Ko sem prišel na MBP, pa sem izvedel, da zaradi nekkih notranjih sporov zaposlitev ni mogoča. No, stvari so se po različnih zapletih le uredile. Leta 1985 sem nastopil zaporedne začasne zaposlitve, leta 1986 pa sem postal mladi raziskovalec in dobil

pogodbo za magisterij in doktorat. Nato sem se obrnil na ljubljansko Fakulteto za matematiko in fiziko, predvsem na prof. Petra Venclja, ki je bil sposoben organizator, in tekal okoli profesorjev, da so mi oddali učne načrte predmetov, ki naj bi prišli v poštev pri študiju. Zame je bil eden od ključnih predmetov dinamika tekočin, ki sem se je učil od Tržačana dr. Draga Bajca, ki je nekaj let prej v Ljubljani doktoriral iz lastnih nihanj Jadranskega morja. Večkrat sem šel k njemu na licej Franceta Prešerna v Trstu, kjer je bil zaposlen. Vmes sem prepričeval biologe, da moram, »če naj jim pomagam«, nekaj znati in dozoreti. S praktičnimi izračuni in analizami podatkov sem bolj ali manj pridobil njihovo zaupanje. V okviru magistrskega študija sem bil s štipendijo IOC UNESCO na trimesečnem izpopolnjevanju na Univerzi v Liègeu v Belgiji. Doktoriral pa sem, tako kot tudi veliko biologinj in biologov, v Zagrebu, saj so tam imeli tudi precej dobro znanje o dinamiki vodnih mas Jadrana.

▼ Rušenje morskega vala pri prehajanju v plitvino. (Foto: Davorin Tome)



Kakšna je vloga fizike pri proučevanju življenja v morju oz. kako poteka vaše sodelovanje s kolegi biologi?

► Fizika pomaga biologom odgovoriti na osnovna vprašanja, na primer od kod pride vodna masa in z njo onesnaževala ter planktonski organizmi. Kaj se vmes z vodno maso zgodi in kam gre od nas? Danes znamo v določenih sinoptičnih situacijah, na primer ko piha burja ali jugo, na ta vprašanja odgovoriti, pred desetletji pa odgovorov ni bilo. Nekateri biologi, ki so me želeli imeti za »tehnično pomoč«, nad mojimi raziskavami in študijem najprej niso bili navdušeni. Na srečo je prevladovala podpora tistih, ki so razumeli, da se moram razvijati, saj bom koristen tudi za njihovo raziskovalno delo. Tako se je pred tremi desetletji skupaj s kemiki krepila multidisciplinarnost naše enote. Kot fizik sem bil strokovno v enoti osamljen, zato sem se povezoval s strokovnjaki v tujini. Večkrat sem bil v ZDA, Avstraliji, Franciji ...

Fizikalna oceanografija, s katero se ukvarjate, je zapletena znanost, utemeljena na opazovanjih in matematičnih modelih ter meritvah. Kako bi jo lahko predstavili nepoznavalcu?

► Fizikalna oceanografija je izjemno zanimiva morda ravno zato, ker je zahtevna in za človeka, ki se ne ukvarja z njo, malo težje razumljiva. Nepoznavalcu bi jo lahko predstavili nekako takole: če vas zanima kvantitativno opisovanje narave z ustreznimi matematičnimi izrazi, se pripravite na desetletje dolgo pot. Prvih pet let boste pridobivali osnove iz gibanja vodnih mas na Zemlji in po možnosti osnove iz ekološke dinamike v morski vodi, naslednjih pet let pa boste to znanje poskusili uporabiti. Če boste to uspeli narediti na vsaj malo poseben način, drugače, kot so to naredili pred vami, ste prispevali k znanosti, opravili doktorat in boste zelo verjetno nadaljevali raziskovalno pot.

Pri delu se poskušamo usmeriti na poseben pojav, ki naj bi bil dovolj razviden iz meritev ali numeričnih simulacij, pri čemer poskušamo s posebnimi prijemi (analizo časovnih vrst) izločiti druge motnje. Numerične simulacije, še zlasti cirkulacije in valov, omogočajo pridobitev velike količine podatkov, s katerimi potem sprva ne vemo, kaj početi. Zato sem vesel, da imamo pomoč dr. Borisa Petelina, sodelavca, ki »podatkovno rudari«. Včasih tudi to ne pomaga pri razumevanju problema, pa čeprav smo iz meritev izločili vpliv nekega pojava – ne vemo, zakaj se je tokrat zgodil in ne vemo, kdaj se bo ponovil. Včasih pomaga, če »ošilimo svinčnik« in poskusimo rešiti problem še analitično s pisanjem in reševanjem poenostavljenih enačb gibanja in ohranitve mase.

V zvezi s konkretnim delom pa lahko povem, da fiziki in matematiki biologom, ki se posvečajo raziskavam žive narave, včasih priskočimo na pomoč pri matematični interpretaciji njihovih pojavov – če jih seveda razumemo. Po drugi strani pa fiziki pri svojem delu pogosto naletimo na pojave, ki jih v naravi ne razumemo. Ne vemo, zakaj se je na primer pojavil hiter tok motne vode na morskem dnu. To so t. i. motnostni ali turbidni tokovi, ki so za raziskovalno usmerjene potapljače zelo pomembni tudi s stališča varnosti njihovega dela.

» Nepoznavalcu bi fizikalno oceanografijo lahko predstavili takole: če vas zanima kvantitativno opisovanje narave z matematičnimi izrazi, se pripravite na desetletje dolgo pot.

Danes lahko rečem, da je sodelovanje z biologi zgledno. Dobro sodelujemo, še zlasti veliko je sodelovanja z mlajšimi kolegi, ki se ukvarjajo s fizikalno oceanografijo, kar odločno podpiram. Sožitje je sicer posebno. Tako na primer vsak od nas ločeno išče projekte na raznih koncih, iz njih se financirajo (ločena) dela na morju in analize podatkov ter simulacije razmer. To ima prednosti in slabosti. Na srečo nas ohlapno povezuje raziskovalni program, ki je v nekem smislu večji, krovni projekt. Seveda se pogosto s strani biologov pojavijo vprašanja, na katera fiziki iz različnih razlogov ne znamo odgovoriti. Včasih tudi dolgoročni podatkovni nizi, iz katerih naj bi prišli do ustreznih zaključkov, niso primerni za odgovore na postavljena vprašanja. Ampak naše sodelovanje je dobro.



▲ Raziskovalno plovilo Sagita in oceanografska boja Vida, bistvo raziskovalne infrastrukture NIB-a na morju. (Foto: Vladimir Bernetič)

Ali računalniki, ki so vse zmogljivejši, pomembno prispevajo k izračunom in s tem k razumevanju vedenja morja? Je zato oceanografija kot veda od takrat, ko ste se zaposlili na MBP-ju, močno napredovala?

► Da, seveda je veda ogromno napredovala. Ko sem prišel, sem nagovarjal sodelavke in sodelavce, da smo v naši enoti investirali v pridobitev prvega osebnega računalnika na NIB-u; to je bil PC IBM AT. Takrat takega računalnika ni bilo preprosto kupiti, na Inštitutu je bilo še polno atarijev in spektromov ... Na tem računalniku sem napisal magistrsko nalogo, polno matematičnih izrazov. Če kratko povzamem spoznanja numeričnih simulacij (prognoz): v 80. letih je bila horizontalna velikost numerične celice modela cirkulacije Jadrana okoli 10 kilometrov. Kar pomeni, da je bil Tržaški zaliv morda pokrit z dvema celicama in skoraj »nerazpoznaven«. Okoli leta 2000 smo že imeli simulacije cirkulacije na severnem Jadranu s celicama okoli 500–600 metrov, kar je videti kot »dobra mera«. Vendar bistveno manjša velikost celic ne prispeva nujno k boljši kakovosti (stabilnosti, točnosti)

rezultatov. Za manjše zalive je potrebna bistveno višja ločljivost; tako poganjamo model Koprškega zaliva s 35-metrskimi celicama. V primeru široko odprtih majhnih zalivov pa so robni pogoji na odprtem robu največji problem. Zato modele visoke prostorske ločljivosti manjših območij gnezdimo v modele večjih območij, ki pa imajo manjšo ločljivost. Ko potrebujemo resne prognostične rezultate za cirkulacijo in valove, se tudi zato obrnemo na ARSO, ki je svoj cirkulacijski model Jadranskega morja postavljala tudi z našo pomočjo.

Fizikalna oceanografija se seveda ne opira le na matematične modele, ampak tudi na opazovanje; to je veliko starejše. Rezultati enega in drugega pa morajo najbrž biti med seboj skladni.

► Vsekakor. Na srečo so biologi kar primerno skeptični do raznih numeričnih simulacij procesov v naravi. Te simulacije morajo vedno imeti ustrezno potrditev v opazovanjih, meritvah. Po domače povedano: simulacijski modeli morajo biti preverjeni, ovrednoteni. Včasih je potreben preboj v »prijemu« opazovanja. Tako sem se potrudil, da smo v

začetku 90. let na Inštitutu končno vpeljali redno opazovanje temperature in prevodnosti (slanosti) s t. i. CTD sondo. V nasprotju z običajno prakso na »morskih« inštitutih je bila ta sonda prototipna, posebna, izdelana na Univerzi Zahodne Avstralije. Z njo smo lahko v nekem smislu merili tudi turbulenco in objavljali raziskovalna dela, kakršnih drugi niso. Temu je sledila druga posebna sonda, ki jo ima zelo malo inštitutov. S to lahko ustrezno merimo turbulenco, hkrati pa tudi običajne oceanografske parametre, kot sta prevodnost in temperatura, ter okoljske parametre. Vendar smo se zavedali, da z vertikalnim profiliranjem na izbranih postajah pridobimo kvečjemu »trenutno« sliko porazdelitve količin po bazenu. Potrebovali smo tudi opazovalnico na morju, ki nam bo prikazala časovni potek stanja nad morjem in v njem. Zato smo leta 2000 postavili prvo obalno oceanografsko postajo. Dve leti kasneje smo jo nadgradili in jo poimenovali COSP, leta 2008 pa smo na njeno mesto postavili še boljšo bojo z imenom Vida. Obe sta bili prototipni, težki okoli 3,5 tone in s premerom 2,5 metra. Vida je iz nerjaveče pločevine, narejena pa je tako, da vzdrževalec lahko stopi v njen trup. Merimo veter, temperaturo zraka in morske vode, slanost, morske tokove na vsak meter višine in površinske valove ter motnost in vsebnost kisika v vodi na morskem dnu. Na osnovi podatkov iz te opazovalnice je bilo napravljenih več kot 30 kakovostnih raziskovalnih objav s področja fizikalne oceanografije in morske ekologije.

Ste z opremo, ki jo potrebujete za raziskave, na MBP-ju ustrezno opremljeni? Ste zadovoljni z njo?

► Lahko rečem, da smo. Metoda križarjenj za opazovanje razmer na morju v lepem vremenu (ang. *nice weather monitoring*) je sicer že preživela, deloma so že preživeli tudi opazovalne postaje na morju, a te bodo še dolgo prisotne zaradi dragocenih *in situ* podatkov. Danes se uporabljajo t. i. podvodni jadralci ali drsniki (ang. *gliders*), ki praktično brez dodatnega vira energije mesece križarijo po morjih z majhnimi hitrostmi, okoli 0,5 m/s, in sproti beležijo vse avtomatično merljive količine, ki jih beležimo tudi s t. i. CTD sondami. Ti jadralci potujejo tudi v slabem vremenu in malo jih je zares izgubljenih. Vpeljavo take opreme, ki je za

vzdrževanje tehnično zahtevna in zahteva več tehnično izobraženega in usposobljenega osebja, pa prepuščam prihodnjim rodovom.

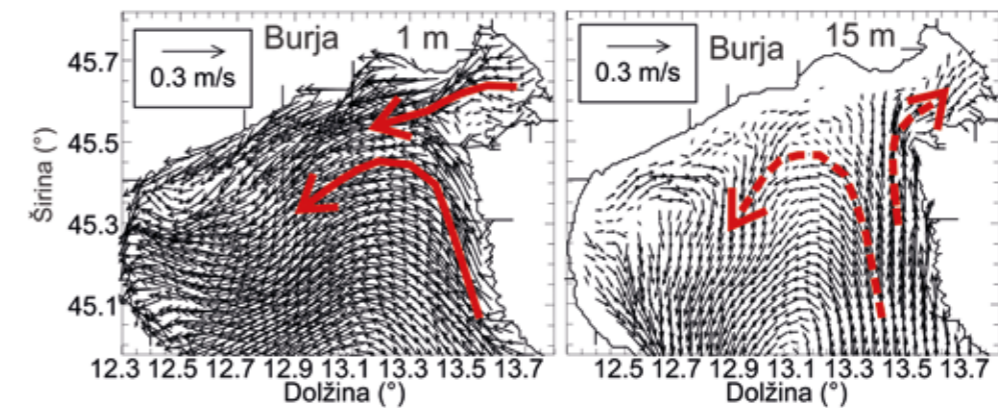
Stanje slovenskega morja spremljate že več kot tri desetletja. Kaj je v tem času postalo znanega o njem, česar prej niso vedeli?

► Vemo, da na primer ob burji vodna masa zapušča Tržaški zaliv v slovenskih vodah v dokaj tankem površinskem sloju. Že po treh metrih globine je vzpostavljen nasproten, kompenzacijski tok, ki prinaša vodno maso v Tržaški zaliv. Na plitvejši italijanski strani zaliva pa prevladuje izhodni tok. Ob južnem vetru vodna masa vstopi v zaliv ob severni, italijanski obali in ga zapušča v globinah ob slovenski obali. Tega prej nismo vedeli. Poleg tega vemo, da se v mirnem poletnem vremenu vodna masa v Tržaškem zalivu izmenja v približno dveh do treh tednih. Prav tako vemo, da v mirnem vremenu prevladuje tok v nasprotni smeri urnega kazalca (ciklonalna cirkulacija). Razlogi za to niso popolnoma jasni. Povezani so s t. i. kupolastim profilom gostote v vodnem telesu Tržaškega zaliva.

» Ob burji voda ob naši obali zapušča Tržaški zaliv v tanki površinski plasti, v globinah je povraten tok. Ob južnem vetru voda vstopi v zaliv ob severni, italijanski obali in ga zapušča v globinah ob naši obali. V lepem vremenu se voda v zalivu zamenja v približno dveh do treh tednih.

Ste v tem obdobju zaznali tudi kakšne fizikalne spremembe, ki bi jih lahko povezali s podnebnimi spremembami?

► Numerični klimatski modeli vremena kažejo, da naj bi bila burja manj pogosta, južni vetrovi pa pogostejši. Kot je videti, ima vsaj prva trditev potrditev tudi v analizi meritev vetrov, kar pa je treba



▲ Potovanje vodne mase ob burji pri gladini (levo) in v globini (desno). (Dopolnjeno iz Malačič in sod. 2012). *Geophys. Res.*

še potrditi. Hkrati meritve kažejo rast morske gladine v zadnjih 20 letih v povprečju za 0,5 cm letno, kar presega rast drugih evropskih morij. S tem se ukvarja sodelavec Matjaž Ličer, ki skupaj z Martinom Vodopivcem tudi izvaja numerične simulacije cirkulacije.

Nadalje vemo, da je v zadnjih desetletjih temperatura morske vode rasla vsaj 0,1 °C na leto. Pri slanosti nismo zasledili jasnega trenda, čeprav smo pričakovali, da bo slanost vsaj v poletnem obdobju, ko naj bi bilo bolj sušno, rasla. Zakaj je tako, ne vemo. Glede kisika so kritična območja z globinami nad 20 metrov, še posebno v poznopoletnem in jesenskem obdobju. Pri tem pride do delnega mešanja zgornjega dela vodnega stolpca, ki je z gostotno bariero »odklopljen« od spodnje, pridnene plasti. Zato je ovirana vertikalna izmenjava plinov (kisika), ki naj bi iz »prepihane gladine« prišli do dna. Takrat organizmi porabljajo kisik, saj je pri dnu v večjih globinah manj svetlobe in ga rastlinski organizmi s fotosintezo ne ustvarijo dovolj. Zaradi pomanjkanja kisika pride do hipoksije ali celo anoksije in do pomora organizmov na morskem dnu. Kljub občasnemu poletnemu pomanjkanju kisika pa se je v zadnjih desetih letih vedno znova vzpostavilo normalno stanje. V zadnjih 20 letih nismo zaznali resnega pomanjkanja kisika, kar je po svoje presenetljivo. Morda je to povezano z manjšo količino organizmov, ker je v vodi manj hranil; fosfatov ni več. Evtrofikacija, ki je bila strah in trepet

severnega Jadrana v 80. letih prejšnjega stoletja, ni več problem.

Ali lahko zaradi zviševanja vodne gladine, ki ste ga omenili, v prihodnosti pričakujemo poplavljanje nižje ležečih obalnih območij pri nas? Bo Piran »pod vodo«?

► Pričakujemo pogostejša poplavljanja. Majčke no nas sicer preseneča, da v zadnjih 20 oz. 30 letih ni bilo več poplavljanja in to bomo morali še podrobneje analizirati. Vsekakor bi načrtovalcem obrežnih struktur in planerjem obalnega razvoja priporočal skrbnost. Vem, da so ob kalifornijski obali začeli konkretno dvigovati obrežne strukture že pred več kot dvema desetletjema, pri nas pa kar nekako »spimo« in ni videti prave, usklajene aktivnosti v tej smeri, razen sporadičnih »gasilskih« akcij, ki sledijo poplavam.

Kako pa je z medsebojnimi vplivi atmosfere in morja?

► Izredni so in zelo pomembni. Sem npr. sodijo zahtevna spoznanja o tem, ali ogljikov dioksid prehaja iz atmosfere v morje in obratno, kdaj se zgodi eno in kdaj drugo. O vplivu atmosfere z vetrovi in globalnem vplivu temperature ozračja na morsko okolje pa sem že govoril. Brez poznavanja



▲ Morski pršec ob burji. Vidne so lise privzdigovanja drobnih kapljic morske vode. (Foto: Davorin Tome)

dogajanja v atmosferi preprosto ne moremo razumeti dogajanja v oceanih; še mnogo bolj to velja za dogajanja v našem plitkem morju.

V zadnjih letih smo se začeli zavedati problema plastike v morju. Od kod prihaja plastika, ki jo občasno naplavi v naše morje?

► Domnevamo, da v večini pride v morje z rekami, obstajajo pa tudi neposredni vnosi, predvsem odmetavanje plastičnih ribiških mrež in drugih odpadkov s tovornih ladij. Plastični odpadki včasih potujejo stotine kilometrov, preden iz rečnega izliva prispejo do nas. V Jadranu sta dve s plastiko posebej onesnaženi območji. Eno je ob južnoitalijanski jadranski obali, drugo je Tržaški zaliv. V obeh območjih je bilo, kar je zanimivo, po eni strani opaženih največ velikih, makroplastičnih odpadkov na morskem dnu, po drugi strani pa je tudi prisotnost mikroplastike v vodnem stolpcu v teh območjih izrazita.

” V Jadranu sta dve s plastiko posebej onesnaženi območji. Eno je ob južnoitalijanski jadranski obali, drugo pa je žal Tržaški zaliv.

V sedimentu Tržaškega zaliva je veliko živega srebra, ki izvira iz idrijskega rudnika. Kakšne posledice bi imelo poglobljanje koprškega in tržaškega pristanišča?

► Koncentracija živega srebra v sedimentu v južnem, slovenskem delu zaliva je manjša kot na severni, italijanski strani. Luka Koper je pozvala naš Inštitut in Fakulteto za pomorstvo, da napravimo študijo, ki bi ji pomagala pri odločitvi, kam bi lahko odlagali morski sediment, ki ga redno izkopavajo pri vzdrževanju plovniških kanalov. Koprška Bonifika je že polna »kaset«, ki so nabito polne z muljem. Obstaja možnost odlaganja v morje, kot to počnejo mnoge države, tudi Italija v Tržaškem zalivu. Če ne bomo pazljivo načrtovali odlaganja

sedimenta, ga tokovi lahko odnašajo po zalivu tudi v območja, ki so varovana ali zaščitena. Večja močnost morske vode pomeni manj svetlobe za organizme, zmanjša se fotosintetična produkcija kisika pri dnu. Organizmi, ki niso gibljivi, v motni vodi ovirano dihaajo, spremeni se substrat, na katerega so pritrjeni, vplivi se prenašajo vse do rib, ki se pasejo v morskih travnikih.

Kateri so glavni izzivi prihodnosti za oceanografe, ki proučujete Jadransko morje?

► Sam sem se bolj usmeril v problem v majhnem merilu – opazujem vpliv tovornih ladij na privzdigovanje morskega sedimenta. Gre za »mejno področje«, t. i. morsko hidrodinamiko, povezano s fizikalno oceanografijo. Pridobili smo zelo zanimive meritve, ki pa jih še ne razumemo. Nimamo še koncepta oz. modela, s katerim bi zanesljivo napovedali, katero plovilo (npr. dolžina, ugrez, globina morskega dna) in pod kakšnimi pogoji (npr. hitrost plovbe) lahko privzdigne sediment. Plovila naj bi bila vedno večja, povečalo naj bi se tudi njihovo število. Vpliv pomorskega prometa na življenje v morju naj bi bil v porastu, zato se mi zdijo te raziskave smiselne. Sicer pa se nam na severnem Jadranu zaradi podnebnih sprememb v prihodnosti obeta »vroča juha« v poletnem obdobju. Če bo oblast nepremišljeno podeljevala koncesije za izkoriščanje toplote morske vode s toplotnimi črpalkami, bodo živi organizmi v obrežnem pasu, ki se ne bodo sposobni umakniti, poginili.

RAZNOLIKOST MNENJ

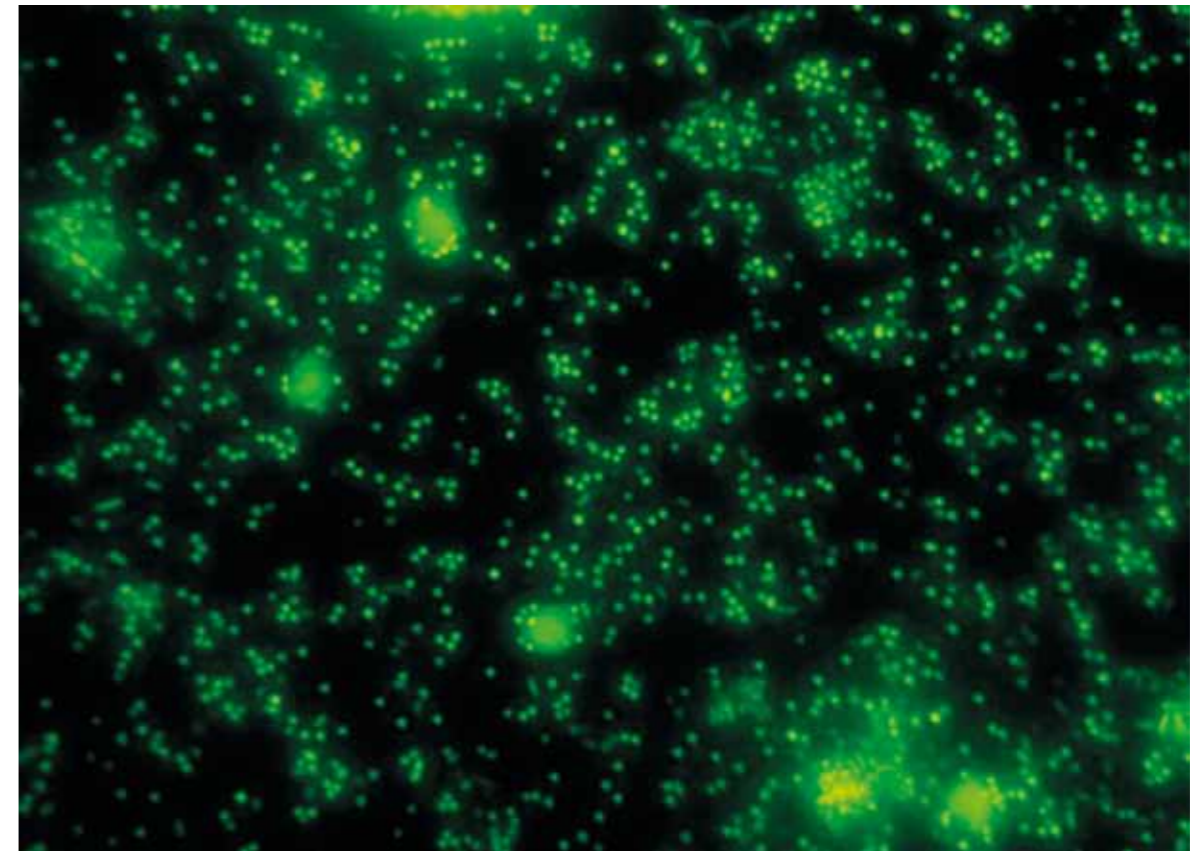
VALENTINA TURK

Mikrobi v morju

Slovensko morje je res le žep na severnem koncu Jadrana, a zelo bogat žep. V njem uspevajo mnoge živalske in rastlinske vrste, to pa je tudi svet mikrobov, človeškim očem večinoma nevidnih živih bitij. V morju jih je veliko več, kot si večina lahko sploh predstavlja. Pa tudi naše zavedanje njihovega izjemnega pomena pri razkroju različnih organskih snovi, vlogi v prehranskih verigah in proizvodnji kisika je šibko. Dr. Valentina Turk z Morske biološke postaje Piran, enega od oddelkov NIB-a, se s temi majhnimi bitji ukvarja že od začetka svoje poklicne poti v začetku 80. let. Ugotavlja njihovo prisotnost, ki je včasih samoumevna, včasih pa ljudem vzbuja skrbi, jih spremlja in analizira, raziskuje njihove dotlej slabo poznane ali povsem neznane vloge, načrtuje nove metode njihovega zaznavanja ...



▲ Valentina Turk je živ dokaz, da je lahko morje in vse, kar je z njim povezano, tudi življenjska izbira. (Foto: osebni arhiv)



▲ Bakterije in virusi v kapljici morske vode, lepo vidni pod mikroskopom. (Foto: Valentina Turk)

Velikost bakterij se meri v mikronih, kar nepoznavalcu ne pove prav veliko. Ali lahko za boljšo predstavlo poveste, koliko bakterij je v povprečju v litru morske vode?

► Bakterije v morju so stokrat manjše od naših celic. V enem mililitru, kolikor ima približno kapljica vode, lahko preštejemo milijon in več bakterij, kar si je pravzaprav težko predstavljati. Večinoma so to prostoživeče podolgovate ali okrogle celice, nekatere pa so večje, vidne s prostim očesom, na primer nitaste cianobakterije, ki tvorijo nekakšne preproge, petolo v naših solinah. Tako kot je visoko število bakterij, je tudi njihova vrstna sestava zelo pestra – v enem mililitru je lahko celo več kot 100 različnih bakterij. Podobno je z arhejami, medtem ko so virusi veliko manjši, vendar presejajo gostote bakterij za več kot desetkrat.

Kakšna je pravzaprav vloga morskih mikrobov?

► Mikrobi predstavljajo 90 odstotkov biomase v oceanih, njihova vloga je zelo raznolika. Oskrbujejo planet s kisikom, so glavni predelovalci toplogrednih plinov in vplivajo na podnebne spremembe. Povzročajo bolezni, ki se širijo hitreje zaradi globalnega segrevanja, vendar istočasno proizvajajo spojine, ki so potencialna zdravila za zdravljenje raka in številnih drugih boleznih ljudi. V okolju mikrobi sodelujejo v vseh procesih kroženja ogljika, dušika in drugih elementov, ker za svojo rast uporabljajo najrazličnejša hranila in različne vire energije in so tudi pomemben člen prehranskih verig. Tako na primer avtotrofne bakterije, ki naseljujejo oceane do globine 200 metrov, porabljajo ogljikov dioksid in sončno energijo, kot primarni proizvajalci organske snovi proizvedejo

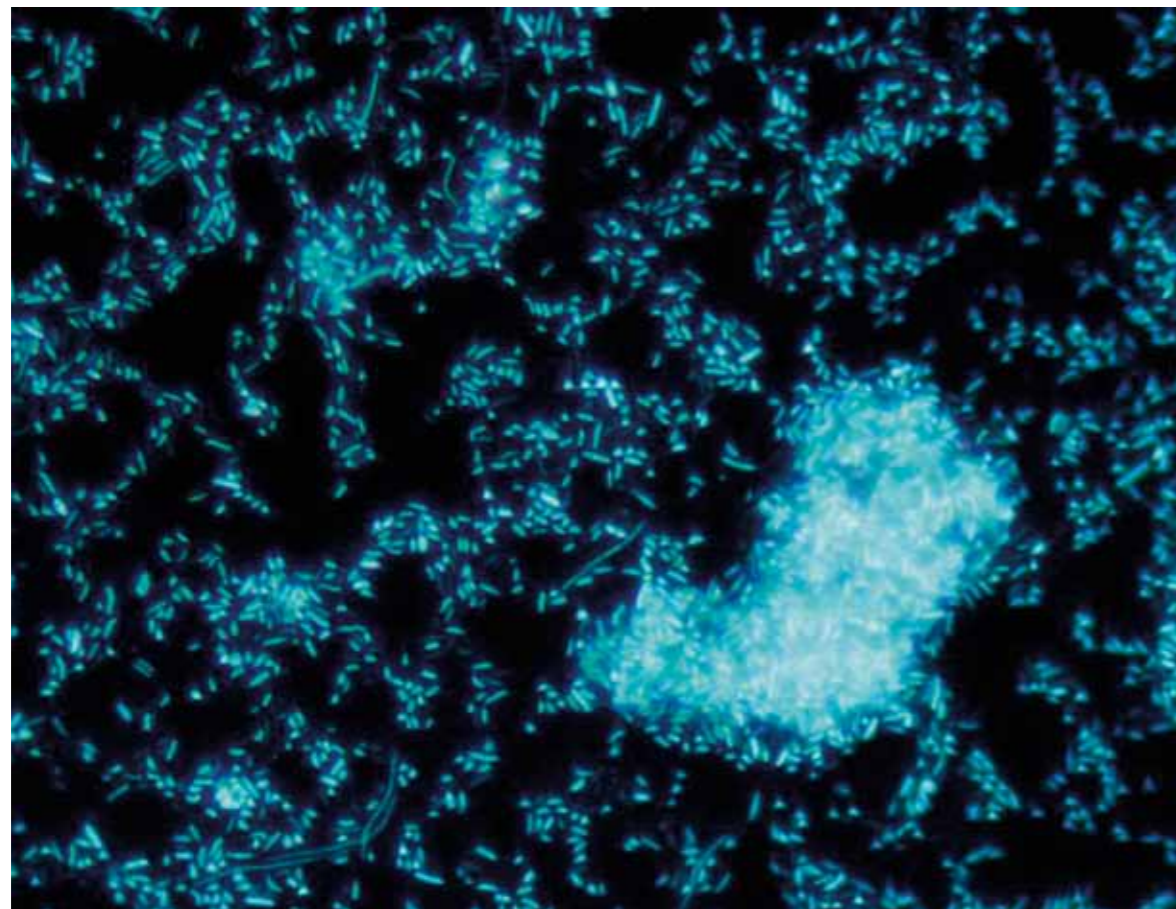
skoraj polovico vsega kisika na Zemlji in hrano za druge organizme. Druge, t. i. heterotrofne bakterije, črpajo raztopljene organske molekule iz morske vode ali različnih organskih delcev odmrlih organizmov, ki jih predhodno razgradijo s svojimi encimi. Nekatere bakterije in arheje imajo sposobnost oksidacije anorganskih spojin in nato kot organsko bogata hrana omogočajo življenje organizmom, ki naseljujejo področja v večni temi v največjih globinah oceanov. Vloge mikrobov so torej številne.

Ljudje smo velik vir dodatnega organskega onesnaževanja morja. Vse to torej razgradijo mikrobi?

► V morja se izlivajo odpadne vode, ki so lahko fekalno onesnažene ali onesnažene z različnimi onesnaževali. Največkrat gre za mešanice, »koktajle« različnih onesnaževal zelo različnih koncentracij.

Naši preliminarni rezultati tovrstnih raziskav so pokazali, da mešanice onesnaževal vplivajo na rast in vrstno sestavo mikroorganizmov, tudi če so posamezna onesnaževala prisotna v nizkih koncentracijah, pri katerih jih je dovoljeno izpustiti v morje. Večina študij mikrobne razgradnje nevarnih spojin je narejena le za posamezne toksične spojine. Razgradnja lahko dostikrat poteka samo do določene stopnje in nastale vmesne spojine so lahko še bolj toksične. Hitrost razgradnje v naravnem okolju je odvisna od številnih dejavnikov, med drugim od kompleksnosti zgradbe samih spojin, vrstne sestave mikrobov, hranilnih in okoljskih pogojev, kot so temperatura, slanost, dostopnost kisika ali sončno obsevanje. V primeru razlitja nafte v Mehiškem zalivu leta 2010 so bakterije razgradile ogljikovodike v površinskih slojih ob dodajanju hranil, v globinah pa zaradi nizkih temperatur ni prišlo do razgradnje. Proces v naravi so kompleksni in velikokrat dolgotrajni.

▼ Mikroskopski posnetek bakterij na oziroma v bližini organsko bogatega delca. (Foto: Valentina Turk)



Če se omejimo na severni Jadran – ali so bakterije sposobne vse, kar pride vanj, razgraditi?

► To je težko vprašanje, saj niti ne vemo natančno, katere spojine prihajajo v morje. Če se omejim samo na vnose hranil z rekami in odpadnimi vodami oziroma na količino dušika in fosforja, ki vplivata na rast mikroorganizmov, je ta odvisna predvsem od velikosti pretoka rek, količine padavin in gibanja morskih tokov. Rastlinski plankton se lahko hitro odzove na povečan vnos hranil, bakterije novonastalo organsko snov razgradijo, vendar določene spojine lahko ostajajo nerazgrajene še dolgo v ekosistemu in se kopirajo na morskem dnu.

Z izlivi rek prihajajo v morje tudi sladkovodne bakterije. Ali so morda sposobne preživeti v obeh okoljih?

► V obalnem morju Tržaškega zaliva prevladujejo bakterije, ki so značilne tudi za druga priobalna morja, vendar smo zaznali tudi nekatere vrste bakterij, ki so značilne za sladke vode. To nas je zelo presenetilo, saj smo jih zaznali sredi Piranskega zaliva, kjer redno vzorčimo na lokaciji oceanografske boje Vida. Sladka voda ostaja zaradi manjše gostote na površini in odnaša sladkovodne bakterije precej dlje od obale, kot bi pričakovali. Nekatere bakterije lahko tolerirajo velike razlike v slanosti, kako dolgo lahko preživijo v morju, pa ne vemo.

Kdaj ste začeli na MBP-ju spremljati mikrobno stanje našega morja?

► Ko sem v začetku 80. let prevzela to področje, je bil razvoj novih tehnologij in metod v mikrobni ekologiji izreden. Zgodila se je prava revolucija. S štetjem pod mikroskopom smo namreč ugotovili, da je v morju veliko več bakterij, kot so predvidevali in do takrat določali z gojenjem na ploščah. Pred tem je prevladovalo mišljenje, da je bakterij malo in da imajo vlogo razkrojevalcev. Z novimi rezultati sta nastala velika vrzel in vprašanje, kakšna je dejansko njihova vloga v morjih in oceanih. Danes vemo, da lahko zraste samo do 5 odstotkov bakterij na gojiščih, da imajo pomembno vlogo pri ohranjanju zdravega morskega ekosistema in da so pomembne tudi za zdravje ljudi. Nove metode mikrobne ekologije sem začela vpeljevati

tudi na MBP-ju, tako imamo dolgoletno serijo podatkov bakterijskega števila in produkcije že od leta 1981 dalje. Že od začetka me zanimajo predvsem odzivi naravne mikrobne populacije na spremembe fizikalnih in kemičnih dejavnikov v morju, medsebojni odnosi mikrobov, odnosi med mikrobi in drugimi organizmi, odziv mikrobov na nenavadne pojave, kot so čezmerna cvetenja rastlinskega planktona, sluzenje morja ali masovno pojavljanje želatinoznega živalskega planktona.

Hitrost razgradnje je odvisna od vrstne sestave mikrobov, kompleksnosti zgradbe spojin, hranilnih in okoljskih pogojev, kot so temperatura, slanost, dostopnost kisika, sončno obsevanje ...

Ali ste v teh štirih desetletjih raziskovanja morda ugotovili kakšne spremembe v bakterijski sestavi?

► O bakterijski vrstni sestavi vemo še premalo, opazamo pa, da se združba razlikuje po globinah kljub plitvosti Tržaškega zaliva. Večjo pestrost opazamo v pridnenem sloju. Sezonsko se vrstna sestava spreminja, na razlike pa vplivajo kakovost in količina hranil ter količina in sestava fitoplanktona. Prevladujejo predvsem cianobakterije, t. i. alfa in gama proteobakterije.

Kaj pa količina, abundanca mikrobov v morju? Se morda ta kaj spreminja?

► Dolgoletne serije podatkov števila bakterij v severnem Jadranu kažejo, da se njihovo število zmanjšuje. Delno je to povezano z manjšim vnosom odpadnih vod. V 80. letih, ko je večkrat prihajalo do lokalnih onesnaženj, smo na problem neustreznega čiščenja in odvajanja komunalnih odpadkov veliko opozarjali. MBP aktivno sodeluje v programih Združenih narodov za okolje, povezanih s t. i. Barcelonsko konvencijo. Eno od osnovnih poslanstev te konvencije, ki je namenjena varstvu Sredozemskega morja pred onesnaženjem, je



▲ »Koprene sluzi« v slovenskem obalnem morju na globini 15 metrov. (Foto: Tihomir Makovec)

bil apel politiki, da se izboljša kakovost morja. Kakovost čistilnih naprav se je v zadnjih desetletjih zelo izboljšala, zato se je zmanjšal vnos hranil in fekalnih bakterij v morje. Z vidika sanitarne kakovosti predstavljajo nevarnost za kopalce izlivi fekalno onesnaženih hudournikov po močnih naliivih ali kopanje v bližini neurejenih komunalnih izpustov. Na zmanjšanje števila bakterij v morju vplivajo v zadnjem obdobju predvsem manjši vnosi padavin in sladke vode, kar je posledica podnebnih sprememb.

Je manjše število bakterij v morju dobra novica? Imamo torej danes čistejše morje kot pred desetletji?

- Tega ne vemo. Vse več je namreč dokazov, da podnebne spremembe povzročajo spremembe v sestavi mikrobnih združb in izbruhu bolezni morskih organizmov se povečujejo po vsem svetu. Povzročitelji so številni virusi in patogene bakterije – tisti, ki so vneseni v morsko okolje, in tudi avtohtoni patogeni. Smrtnost velikih razsežnosti

zaradi izbruhov bolezni je prizadela številne organizme, na primer korale in morske sesalce. V zadnjih letih smo z novimi metodami koncentracije in določanja patogenih virusov v morski vodi potrdili njihovo prisotnost ne samo na viru onesnaženja, pač pa tudi na kopaliških postajah in školjčičih. Poleg tega smo z novimi metodami določanja vrstne sestave bakterij zaznali prevlado nekaterih patogenih bakterij, kot so *Arcobacter*, *Firmicutes* in *Chlamydia*, v notranjosti zaliva, 1500 metrov od iztoka čistilne naprave. S klasičnimi metodami, ki jih uporabljamo za določanje sanitarne kakovosti morja, teh bakterij ne zaznamo in tako lahko dobimo napačen podatek, da je morje čisto.

Prej ste omenili, da so cianobakterije, ki jih sicer povezujemo z občasnim neželenim »cvetenjem« morja, tudi v solinah. Ali drži, da se uporabljajo pri pridobivanju soli?

- Res je. Za naše soline so pomembne nitaste cianobakterije, ki prekrivajo blato v solinskih bazenih in tvorijo t. i. petolo. K nam so jih skupaj s tehnologijo pridelave soli prinesli s Paga v 14. stoletju. Solinarji so jih začeli načrtno gojiti. Pri pripravi kristalizacijskih bazenov vsako leto poskrbijo, da se petola na dnu bazenov obnovi. V petoli, ki je debela nekaj milimetrov, so poleg alg, sadre in mineralov tudi te cianobakterije, ki na površini steljke kopičijo kalcit. Tako nastane na dnu bazena trdna plast. Ta plast ima vlogo glazure, ki preprečuje, da bi solinarji pri grabljenju soli postrgali tudi blato, ki je nekaj milimetrov pod plastjo cianobakterij. Zato je naša sol zelo čista, bela in cenjena. V solinah na Jadranu sol še danes pridobivajo na ta način. Pred časom smo poskušali prenesti petolo tudi na grške in španske soline, vendar žal nismo dobili sredstev za to.

Včasih smo priča tudi t. i. sluzenju morja. Ali drži, da je do tega prihajalo že v 19. stoletju, ko je bila količina odplak človeškega izvora verjetno veliko manjša kot pozneje?

- Drži. Jovan Hadži je pisal o tem pojavu v prvi številki *Proteusa* leta 1934, prve zapise pa poznamo iz cerkvenih arhivov okoli leta 1730. Takrat so

organizirali cerkvene procesije, da se sluz ne bi pojavljala, saj so ribičem trgale mreže in niso mogli loviti.

S pojavom sluzi smo se nekaj let zelo intenzivno ukvarjali v 90. letih, saj je bilo morje ob obalah severnega Jadrana poleti prekrto z rjavimi sluzastimi prevlekami. Do podobnih, ne pa povsem enakih, pojavov prihaja tudi v Tirenskem morju in Baltiku. Opravili smo vrsto kemijskih in mikroskopskih analiz, ki kažejo na zapleteno in zamreženo strukturo, sestavljeno iz različnih sladkorjev, lipidov in mineralov, ki se skupaj z mikroorganizmi »lepajo« in v globinah morja tvorijo cele »oblake«, velike tudi nekaj metrov. Velike mase organske snovi so se čez dan lahko dvignile na površino ali pa so se posedale na morsko dno in povzročale veliko škodo morskim organizmom. Kljub številnim raziskavam vzroki nastanka takih sluzastih makroagregatov niso povsem jasni. Naši laboratorijski testi so med drugim pokazali, da bakterije zaradi pomanjkanja fosforja ne morejo dovolj hitro rasti, da bi lahko razgradile novonastalo organsko snov.

» Za naše soline so pomembne nitaste cianobakterije, ki prekrivajo blato v solinskih bazenih. K nam so jih skupaj s tehnologijo pridelave soli prinesli s Paga v 14. stoletju.

Ali je res, da je Jadransko morje v primerjavi z drugimi morji siromašno s fosforjem?

- Vsi organizmi potrebujejo za rast vsa hranila in elemente v sledovih, in če primanjkuje enega od njih, govorimo o limitativnosti, pomanjkanju določenega hranila. V večini morij in oceanov so nizke koncentracije dušika, nasprotno pa so za celotno Sredozemsko morje značilne nizke koncentracije fosforja. Pred leti je bil v Sredozemskem morju izpeljan velik »naravni« eksperiment ob grški obali, kjer je morje modro, prosojno, zelo oligotrofno – v njem je zelo malo hranil in posledično

malo fitoplanktona. V morje so izlili velike količine fosforne kisline, da bi pospešili rast fitoplanktona, s katerim se prehranjuje zooplankton, ta pa je hrana ribam. Rezultati so bili zelo drugačni od načrtovanih. Podobno so morje ob atlantski in pacifiški obali »gnojili« z železom, vendar tudi tam niso dobili pozitivnih rezultatov.

Zadnja leta je veliko govora o onesnaženju morja s plastiko. Se na MBP-ju ukvarjate s to problematiko?

► V zvezi s plastiko me osebno zanimajo predvsem mikrobne združbe, ki prerastejo plastične delce in jih imenujemo plastisfere. Mikrobi in virusi iz okolne vode se pritrjajo na delce in se prenašajo na velike razdalje. Mikrobna združba na teh delcih se razlikuje od združbe v okolni vodi, ne vemo pa, kakšna je njihova vloga, kako se lahko prenašajo, akumulirajo v prehranski verigi in kakšne so lahko posledice. Pred nekaj leti sem sodelovala pri raziskavi razgradnje bioplastike v morju. Delce bioplastičnih vrečk, ki smo jih izpostavili v morju in akvariju, so hitro naseljevali različni mikroorganizmi, sama razgradnja pa je potekala od nekaj tednov do nekaj mesecev.

Priča smo podnebnim spremembam, ki se bodo morda še stopnjevale. Ali je znano, kako te spremembe vplivajo na svet morskih mikrobov?

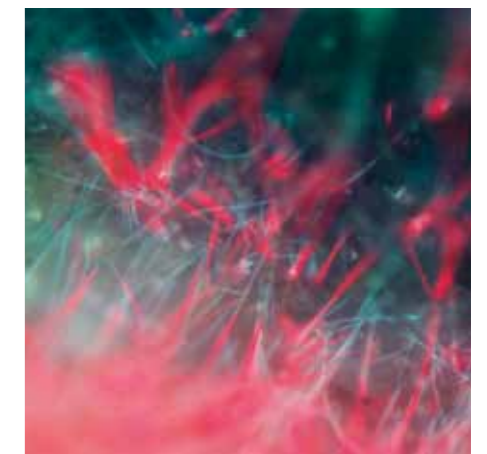
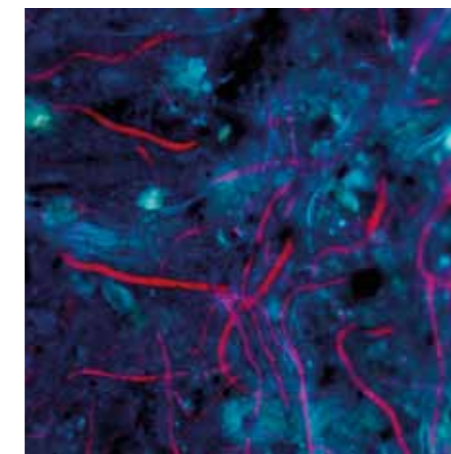
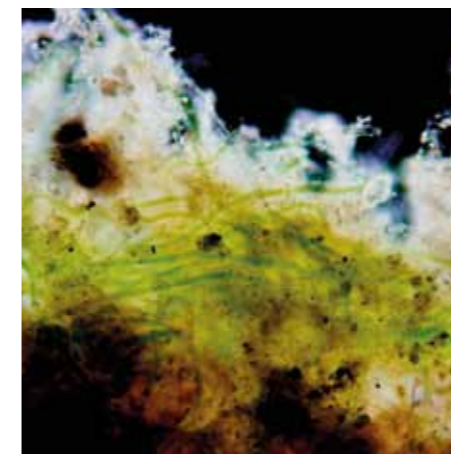
► Mikroorganizmi so spreminjali podnebje in tudi podnebje spreminja mikroorganizme skozi celotno zgodovino Zemlje. Mikroorganizmi se odzivajo, prilagajajo veliko hitreje kot višji organizmi, predvsem zato, ker je njihov generacijski čas le nekaj ur. Opravljajo ključne funkcije ekosistema, predvsem pa s fiksacijo ogljika in dušika ter remineraliziranjem organskih snovi vplivajo na globalni cikel ogljika in drugih toplogrednih plinov. Povišane temperature vplivajo na biološke procese, hitrost primarne produkcije, spremembe v sestavi mikrobnih združb, kar posledično spreminja prehranske verige. Srečujemo se s problemi zakisevanja oceanov, izumiranja koralnih grebenov, pojavljanja patogenih bakterij in virusov. Za boljše razumevanje vplivov mikrobov na podnebne spremembe je treba vključiti znanje o procesih

mikrobov v morju in sladkih vodah, atmosferi, na kopnem, od polarnega območja do ekvatorja. Iz Ameriškega združenja za mikrobiologijo so leta 2020 ponovno apelirali, da je treba v proučevanje podnebnih sprememb in modelne študije vključiti tudi mikrobiološke procese. Zavedati se moramo, da so raziskovanja izredno zahtevna in da gre za zelo kompleksne procese in povezave.

» Mikroorganizmi so skozi zgodovino spreminjali podnebje in tudi podnebje je spreminjalo mikroorganizme. Ker je njihov generacijski čas le nekaj ur, se zelo hitro prilagajajo.

Kateri so glavni prihodnji izzivi pri raziskovanju morskih mikrobov?

► Nadaljevali bomo z raziskavami širjenja mikrobov, vključno s patogenimi bakterijami v slovenskem morju, proučevanjem njihovih fizioloških lastnosti, njihove vloge v biokemičnih procesih kroženja snovi ter vplivi na posamezne člene prehranskih verig. Razvijamo tudi nove analitske metode detekcije. Zaradi spremljanja pojavljanja in širjenja patogenih in škodljivih mikrobov v okolju sodelujemo tudi pri pripravi prognostičnih modelov za napovedovanja, zgodnje opozarjanje in s tem preprečevanje posledic izbruhov bolezni, ne navadnih masovnih pojavov cvetenj škodljivih mikroorganizmov in morebitnih negativnih posledic v morskem ekosistemu.



▲ Soline na Pagu, od koder so k nam prenesli tehnologijo pridobivanja soli. (zgoraj) (Foto: Davorin Tome) Petola, nekaj mililitrov debela plast na dnu solnega bazena, v kateri so poleg alg, sadre in mineralov tudi cianobakterije. (spodaj) (Foto: Valentina Turk)

Živi svet podzemnih voda je izpostavljen mikroplastiki

Slovenija je z rekami, potoki in hudourniki zelo bogata. Njihova skupna dolžina gre v desetisoče kilometrov. Pestrost vodnih okolij pa se tukaj ne konča; podzemne vode, jezera in jezerca, močvirja in barja nudijo raznovrstna bivališča živim bitjem. Vodni ekosistemi nudijo človeku pitno vodo, z njihovo pomočjo pridobivamo električno energijo, omogočajo pa tudi rekreacijo in sprostitve ter številne druge tako imenovane ekosistemske storitve. Mnoge človekove dejavnosti, ki so v zadnjih desetletjih večinoma postale še bolj intenzivne, za vodne ekosisteme predstavljajo izjemno velike pritiske. To se odraža v njihovem kemijskem in ekološkem stanju, kar na koncu vpliva tudi na ljudi. Veliko vode je pod površjem, v kraških vodonosnikih ter medzrnskih prostorih prodnih nanosov rek. Zlasti o slednjih ne razmišljamo prav veliko – ljudje, ki niso vpeti v njihovo raziskovanje, nanje običajno niti ne pomislijo. Dr. Nataša Mori se, poleg drugega, posveča raziskavam podzemne biodiverzitete, pa tudi problematiki mikroplastike v teh ekosistemi.



▲ Narava je za Natašo Mori najljubša pisarna, pa tudi najljubši prostor za preživljanje prostega časa. (Foto: osebni arhiv)



▲ Rečno dno je bogato z mikroorganizmi, ki obraščajo prod in pesek v obliki biofilma. (Foto: Neja Medvešček)

Eno od pomembnih področij vašega znanstvenega delovanja so raziskave živega sveta v prodiščih rečnih strug, za katera običajno niti ne pomislimo, da bi lahko bila življenjski prostor živih bitij. Zakaj so te raziskave pomembne?

► Pomen habitatov, ki povezujejo površinske vode s podzemnimi vodami, so raziskovalci začeli prepoznavati že pred več kot 70 leti. To so sedimenti pod in ob rečnem dnu, prek katerih je reka velikokrat povezana z obsežnejšim vodonosnikom oziroma podzemno vodo. Tak primer je recimo Sava, ki napaja vodonosnik Ljubljansko polje. Skozi prod v rečnem dnu se površinska voda steka v podzemlje, v medzrnske prostorčke ali hiporeik in freatik, kot strokovno pravimo. Zanima nas, kaj se tam dogaja, saj je to ključno mesto, kjer se odvijajo samoočiščevalni procesi. Tu je površinska voda, ki vstopa v sediment, dalj časa v stiku z mikroorganizmi, ki obraščajo pesek in prod, z njimi pa se hranijo nevretenčarji, ki prihajajo v medzrnske prostorčke po zavetje in hrano. Na ta način se med drugim porabljata hranili, kot sta dušik in fosfor, in se voda čisti. Od tu voda polni bazene podzemne vode in je vir pitne vode ali pa se vrača nazaj v reko.

Katere živalske vrste pa živijo v prodiščih oziroma medzrnskem prostoru?

► Vseevropska raziskava v okviru projekta PASCALIS, pri kateri smo sodelovali, je pokazala, da so prodišča rek južno od Ljubljane izjemno vrstno pestra, veliko bolj kot drugod po Evropi. Za primerjavo: pri nas smo v teh prodiščih našli več kot 70 vrst živali, v Italiji, Franciji, Španiji in Belgiji pa od 25 do 55 vrst. Prevladovali so raki, saj je ta skupina v podzemnih vodah najbolj pestra. Zanimivo je tudi, da smo v Sloveniji našli čisto druge vrste kot drugje v Evropi.

Živali, ki naseljujejo hiporeik in freatik, se pravi plitvi in globlji medzrnski vodonosnik, se po podzemnem prostoru premikajo in razširjajo počasneje kot njihove površinske sorodnice, saj so njihov življenjski prostor ozki kanalčki, po katerih se voda steka precej počasneje kot na površju. Hitrost površinskega toka je lahko tudi več kot en meter na sekundo, podzemna voda pa mezi s hitrostjo okoli enega metra na dan ali celo manj. Zato so nahajališča teh živali velikokrat točkasta in na splošno z majhno geografsko razširjenostjo. Če z mehanskimi posegi spreminjamo strugo, lahko uničimo celotne



▲ Izviri so okna v svet podzemnih voda. Tu lahko najdemo podzemne živali, ki jih na površje prinaša vodni tok. (Foto: Irena Bertoncely)

populacije. Naše raziskave so pokazale, da so prodišča Save zelo bogata s takimi podzemnimi vrstami. Veliko je tudi endemnih vrst, ki jih ni mogoče najti nikjer drugje v svetu, nekaterih celo ne v drugih slovenskih porečjih. Med njimi so različni raki, nižji raki, kot so dvoklopniki in ceponožci, veliko je slepih postranic in rakov enakonožcev. Po navadi vsaka nova raziskava prodišč prinese nova odkritja vrst.

Nedavno opravljena raziskava je pokazala izredno vrstno pestrost podzemne favne v prodiščih spodnjega toka Save, tam, kjer načrtujejo gradnjo novih hidroelektrarn. Zaradi tega bodo te vrste morda za vedno izginile. Hidroelektrarna pomeni fizično odstranitev življenjskega prostora, vpliva pa

tudi na dviganje in spuščanja gladine podzemne vode. Če se zviša, je voda bolj v stiku z onesnaževanjem na površju, kar je grožnja za podzemne vrste, ki proti tem vplivom niso odporne. Če se gladina vode zniža, pa se zmanjša obseg njihovega habitata. Lahko se tudi prekine hidrološka povezava s površino. Ob zajezitvi se dno akumulacijskega jezera po

” Slovenija je v primerjavi z drugimi evropskimi državami izjemno bogata s podzemnimi vrstami, predvsem z različnimi vrstami rakov.

navadi zamulji, voda ne more več prehajati v podzemlje, prekine se dotok kisika. Vse to zelo škoduje podzemnim vrstam in lahko tudi vpliva na vire pitne vode.

Ste zato raziskovali tudi vplive odvoza rečnega proda, namenjenega za komercialno rabo v gradbeništvu, iz struge reke Bače?

► Res je. Bača je v okviru klasičnega monitoringa prepoznana kot reka v dobrem ekološkem stanju, saj pritiskov nanjo skoraj ni. Ponekod lahko koncesionarji v določenem obdobju odvzemajo določene količine gramoza. Nekaj je tudi črnega odvzema z zaščiteneh mest ali v obdobju, ko je odvzem prepovedan zaradi drstenja rib. Ugotovili smo, da se po odvzemanju proda sestava združbe vodnih nevretenčarjev celo po enem letu ni povrnila v prvotno stanje. Odvzem je pomenil fizično odstranitev življenjskega prostora in večine živalstva, ki se je tam nahajala. Po odvzemu proda je bilo več finega sedimenta in več mulja, prihajalo je do pomanjkanja kisika globlje v produ. Nevretenčarji morajo ta prostor spet naseliti iz gorvodnih in dolvodnih rečnih odsekov. Vse to se je odražalo v živalstvu, pa tudi kakovosti vode na površini in hiporeiku še leto dni po odvzemu. Dokazali smo negativen vpliv odvzemanja gramoza na nevretenčarske združbe in s tem na samoočiščevalne sposobnosti Bače. Taki posegi so še bolj kritični, če se dogajajo na več rečnih odsekih hkrati ali na bolj obsežnih, daljših odsekih, saj to zmanjša in upočasni ponovno naseljevanje opustošenih delov strug ter polno delovanje samoočiščevalnih procesov.

Zadnja leta stopa v ospredje problematika plastike v morju. Kako pa je z njeno prisotnostjo v celinskih vodah?

► Plastika je zadnja leta vroča javna tema, znanstvenih raziskav, še zlasti o njeni prisotnosti v celinskih vodah, pa je za zdaj še malo. Vendar vemo, da je mikroplastika, to so manj kot pet milimetrov veliki delci plastike, vseprisotna. Odkrili so jo v pitni vodi, veliko jo je bilo najdene celo v človeškem blatu. V Sloveniji se je na tem področju angažiralo več raziskovalnih institucij, začeli smo se tudi povezovati. Na NIB-u nas je najprej zanimalo, ali se



▲ Raki dvoklopniki, veliki en milimeter ali manj, so pogosti prebivalci podzemnih voda. Njihovo telo je skrito v trdni dvodelni lupinici. (Foto: Zoran Samardžija)

mikroplastika pojavlja tudi v rečnih sedimentih, hiporeiku. Zanimalo nas je predvsem, ali je to lahko potencialno območje vstopa mikroplastike v podzemne vode in kako bi njena prisotnost vplivala na samoočiščevalne procese v rečnih sedimentih. Ker so na Inštitutu za vodo ugotovili, da čistilne naprave zadržijo več kot 90 odstotkov mikroplastike, nas je zanimala njena prisotnost pod iztoki čistilnih naprav. Vzorcili smo na Ljubljani, Gradaščici in Kamniški Bistrici. V Ljubljani in Kamniški Bistrici, ki sta bolj obremenjeni, je pod čistilnimi napravami teh delcev precej. To je očitno posledica velikih količin odpadne vode, ki se po čiščenju izteka v reke. Kot referenčno mesto smo vzeli Kamniško Bistrico v Stahovici, kjer naj bi bila narava neokrnjena, in mikroplastiko našli tudi v teh navidez čistih prodiščih. V to okolje bi lahko prišla iz atmosfere, morda se izpira iz okoliške prsti ali pa jo prinašajo ljudje, ki se na prodiščih zadržujejo v poletnih mesecih.

Zakaj je plastika tako zaskrbljujoča? Vemo, da zaradi nje umirajo številne morske živali. Kakšen pa je njen vpliv na zdravje ljudi?

► Zaradi barvanja, obstojnosti in izboljšanja mehanskih lastnosti plastike dodajajo različne snovi, te pa se pod vplivom okoljskih dejavnikov izločajo v okolje. Za mnoge že vemo, da so toksične. Najbolj

znana je morda bisfenol (BPA), ki spada med hormonske motilce. Lahko pa je toksičen že sam osnovni material. Primer je recimo polietilen tereftalat, na kratko PET, ki je veliko v uporabi v tekstilni industriji. Iz PET-a se izdeluje embalaža, ki pogosto konča v okolju. Nekatere raziskave so pokazale, da ima PET lahko podobne učinke kot hormonski motilci. Dodatno okoljsko tveganje je, da so delci plastike lahko substrat, podlaga za razne patogene mikrobo in viruse, nanje se tudi pritrjujejo druga strupena organska onesnaževala, ki so prisotna v okolju in se na ta način, če je plastike v okolju veliko, koncentrirajo. Trenutno v sedimentih Ljubljane, Kamniške Bistrice in Gradaščice opazujemo, kako prisotnost PET-a vpliva na aktivnost in sestavo mikrobnih združb. V sedimente smo namestili umetne substrate in opazujemo, ali bodo tu združbe kaj drugačne, kot če v rekah tega onesnaževala ni. Ker mikrobne združbe v sedimentih skrbijo za razgradnjo in pretvorbe hranil ter onesnaževal, nas zanima, ali prisotnost onesnaženja s plastiko vpliva na samoočiščevalne procese. Prve analize rezultatov so pokazale spremenjeno aktivnost mikroorganizmov zaradi prisotnosti PET-a. Da bomo z gotovostjo potrdili negativen vpliv na metabolne procese, pa moramo zbrati še nekaj dodatnih terenskih podatkov in narediti poglobljene analize rezultatov.

Vemo tudi, da se mikroplastika lahko koncentrira v organizmu, tudi človeškem, ne znamo pa še oceniti, kakšen je njen vpliv na zdravje. Trenutno je najpomembnejše razviti standardizirane metode za zaznavanje prisotnosti mikroplastike v okolju, tudi v vodah, ter bolje razumeti njen vpliv na organizme in ekološke procese, saj bomo le tako lahko sprejemali učinkovite preventivne ukrepe. Morda je še bolj kot mikroplastika problematična nanoplastika, še veliko manjši delci, ki pa jih je za zdaj zelo težko zaznati in spremljati. Nedavna francoska raziskava je pokazala, da iz rečne vode prehajajo precej globoko v sediment, kar pomeni, da obstaja potencial za onesnaženje pitne vode z nanodelci plastike.

Kako pa je z biorazgradljivostjo plastike? Se morda obeta kakšen napredek?

► Doslej je bilo v okolju identificiranih že več kot 170 bakterij, ki so sposobne v določeni meri načeti plastične materiale, torej začeti biološko

razgradnjo. Tovrstne bakterije imajo potencial za uporabo v bioremediaciji, pri kateri skušamo posnemati naravne procese; zlasti veliko se bioremediacija uporablja v rastlinskih čistilnih napravah.

» Morda je še bolj kot mikroplastika problematična nanoplastika. Kot kaže, prehaja iz rečne vode v rečno dno in tako potencialno tudi v podzemne vode.

Pri iskanju takšnih bakterij smo se fokusirali na okolja, kjer je potencial, da je teh bakterij več – v čistilnih napravah, izcednih vodah z odlagališč odpadkov in rečnih sedimentih, ki so izpostavljeni iztokom iz čistilnih naprav. V preliminarnem poskusu smo mikrobnim združbam iz teh okolij izpostavili različne plastične materiale, kot so PET platenke za pakiranje vode, HDPE vrečke za pakiranje zelenjave in PET tekstilna vlakna. Poskus je pokazal, da so izbrane bakterije sposobne preživeti samo na plastičnih materialih brez dodanih hranil tudi več kot dva meseca. Podroben mikroskopski pregled materialov je pokazal spremembe na površini HDPE vrečk in tudi na PET platenki, medtem ko so PET vlakna ostala nedotaknjena. Iz tega lahko sklepamo, da v onesnaženih okoljih obstajajo bakterijski sevi, ki imajo oz. so razvili encime, ki lahko načnejo zelo obstojno, rigidno strukturo plastičnih materialov. Treba pa je tudi prepoznati specifične seve, ki so povzročili začetek razgradnje. Seve je treba izolirati in podrobneje spoznati metabolne poti, ki so relevantne za biorazgradnjo. Pot do uporabe v bioremediaciji je še dolga, saj za popolno razgradnjo ni dovolj en sev, ena metabolna pot, temveč več različnih, saj gre za kompleksne kemijske snovi.

Uporabili ste izraz bioremediacija, v zvezi z okoljevarstvom pa je občasno slišati izraz ekoremediacija. Kaj si lahko predstavljamo pod njim?

► Ekoremediacija je pristop, s katerim poskušamo izboljšati stanje ekosistema. Lahko je zelo



▲ Mikroplastika, ki se dodaja v kozmetične izdelke in po uporabi konča v okolju. Kovanec za 20 centov je za primerjavo velikosti. (Foto: Klemen Čandek)

učinkovita za izboljšanje kakovosti vode. Pri nas se v mnoge reke in potoke s polj tudi razpršeno stekajo hranila, predvsem dušikove in fosfatne spojine, ki povzročajo pospešeno rast alg in vodnega rastlinja; tak primer je recimo reka Rinža na Kočevskem. Zato je pomembno, da so obrežja obraščena z vegetacijo, ki te snovi porabi za svojo rast. To bi lahko marsikje izboljšalo stanje, na primer v zadrževalniku Perniško jezero, kjer smo izvajali raziskave in je kakovost vode zelo slaba – vsebnost dušikovih spojin je visoka. V okolici je veliko kmetijstva, ob obrežju pa ni nobenega rastlinja, zato se hranila spirajo v vodo in se tam koncentrirajo. Voda je kalna in smrdljiva, rastlinski plankton raste pospešeno, kar pomeni povečanje organske mase, ki se posedla na dno, kjer ob razgradnji porablja kisik. Ko zmanjka kisika, prihaja do poginov rib. Seveda pa so še drugi dejavniki, kot so spiranje mulja, dohranjevanje rib, aktivnost rib, ki dvigujejo hranila z dna. Vseeno pa bi obrežni rastlinski pas vsaj delno izboljšal kakovost vode in zmanjšal verjetnost poginov rib. Tak primer je Vrbsko jezero pri Celovcu, pri nas pa ne poznam nobenega primera.

Primer ekoremediacije je tudi vračanje strug v naravno stanje – da se iz kanaliziranih spet napravi

naravna vijugasta struga s kamenjem in obrežnim rastlinjem. Seveda je to velikokrat problem, ker je v nasprotju s poplavno varnostjo, pa tudi prostora ob rekah v Sloveniji ni veliko. Ekološko in kemijsko stanje celinskih rek bi se izboljšalo tudi, če bi še povečali učinkovitost čistilnih naprav. Vse čistilne naprave bi morale imeti vpeljano učinkovito terciarno čiščenje odpadne vode, pri katerem bi odstranili dušik in fosfor ter opravili sterilizacijo, da ne bi iz njih v naravo odtekali patogeni mikrobi.

Kakšno pa je stanje slovenskih podzemnih voda? Te so glavni vir pitne vode pri nas.

► Za Ljubljano lahko rečemo, da ima dobro vodo, saj ima enega najčistejših vodonosnikov v Sloveniji – Ljubljansko polje. Stanje v drugih delih Slovenije je različno. Že desetletja so problematični Dravsko in Mursko polje ter Savinjska dolina, najpogosteje zaradi nitratov in pesticida atrazina in njegovega metabolita desetilatrazina; ker se pesticidi zelo počasi razgrajujejo, bodo minila še desetletja, da bodo izginili iz vodonosnikov. Za podzemne vode medzrnskih vodonosnikov so kmetijske dejavnosti

najbolj problematične, še posebno tam, kjer so vode plitvo v produ in dobrem stiku s površino, zato se hitro onesnažijo.

Kako občutljive so podzemne vode na človeške vplive, je pokazala tudi raziskava, ki smo jo pred leti opravili na kraškem izviru Lipnik, v katerega pritekajo kraške podzemne vode s Pokljuke. To je na videz povsem čisto okolje, a smo v izvirski vodi nekajkrat zaznali amonij. Kako je prišel vanjo, si nismo znali prav razložiti. Je pa to dokaz, da zelo prepustno in pretočno kraško podzemlje ne more preprečiti onesnaženja. Karkoli se na površini zgodi, se pokaže v izvirih, ki se pogosto uporabljajo tudi za pitno vodo. Še posebno v alpskem krasu, kjer je zelo tanka plast prsti, zato je učinek filtriranja še manjši.

” Pri konceptu ekosistemskih storitev deležniki določijo koristi, ki jih imajo od nekega ekosistema, ter se dogovorijo, katere so najpomembnejše in kaj lahko naredijo za njihovo ohranitev.

Ali je bilo tudi v podzemlju, tako kot na površju, že opaženo zmanjševanje biodiverzitete?

► Tega ne moremo z gotovostjo reči. Za to bi bilo potrebno redno dolgoročno spremljanje, vendar za njegovo financiranje za zdaj ni posluha. Dolgoročnega sistematičnega spremljanja živalstva neke jame, kaj šele medzrnskih vodonosnikov oz. prodišč, ni. Edina izjema je spremljanje jamskega živalstva Velike Pasice, ki jo izvaja prof. dr. Anton Brancelj. V Sloveniji imamo zelo veliko podzemno pestrost vrst, ampak razen tega, da je posredno varovana z varovanjem jamskih habitatov in zaščite človeške ribice z Naturo 2000, je na tem področju narejenega zelo malo. Tudi v zvezi z gradnjo hidroelektrarn na spodnji Savi (Blanka, Brežice) ni bilo opravljenih nobenih raziskav o podzemnem živalstvu prodišč, zato sploh ne vemo, kaj smo imeli in kaj izgubili. Sklepamo, da je šlo za izgube živalstva, značilnega za medzrnske vodonosnike, zaradi izgube življenjskega okolja. Za zaščito vrst, ki

niso zavarovane na noben način, bi bilo treba več napraviti. Nekatere rešitve bi bile zelo preproste. Že če bi pri urejanju voda vedeli, da je neko prodišče bogato z endemnimi vrstami in bi ga pustili pri miru, bi bilo narejeno veliko pozitivnega. Rečna prodišča so pri urejanju voda pogosto na udaru.

Ali odločevalce seznanjate s svojimi ugotovitvami? Kako odpri so za pobude o potrebnih zaščitnih ukrepih?

► Udeležujemo se slovenskih kongresov. Še posebno pozitivno se mi zdi, da sodelujemo in predstavljamo rezultate svojih raziskav hidrologom in geologom, ki velikokrat pripravljajo smernice za upravljanje voda in pogosto nimajo dovolj informacij in znanja s področja biologije. Do odločevalcev na ravni ministrstva pa je težko priti, ker imajo veliko dela z rednimi nalogami, ki so predpisane s strani EU z Naturo 2000 in Vodno direktivo, ki ima že vse ustaljene pristope. In dejansko nimajo časa, ker jih je najbrž premalo, najbrž gre tudi za pomanjkanje denarja. Morda pa manjka tudi interes, da bi prisluhnili našim ugotovitvam in jih upoštevali.

Ali je mogoče podati splošen odgovor na vprašanje, kaj bi bilo treba napraviti, da bi bilo ekološko stanje naših voda boljše, kot je?

► Težko, saj je problematika zelo kompleksna in bolj družbena kot biološka. Na vsakem vodnem telesu imamo zelo veliko različnih rab, interesov, pritiskov in ljudi, ki imajo vsak svoj interes. Kot primer lahko navedem izkušnjo z akumulacijo hidroelektrarne Moste na Jesenicah. Akumulacija je bila zgrajena za namene pridobivanja električne energije v sklopu hidroelektrarne, ki uravnava pretočnost glede na ekonomske potrebe. Tik ob akumulaciji je nameščen industrijski objekt, ki industrijske odpadke (žlindro) odlaga na robu akumulacije, obenem pa mora nekam odvajati tehnološko vodo, ki jo uporabljajo za ohlajevanje. Na zgornjem delu akumulacije se v Savo odvaja iztok iz čistilne naprave Jesenice, z okoliških polj pa se spirajo v pritoke hranila. Svoje interese imajo tudi ribiči, ki želijo vlagati ribolovne vrste in loviti v čisti vodi ter prijetnem okolju. Torej kompleksen okoljski problem, ki se trenutno kaže v slabšanju kakovosti vode, občasnih pojavih cvetenja alg ter nalaganju



▲ Meritve in vzorčenja v nekraških podzemnih ekosistemih so tehnično zahtevni. S prenosnimi piezometri lahko dosežemo plitvi vodonosnik do globine meter in pol. (Foto: Davorin Tome)

organskih snovi na dnu akumulacije. Omenjene deležnike bi bilo treba povezati, da bi dojeli, da je problem skupen in da bi ob ugodni rešitvi vsi imeli korist. Če bi se na primer dogovorili, da bi hidroelektrarna takrat, ko se voda v akumulaciji pregreva, malo povečala pretok, tako da se topla voda ne bi zadržala v akumulaciji, bi lahko marsikaj rešili.

Zato pravim, da je reševanje takih problemov sociološko vprašanje. V tem kontekstu je zelo uporaben koncept ekosistemskih storitev, ko vsi vključeni deležniki določijo, kakšne koristi imajo od izbranega ekosistema, ter se dogovorijo, katere storitve so najpomembnejše in kaj lahko naredijo, da jih ohranijo.

Ocenjevanje ekološkega stanja celinskih voda



▲ Zdrav duh v zdravem telesu je pri Tini Eleršek neposredno povezan z raziskovalnim stremljenjem po zdravem okolju. (Foto: Alja Stern)

Voda je nafta prihodnosti. Voda je zlato prihodnosti. Te besedne zveze je mogoče pogosto slišati. Le da za nekatere predele sveta ne gre za prihodnost, temveč je kakovostna voda redka in dragocena dobrina že danes. Precejšen del Evrope je z vodo bogat, pri čemer Slovenija spada v marsikaterem pogledu v sam vrh. Vendar stanje ni povsod tako idilično. In tudi tam, kjer je dobro, obstaja veliko različnih nevarnosti, da se poslabša. Mikrobiologinja dr. Tina Eleršek se v okviru večletnega projekta Interreg Alpine Space, Eco-AlpsWater (Program Območje Alp, Eco-AlpsWater), pri katerem je med drugim vodja znanstvenega komuniciranja, s tem področjem veliko ukvarja.



▲ Kadar Blejsko jezero prekrijejo potencialno strupene škrlatne cianobakterije, to predstavlja grožnjo za zdravje živali in ljudi, rekreacijo in turizem. (Foto: Maša Zupančič)

Začnimo s povsem konkretnim primerom, Blejskim jezerom. O njegovem ponovno slabem stanju, ki se je po več desetletjih prizadevanj izboljšalo šele pred kakšnimi desetimi leti, je danes spet veliko slišati. Kaj vse je šlo narobe?

► Za analize Blejskega jezera je pristojna inštitucija ARSO. Podatki rednega monitoringa, ki ga izvaja ARSO, so v letu 2020 pokazali zelo zaskrbljujoče stanje, ki se glede obremenjenosti s hranili lahko primerja s stanjem v 90. letih prejšnjega stoletja. Pritiski na jezero in na njegove pritoke se še naprej iz leta v leto povečujejo, glavni med njimi so množični turizem, intenzivna ribiška in kmetijska dejavnost ter preobremenjeno komunalno omrežje.

Pozimi leta 2020 smo bili na Blejskem jezeru pričali tudi obsežni razrasti cianobakterij vrste *Planktothrix rubescens*, ki so celotno gladino obarvale

škrlatno. Te cianobakterije so pokazatelj organske obremenjenosti, dodaten problem pa predstavlja dejstvo, da proizvajajo toksične snovi, nevarne za ljudi in živali. To je grožnja za zdravje ljudi, rekreacijo, turizem in industrijo, poleg tega pa vodi v pomanjkanje kisika v jezeru ter lahko povzroči smrt rib in drugih organizmov.

Na NIB-u razvijamo med drugim tudi molekularna orodja oz. metode, ki bi lahko omogočile zgodnje zaznavanje grožnje toksičnih cianobakterij. Če bi grožnjo zaznali dovolj zgodaj, bi lahko na potencialno poslabšanje stanja opozorili pravočasno, ko bi bila zavezitev pojava z ustreznimi ukrepi s strani pristojnih organov še mogoča. Ko se cianobakterije čezmerno namnožijo, je za ukrepanje že prepozno, saj se cianotoksini pri razpadu celic sprostitjo v okolje. Z razvojem novih molekularnih metod želimo pristojnim inštitucijam ponuditi učinkovita orodja za izboljšanje upravljanja Blejskega jezera, pa tudi drugih vodnih teles, ki so v Sloveniji pogosto podvržena razrasti škodljivih cianobakterij.

Kateri pa so sicer glavni onesnaževalci naših celinskih voda?

► Morda za začetek nekaj besed o terminologiji. Ljudje radi rečejo, da so vode umazane. Vode, ki vsebujejo druge, največkrat nevarne snovi, so obremenjene. Kadar gre za poseben tip obremenitve z organsko snovjo, ljudje običajno pravijo, da so onesnažene. Soča na primer ni onesnažena, je pa obremenjena z živim srebrom. Ne glede na to, ali rečemo, da so obremenjene ali pa onesnažene, v veliki večini primerov k temu prispevamo ljudje. Na vodna okolja negativno vplivajo predvsem izguba biodiverzitete zaradi antropogenega izkoriščanja vodnih okolij, podnebne spremembe, ki se kažejo v pogostejših ekstremnih dogodkih (poplave in suše, ki neposredno vplivajo na hidrološke lastnosti), povečani pritiski zaradi tujerodnih vrst, poleg tega pa še obremenjevanje, onesnaževanje in evtrofikacija (povečana vsebnost hranil, predvsem dušika in fosforja). Pravi izziv je delovati in upravljati vodna telesa trajnostno, torej na način, da bi nekako uravnotežili njihovo varovanje na eni strani in izkoriščanje ekosistemskih storitev na drugi strani. Vodna telesa so pomembna, ker so naš edini vir vode, so tudi vir kisika, nujna so za geokemično kroženje elementov in vzdrževanje ravnotežja v naravi, nujna so pa tudi za človekove dejavnosti, kot so kmetijstvo, ribištvo, industrija, rekreacija, turizem ... In vse te dejavnosti so seveda tudi vir obremenjevanja in onesnaževanja.

Na kakšen način oz. s kakšnimi metodami spremljate ekološko stanje celinskih voda?

► Rada bi poudarila, da ekološkega stanja voda ne opredeljuje samo en, temveč skupek več bioloških elementov, poleg tega pa še fizikalno-kemijski elementi. Način določanja ekološkega stanja natančno opredeljuje Evropska vodna direktiva, ki je v Sloveniji implementirana tudi v uradne dokumente, Uredbo o stanju površinskih voda in Metodologije za vzorčenje in vrednotenje ekološkega stanja z različnimi biološkimi elementi. Tradicionalno se tako po predpisanih metodologijah določajo biološki elementi, kot so lebdeče alge (fitoplankton), alge jezerskega in rečnega dna (fitobentos), s prostim očesom vidno vodno rastlinje (makrofiti), nevretenčarji rečnega in jezerskega dna ter ribe.

» Razvijamo molekularna orodja, ki bi lahko omogočila zgodnje zaznavanje toksičnih cianobakterij. Če bi jih zaznali dovolj zgodaj, bi lahko pravočasno opozorili na poslabšanje stanja.

V osnovi določanje ekološkega stanja začnemo tako, da na terenu pomerimo fizikalno-kemijske elemente, opišemo stanje in odvzamemo vzorce relevantnih bioloških elementov za laboratorijske analize. V laboratorijih se nato določen element natančno analizira. Končni cilj tega dolgotrajnega dela, za katerega je potrebno večletno specialistično šolanje, so sezname vrst. Vsaka vrsta ima svoje indekse, na podlagi katerih se po zapletenih matematičnih formulah izračuna ekološko stanje za določen tip vodnega telesa. Po Evropski vodni direktivi se to stanje opiše s petstopenjsko lestvico: zelo dobro, dobro, zmerno, slabo in zelo slabo. Cilj vsake države pa naj bi bila vodna telesa, ki so vsaj v dobrem ekološkem stanju. Ker se znanstveniki zavedamo, da tradicionalno izbrani elementi kakovosti še zdaleč niso vsi biološki elementi, ki so prisotni v vodnih okoljih, raziskujemo tudi druge, npr. viruse, in pa že znane biološke elemente na drugačen način (npr. alge in cianobakterije prek okoljske DNK).

In kaj kažejo te ocene za stanje voda pri nas?

► Sistematičnega spremljanja v smislu biomonitoringa celinskih voda NIB ne izvaja več, saj je to pred leti postala domena ARSO. Vsako leto se določi seznam vodnih teles, ki so vključena v monitoring glede na načrt Ministrstva za okolje. Naloga znanstvenikov pa ostaja razvoj novih, natančnejših, bolj specifičnih in po možnosti tudi cenejših metod za biomonitoring, zato razvijamo nove pristope. Izbor preiskovanih teles je odvisen od tega, katere projekte uspemo pridobiti, da lahko pokrijemo stroške raziskav. V Sloveniji dobimo nekaj finančne podpore za materialne stroške teh raziskav z Ministrstva za obrambo in nekaj malega programskega financiranja s strani ARRS-a, ostalo



▲ Pisan svet škrlatnih cianobakterij. Pri izolaciji DNK se barvila iz cianobakterij različno razporedijo. (Foto: Maša Zupančič)

» Pravi izziv je upravljati vodna telesa trajnostno, torej na način, da bi uravnotežili njihovo varovanje na eni strani in izkoriščanje ekosistemskih storitev na drugi strani.

pokrivajo evropski projekti, kadar jih uspemo pridobiti. Že več let prijavljamo to tematiko tudi na razpise za projekte AARS, pa ocenjevalci zmotno menijo, da razvoj novih metod za ocenjevanje ekološkega stanja celinskih voda ni pomembna tema.

Na katerih vodnih telesih pa ste izvedli preiskave?

► V letu 2019 smo v okviru evropskega projekta Eco-AlpsWater skupaj z ARSO sodelovali pri primerjavi tradicionalnih in novih raziskav okoljske DNK za Blejsko, Bohinjsko, Perniško in Slivniško jezero, Vogršček, Koseški in Tivolski bajer, Glinščico, Bistrico, Ljubljaničko, Lukaj, Poljansko Soro, Rižano, Savo in Sočo.

Kakšni so rezultati teh raziskav?

► Naše raziskave celinskih voda še nimajo neposrednih rezultatov, smo šele v fazi razvoja. Vsak



▲ Potencialno strupena cianobakterija vrste *Planctothrix rubescens* pod svetlobnim mikroskopom. (Foto: Tina Eleršek)

razvoj prinaša tudi mnogo učenja iz napak, zato ni premočrten in hiter, čeprav je nujen za prihodnost, o tem sem prepričana. Ne moremo vendar večno ocenjevati ekološkega stanja voda z metodami, ki jih izvajamo zadnjih 30 let, in se delati, da v znanosti ni na voljo orodij, kot so napredne molekularne metode, npr. pomnoževanje z verižno reakcijo s polimerazo in visokozmogljivo sekvenciranje.

Kako dobro lahko danes določamo ekološko stanje s sodobnimi metodami v primerjavi s tradicionalnimi, še ne vemo zanesljivo, saj zaradi omejenega financiranja znanosti v Sloveniji napredujemo zelo počasi. V evropskem projektu Eco-AlpsWater bomo primerjavo med tradicionalnim in razvijajočim pristopom za alpski prostor naredili leta 2021,

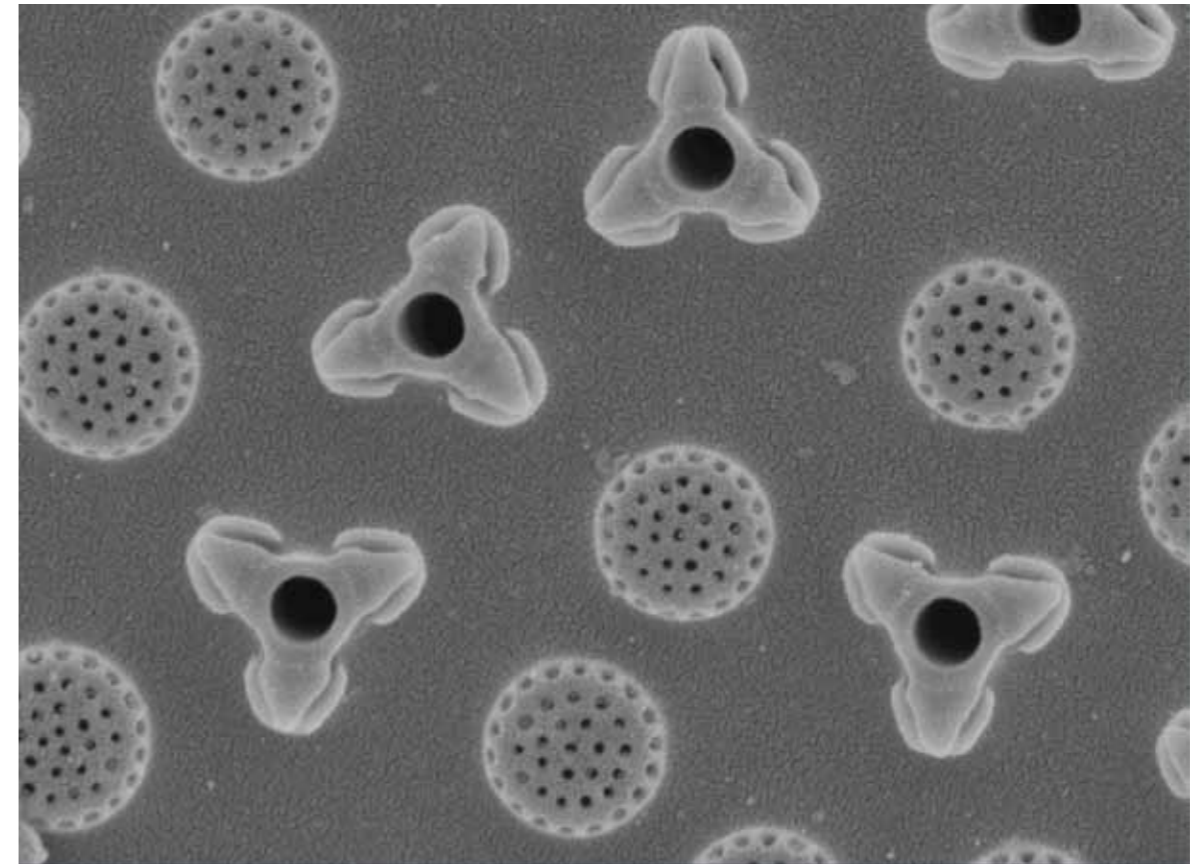
v zadnjem letu projekta. Za kakovostne analize vodnih teles je treba upoštevati sezonsko in tudi večletno dinamiko, saj so zime in poletja v zaporedju nekaj let lahko zelo različni, kar se tiče temperatur, padavin in drugih dejavnikov. Vse te »motnje« vsako leto drugače vplivajo na biološke elemente v vodi. Zato so te raziskave tako dolgotrajne in rešitve ne moremo ponuditi kar čez noč. Vsakomur je jasno, kako kompleksen je človeški organizem, na katerega vpliva mnogo med seboj povezanih dejavnikov, le malokdo pa se zaveda, da so prav tako kompleksni tudi vodni ekosistemi. Tudi zato je za primerjavo tradicionalnih in novih metod določanja ekološkega stanja potreben čas.

Ali je mogoče kljub temu, kar ste povedali, podati splošno oceno, kakšno je sedanje stanje naših celinskih voda v primerjavi s preteklostjo, recimo pred 20 ali 30 leti?

► Za te odgovore je pristojna inštitucija ARSO. Detajlne analize so javno dostopne na njihovih spletnih straneh, na splošno pa bi poenostavljeno lahko rekli, da se z leti zmanjšuje organsko onesnaženje, povečuje pa se specifično kemijsko obremenjevanje voda. Kar je seveda odvisno tudi od tega, katera vodna telesa nas zanimajo in katere kemikalije merimo. Zgodba je precej kompleksna. Vode se ne da samo preprosto oceniti, ja, zdaj je boljša/slabša kot pred leti. Odvisno je od tega, kateri parameter primerjamo – kemijske analize, biodiverzitetu, stanje specifičnega biološkega elementa.

Pri svojem delu ugotavljate prisotnost okoljske DNK. Kaj si lahko pod okoljsko DNK predstavljamo?

► V vodi najdemo mnogo različnih molekul DNK vseh vodnih organizmov, od virusov in cianobakterij pa do rakov in školjk, in tudi DNK kopalcev. Med njimi so tudi skupine organizmov, o katerih vemo zelo malo, ker v laboratorijskih razmerah ne uspejajo in se jih v laboratoriju ne da analizirati ali pa ker jih je izredno malo. Tudi take skupine so morda pomembni biološki indikatorji, ki pa jih zdaj s tradicionalnim pristopom gladko spregledamo. Ko govorimo o okoljski DNK, torej govorimo o celokupnem dednem materialu vseh organizmov,



▲ Detajl lupinice kremenaste alge, posnet z vrstičnim elektronskim mikroskopom. (Foto: Tina Eleršek)

ki so v nekem okolju prisotni. Pri mikroorganizmih ta DNK izhaja neposredno iz njihovih celic, ki jih vzorčimo skupaj z vodo, pri večjih organizmih (npr. ribah ali ljudeh) pa se genetski material prenaša v okolje prek telesnih izločkov, odmrle kože, dlak in podobno ter lahko v vodnem okolju ostane več dni ali celo tednov. S tradicionalno metodologijo upoštevamo največ štiri skupine bioloških indikatorjev. Nova metodologija pa bo zajela dedni material vseh organizmov v vodi, kar predstavlja kompleksne podatke, saj znamo v najboljšem primeru določiti imena vrst za 40 odstotkov vseh zaporedij DNK, običajno pa le za nekaj odstotkov. Zato gre razvoj metod v smer računalniško podprtih metodologij. Računalniki zmorejo prepoznati zaporedja DNK in jih glede na frekvenco pojavljanja povezati s stopnjo ali načinom obremenjenosti določenega vodnega okolja. Na podlagi tega bi lahko

» Vode se ne da preprosto oceniti in reči, da je boljša ali slabša kot pred leti. Odvisno je od tega, kateri parameter primerjamo – kemijske analize, biodiverzitetu ...

izračunali ekološko stanje vodnega okolja, ne da bi vsa zaporedja DNK znali poimenovati do ravni vrste. Temu pristopu v angleščini pravijo »taxonomy free approach«. Za kaj takega potrebujemo ogromne baze podatkov zaporedij DNK in močno računalniško podporo, ki se naslanja na strojno učenje algoritmov. Kompleksnost podatkov zaporedij



▲ Ni vsaka turkizno modra voda čista in ni vsaka čista voda modra. Na fotografiji Soča pod Kobaridom. (Foto: Davorin Tome)

DNK iz vode je seveda treba povezati še s fizikalno-kemijskimi in hidrološkimi podatki ter za tip vode specifičnimi lastnostmi, zato je količina teh metapodatkov ogromna. Tako je najbrž bolj razumljivo, zakaj razvoj novih metod zahteva tako veliko časa. Prej smo v nekem vodnem vzorcu analizirali npr. 200 različnih vrst iz štirih bioloških skupin in na podlagi tega določili ekološko stanje. Zdaj pa bi radi na podlagi npr. 20.000 prepoznanih zaporedij DNK zaobjeli vse vrste oz. zaporedja, ki so biološki indikatorji, torej tiste biološke enote, ki nam s svojim pojavljanjem povejo nekaj o (ne) obremenjenosti vodnega telesa. Velik zalogaj, vsekakor, vendar vreden poskusa in razvoja.

” Naše raziskave celinskih voda so v fazi razvoja. Vsak razvoj prinaša tudi mnogo učenja iz napak, zato ni premočrten in hiter, čeprav je nujen za prihodnost, o tem sem prepričana.

Prej smo uporabljali »kremenčkove« metode z mikroskopiranjem, zdaj razvijamo »raketo za na Luno«. Poleg projekta Eco-AlpsWater znanstveniki iz cele Evrope združujemo svoja znanja tudi v mreži DNAqua-Net COST, da bi čim prej dosegli ta zahtevni cilj ali se mu vsaj čim bolj približali.

Ali bodo opisane metode omogočale tudi boljše zaznavanje prisotnosti morebitnih invazivnih vrst?

► Seveda, če je DNK neke invazivne vrste v katerikoli dostopni bazi genomov organizmov kjerkoli na svetu, lahko vrsto s primerjavo našega zapisa DNK prepoznamo tudi pri nas. Lepota take metodologije je v tem, da lahko prisotnost invazivne vrste zaznamo že zelo zgodaj, veliko prej, kot bi jo odkrili pod mikroskopom ali s prostim očesom. Zato lahko ukrepamo veliko prej, ne šele potem, ko je npr. že skoraj izrinila avtohtone vrste.

RAZNOLIKOST MNENJ

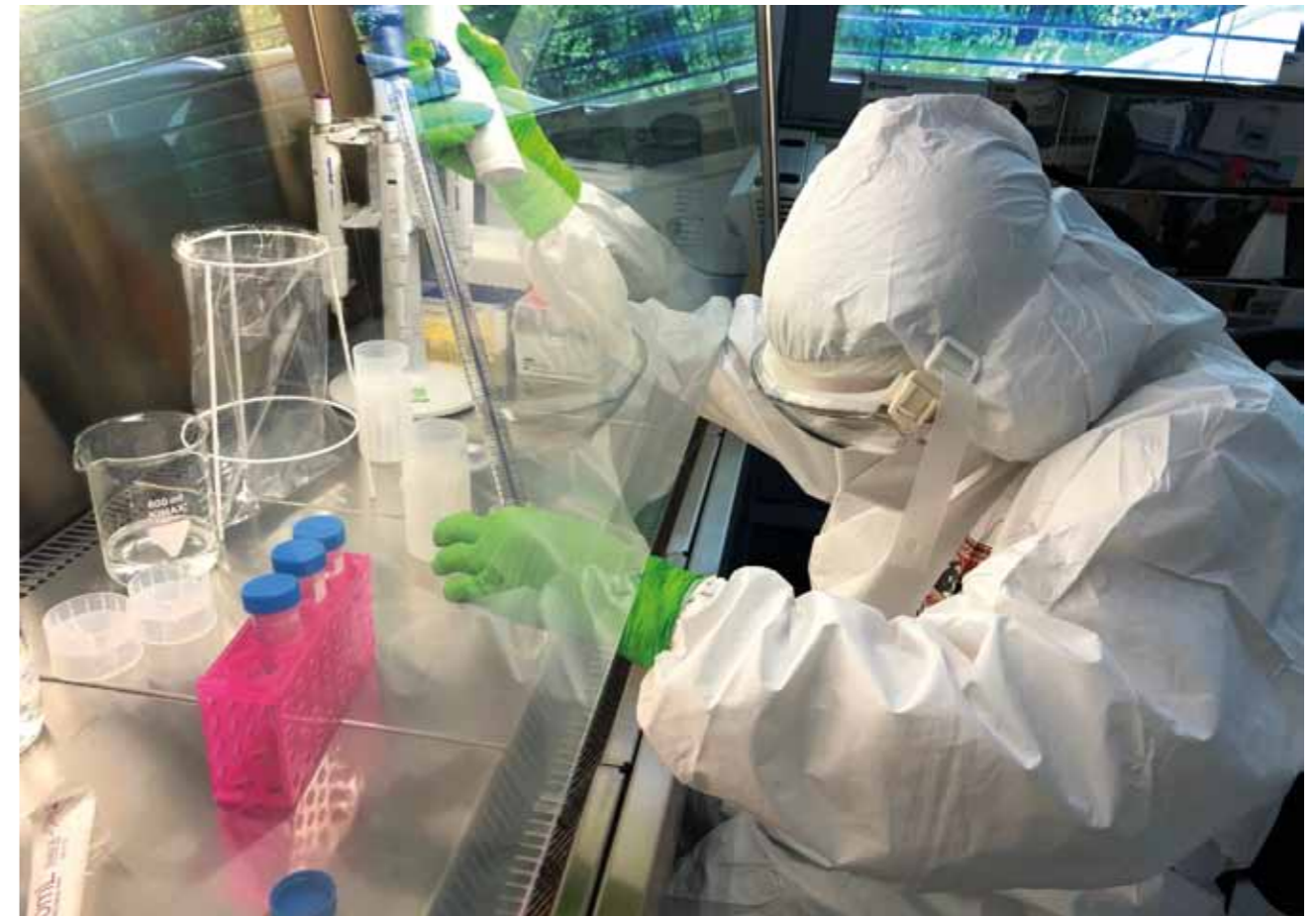
ION GUTIERREZ AGUIRRE

Le slovenska voda je naravno brez okusa



▲ Naturaliziran Slovenec Ion Gutierrez Aguirre, po rodu Bask, še vedno obožuje morje, a se pretežno raziskovalno ukvarja z virusi v slovenskih celinskih in komunalnih vodah. (Foto: osebni arhiv)

V vodah so prisotni številni mikrobi. Mnogi imajo, gledano s človeškega vidika, koristno vlogo, do drugih smo ravnodušni, mnogi nam povzročajo preglavice. Med slednjimi so tudi nekateri virusi. Za prisotnost številnih virusov do nedavnega sploh nismo vedeli; znanstvenikom jih pomagajo odkrivati šele vse bolj razvite metode njihovega zaznavanja. Nekatera odkritja, do katerih prihajajo raziskovalci NIB-a bodisi sami bodisi v različnih partnerskih raziskovalnih projektih, prinašajo nova znanja in tudi postavljajo nove znanstvene izzive. Tudi izzive, ki so povezani z virusi v odpadnih vodah – tako so se na primer ob izbruhu pandemije koronavirusa, ki povzroča bolezen COVID-19, lotili iskanja le-tega v komunalnih odplakah. Dr. Ion Gutierrez Aguirre odgovarja na nekatera vprašanja, povezana z odkrivanjem virusov v vodah, kaj njihova prisotnost pomeni in tudi, kaj v tem pogledu prinašajo globalne podnebne spremembe.



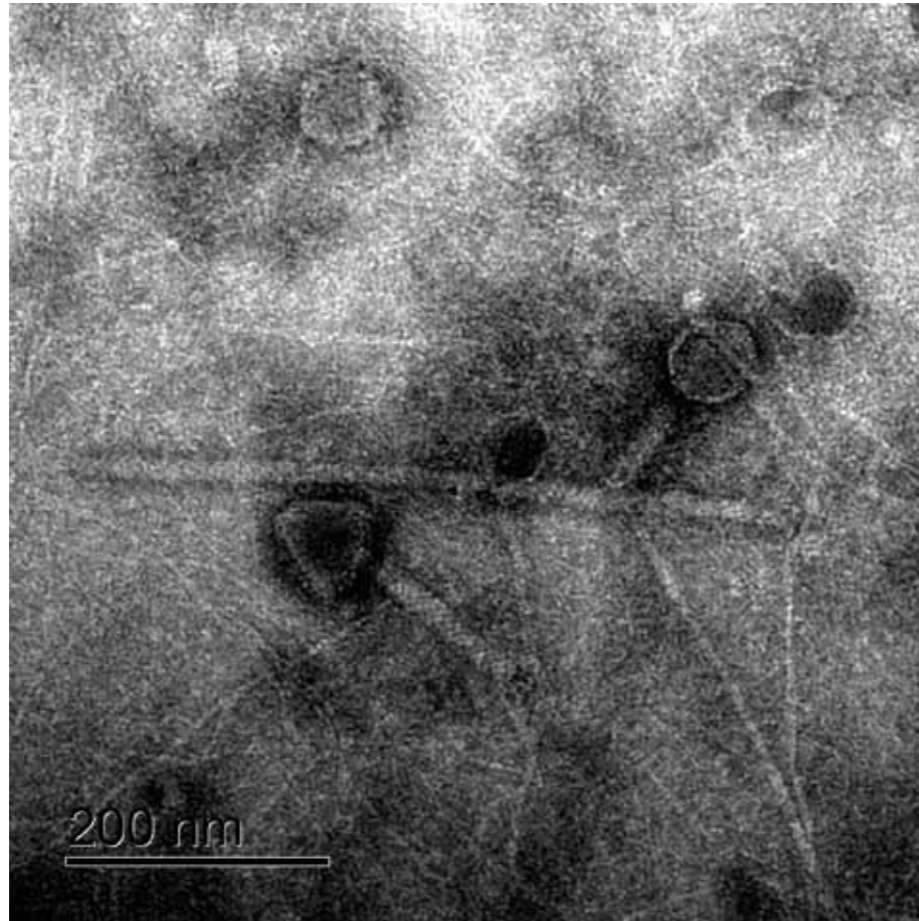
▲ Na epidemijo bolezni COVID-19 se je NIB odzval z ugotavljanjem prisotnosti virusa SARS-CoV-2 v komunalnih vodah. Tako delo zahteva ustrezne zaščitne ukrepe. (Foto: arhiv NIB-a)

Kako poteka ugotavljanje prisotnosti virusov v vodah? Kakšne metode uporabljate za njihovo zaznavanje?

► Za analizo moramo najprej seveda odvzeti vzorec izbrane vode. Količine so različne, odvisne so od vzorca. Pri umazanih vodah, kot so vode iz čistilnih naprav, znašajo do enega litra, v primeru pitne vode ali vode za namakanje pa do petih litrov. Ker so virusi v vodi običajno v zelo nizkih koncentracijah, jih težko zaznamo. Zato vzorec vode najprej skoncentriramo na nekaj mililitrov, največkrat s t. i. pametnimi filtri, ki jih razvija naš dolgoletni partner, slovensko podjetje Bia Separations. Iz tako pripravljenega vzorca izločimo genetsko informacijo virusa v obliki DNK ali RNK in jo očistimo. Nato z molekularnimi tehnikami, ki uporabljajo verižno reakcijo s polimerazo v realnem času, specifično pomnožimo in zaznamo določena genomska zaporedja virusa. Če ne vemo,

» Če ne vemo, kateri virus je prisoten v skoncentriranem vodnem vzorcu ali če želimo zaznati vse viruse v njem, uporabimo tehnologijo visokozmogljivega sekvenciranja.

kateri virus je v vodi prisoten ali če želimo zaznati vse viruse v vzorcu, uporabimo tehnologijo visokozmogljivega sekvenciranja. S to tehnologijo lahko določimo vse prisotne genetske informacije v skoncentriranem vodnem vzorcu in nato z različnimi računalniškimi programi identificiramo viruse. Ena od naprav, ki jo uporabljamo za tako sekvenciranje, je majhna kot ključek USB in je bila izdelana za analiziranje vzorcev na terenu. Z njo



▲ V odpadnih vodah je zelo veliko virusov, ki so na elektronski mikrografiji vidni v obliki bakterijskih virusov – bakteriofagov in paličastih rastlinskih virusov. (Prirejeno po Gutierrez Aguirre s sod., 2018, doi.org/10.1007/978-1-4939-7683-6_6, © Springer Science+Business Media, LLC 2018)

lahko pridemo do rezultatov izjemno hitro. V zadnji stopnji ugotavljamo, ali so virusi v vodi nepoškodovani in še vedno infektivni, torej, ali lahko še povzročijo bolezen. V ta namen uporabljamo tudi metode, kot je presejna elektronska mikroskopija, s katero ugotavljamo zgradbo virusa, morebitno kužnost za človeka preverjamo na humanih celicah v laboratoriju, kužnost za rastline pa na testnih rastlinah. Potrditev kužnosti zaznanih virusov je edini način za določitev resničnega vpliva virusov v vodnih telesih.

Kaj kažejo rezultati teh raziskav?

► Dokazali smo že, da so v iztokih vod iz čistilnih naprav prisotni enterični virusi, to so virusi v iztrebkih, ki tam ostanejo tudi po postopku čiščenja vode. V taki vodi smo določili tudi rastlinske viruse iz rodu tobamovirus. Ti virusi so v okolju stabilni in preživijo prehod skozi človeški prebavni

sistem, npr. ko jemo zelenjavo, ki je bila okužena z virusi. Na človeka taki virusi sicer nimajo vpliva, vendar jih ponovno vrnemo v okolje, ko pri spiranju stranišča preidejo v kanalizacijo. V našem laboratoriju smo potrdili, da ti virusi ostanejo kužni za rastline tudi po prehodu skozi čistilno napravo. Raziskavo smo leta 2020 objavili v prestižni reviji *Water Research*. Odkritje je še posebno pomembno za kmetijstvo, saj zdaj vemo, da se taki virusi lahko z vodo prenesejo na pomembne zelenjadarice, kot je paradižnik. V mnogo sušnih predelih sveta se zaradi pomanjkanja vode za namakanje namreč uporablja prečiščena odpadna voda.

V katerih vodah pa preiskujete prisotnost virusov?

► Prisotnost virusov, rastlinskih in humanih, preiskujemo v zelo različnih vzorcih – rekah, jezerih, pitni vodi, morski vodi, plavalnih bazenih,

vodah v podzemnih jamah, talečih se ledenikih, preiskujemo pa tudi vzorce vtoka in, kot povedano, iztoka čistilnih naprav. Ob izbruhu epidemije smo se začeli ukvarjati tudi s kanalizacijskimi vodami, saj nas je zanimal virus, ki povzroča bolezen COVID-19. Ta pride v odpadne vode z iztrebki okuženih ljudi, ne glede na to, ali se pri njih bolezenska znamenja razvijejo ali ne. V okolju ta virus ne preživi dolgo, tako da je njegovo širjenje med ljudmi po tej poti manj verjetno. Kljub temu pa nam določitev virusa v odpadni vodi lahko pomaga ustvariti realnejšo sliko o številu okuženih v populaciji in napovedati ponovni pojav virusa.

Raziskave, ki jih omenjate, prinašajo nova odkritja. Kaj pa primerjave s preteklostjo? Koliko je bilo pred leti znanega o virusih v vodah?

► Da so v odpadnih vodah prisotni enterični virusi, kot so rotavirusi in norovirusi, ki povzročajo gastroenteritis, vemo že dolgo. Ti virusi predstavljajo veliko težavo v državah, kjer ljudje nimajo dostopa do čiste pitne vode. Tam za posledicami takih okužb vsako leto umre zelo veliko ljudi. V preteklosti so navodila za nadzor fekalne kontaminacije vključevala le bakterije, vedno bolj pa postaja jasno, da so virusi v vodah bolj stabilni od bakterij in ostanejo v njej tudi, ko po čiščenju vode infektivnosti bakterij več ne zaznamo. Prav tako smo v preteklosti spregledali rastlinske viruse, ki jih prenaša voda. Mi danes spadamo med redke raziskovalne skupine na svetu, ki prispevajo znanje o tveganih poteh teh prenosov. Ne nazadnje pa s sodobnimi tehnologijami za virusno zaznavo, kot je visokozmogljivo sekvenciranje, lahko v vodah zaznavamo tudi nove viruse, ki okužujejo ljudi, živali in rastline.

Kateri virusi so najpogosteje prisotni v okoljskih vodah?

► To so virusi, ki okužujejo bakterije in jim rečemo bakteriofagi. Pri vzdrževanju vodnih ekosistemov imajo pomembno vlogo, saj uravnavajo količino bakterij. Bakteriofage, ki okužujejo človeške in rastlinske bakterije, lahko iščemo v vodnih vzorcih in jih nato uporabimo pri zdravljenju bakterijskih bolezni kot alternativo za antibiotike ali kadar so bakterije proti antibiotiku že razvile odpornost.

Najpomembnejši virusi, ki povzročajo bolezni in jih najdemo v vodah, so prej omenjeni enterični virusi v odpadnih vodah, povzročitelji trebušne gripe (gastroenteritisa) z diarejo in vročino. Ljudje se z njimi okužijo pri pitju kontaminirane vode, uživanju morskih sadežev, ki so bili v stiku z njo, ali pri hranjenju s sadjem in zelenjavo, ki so ju namakali ali oprali s kontaminirano vodo. Na srečo v Sloveniji v pitni vodi nimamo virusov, razen v izjemnih razmerah, kot so poplave. V takih razmerah se lahko vir pitne vode pomeša s kontaminiranimi odpadnimi vodami. V številnih državah v razvoju, kjer je vode malo in čiščenje odpadnih vod ni učinkovito, pa so virusi lahko tudi v pitni vodi.

☞ **Na srečo v Sloveniji v pitni vodi nimamo virusov, razen v izjemnih razmerah, kot so poplave. Tedaj se lahko vir pitne vode pomeša s kontaminiranimi odpadnimi vodami.**

Med rastlinskimi virusi so v odpadni vodi še posebno stabilni paličasti tobamovirusi. V vodi preživijo zelo dolgo, okužujejo pa gospodarsko pomembne rastline, kot so paradižnik, paprika in tobak. Virus rjave grbančavosti plodov paradižnika je na primer tobamovirus, ki se je nedavno pojavil v Izraelu in Jordaniji, danes pa se že širi po Evropi, kjer povzroča velikansko gospodarsko škodo. Raziskovalci domnevamo, da imajo pri epidemiologiji tega virusa pomembno vlogo kontaminirane vode.

Metodologija ugotavljanja mikrobiološkega stanja voda, kot je razvidno iz tega, kar ste povedali, močno napreduje. So te ugotovitve že tudi vključene v navodila za ravnanje z odpadnimi vodami?

► V navodila za obdelavo in razkuževanje odpadnih vod so zdaj tudi priporočila za viruse vključena le v ZDA. Vendar je to pomembno vključiti v navodila tudi drugod po svetu, še zlasti zaradi vseh

globalnih sprememb, s katerimi se bomo v prihodnosti srečevali. Podnebne spremembe bodo povzročale številnejše naravne nesreče, kot so poplave in suše, na posameznih območjih se bodo pojavili virusi, ki jih prej tam ni bilo, prihajalo bo do novih poti prenosa virusov ...

V preteklosti so bile – v številnih državah pa je tako še danes – glavni označevalec mikrobiološke kontaminacije vode koliformne bakterije, ki so navadno prisotne v našem prebavnem traktu. Posledično je mikrobiološki nadzor temeljil v glavnem na teh bakterijah. Danes pa vemo, da količina koliformnih bakterij ne korelira nujno s prisotnostjo rastlinskih ali humanih virusov, ki so praviloma bolj odporni proti uničevanju kot bakterije. Zato so nekatere države, na primer ZDA, ugotavljanje prisotnosti virusov že uvedle v direktive za oceno kakovosti vod. Zanimivo je, da je eden od teh označevalcev, ki so vključeni v testiranje, rastlinski virus nežne lisavosti paprike, ki okužuje papriko. Je tako stabilen, da preživi v našem prebavnem traktu, in ko se iz njega izloči, lahko še zelo

dolgo preživi v odpadnih vodah. Prav zaradi dolgoživosti je dober označevalec.

V Sloveniji v pitni vodi, razen v izjemnih primerih, kot ste povedali, virusov ni. Katere viruse je sicer treba v vodi, ki je namenjena za pitje, uničiti? S kakšnimi postopki se uničujejo?

► Enterični virusi, kot so rotavirusi, norovirusi ali virus hepatitisa A, so najbolj problematični. Težava je še posebno izrazita v državah v razvoju, kjer ljudje nimajo dostopa do tekoče pitne vode. Tradicionalne metode za deaktivacijo virusov vključujejo dodatek klora v vodne sisteme. Ta strategija je učinkovita, vendar pa so nekateri virusi odporni tudi proti kloru. Prav tako je pomembno dejstvo, da se pri uporabi klora sproščajo proizvodi, ki so potencialno lahko rakotvorni. Druge metode vključujejo različne načine filtriranja, obdelavo z ultravijoličnim sevanjem ali ozonom. Vsaka od teh metod ima nekaj slabosti, kot so cena, slaba učinkovitost ali okoljska vprašljivost.

▼ Iz okolja odvzeti vodni vzorci, še zlasti vzorci komunalnih voda, so izjemno kompleksni in jih je treba pred analizo ustrezno pripraviti. (Foto: arhiv NIB-a)



▲ Ko ob obilju talečega se snega in pomladnih padavin poplavi Planinsko polje, je voda vir estetskega užitka. A poplave lahko povzročijo, da pridejo v vire pitne vode komunalne odplake. (Foto: Davorin Tome)

Na NIB-u v sodelovanju s skupino profesorja Mirana Mozetiča z Inštituta Jožef Stefan in skupino profesorja Matevža Dularja s Fakultete za strojništvo Univerze v Ljubljani razvijamo inovativne, učinkovite in okoljsko čiste metode za deaktivacijo virusov v vodah. Ena je hladna plazma, podobna plazmi v plazma televizorjih, druga pa je t. i. hidrodinamska kavitacija. Naš cilj je uporabiti kombinacijo obeh metod za doseg druge generacije tehnologij za virusno dekontaminacijo. Prvi rezultati so zelo spodbudni in patent je že v fazi prijave.

Pa še bolj osebno vprašanje v zvezi s pitno vodo. V Slovenijo ste prišli iz Španije, sicer pa ste potovali po raznih koncih sveta. Kakšno vodo po vašem mnenju pijemo Slovenci?

► Pil sem že vodo v različnih državah sveta, a med njimi je le slovenska naravno brez okusa – to pa je glavna lastnost čiste in kakovostne vode. Za tako vodo moramo skrbeti. Paziti moramo, da ne onesnažimo podtalnih zalog vode s preobremenjevanjem kmetijskih zemljišč in drugih naravnih

virov. Zelo previdni moramo biti tudi, ko se zgodijo naravne nesreče, kot so poplave, potresi ali izbruhi bolezni. Voda, kakršno imamo v Sloveniji, je dragocenost, na katero je treba skrbno paziti.

” **Razvijamo inovativne, učinkovite in okoljsko čiste metode za deaktivacijo virusov v vodah. Rezultati preizkusa kombinacije hladne plazme in hidrodinamske kavitacije so zelo spodbudni.**



Današnja znanost je tehnologija prihodnosti

” Tudi mi vemo, tudi moje srce ve in zaupa;
da drži ta pot v samo veselje
in v prelepo prihodnost.

Ivan Cankar, slovenski pisatelj

◀ V 21. stoletju je mikroskop ponovno dobil veljavo, saj je z razvojem in računalniško obdelavo slik postal pripomoček, ki med drugim dobesedno omogoča opazovanje atomov. (Foto: Aleš Rosa)



▲ Razumevanje biologije odnosa med škodljivci v kmetijstvu in gostitelji omogoča razvoj tehnologij, ki izboljšujejo pridelavo rastlin, razvoj zdravil in varovanje okolja. Konfokalna mikroskopija dopolnjuje molekularne študije dednega materiala. (Foto: Aleš Rosa)

MAJA RAVNIKAR

» Umetna inteligenca in biotehnologija bi lahko kmalu prenovili našo družbo in gospodarstvo – in tudi naša telesa in misli, a na naš politični radar komajda zaidejo.

Yuval Noah Harari, izraelski zgodovinar, mislec in pisatelj

Šestdeseta obletnica delovanja Nacionalnega inštituta za biologijo je potekala v letu, ki ga je zaznamovala bolezen COVID-19. Ta je marsikaj postavila na glavo, a prav zato je znanost, ki jo lahko uporabimo le, če je res odlična, stopila v ospredje in ponovno postala prepoznana in cenjena kot že dolgo ne. Politika in prebivalstvo sta pričakovala tehnološke rešitve. Ko se je postavilo vprašanje življenj ljudi, dobiček in gospodarska rast kar naenkrat nista bila več najpomembnejša. Znanstveniki so se izredno hitro organizirali, povezali in pokazali izjemno solidarnost v deljenju podatkov in rešitev. Proučili so genom novega virusa SARS-CoV-2, razvili najrazličnejše diagnostične metode in načine zdravljenja ter pospešeno začeli z raziskavami cepiva, zdravil in epidemiologije.

Bolj kot kadarkoli prej v zadnjem stoletju smo se začeli zavedati, kako majhni in nemočni smo ljudje v rokah mogočne narave, ki je vajena sprememb in prilagoditev. Vsaj začasno smo se ovedli, kako objestni smo postali, ko si predstavljamo, da lahko zavladamo vsemu na Zemlji in v vesolju, da lahko, gnani z neskončnim pohlepom, spremenimo naravne tokove. V dirki, ko želimo imeti vse in še več, prestopamo meje dopustnega. Prekoračili smo razumne meje porabe naravnih dobrin, zmanjšali število prostoživečih živali na nedopustno raven nacionalnih parkov, opustošili naravno raznovrstnost, prek vseh razumnih meja onesnažili

ekosisteme ter s tem onemogočili naravi, da bi se obnovljala po naravni poti.

A šli smo še dlje. Tudi sami sebe nenehno priganjamo v delo, katerega količine bi bile še pred tridesetimi, štiridesetimi leti nepredstavljive, v podaljševanje delovnika in histerično organizacijo, ki vodi v podrtje ravnovesje med delom in prostim časom ter v izgorevanje. Pa čeprav je na svetu že vsega preveč in bo glavni problem prihodnosti, kako zagotoviti delo vsem, in ne, kako proizvesti še več materialnih dobrin.

Seveda obstaja veliko nerešenih problemov, ne le neozdravljive bolezni, temveč tudi vprašanje, kako očistiti svet, v katerem živimo, kako si olajšati delo in izboljšati kakovost življenja ter hkrati omogočiti sobivanje drugim živim bitjem. V prihodnosti bo nujno uporabiti rezultate znanosti za tehnologije, ki nam bodo pomagale preživeti, ne da bi čezmerno izkoriščali naravne vire in onesnaževali lasten dom, hkrati pa bomo imeli čas za družino in razmišljanje. Biotehnologija je zagotovo veda, ki nam ob njeni pravilni uporabi to omogoča. Poznamo jo že tisočletja, saj nam že od nekdaj pomaga pri peki kruha, varjenju piva in pridelavi vina. Moderna biotehnologija pa išče nove načine zagotavljanja zdravja, nove metodologije diagnostike, se ukvarja z iskanjem rešitev, kako uporabiti odpadke in še z veliko drugimi izzivi.



▲ Pandemija koronavirusa je zamajala svet in v času karantene živahna mesta spremenila v mesta duhov. V takih primerih znanstvena odkritja vlivajo moč in optimizem. (Foto: Davorin Tome)

Na NIB-u se biotehnologija razvija že od časov, ko sta biologija in tehnika odkrili druga drugo. Povsem razumljivo je, da je na tem področju steklo intenzivno povezovanje z gospodarstvom. Začetki segajo v 90. leta prejšnjega stoletja, ko smo se ukvarjali s hitrim razmnoževanjem zdravih rastlin v laboratorijskih razmerah. Ta razvoj je bil namenjen prenosu tehnologij v različna semenarska podjetja. Z novimi tehnologijami so se v podjetja pretakali tudi kadri, ki so se izšolali na NIB-u in prevzeli razvojno-proizvodne procese, od vzgoje zdravih rastlin krompirja slovenskih sort, različnih zelenjadnic in okrasnih rastlin do vinske trte. Tako je na primer slovenska sorta fižola zorin, očiščena različnih mikrobov in gojena v semenarskem podjetju, imela skoraj dvainpolkrat večji pridelek, slovenske sorte česna so bile dvakrat večje, hkrati pa se je pri njih čas skladiščenja za nekajkrat povečal. Za potrebe farmacevtske industrije je NIB razvijal rastlinske celične kulture za proizvodnjo kemoterapevtika taksola. Razvoj tkivnih in celičnih kultur pa je omogočil hiter razvoj tehnologije genskega spreminjanja rastlin. In še bi lahko naštevali.

Ob tem ves čas razvijamo tudi laboratorijsko diagnostiko za odkrivanje mikrobov, ki povzročajo bolezni rastlin in kvarijo živila. Rastlinska patologija in varstvo rastlin namreč pomenita za rastline to, kar pomenita veterina za živali ali medicina za človeka. Tako ni presenetljivo, da so Združeni narodi razglasili leto 2020 za svetovno leto varstva rastlin. Zaradi odličnih raziskav biologije mikrobov, ki povzročajo bolezni rastlin in novosti, vpeljanih v diagnostiko, sta v letu 2019 na NIB-u začela delovati tudi dva evropska referenčna laboratorija.

Metode, ki jih razvijamo na Inštitutu, so tako natančne, da z njimi lahko zasledimo že en sam mikrob. Z razvojem metod visokozmogljivega sekvenciranja lahko s sledenjem prisotnosti odtisa DNK mikrobov, živali in rastlin v vzorcih tal, vode ali zraka določimo vse, ki so v vzorcih prisotni. To je bilo še pred nekaj leti nepredstavljivo. Tehnologija določanja mikrobov v vodi je tudi osrednja tema trenutno potekajočega velikega projekta iz evropske sheme Obzorje 2020: Marie Sklodowska Curie, namenjenega izobraževanju doktorskih študentov

iz držav, ki so v projekt vključene, in ki ga vodi NIB. V letu, ki ga je zaznamovala bolezen COVID-19, so raziskovalci NIB-a takoj uporabili svoje znanje o mikrobih za preverjanje primernosti materialov za izdelavo zaščitnih mask, pripravo razkuževal in drugih pripomočkov. Razvili so tudi metodologijo za določanje virusa v odpadnih vodah in drugih vodnih vzorcih ter se tako pionirsko priključili evropskim prizadevanjem za uporabo odpadne vode, ki se zbira v čistilnih napravah za sledenje epidemiologiji virusa med prebivalstvom.

Pri hitrejšem in uspešnejšem razvoju novih bioloških zdravil s pristopi sistemske biologije, ki poleg bioloških znanj vključujejo tudi bioinformatike in biostatistične pristope ter modeliranje, je naš najpomembnejši partner farmacevtsko podjetje Lek Novartis. Podjetju Bia Separations smo s svojim znanjem virologije pomagali pri razvoju »pametnih filtrov« za čiščenje virusov. Njihovi visokotehnoški proizvodi so postali neprecenljivo orodje za proizvodnjo virusov za gensko terapijo. Podobno s svojimi znanji pomagamo pri razvoju najnaprednejših zdravil še mnogim biotehnoškimi podjetjem v tujini. Prav kombinacija znanj molekularne biologije in računalništva pa je botrovala ustanovitvi odcepljenega podjetja Biosistemika, ki deluje na evropskem in ameriškem trgu ter zaposluje doktorje znanosti, ki se izobražujejo na NIB-u.

Študij humanih in živalskih celičnih kultur poteka v smeri raziskav matičnih celic za raziskave karcinogeneze, omogoča pa tudi študij rastlinskih učinkovin v hmelju in konoplji, razvoj tridimenzionalnih celičnih modelov in novih testov za ugotavljanje strupenih snovi v različnih vzorcih.

Na NIB-u smo ponosni, da svoje znanje uporabljamo za biotehnoške aplikacije, ki pomagajo k sonaravnemu razvoju in višji kakovosti življenja ob hkratnem varovanju narave in skrbi za znanstveni ter osebni razvoj sodelavcev, ki so najpomembnejša ustvarjalna moč Inštituta.

Prof. dr. Maja Ravnikar je vodja Oddelka za biotehnologijo in sistemske biologije na NIB-u.



► Maja Ravnikar v vsaki divjini najde kaj uporabnega. (Foto: Gorazd Ravnikar)

RAZNOLIKOST MNENJ

JANA ŽEL

Gensko spremenjeni organizmi



▲ Jana Žel vselej prijazno, argumentirano in odločno tudi na najvišjih ravneh zagovarja zahtevne vsebine, kot so gensko spremenjeni organizmi. (Foto: Grega Podlesek)

Ko beseda nanese na gensko spremenjene organizme (GSO), pogovor običajno postane zelo čustveno obarvan. Evropski potrošniki hrano, ki jih vsebuje, v veliki večini zavračajo, njihovo gojenje pa strogo omejuje zakonodaja EU. Kar je, tudi zaradi prehranskega (pre)obilja, v kakršnem je Evropa zadnja desetletja, razumljivo. Argumenti redkih javnih zagovornikov GSO so pogosto podobno čustveni. Le slabo pa je znano, da so GSO pravzaprav veliko bolj prisotni, kot si mislimo. Če pustimo ob strani, da tudi tradicionalno križanje rastlin in sodobnejši postopki žlahtnjenja pomenijo poseganje v genom, je treba povedati, da so mnoga zdravila, ki so v vsakodnevni rabi, izdelana s pomočjo GSO. S tematiko GSO se na NIB-u ukvarjajo od 90. let minulega stoletja. To dejavnost že vrsto let vodi dr. Jana Žel. Vanjo je vključen tudi Nacionalni referenčni laboratorij za določanje GSO, ki je del evropske mreže tovrstnih laboratorijev. Zaradi kakovostnega raziskovalnega dela in pobud za mednarodno harmonizacijo na področju detekcije GSO je laboratorij mednarodno zelo cenjen. Dr. Jana Žel je članica upravnega odbora mreže evropskih laboratorijev.

S čim natančno se kot Nacionalni referenčni laboratorij za določanje GSO ukvarjate?

► To pomeni, da od svojih naročnikov – večinoma so to slovenska ministrstva in njihove pristojne službe – dobivamo vzorce in jih testiramo na pristnost GSO. Vzorci so različni – živila za ljudi, krma za živali, pa tudi semena. Slednja so na tem seznamu zato, ker če bi se na polju pojavila neka gensko spremenjena rastlina, na primer koruza, bi šlo za vprašanje soobstoja navadne in gensko spremenjene rastline. Lahko bi prišlo do oprašitve gensko nespremenjene kornice s cvetnim prahom gensko spremenjene. Pridelek bi moral biti ustrezno označen, saj tako zahteva evropska zakonodaja. Ker ima večina potrošnikov v Evropi do gensko spremenjenih rastlin odklonilen odnos, bi to pomenilo za kmeta finančno izgubo, saj bi jo težko prodal. Taka testiranja opravljamo še za nekatere tuje naročnike – laboratorije in občasno tudi podjetja. Že več let redno sodelujemo predvsem z norveškim referenčnim laboratorijem za GSO. Imeli smo nekaj uspešnih skupnih raziskovalnih projektov, zato nas imajo za zanesljivega partnerja.

Poleg tega nudimo tudi strokovno podporo našim ministrstvom. Ko na primer EU sprejema novo zakonodajo ali se dogovarjajo o novih regulativah na področju GSO, se ministrstva obrnejo za mnenje na nas. Z Ministrstvom za okolje in prostor smo na primer med drugim vzpostavili slovenski portal biološke varnosti, www.biotechnology-gmo.gov.si, ki je del svetovne biološke varnosti. To področje zajema tudi delo, transport in ravnanje z GSO in je urejeno s Kartagenskim protokolom.

Ali pri nas zakonodaja sploh dopušča gojenje gensko spremenjenih rastlin na poljih?

► Teoretično jo omogoča. Vendar je zelo natančno predpisano, kakšni pogoji morajo biti izpolnjeni za posamezno vrsto rastline. To pomeni, da je treba pridobiti dovoljenje vseh sosednjih pridelovalcev in podati prijavo na Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, gojenje pa mora biti na predpisani razdalji. Pri kornici na primer mora biti razdalja vsaj 200 metrov, da ne bi morda prišlo do prej omenjenega opraševanja. Teh 200 metrov

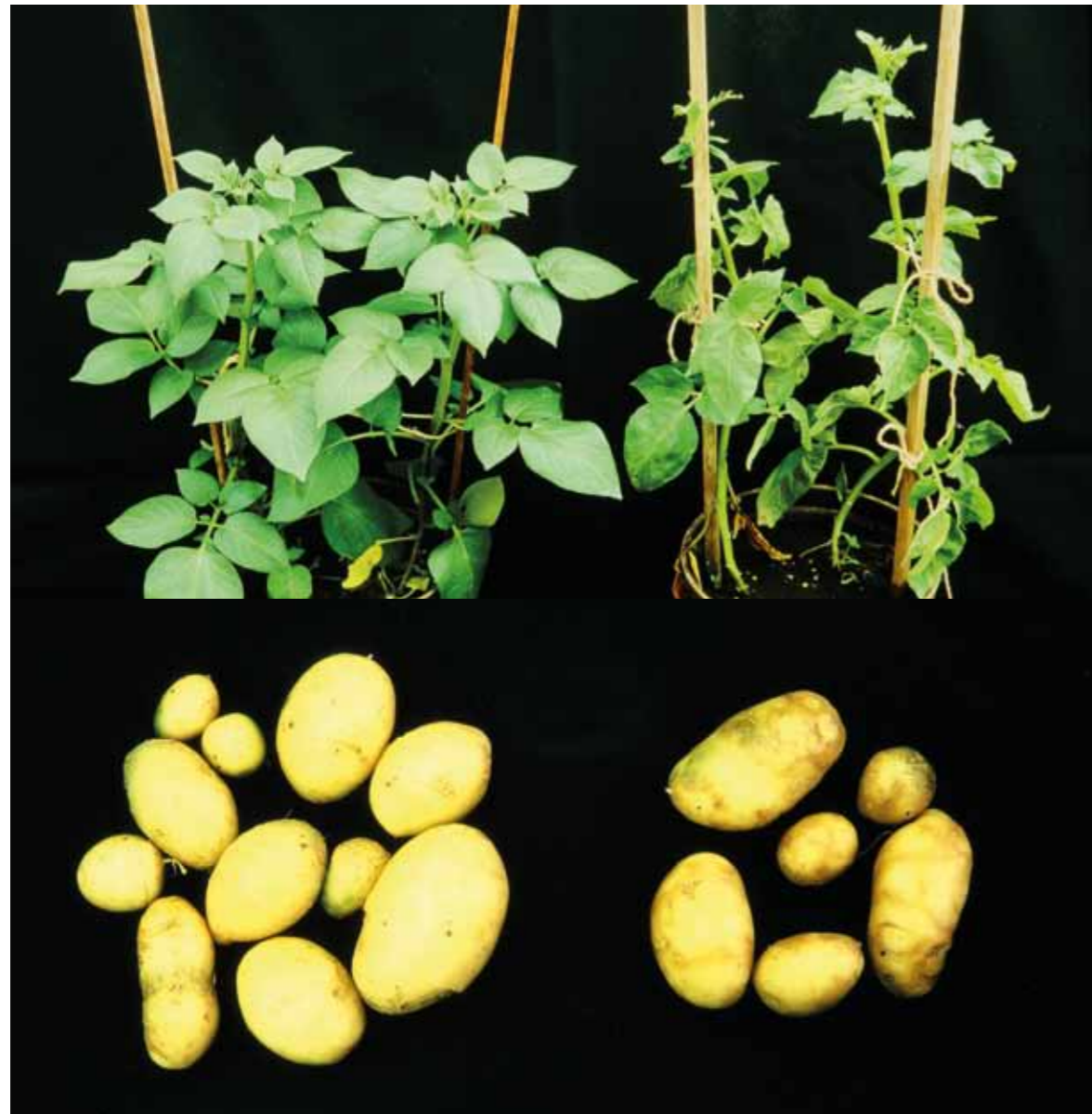


▲ Vzorci semen, ki bodo analizirani na prisotnost GSO v NIB-ovih laboratorijih, obarvani zaradi uporabe različnih zaščitnih sredstev. (Foto: Tina Demšar)

je v naših razmerah kar velika razdalja. Dejansko pa gensko spremenjenih poljščin pri nas ne gojimo. Tudi v drugih državah EU jih je na poljih zelo malo. Gensko spremenjena koruza se goji v Španiji, nekaj malega so je pred časom gojili v Nemčiji, vendar mislim, da so to skoraj ali povsem opustili. Gensko spremenjena koruza je odporna proti kornici, ki največ izgub pridelka povzroči v toplih krajih, zato je njeno gojenje pomembnejše v državah s toplim podnebjem.

Kakšne tri četrtine svetovne proizvodnje soje, ki je pogost dodatek živilom, je gensko spremenjene. Koliko hrane, ki vsebuje tako sojo, je na policah naših trgovin?

► Izredno malo, skoraj nič. V Sloveniji je v tem trenutku v prodaji ena ameriška čokolada in morda še kakšno živilo, ki vsebuje gensko spremenjeno sojo. V vseh pa je prisotna v zelo nizkem deležu. Z zakonom je predpisan delež manj kot 0,9 odstotka od posamezne rastlinske vrste; v tem primeru je to delež soje, pod katerim označevanje ni potrebno. Slovenski potrošnik v stik z GSO prek živil skoraj ne pride.



▲ Na levi strani je zdrav gensko spremenjen krompir sorte igor, odporen proti krompirjevemu virusu Y (NTN), vzgojen v laboratorijih NIB-a okoli leta 2000. Desno je gensko nespremenjen igor s tipičnimi znaki okužbe. (Foto: Darja Stanič Racman)

Treba je povedati, da gre vsak GSO v uporabo šele po predhodni odobritvi. Na trg pridejo le tisti, ki uspešno prestanejo presojo tveganj za zdravje in okolje. Podjetje, ki želi prodajati tak prehranski proizvod, mora tudi samo zagotoviti metodo za zaznavanje tega GSO v proizvodih in dostopnost referenčnega materiala. Evropski referenčni laboratoriji in drugi za to pristojni laboratoriji metodo preverijo in šele ko so izpolnjeni vsi ti pogoji, je GSO odobren za prodajo.

Je skrb tistih, ki ne želijo uživati hrane iz GSO, potemtakem odveč?

► Sistem za vse odobrene GSO je v EU dobro vzpostavljen, se pa tu in tam pojavi kakšen proizvod, ki nima odobritve. Tak primer je bil pred leti pojav gensko spremenjenega riža v več evropskih državah. Izviral je deloma s Kitajske, deloma s Tajske. Takrat se je vzpostavil sistem za kontrolo in sprejeta je bila evropska uredba, na osnovi katere se še vedno ves uvoz riža in nekaterih izdelkov iz

riža testira, preden pride na trg v EU. To je torej neke vrste »rizična rastlina«. Če se kje pojavi tak nedovoljen GSO, steče obveščanje prek evropskega sistema za hitro obveščanje, podobno kot tudi za druge neželene substance, ki se pojavijo v živilih.

Če se še malo zadržimo pri zdravstvenem vidiku GSO – ali so pomisleki, da njihovo uživanje lahko predstavlja zdravstveno tveganje, v določeni meri vendarle utemeljeni?

► Splošnega odgovora na to vprašanje seveda ni mogoče podati. Zato je prav, da gredo taka živila v presojo, in ta sistem je, kot rečeno, dobro vzpostavljen. Vključuje tudi preskuse, ki ugotavljajo morebitno toksičnost, alergenost in druge teste. GSO, ki so dobili odobritev, zdravstvenega tveganja ne predstavljajo. Treba pa je poudariti, da se presoja tudi okoljski vidik. Za sajenje oziroma setev GSO se opravijo še posebne presoje, tako na primer oljna ogrščica v EU še ni dobila odobritve, ker vemo, da se zelo rada raztrosi po okolici in bi lahko prišlo do križanja na sosednjih poljih. Take težave so imeli v Kanadi.

Kakšna pa je prisotnost gensko spremenjenih rastlin, ki se uporabljajo za krmo živali, pri nas?

► Kar se tiče gensko spremenjenih rastlin, namenjenih za krmo, je stanje pri nas podobno kot drugod v EU. Kar veliko je gensko spremenjene soje, veliko manj je koruze, v manjši meri pa je prisotnih še nekaj drugih vrst rastlin. Mora pa biti vse, kar je na trgu, tudi krma za živali in ne le hrana za ljudi, ki vsebuje GSO, ustrezno označeno, tako da je potrošnik informiran in ima možnost izbire. Odnos evropskih potrošnikov do hrane iz GSO je večinoma odklonilen, veliko manj negativen je odnos do živinske krme iz njih, da so na tej osnovi izdelana tudi zdravila, pa ljudi ne moti.

Ali morajo biti živila, pripravljena iz mesa in drugih proizvodov živali, krmljenih z GSO, označena?

► To ni potrebno, ker se šteje, da je meso živali, ki so se krmile s krmo, ki je vsebovala GSO, enake kakovosti kot meso živali, ki so se krmile s krmo

brez GSO. Prav tako ni bil ugotovljen prenos GSO prek mleka ali jajc.

Omenili ste, da so tudi zdravila izdelana iz GSO. Katera na primer?

► GSO so v farmaciji oz. medicini prisotni že dolgo. Prvi je bil insulin, ki so ga na ta način začeli izdelovati v začetku 80. let prejšnjega stoletja. Številna druga zdravila se že vrsto let proizvajajo iz t. i. CHO celic, ki so pridobljene iz ovarijev kitajskega hrčka, in z rekombinacijo proizvajajo ustrezne beljakovine – zdravila. Tak primer je eritropoetin, ki se uporablja za zdravljenje anemije pri bolnikih z rakom in težavami z ledvicami in je eden od glavnih proizvodov podobnih bioloških zdravil podjetja Lek v Mengšu.

V najnovjšem času pa poteka tudi gensko zdravljenje, kjer se viruse prilagodi na način, da omogočijo ozdravitev neke bolezni. Tak primer je zolgensma®, zdravilo za spinalno mišično atrofijo, pri razvoju katerega so sodelovali kolegi z NIB-a. Percepcija GSO je zelo različna, ko gre za živila in ko gre za zdravila. Morda je razlog tudi ta, da izraz »gensko zdravljenje« pri ljudeh ne vzbuja istih asociacij kot »gensko spremenjeni organizmi«.

” Vsa hrana za ljudi in krma za živali, ki sta na trgu in vsebujeta gensko spremenjene organizme, morata biti ustrezno označeni, tako da je potrošnik informiran in ima možnost izbire.

Na NIB-u ste se pred časom ukvarjali z genskim spreminjanjem rastlin v laboratorijskih pogojih. Ali še izvajate te poskuse?

► Take poskuse smo začeli opravljati pred leti v povezavi z našimi raziskavami odpornosti rastlin proti virusnim okužbam. Med drugim smo vzgojili gensko spremenjen krompir slovenske sorte igor, ki je bil odporen proti krompirjevemu virusu Y (NTN). Igor, ki je včasih predstavljal več kot

polovico pridelka krompirja na naših poljih, je zaradi njega povsem izginil. V rastlinjaku smo vzgajili proti virusu odporno sorto igor, vendar je takrat, to je bilo leta 2000, veljal nekakšen neuraden moratorij na poljske poskuse, zato nadaljnjih poskusov na poljih nismo izvedli. Proti virusu odporno sorto igor pa smo uporabili nadalje v temeljnih raziskavah proučevanja odpornosti krompirja proti virusom, ki še vedno potekajo na našem oddelku. Sorto igor so medtem tudi nadomestile druge, proti virusu odporne ali vsaj tolerantne sorte krompirja.

” Na NIB-u smo imeli projekte, s katerimi smo razvijali zdaj vzpostavljeni sistem. Smo člani evropske mreže laboratorijev za določanje GSO, jaz sem v njenem upravnem odboru.

Nekatere raziskave smo opravljali tudi na tobaku, ki je bil prva na poljih gojena gensko spremenjena rastlina. Tak tobak so začeli gojiti Kitajci, ker so imeli velike težave z okužbo z virusom mozaika tobaka, zaradi česar so morali tobak intenzivno škropiti s pesticidi. Tobak je ena od rastlin, ki so za poskuse v laboratorijih zelo primerne.

Vendar smo se zaradi omenjenega neuradnega moratorija na poljske poskuse lotili drugih raziskav, naše poznavanje GSO pa nam je omogočilo, da smo se usmerili v njihovo določanje v vzorcih živil, krme in semen. Postali smo akreditirani laboratorij za določanje GSO. Na to smo se začeli pripravljati že v času, ko se je pripravljala zakonodaja o označevanju živil in krme, ki vsebujejo GSO; sprejeta je bila leta 2003. Veliko smo sodelovali pri vzpostavljanju sistemov nacionalne biološke varnosti s tega področja. Pri tem gre za povsem konkretna vprašanja, na primer kako ravnati, če se na cesti prevrne tovornjak z GSO in se ti raztresejo po okolici. Skupaj z Upravo za zaščito in reševanje pri Ministrstvu za obrambo in drugimi deležniki smo vzpostavili poseben postopkovnik, kako v takem primeru ravnati, kako zaščititi območje in odstraniti GSO, ter poudarili potrebo po nadzoru območja v nadaljnji sadilni sezoni itd.

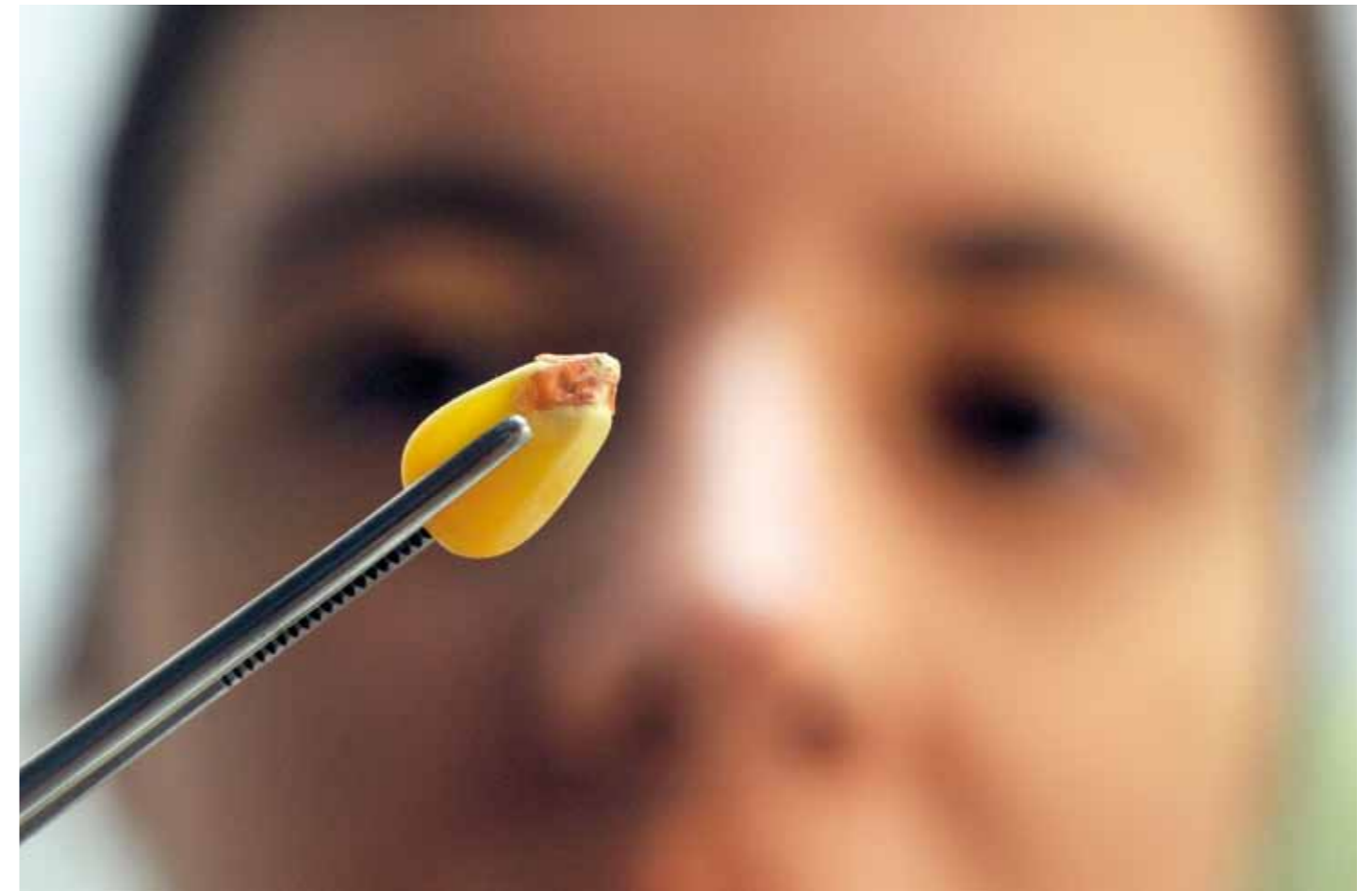
NIB ni samo v vlogi izvajalca testiranj, ampak je tudi aktivno vključen v razvoj metod za določanje GSO in vzpostavljanje sistema njihovega zaznavanja. Vi osebno ste soavtorica knjige o metodah za določanje GSO, ki je pred nekaj leti izšla pri cenjeni nemški založbi Springer.

► Na NIB-u smo že od začetka veljavnosti zakonodaje, ki je določila, da se morajo GSO v živilih in krmi označevati ter posledično tudi nadzorovati, aktivno prisotni pri razvoju teh metod. Določanje GSO se izvaja z različnimi molekularnimi metodami. V praksi to pomeni, da vzorec rastline, ki pride v laboratorij, najprej zmeljemo, nato iz njega izoliramo DNK. Z molekularnimi metodami, kot sta verižna reakcija s polimerazo (ang. *polymerase chain reaction*, PCR) v realnem času in v novejšem času digitalni PCR, ciljamo določene gensko spremenjene segmente v vzorcu. V zadnjem času, ko je vzpostavljena zakonodaja, ki nalaga, da mora že prijavitelj GSO dati tudi metodo za določanje, uporabljamo te metode. Te so ustrezno preverjene in odobrene s strani evropskih referenčnih laboratorijev.

Na NIB-u smo imeli različne evropske in nacionalne projekte, s katerimi smo razvijali zdaj vzpostavljeni sistem. Poleg tega smo člani evropske mreže laboratorijev za določanje GSO, jaz sem v njenem upravnem odboru. Mreža ima sedež v središču Joint Research Centre v Ispri, mestecu na severu Italije, ki je za Brusljem in Luksemburgom tretje največje središče Evropske komisije.

Kakšna je po vašem mnenju prihodnost GSO v EU in nasploh po svetu? Za pridelovalce hrane ni izziv le spreminjajoče se podnebje, pač pa tudi hitro naraščanje prebivalcev na svetu. Zdi se, da bi GSO lahko ponudili del odgovora na to vprašanje.

► Vsaka tehnologija najde svoje pravo mesto po določenem času. Države imajo različen odnos do GSO. V EU smo do njih bolj zadržani, saj se pri prehrani tradicionalno uporablja previdnostni princip, številne druge države pa so do njih bolj odprte. Spreminjanje rastlin danes lahko poteka še hitreje in bolj ciljano. To je po eni strani mogoče

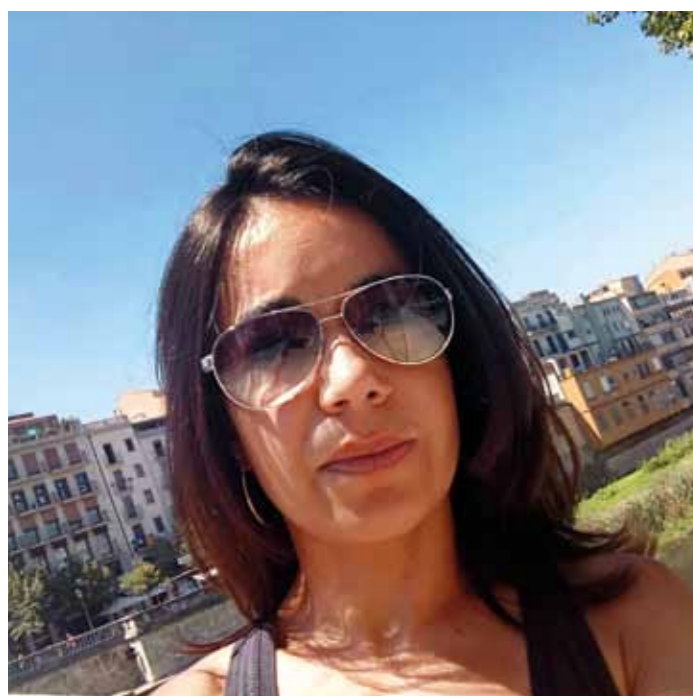


▲ Le kaj se skriva v zrnu koruze? Ali je morda gensko spremenjena? (Foto: Srdjan Živulović)

zaradi čedalje boljšega poznavanja genskega zapisa posameznih rastlinskih vrst ter vloge in delovanja posameznih genov, na primer na odpornost proti škodljivcem, po drugi strani pa zaradi novih tehnik, ki omogočajo natančnejše spreminjanje genskega zapisa rastlin. Možnosti, ki jih daje tehnologija, so velike. Sprva so se v rastline vnašale lastnosti, ki so bile pomembnejše za kmeta. Tako je na primer odpornost proti škodljivcem omogočila manjšo porabo pesticidov, olajšala pridelavo in povečala pridelek. Kasneje so se bolj usmerile v izboljšanje lastnosti rastlin samih, na primer vsebnost kakovostnejših maščobnih kislin, spremenjen škrob, povečanje provitamina A (v rižu). In seveda še vedno na odpornost proti različnim boleznim, ki jih povzročajo bakterije, virusi ali žuželke, in

na direktno povečanje pridelka. Možnosti pa je še veliko, denimo odstranitev snovi iz posameznih rastlin, na katere so številni ljudje alergični, na primer pri kikirikiju, kiviju, žitih ... Menim, da bodo GSO še naprej pomemben del zlahtnjenja rastlin, pridobljena znanja za presojo tveganj za zdravje ljudi in okolje pa pomembna tudi za druge klasične in prihodnje nove pristope ter tehnologije spreminjanja rastlin.

Preurejanje genoma



▲ Ker je znanost univerzalna, je za Anno Coll Rius nadaljevanje raziskav, začelih v Kataloniji, na NIB-u preprosto. (Foto: osebni arhiv)

Metode spreminjanja genoma rastlin so veliko starejše, kot običajno mislimo. Vse se je začelo s križanjem s ciljem, da bi neka rastlina pridobila zelene lastnosti. V zadnjih desetletjih se je tem in pozneje razvitim načinom pridružilo še gensko spreminjanje organizmov. Dr. Anna Coll Rius se z različnimi vidiki te problematike ukvarja že od začetka svoje raziskovalne kariere. Med doktoratom na Univerzi v Gironi v Kataloniji se je posvečala vprašanju, ki so povezana s presojo varnosti GSO. Pri oceni možnosti pojava nenamernih učinkov v koruzi MON810, edinem gensko spremenjenem organizmu, ki je pridobil v EU dovoljenje za gojenje na polju, je uporabljala t. i. omične pristope. Po selitvi v Slovenijo se je pridružila raziskovalni skupini prof. dr. Kristine Gruden na NIB-ovem Oddelku za biotehnologijo in sistemsko biologijo. Raziskave, ki jih opravljajo, bodo, kot pravi, pomagale razumeti, kako se rastline odzivajo na stres, to znanje pa je pomembno za razvoj novih strategij za izboljšavo poljščin. Pri raziskovanju vloge tarčnih genov uporabljajo tudi orodja za preurejanje genoma. Veljavna evropska zakonodaja preurejanje genoma obravnava na način, ki si ga večina mednarodne znanstvene skupnosti prizadeva spremeniti, saj se ji zdi nesmiseln in celo ovira za napredek.



▲ *In vitro* zbirka različnih sort krompirja, od odpornega do občutljivega na viruse, omogoča raziskave imunosti rastlin. (Foto: arhiv NIB-a)

Najprej, prosim, pojasnite, kaj so t. i. omične študije, v katere se je NIB pred časom usmeril in v katere ste tudi sami raziskovalno vključeni. Kaj si lahko pod tem pojmom predstavljamo?

► V skupini dr. Kristine Gruden za boljše razumevanje rastlinske imunosti uporabljamo pristop sistemske biologije. Le-ta obravnava biološke probleme kot celoto – namesto osredotočanja na posamezen gen ali protein poskušamo zaobjeti celo sliko. Želimo razumeti, kaj se dogaja z različnimi komponentami, ki so udeležene v obrambnem odzivu rastline, in zapletene povezave med njimi. Odgovore na ta vprašanja nam daje omične študije. Omike so skupina orodij molekularne biologije, s katerimi prepoznavamo ali določamo lastnosti vsem (ali večini) biološkim molekulam določenega

tipa. Tako transkriptomika obravnava prepise (transkripte) RNK enega organizma, proteomika je študija proteinov v velikem obsegu, interaktomski pristopi raziskujejo interakcije med proteini samimi, funkcionalna genomika pa prepoznava vloge velikega števila genov. Pri tovrstnih eksperimentih nastane veliko podatkov; kot primer naj navedem, da v eni sami transkriptomski študiji pridobimo informacije iz okoli 40.000 prepisov RNK. Naša skupina ima močno ekipo bioinformatikov, ki te številne podatke združujejo ter jih povežejo z modeliranjem.

Pri svojem delu uporabljate tudi metode genskega inženiringa. Zakaj?

► Genski inženiring uporabljamo kot orodje za temeljne raziskave. To pomeni, da genom rastline spremenimo tako, da nam pomaga pri iskanju odgovorov. Uporabljamo klasične metode genskega



▲ Priprava rastlinskega materiala za razmnoževanje v tkivnih kulturah. (Foto: arhiv NIB-a)

inženiringa, s katerimi genski material vstavimo na naključno mesto v rastlinskem genomu. Tako pridobimo gensko spremenjene rastline, kot jih tradicionalno poznamo. Poleg tega se v našem laboratoriju posvečamo tudi izboljševanju in uporabi novih tehnik za urejanje genoma. Te so pomembne, ko želimo na primer potrditi vlogo tarčnega gena A, ki smo jo predvideli iz omičnih podatkov in modeliranja. Če na primer predvidevamo, da je gen A ključen za odpornost rastline proti nekemu virusu, lahko na točno določeno mesto v genu A vnesemo majhno mutacijo, zaradi katere ta gen ne bo več deloval. Takšno rastlino nato okužimo z virusom in spremljamo njen odziv.

Je urejanje genoma, ki ste ga omenili, nova metoda za spreminjanje genoma organizmov?

► Urejanje genoma je nova, pravzaprav najnovejša tehnika spreminjanja genoma. Omogoči nam, da vnesemo točno določeno spremembo na točno določeno mesto v genomu številnih organizmov, vključno z rastlinami, bakterijami in živalmi. Na NIB-u te nove tehnike uporabljamo za poljščine, zato se odgovori v tem pogovoru nanašajo na urejanje genomov rastlin.

S temi tehnikami lahko na določeno mesto vnesemo tujo DNK ali pa določen del obstoječe DNK odstranimo ali spremenimo. Na tarčno mesto v genom lahko vnesemo na primer majhno mutacijo, zaradi katere gen ne bo več deloval – to sem opisala malo prej. Nova rastlina v svojem genomu ne bo imela tuje DNK, vendar bo ta mutacija zadoščala, da bo spremenila določeno lastnost rastline. V zadnjih letih je tehnologija močno napredovala, jasen primer tega so omična orodja, ki nam omogočajo, da spoznavamo vse več vlog rastlinskih genov. Tako so orodja za urejanje genoma, skupaj s tem pridobljenim znanjem, na voljo za žlahtnjenje rastlin za njihovo izboljšanje na veliko različnih načinov.

V zvezi z vašim delom se večkrat pojavi kratica CRISPR. Kaj pomeni?

► CRISPR ali CRISPR-Cas9 je najpogosteje uporabljen pristop za urejanje genoma. CRISPR je kratica, ki v angleščini pomeni »gruče enakomerno



▲ Potaknjenci bodo zrasli v nove rastline z urejenim genomom. (Foto: arhiv NIB-a)



▲ Rastline lahko spreminjamo s tehnikami za urejanje genoma z uporabo bombardiranja celic. (Foto: arhiv NIB-a)

» Urejanje genoma je najnovejša tehnika spreminjanja genoma. Omogoči nam, da vnesemo točno določeno spremembo na točno določeno mesto v genomu številnih organizmov.

prekinjenih kratkih palindromskih ponovitev«, Cas9 pa je encim, ki lahko reže DNK. Gre pravzaprav za mehanizem, ki v naravi obstaja pri bakterijah, kjer je kot obramba pred virusi. Leta 2012 so znanstveniki pokazali, da ga lahko prilagodimo in uporabimo kot orodje za spreminjanje DNK številnih organizmov. Poenostavljeno povedano, gre za škarje, ki režejo DNK zelo natančno in usmerjeno. V le nekaj letih je tehnologija CRISPR postala zelo priljubljena, saj je relativno preprosta za uporabo, cenejša in učinkovitejša od predhodnih orodij za urejanje genoma. CRISPR ima velik potencial in lahko pomembno vpliva na odkrivanje zdravil, terapevtsko zdravljenje, proizvodnjo hrane in biogoriv.

So spremembe lastnosti rastlin, ki jih dobimo s križanjem in novejšimi tehnikami, tudi genskim spreminjanjem z urejanjem genoma, v bistvu podobne?

► Spremembe, ki jih ustvarimo z urejanjem genoma, so lahko zelo podobne mutacijam, ki se v naravi dogajajo ves čas in so temelj evolucije. Z urejanjem genoma dodamo majhno mutacijo na točno določeno mesto v genomu in na ta način vnesemo gensko spremembo, ki bi se v naravi lahko zgodila sama.

Če primerjamo urejanje genoma s tradicionalnimi tehnikami žlahtnjenja rastlin, so spremembe, ki jih z njim pridobimo, primerljive s tistimi, ki nastanejo z žlahtnjenjem s pomočjo mutacij. Slednje se široko uporablja in ima že leta najpomembnejšo vlogo v programih žlahtnjenja. Pri tej tehniki gensko raznolikost vnesemo z uporabo kemičnih sredstev ali obsevanjem, zato mutacije nastanejo na naključnih mestih. Urejanje genoma pa omogoča vnos genskih sprememb veliko bolj usmerjeno in učinkovito.

V prihodnosti lahko pričakujemo velike izzive, kako pridelati dovolj hrane za naraščajoče prebivalstvo planeta, pri čemer je treba računati tudi na otežene okoliščine pridelave zaradi podnebnih sprememb. Imajo bazične raziskave, kot so vaše, lahko pri tem določeno vlogo?

► Glede na poročila Organizacije združenih narodov za hrano in kmetijstvo (FAO) bo do leta 2050 na svetu več kot devet milijard ljudi. Da bi nahranili to številnejšo, bolj urbanizirano in bogatejšo populacijo, se bo morala proizvodnja hrane povečati kar za 70 odstotkov. Skupaj z izgubo biodiverzitete, pojavljanjem škodljivcev in boleznimi ter napredujočimi učinki spreminjanja podnebja to pomeni grožnjo globalni prehranski varnosti. Zato potrebujemo poljščine z večjim pridelkom, poljščine, ki se lahko odzovejo na zahtevnejše rastno okolje zaradi podnebnih sprememb in ki so odporne proti novim škodljivcem in boleznim. Urejanje genoma lahko pomaga izboljšati pridelok in priskrbi rastline, ki so bolj odporne proti stresu. Poleg tega lahko pripomore k sistemu trajnostnega poljedelstva z zmanjšano uporabo pesticidov, herbicidov in gnojil, kar bi koristilo okolju, kmetom in potrošnikom. Razumem, da je potrošnikom v EU, ki so navajeni na izobilje hrane, težko razumeti in se zavedati te zahtevne situacije. Kljub temu moramo že danes razvijati gensko spremenjene poljščine, da bodo v prihodnosti na voljo.

Ali bodo morale biti tako spremenjene rastline, če se bodo nekoč začele gojiti na poljih, označene kot GSO?

► Zakonodajna ureditev gensko spremenjenih poljščin je tema burne razprave po vsem svetu, v številnih državah njihov položaj še ni jasen. 25. julija 2018 je Sodišče EU razsodilo, da tudi organizmi, pridobljeni z modernimi oblikami mutageneze, kot je CRISPR, niso izključeni iz evropske zakonodaje o GSO. To pomeni, da so rastline, pridobljene z genskim urejanjem, podvržene istim zahtevam kot GSO, torej presoji tveganja, časovni omejitvi dovoljenja za promet, nadzoru po sprostitvi, odgovornosti in označevanju. Iz te odločitve izhaja veliko pomembnih posledic. Zakonodajni okviri za GSO so v EU zelo strogi, zapleteni in dragi.

Zato obravnavanje gensko minimalno spremenjenih poljščin enako kot GSO *de facto* blokira uporabo tehnologije urejanja genoma v kmetijstvu in proizvodnji hrane. To bo znanstvenikom, žlahtniteljem, kmetom in potrošnikom v Evropi onemogočalo koriščenje te tehnologije, ki bi kmetijstvu lahko pomagala, da bi postalo bolj trajnostno.

Zakonodaja o GSO je bila v EU sprejeta leta 2001 (Direktiva 2001/18/ES), ko orodje CRISPR še ni bilo poznano, zato ne odseva današnjega stanja tehnologije in izsledkov znanosti. Zaradi trenutne zakonodaje se srečujemo s situacijami, ki z znanstvenega vidika nimajo smisla. Kot sem omenila, lahko s CRISPR pridobimo takšne poljščine, kot bi jih lahko pridobili tudi s konvencionalnimi metodami žlahtnjenja in ki jih niti ne moremo razlikovati od tega, kar je prisotno v naravi. Tako se lahko zgodi, da so identični organizmi izvzeti iz zakona o GSO zaradi uporabe tehnike, ki se je ne da določiti. To ustvarja nadaljnjo zaskrbljenost v zvezi z detekcijo in označevanjem GSO.

”**Urejanje genoma lahko pomaga izboljšati pridelok in priskrbi rastline, ki so bolj odporne proti stresu. Lahko tudi pripomore k trajnostnemu poljedelstvu z manj pesticidov, herbicidov in gnojil.**

Poleg tega države uporabljajo različne zakonodajne pristope, kar ustvarja dodatno težavo – pomanjkanje globalne usklajenosti. V številnih državah po svetu rastline, ki so spremenjene z urejanjem genoma, niso vključene v zakonodajo o GSO. Te razlike ustvarjajo pomembne težave v mednarodni trgovini in slabši položaj evropskega gospodarstva.

Kakšna je po vašem mnenju, glede na povedano, prihodnost rastlin, ki jih zakonodaja razume kot gensko spremenjene organizme, v Evropi in svetu?

► Javno mnenje o GSO in posledično tudi zakonodajo je zelo težko spremeniti. Kljub temu je situacija glede rastlin, nastalih z modernimi tehnikami



▲ Poglejmo, ali imajo naše spremenjene rastline zelene lastnosti? (Foto: Aleš Rosa)

urejanja genoma, drugačna. Zakonodajni okviri še zmeraj niso jasni, vendar je veliko držav po svetu že sprejelo pozitivno odločitev in dalo zeleno luč nekaterim poljščinam, spremenjenim z urejanjem genoma. Tistih, ki imajo le majhno mutacijo, ki lahko nastane v naravi in ne vsebuje tuje DNK, v številnih državah ne štejejo za GSO, zato pričakujem, da jih bodo sprejeli tudi potrošniki.

V EU pa je situacija problematična. Trenutna interpretacija zakonodaje uvršča vse poljščine, pridobljene z urejanjem genoma, med GSO. Strinjam se, da moramo obvladovati in regulirati uporabo znanja, vendar ne bi smeli ustaviti njegovega napredovanja in praktične uporabe, ki ima lahko številne prednosti pred sedanjimi praksami. In prav to se lahko zgodi s trenutno striktno evropsko zakonodajo o GSO. Upam, da bo v EU znanstvena skupnost uslišana in da bo prišlo do ponovnega pregleda zakonodaje. Mreža 129 evropskih inštitutov in društev, ki se ukvarjajo z raziskovanjem rastlin, vključno z NIB-om, se zavzema za razvoj politik EU, ki bi omogočile uporabo genskega urejanja. Mreža, ki se imenuje Evropsko trajnostno kmetijstvo prek urejanja genoma (European Sustainable

Agriculture Through Genome Editing, EU-SAGE), je izrazila nasprotovanje znanstvene skupnosti zakonodajnemu enačenju rastlin, spremenjenih z urejanjem genoma kot GSO, ob tem pa je obrazložila negativne posledice te odločitve in dala pobudo za revizijo evropske zakonodaje.

Druga pomembna iniciativa v EU, ki deluje za prihodnost novih tehnologij za izboljšave rastlin, je COST Action CA18111, Genome editing in plants. Gre za mrežo strokovnjakov iz različnih evropskih znanstvenih inštitucij, tudi NIB-a, ki jo financira Evropska kooperacija v znanosti in tehnologiji (COST). Cilj je ovrednotiti orodja za gensko urejanje rastlin z različnih vidikov: tehnološkega, potencialnega, političnega in zakonodajnega, znanstvenega ter mnenjskega.

Novi biotehnoški proizvodi morajo slediti okviru biološke varnosti, ki presoja okoljska in zdravstvena tveganja, povezana z njimi. Zavedamo se tudi, da je z uporabo orodij za urejanje genoma nadzor gensko spremenjenih poljščin postal izziv. Upam pa, da bodo zakonodajni problemi rešeni ne na podlagi neutemeljenega strahu, ampak znanstvenih dokazov.

RAZNOLIKOST IDEJ

Pionirska uporaba 3D celičnih kultur

» Na NIB-u so jih sprva uporabljali v raziskavah raka, nato pa se je dr. Bojana Žegura domislila, da bi jih lahko vpeljali tudi v raziskave na področju genetske toksikologije.

Uporaba tako imenovanih celičnih kultur je v znanstvenih raziskavah že dolgo uveljavljena. V ta namen jih že desetletja uporabljajo tudi na NIB-u na Oddelku za genetsko toksikologijo in biologijo raka. V genetski toksikologiji raziskovalci proučujejo procese, ki se zaradi vpliva zunanjih dejavnikov odvijajo v celicah; gre za t. i. *in vitro* poskuse, saj procesi potekajo v laboratorijskih pogojih izven živega organizma. Pri tem raziskujejo, ali kemikalije oziroma fizikalni dejavniki (gama in UV žarki) povzročajo poškodbe dednega materiala, na kakšen način se te poškodbe odražajo v sami molekuli DNK, in se ukvarjajo z vprašanjem, ali se nastale poškodbe lahko popravijo. Če popravljalni celični mehanizmi poškodb ne popravijo dovolj uspešno, pride do mutacij. Te lahko vodijo do nastanka številnih bolezni, vključno z rakavimi obolenji, neplodnostjo, nepravilnostmi pri potomcih in mnogih drugih degenerativnih motenj.

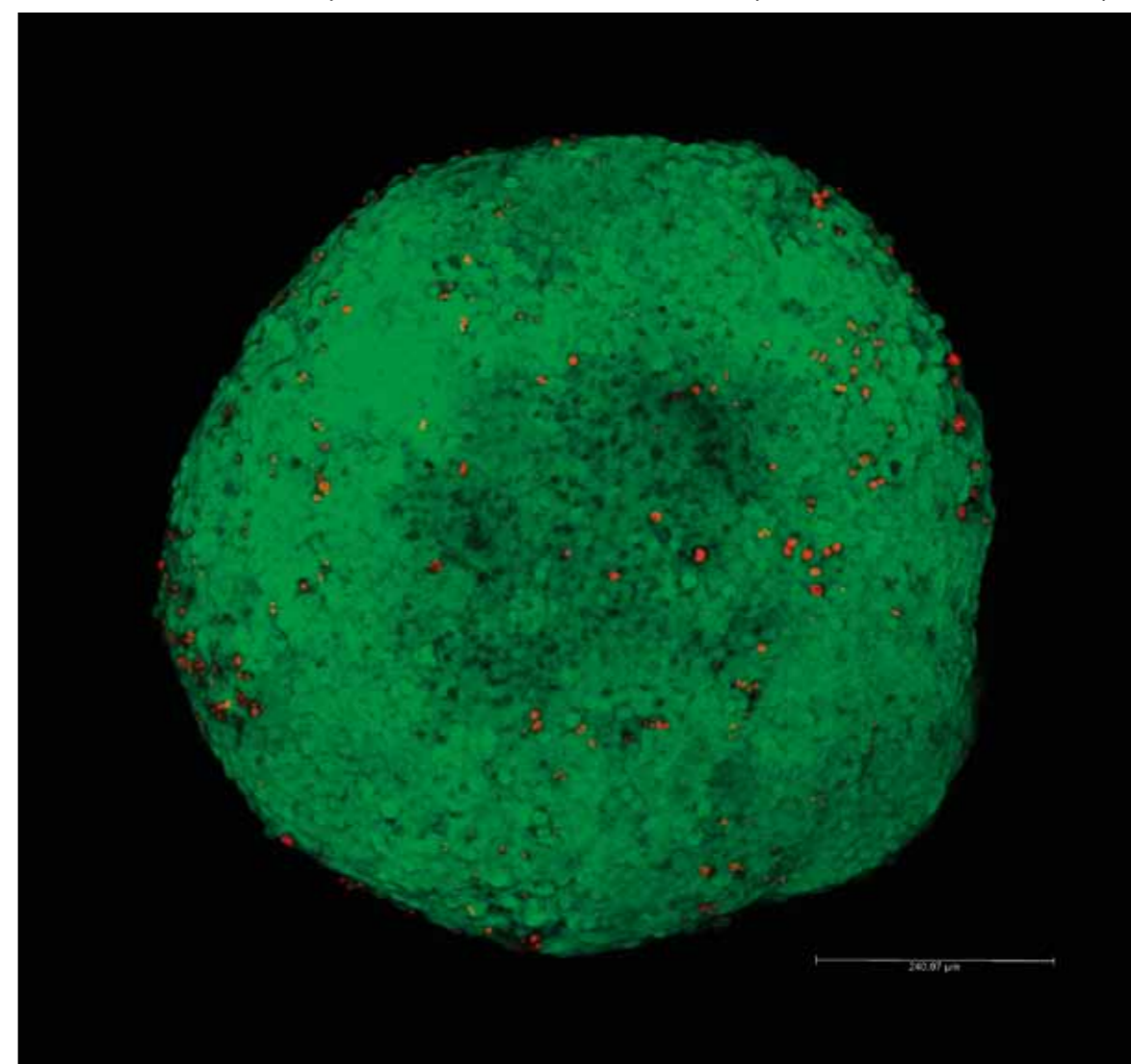
Trajne celične linije, na katerih se izvajajo poskusi, so pridobljene iz različnih tkiv živalskega in tudi človeškega izvora. V primeru celic človeškega izvora gre večinoma za celice, ki so izolirane iz rakavega tkiva in imajo v ustreznih laboratorijskih pogojih sposobnost neomejene delitve. To pomeni, da celičnim kulturam v tekoče gojišče dodajajo hranila in dodatke, ki so potrebni za rast in delitev celic. Gojenje se odvíja v sterilnih pogojih pri ustrezni temperaturi in atmosferi. Tem celičnim kulturam pravimo tudi dvodimenzionalni (2D) celični modeli, saj so celice na trdo podlago, na kateri rastejo in se delijo, pritrjene v eni sami plasti ali monosloju.

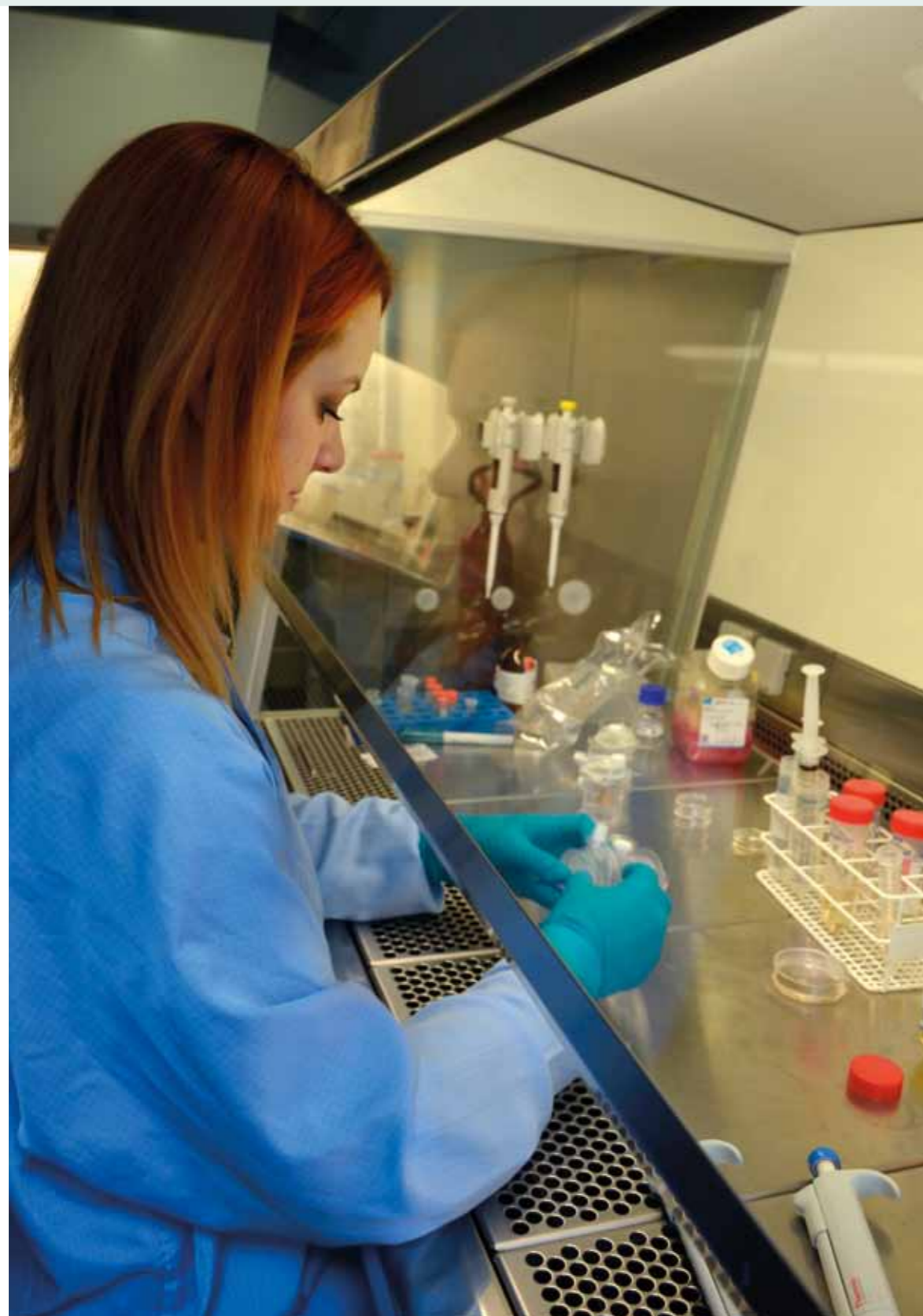
V genetski toksikologiji se 2D celični modeli tradicionalno uporabljajo za ugotavljanje, ali so spojine, vključno z zdravili, kozmetičnimi izdelki, dodatki k hrani in krmi, pesticidi itd., varne za uporabnika oziroma, ali so genotoksične in

povzročajo poškodbe dednega materiala. Za ta namen se največkrat uporabljajo jetrne celične linije, ki so najbolj presnovno aktivne in zato najboljše ponazarjajo presnovo snovi, ki se vsakodnevno odvíja v našem telesu. Vendar imajo 2D celični sistemi številne biološke omejitve in pomanjkljivosti. Mednje spada na primer neustrezna povezava med celicami, saj le-te rastejo v dveh in ne treh dimenzijah, kot je to značilno za tkiva. Zaradi tega med celicami ni ustreznih stikov

in komunikacije, prav tako tudi ni interakcije med celicami in izvenceličnim matriksom. V primeru jetrnih celic so presnovni encimi mnogo slabše izraženi kot v človeških jetrih, kar je pri testiranju ksenobiotkov (spojin, ki se v telesu presnovijo in imajo po presnovi drugačne lastnosti, kot jih imajo starševske spojine) ključnega pomena. Znano je namreč, da nekateri ksenobiotiki postanejo genotoksični šele po presnovi, ki se v organizmu v največji meri odvíja v jetrih.

▼ Sferoid (3D celični model), pripravljen iz jetrne celične linije človeškega hepatocelularnega karcinoma (HepG2). Celice so obarvane z barvili, pri čemer so z zeleno obarvane žive, z rdečo pa mrtve celice. (Foto: Martina Štampar)





▲ Mlada raziskovalka Martina Štampar pri prenašanju sferoidov iz bioreaktorja v petrijevko. (Foto: Helle Sedighi Frandsen)

Zaradi naštetih omejitev 2D celičnih kultur pri testiranjih varnosti oziroma genotoksične aktivnosti spojin velikokrat dobimo lažno pozitivne rezultate. To posledično vodi do testiranj zdravil in ostalih kemikalij v *in vivo* pogojih, torej na živalih. Taka testiranja so etično sporna, še zlasti kadar bi se jim lahko izognili. Najpogosteje se v poskusih uporabljajo miši in podgane, ki pa se po morfologiji, fiziologiji in presnovi močno razlikujejo od ljudi. To je tudi razlog, da so bila mnoga zdravila, ki so na laboratorijskih živalih pokazala izvrstne učinke, na ljudeh povsem neaktivna ali celo škodljiva. Številni poskusi na živalih so torej neustrezni, saj ne odražajo procesov v človeškem telesu.

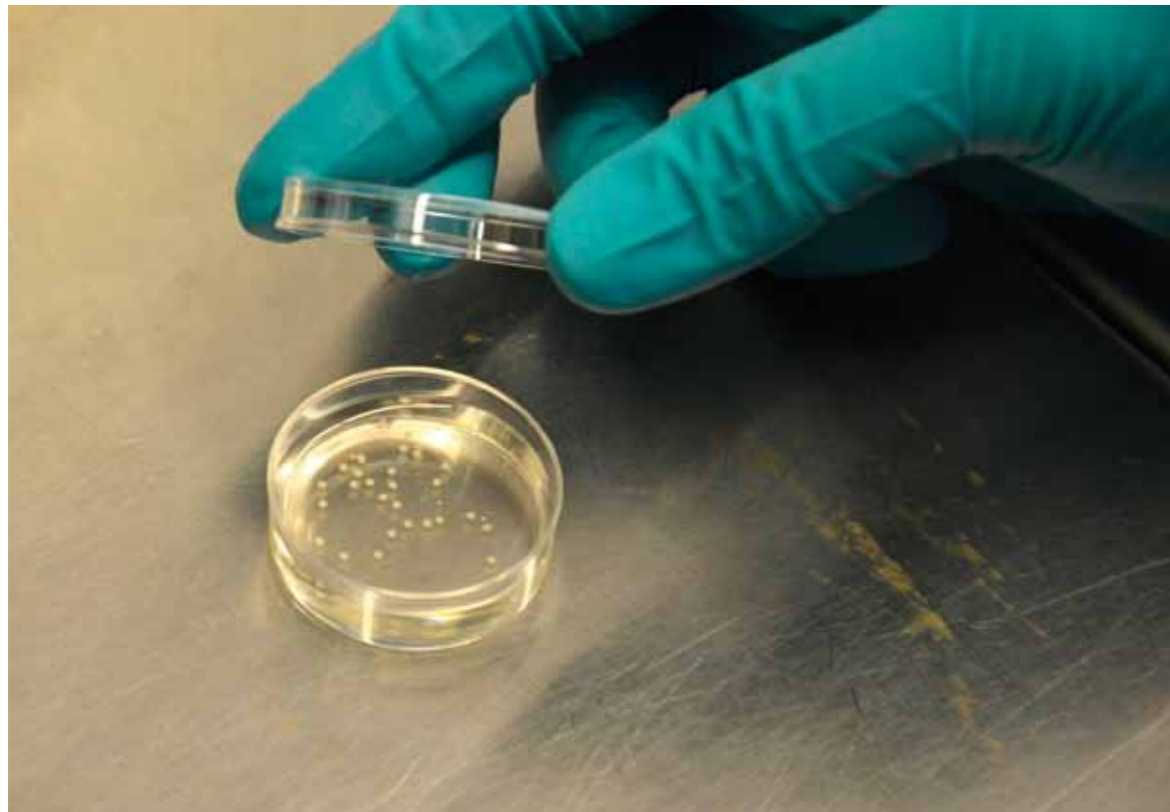
Zato tudi zakonodaja EU, ki ureja uporabo laboratorijskih živali in ščiti njihovo dobrobit, spodbuja testiranje varnosti kemikalij na neživalskih sistemih. Razvoj alternativnih tehnik, ki odpravljajo ali nadomeščajo živali, vse bolj pridobiva veljavo. To je skladno s tako imenovano 3R strategijo (iz ang. *reduction, refinement and replacement*), ki narekuje zmanjšanje, izpopolnjevanje in zamenjavo poskusnih laboratorijskih živali. Zaradi naštetega se je pojavila potreba po razvoju novih testnih sistemov, ki bi bolje odražali pogoje *in vivo* in bi bolje napovedovali dejanske učinke na ljudeh. Ti alternativni neživalski modeli bi lahko v prihodnosti nadomestili poskuse na živalih oziroma bi kot presejalni modeli zmanjšali število poskusov na njih. Pomemben alternativni model predstavljajo tridimenzionalne (3D) celične kulture, ki so razcvet v razvoju doživele v preteklih 30 letih.

V zadnjih dveh desetletjih se je največ vlagalo v razvoj 3D celičnih kultur človeške kože, saj zakonodaja EU od leta 2009 prepoveduje testiranje kozmetičnih izdelkov na živalih. Modeli kože se že uporabljajo za določanje varnosti kozmetičnih izdelkov, pa tudi drugih novih materialov in proizvodov. Danes so *in vitro* 3D celični modeli kože že popolnoma proučeni, razviti in okarakterizirani ter tudi komercialno dostopni. Takšni modeli so sestavljeni iz primarnih človeških celic, ki jih pridobijo pri operativnih posegih, na primer biopsiji, in predstavljajo neke vrste odpadke. Te celice v *in*

vitro pogojih gojijo več tednov, kjer se zaradi rastnih faktorjev in celičnih dodatkov diferencirajo ali, preprosto rečeno, spremenijo v določen tip celice. Ker so celice človeškega izvora, model po različnih anatomskih in fizioloških lastnostih spominja na človeško kožo in je idealno orodje za proučevanje mehanizmov delovanja kozmetičnih izdelkov in drugih spojin, ki pridejo v stik s kožo.

V zadnjem desetletju so začeli raziskovalci razvijati tudi jetrne 3D celične modele, ki so se sprva uporabljali za razvoj zdravil, kasneje pa se je uporaba razširila tudi na druga področja. Zadnjih nekaj let pridobivajo pomen tudi v genetski toksikologiji za proučevanje genotoksične aktivnosti najrazličnejših spojin, od čistih kemikalij in zdravil pa do kompleksnih mešanic spojin oziroma vzorcev iz okolja, na primer realnih vzorcev površinskih vod ali iztokov čistilnih naprav. Take raziskave izvajajo tudi na NIB-ovem Oddelku za genetsko toksikologijo in biologijo raka, ki ga vodi **prof. dr. Metka Filipič**. Na Oddelku so 3D celične kulture sprva uporabljali v raziskavah raka, leta 2017 pa se je **doc. dr. Bojana Žegura** domislila nečesa novega, in sicer da bi jih lahko vpeljali na raziskovalno področje genetske toksikologije. Do takrat v literaturi še ni bilo podatkov, da bi 3D celične modele uporabljali za proučevanje nastanka poškodb DNK zaradi vpliva kemikalij. Zato lahko rečemo, da je šlo za pionirsko zamisel.

Tako so v okviru doktorske naloge mlade raziskovalke **Martine Štampar** začeli iz trajnih celičnih kultur razvijati 3D celične modele, s katerimi proučujejo učinke različnih kemičnih in fizikalnih dejavnikov, ki smo jim lahko vsakodnevno izpostavljeni. Osredotočili so se na razvoj jetrnih modelov, saj imajo jetrne celice pomembno vlogo v raziskavah ksenobiotikov. Skupkom jetrnih celic zaradi njihove kroglaste oblike pravimo sferoidi. Na NIB-u so sferoide sprva pripravili s t. i. prisilno plavajočo metodo in jih gojili pri statičnih pogojih, kasneje pa so jih začeli v sodelovanju z Univerzo Južne Danske (University of Southern Denmark, Odense) gojiti v celičnih bioreaktorjih pri dinamičnih pogojih. To omogoča večmesečno gojenje sferoidov, pri čemer celice tudi ohranjajo visoko živost.



▲ Sferoidi v petrijevki, pripravljene iz celic hepatocelularnega karcinoma (HepG2). (Foto: Martina Stampar)

Novo tehnologijo so prenesli v svoj laboratorij, kjer bodo v prihodnjih letih nadgrajevali metodologije, ki jih uporabljajo v raziskavah. Takšni modeli so zelo pomembni, saj lahko raziskujemo posledice dolgodobnih izpostavitvev zelo nizkim koncentracijam kemikalij, kar ponazarja kronično izpostavitvev ljudi. Ljudje smo namreč v vsakodnevnom življenju lahko nevede izpostavljeni številnim bolj ali manj škodljivim spojinam ali njihovim kombinacijam. Mnoge genotoksične spojine povzročajo spremembe dednega materiala, ki pa se po navadi izrazijo šele leta ali desetletja kasneje, posledica pa je lahko nastanek rakavega obolenja.

Tridimenzionalni jetrni celični model so NIB-ovi raziskovalci najprej okarakterizirali, saj je poznavanje lastnosti celic sferoida zelo pomembno. Znano je na primer, da se lastnosti celic s starostjo sferoida spremenijo. Poleg tega se

njihove lastnosti razlikujejo tudi po tem, v kateri plasti sferoida se nahajajo. Sferoid ima namreč tri glavne plasti ali cone. Na zunanji so celice, ki imajo ohranjeno sposobnost delitve (proliferacije) in omogočajo, da sferoid raste navzven. Sledi cona, kjer se celice ne delijo, kar je značilno tudi za *in vivo* pogoje, torej za tkiva, v središču sferoida pa je t. i. nekrotični center – tu celice odmirajo. Izsledki nekaterih raziskav, ki so jih opravili na NIB-u, so zelo pomembni – pokazali so, da se geni, ki kodirajo presnovne encime, v 3D modelih izražajo veliko močneje kot v 2D modelih. Presnova v sferoidih je torej bolj podobna *in vivo* razmeram. V genetski toksikologiji je zelo pomembno, da v *in vitro* študijah uporabljeni modeli čim bolj posnemajo človeško presnovo.

Z novorazvitimi 3D modeli, statičnimi in tudi dinamičnimi, na NIB-u proučujejo mehanizme

delovanj genotoksičnih agensov. V nedavno opravljeno raziskavo so vključili različne znane, posredno delujoče mutagene (snovi, ki spreminjajo dedni material). Med njimi je benzo(a)piren, ki nastane pri nepopolnem izgorevanju in ga najdemo v cigaretnem dimu ter izpušnih plinih. Proučevali so tudi učinke dveh spojin, ki nastaneta v mesu pri visokih temperaturah, ter etopozida, protirakavega zdravila, za katerega je znano, da povzroča poškodbe DNK. V obsežni študiji so ugotavljali, kakšne poškodbe povzročajo naštetje in še druge spojine in kakšni so njihovi mehanizmi delovanja. Rezultate so primerjali z rezultati, pridobljenimi z raziskavami na 2D celičnih kulturah, ter ugotovili, da je novorazviti 3D model, ki je fiziološko bolj podoben *in vivo* pogojem, za zaznavanje genotoksičnih spojin občutljivejši in kot tak predstavlja primeren eksperimentalni model za oceno njihove genotoksične aktivnosti. Izsledke so leta 2019 objavili v *Archives of toxicology*, prestižni reviji s tega področja. Poleg tega so na jetrnih 3D celičnih modelih proučevali tudi mehanizme delovanja naravnih spojin, kot so cianobakterijski toksini, ki se ob cvetenju cianobakterij pojavljajo v jezerih in akumulacijah ter smo jim ljudje lahko vsakodnevno izpostavljeni. Ker lahko ti toksini škodljivo vplivajo na zdravje človeka, je zelo pomembno poznati njihove lastnosti. Rezultati te raziskave so predstavljeni v članku, ki je bil objavljen v mednarodni reviji *Environmental Pollution* v začetku leta 2020.

Tradicionalne 2D celične kulture na NIB-u čedalje bolj nadomeščajo z novorazvitim 3D celičnim modelom. Trenutno jetrni 3D celični modeli še niso uveljavljen model v genetski toksikologiji, a imajo po prepričanju NIB-ovih raziskovalcev zaradi izboljšanih presnovnih aktivnosti ter večje fiziološke in morfološke podobnosti z *in vivo* sistemi tudi v tovrstnih raziskavah zelo dobro perspektivo.



▲ Bojana Žegura verjame v prihodnost 3D celičnih modelov kot alternativo poskusom na živalih. (Foto: osebni arhiv)

RAZNOLIKOST MNENJ

DAVID DOBNIK

Zdravila za gensko terapijo



Jeseni leta 2019 je Slovenija izkazala izjemno solidarnost v veliki akciji zbiranja denarja za zdravljenje dečka Krisa. Spinalna mišična atrofija, s katero se je rodil, je redka genska okvara, s katero se rodi eden od približno deset tisoč otrok. Zaradi te okvare propadajo živčne celice, sledi splošno mišično slabenje in smrt. Pri pripravi zdravila zolgensma®, s katerim so zdravili Krisa, so bila potrebna posebna znanja in vrhunska strokovnost na področju virologije. Takšna, kot jih imajo na NIB-u in ki mu jih priznavajo domača in tuja podjetja. Na področju štetja virusov na molekularni ravni je NIB v svetu med vodilnimi inštitucijami. Dr. David Dobnik je z ekipo NIB-a sodeloval z AveXisom, podjetjem, ki je razvilo omenjeno zdravilo. To sodelovanje se nadaljuje, saj NIB pomaga AveXisu pri nadaljnjem razvoju.

- ▲ Razvijanje novih metod za detekcijo gensko spremenjenih organizmov je David Dobnik izpopolnil do stopnje, ki omogoča natančno kvantifikacijo virusov za zdravljenje najtežjih genskih bolezni. (Foto: Selma Dobnik)

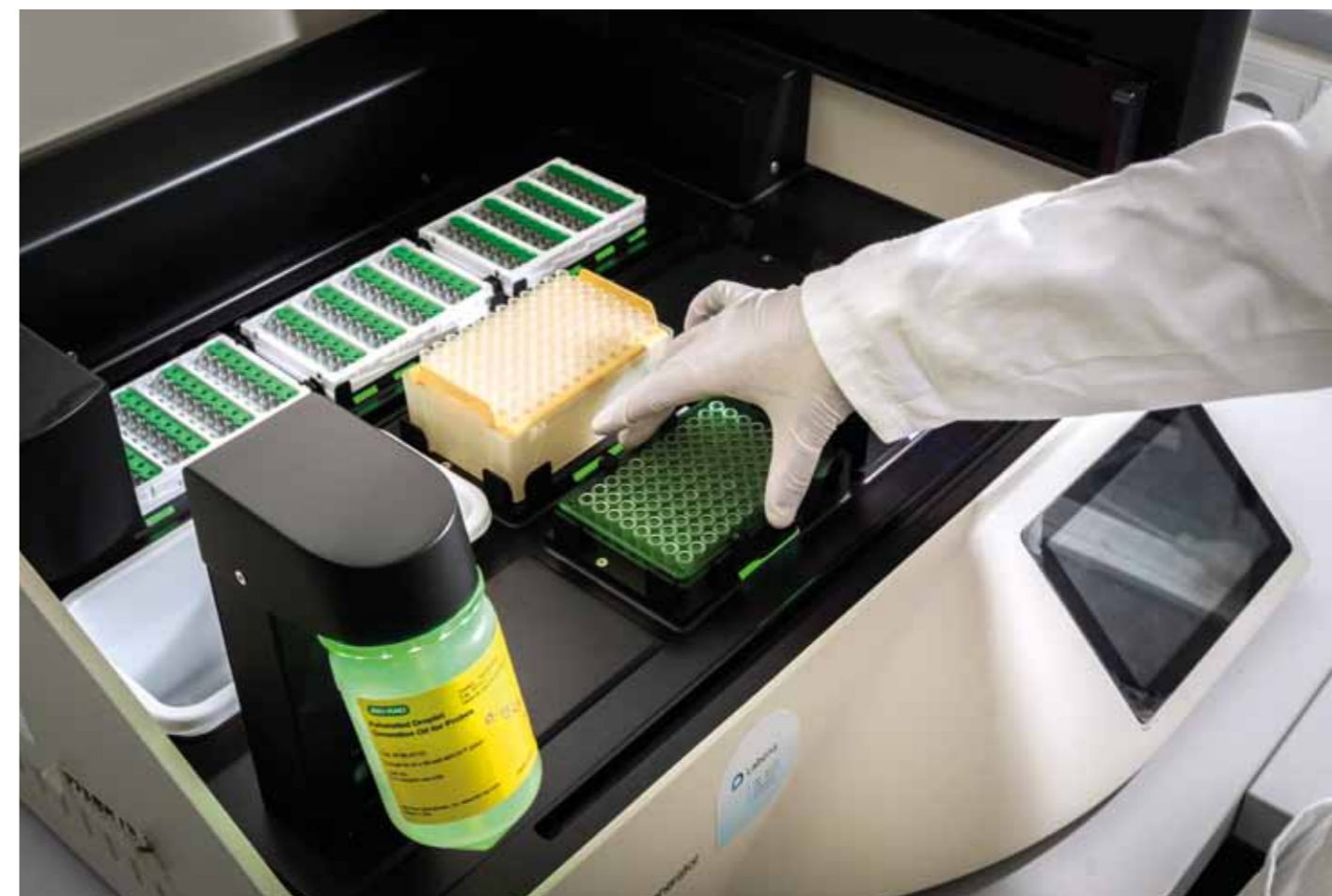
Zakaj se v genski terapiji, kakršna je bila uporabljena tudi v primeru Krisa, uporabljajo prav virusi, ne pa recimo bakterije ali kakšni drugi mikroorganizmi?

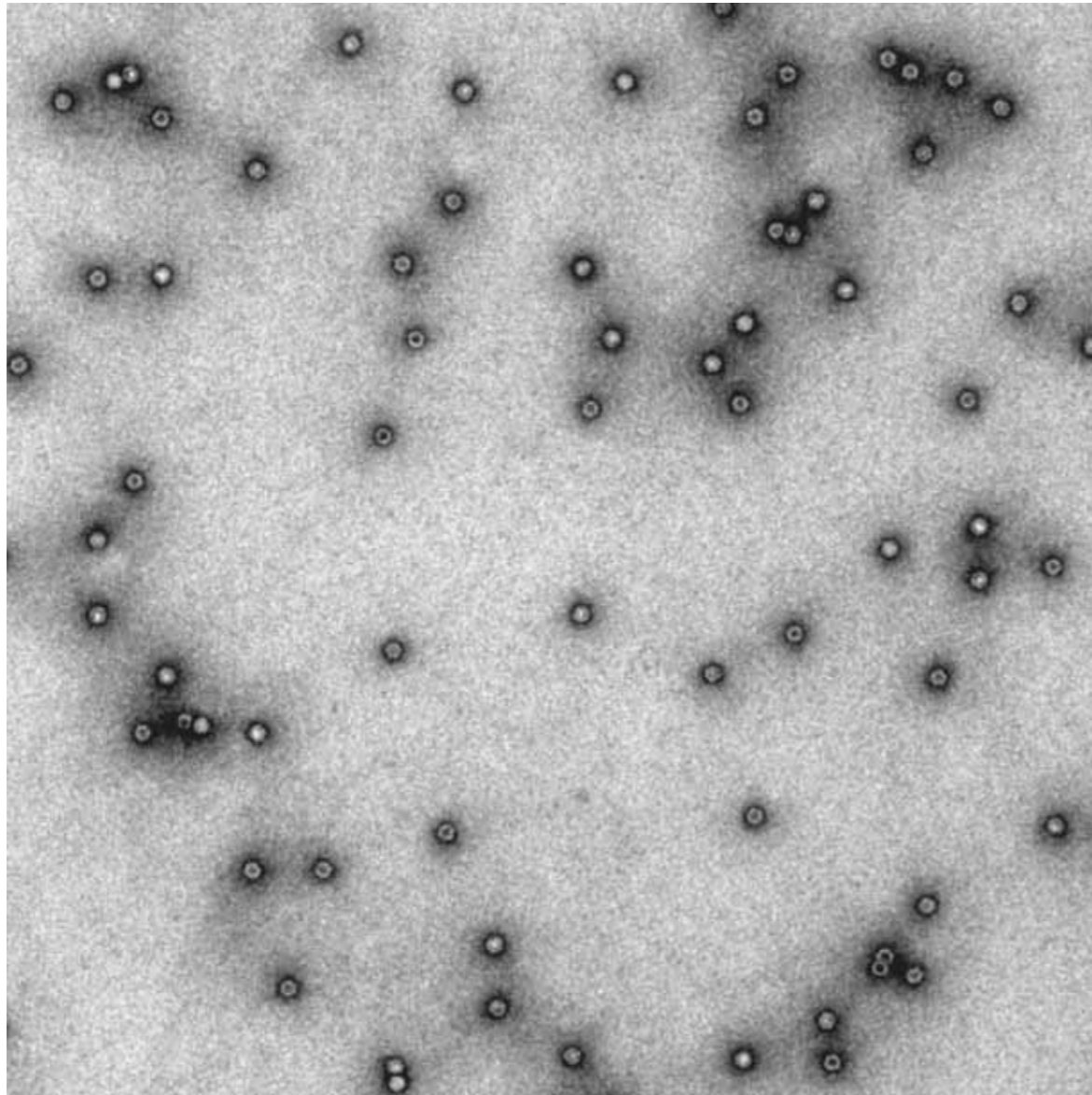
- Razlog je dokaj preprost – virusi so dobri dostavljavci ali vektorji, kot temu strokovno pravimo. Virusi imajo to lastnost, da v telesu lahko okužijo le nekatere ali pa veliko število celic. Naučili smo se, kako izrabiti njihovo zmožnost za dostavljanje svojega genoma v človeško ali živalsko celico. Vendar virusi, ki se uporabljajo za gensko terapijo, od samega virusnega genoma nimajo tako rekoč nič več. Tako ima na primer z adenovirusom povezan

virus (ang. *adeno-associated virus*, AVV) samo začetek in konec sekvence svojega genoma. Vse ostalo je umetno pripravljene konstrukti, ki ga vnesemo vanj, da bi ga odnesel v celico, kjer bo popravil neko gensko napako. Tako spremenjeni virusi so zdravilo,

” V genski terapiji se virusi uporabljajo zato, ker so dobri dostavljavci. Naučili smo se izrabiti njihovo zmožnost za dostavljanje svojega genoma v človeško ali živalsko celico.

- ▼ Avtomatiziran robot, namenjen pripravi kapljic za kapljično digitalno verižno reakcijo s polimerazo. (Foto: David Dobnik)





▲ Polne in prazne kapside z adenovirusi povezanih virusov (AAV), kot jih vidimo s transmisijskim elektronskim mikroskopom. (Foto: Magda Tušek Žnidarič)

ki se vnese v telo z injekcijo. Injicira se ga lahko v kri, oko, direktno v hrbtenični kanal ... Virus nato v telesu poišče tarčne celice, jih »okuži« in s tem prenese vanje genski material, ki smo ga vstavili vanj.

Da bi vedeli, koliko virusov injiciramo v telo, uporabljamo različne tehnike štetja. V zadnjih nekaj letih se je tehnika, ki se strokovno imenuje »molekularno

štetje virusov s kapljično digitalno verižno reakcijo s polimerazo«, na področju genske terapije zelo razširila. A vseeno opažamo, da imamo na NIB-u zelo veliko izkušenj, in da tisti, ki jo začenjajo uporabljati, nimajo ozadja, ki je potrebno za širše razumevanje, kaj se med testom dogaja in kaj rezultati, ki jih dobijo na koncu, pomenijo.

Za katere bolezni oziroma genske okvare se že uporablja genska terapija?

► Trenutno so odobrena zdravila za nekatere oblike krvnega raka. V ZDA je na primer odobreno zdravilo zolgensma® za zdravljenje spinalne mišične atrofije in tudi zdravilo luxturna® za odpravo enega od tipov slepote. Je pa v fazi kliničnih študij več kot tisoč proizvodov, ki merijo na širok spekter bolezni.

Kako je potekal razvoj zdravila za Kriša in kako deluje v primeru njegove bolezni?

► Spinalna mišična atrofija ni ena sama, ampak skupina živčno-mišičnih motenj. Lahko se pokažejo še pred ali ob rojstvu, pri drugih oblikah pa se težave pojavijo šele v odraslosti. Spinalna mišična atrofija v bistvu pomeni, da v telesu manjka en gen. Posledično se ne tvori protein SMN, ki je pomemben za ohranjanje in razvoj motoričnih nevronov. Ker zaradi tega mišice niso primerno oživčene, so zelo šibke in še bolj propadajo. Zato je cilj terapije, da se v te nevrone dostavi zdrava kopija manjkajočega gena, ki proizvaja protein SMN.

Ko so ugotovili, kateri gen je to, so iskali najboljši način, kako ga dostaviti v celice. Odkrili so, da prej omenjeni virus AAV prehaja tudi krvno-možgansko bariero. To je bilo pomembno odkritje, saj centralni živčni sistem oz. živčne celice niso ožiljene in niso direktno v stiku s krvjo. To jih je napeljalo na misel, da bi AAV lahko uporabili za prenos gena v mišične motorne nevrone. Virus bi lahko vbrizgali v kri, po kateri bi prišel do možganov in naprej v spinalni kanal, kjer bi »okužil« celice in sprožil proizvodnjo manjkajočega proteina. Ampak to je bil šele začetek, ideja, ki jo je bilo treba spraviti na veliko višjo raven. Za to, da so izdelali zdravilo brez škodljivih stranskih učinkov, je bilo potrebne veliko raziskovalnega dela in različnih optimizacij. Ko govorim o optimizacijah, imam v mislih tudi optimizacijo proizvodnje. Če se izrazim v prispodobi: velika razlika je, če nekaj gojite doma na vrtu ali pa če imate tega celo polje. Če želite dostaviti manjkajoči gen na želeno mesto v telesu, potrebujete veliko število virusov. To veliko količino virusov pa je treba, preden jih lahko uporabite, tudi primerno očistiti. Šele ko so dobro očiščeni, so primerni za terapevtsko uporabo.

Kako se pridobivajo ti virusi in kako se jih očisti?

► Viruse proizvajajo v specifični humani celični liniji, ki izvira iz človeških ledvičnih celic. Te celice najprej gensko spremenijo, da proizvajajo virus AAV, v katerega je vključen zelen gen. Ko se v celicah virus dovolj namnoži, celice »razbijejo«. V taki »juhi« je poleg virusov še ogromno drugih snovi, zato jo je treba očistiti. Najprej je treba iz nje odstraniti trdne delce, ki ostanejo od celic, kar dosežejo s centrifugiranjem, filtriranjem in postopki precipitacije (obarjanja). Vse, kar še ostane raztopljenega v tej raztopini, na primer različni virusni delci, proteini, celična DNK in podobno, je treba dodatno odstraniti. Odstranijo jih lahko s t. i. pametnimi filtri. Filter, skozi katerega se tekočina precedi, veže vse delce. Nato s posebnim postopkom izpiranja dosežejo, da se iz filtra izperejo vsi delci, z izjemo virusov. Ti ostanejo vezani na filtru. Viruse na koncu prav tako izperejo, pri čemer uporabijo drugačne pogoje izpiranja.

» Odkritje, da z adenovirusom povezan virus (AAV) prehaja krvno-možgansko bariero, je vodilo do zamisli, da se ta virus uporabi za prenos gena v mišične motorne nevrone.

Kakšno vlogo je torej odigral NIB pri razvoju zdravila za Kriša?

► Podjetje AveXis, s katerim redno sodelujemo že od leta 2016, nam je povedalo, da imajo proizvod, pri katerem želijo optimizirati proizvodnjo. In sicer tako, da ga bodo lahko proizvedli v čim večji količini in da bo virus, ki bo prenašalec gena, čist. To pomeni, da so v končnem proizvodu – zdravilu – želeli imeti le polne viruse (napolnjene z genskim materialom), torej brez dodatnih nečistoč, ki bi bile ostanek proizvodnega postopka. Na NIB-u smo kot prvi v Evropi imeli aparaturo za štetje virusov na molekularni ravni in smo si na ravni določanja absolutne količine DNK tarč v preteklosti nabrali veliko izkušenj.

Vzorci smo dobivali od podjetja Bia Separations iz Ajdovščine, ki je za AveXis opravilo opisano »pametno filtriranje«. Skupaj so razvijali tehnike in protokol čiščenja virusov. Na dobljenih vzorcih smo z molekularnimi tehnikami ovrednotili vse modifikacije, ki so jih pripravili za optimizacijo čiščenja. Sami pa smo tudi razvili postopek za kar najbolj natančno določanje količine virusov. Če želite ugotoviti, kako uspešen je bil postopek čiščenja, morate pogledati število virusov na začetku in koncu postopka, ugotoviti prisotnost neželenih nukleinskih kislin in, ali so virusi polni ali prazni. AveXisov test je prilagojen na AAV virus in je tarčno specifičen, mi pa smo celoten postopek optimizirali. Postopek smo nato prenesli v AveXisov laboratorij, da lahko sami izvajajo kvantifikacijo delcev. Najprej so bili njihovi zaposleni na delavnici pri nas na NIB-u, nato pa sem prenos tehnologije opravil tudi neposredno v njihovem laboratoriju v Libertyvillu pri Chicagu. Izobrazil sem njihove operaterje in jim pomagal pri vpeljavi testiranja v laboratoriju.

Z AveXisom sodelujemo, kot sem omenil, že nekaj let. Vedno jih je zanimalo, kaj je novega pri nas in kaj jim lahko še ponudimo. Vedno so nas dojemali kot dobrega partnerja, na katerega se lahko zanesajo in mu zaupajo. Pri čemer naj povem, da z nami zdaj že dolgoročno sodelujejo zaradi kakovosti, ne pa morda zato, ker bi bili cenejši v primerjavi z ameriški laboratoriji, kot bi morda kdo pomislil.

” **Razvili smo postopek za zelo natančno določanje količine virusov. Uspešnost čiščenja določamo na osnovi števila virusov na začetku in koncu postopka, prisotnih nečistoč in tega, ali so ti polni ali prazni.**

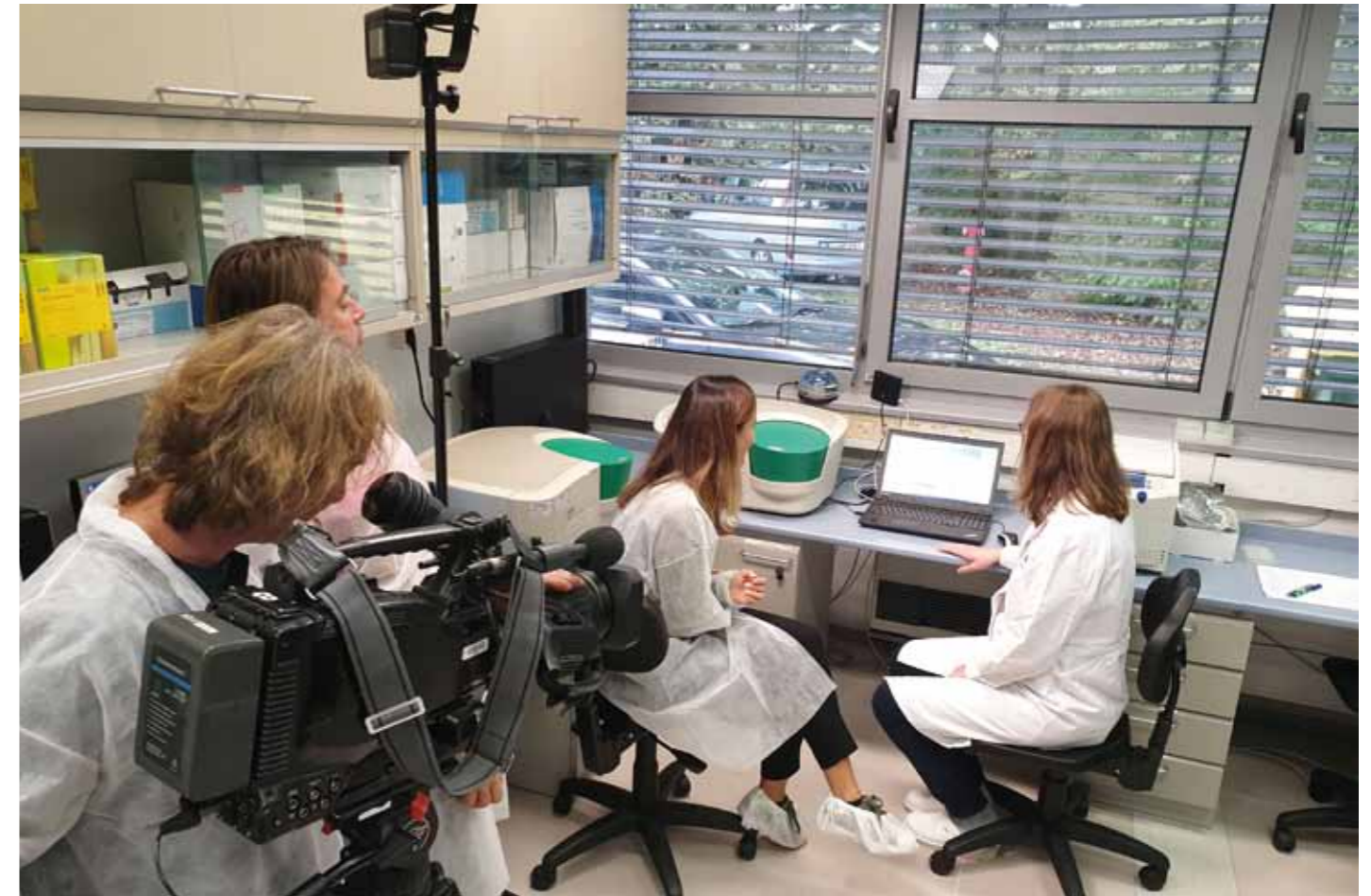
Ali morda sodelujete pri razvoju še kakšnega podobnega zdravila, kot je zolgensma®?

► Na področju virusov za gensko terapijo sodelujemo še z več drugimi podjetji. Delamo podobne stvari, kot smo jih pri razvoju terapije za Krisa –

razvijamo različne nove teste za preverjanje njihovih proizvodov in te metode prenašamo v njihove laboratorije, tako da bodo testiranja lahko izvajali sami. Metod, ki jih razvijamo, je več, imen podjetij pa zaradi pogodb o nerazkrivanju za zdaj še ne smemo razkriti.

Iz povedanega je očitno, da imate vi osebno in NIB na področjih, ki so pomembna za razvijanje genskih terapij, zelo veliko uporabnega znanja. Ali ste pri njegovem širjenju, naj se tako izrazim, zadržani?

► Seveda informacij, vezanih na specifična podjetja, ne razkrivamo zaradi spoštovanja pogodb, drugače pa ničesar ne skrivamo. Veliko raziskujemo in objavljamo znanstvene članke, organiziramo delavnice in spletne seminarje, izobražujemo zainteresirane laboratorije, da so sami sposobni testirati svoje proizvode, in jim posredujemo vse informacije in znanje, ki so potrebni za pravilno interpretacijo rezultatov. Znanstveno delo in širjenje rezultatov sta pomembna tudi zato, da ne prihaja do širjenja zmotnih prepričanj.



▲ Snemanje prispevka o genski terapiji in kvantifikaciji virusnih vektorjev za oddajo Ugriznimo znanost nacionalne televizije je primer informiranja širše javnosti o raziskovalnem delu NIB-a. (Foto: David Dobnik)

RAZNOLIKOST MNENJ

POLONA KOGOVŠEK

O vsestranski uporabnosti hitrih molekularnih metod



Biologija kot veda ima pri preskrbi s hrano izjemno vlogo. Izzivi na tem področju so številni; med najbolj očitnimi so naraščajoče število svetovnega prebivalstva in podnebne spremembe z vsemi predvidenimi in tudi težje predvidljivimi posledicami. A se pri tem še zdaleč ne končajo. Gre tudi za problematiko kakovosti hrane – take, ki je varna za uživanje in ki ima morda še kakšno »dodatno dimenzijo«, na primer zdravilno učinkovanje. Mikrobiologinja dr. Polona Kogovšek se v okviru svojega dela na NIB-u ukvarja tudi s tovrstnimi temami. Med drugim vodi dva raziskovalna projekta pri EFSA (Evropski agenciji za varnost hrane, European Food Safety Authority), sicer pa sodeluje z različnimi slovenskimi podjetji, ki proizvajajo in predelujejo hrano.

◀ Pridelavo hrane doma je Polona Kogovšek razširila s svojim odličnim strokovnim mikrobiološkim znanjem na številne mednarodne projekte in podjetja, povezana s hrano. (Foto: osebni arhiv)



▲ Delo s kvasovkami, izoliranimi iz vzorcev medu. (Foto: Aleš Rosa)

Naj se najprej ozremo na vaše sodelovanje s podjetji. Za kakšno sodelovanje gre?

► Že pridelana hrana lahko hitro postane za uživanje neprimerna ali celo nevarna zaradi različnih bakterij, kvasovk in virusov. Zato je pomembno, da proizvajalci njihovo prisotnost zaznajo čim bolj zgodaj in tako preprečijo večjo škodo ali celo zdravstveno tveganje. Na tem področju je NIB sodeloval pri velikem evropskem projektu Decathlon in nacionalnem projektu pametne specializacije. Gre predvsem za razvoj metod za hitro določanje mikroorganizmov (bakterij in kvasovk) v hrani.

V okviru slovenskega projekta, poimenovanega Hrana za prihodnost, ki je med seboj povezal več naših podjetij s področja živilske industrije, smo na primer razvili metode za hitro določanje kvasovk, ki lahko povzročijo težave pri predelavi medu in

” Med in medeni izdelki so poseben izziv, saj se proizvajalci izogibajo toplotni obdelavi in konzervansom. Vemo pa, da so bakterije in kvasovke, ki so na cvetovih in v čebelnjaku, tudi v medu.

pripravi drugih proizvodov na osnovi čebeljih izdelkov. Med in medeni izdelki so poseben izziv, saj se proizvajalci izogibajo toplotni obdelavi ali dodajanju konzervansov, ker želijo, da so proizvodi iz njega čim bolj naravni in imajo ohranjene zdravilne lastnosti. Vemo pa, da so bakterije in kvasovke, ki so prisotne na cvetovih in v čebelnjaku, tudi v medu. Ta je zanje sicer neugodno življenjsko okolje, a nekaj jih le preživi. Potencialna težava, ki se

lahko pojavi, je, da je v končnem proizvodu količina mikroorganizmov prevelika in povzroči njihovo kvarjenje ali pa proizvod vsebuje patogene bakterije. Zato sta hitro testiranje in informacija, ali so v medu morda prisotni neželeni mikroorganizmi, za predelovalce koristna, saj se lahko pravočasno odločijo za nadaljnji postopek predelave. Klasični postopek testiranja namreč traja več dni ali celo tednov, saj je treba počakati, da mikroorganizmi zrastejo na gojišču. V primeru molekularnih metod pa smo pokazali, da lahko pridemo od vzorca do rezultata v nekaj urah ali celo manj.

» Pogosto so problem sredstva, ki bi jih podjetja morala vložiti v razvoj in implementacijo novosti v proizvodnjo. Vsekakor je določeno znanje razvito in na voljo.

Omenjeni projekt Hrana za prihodnost je področje, na katerem je NIB sodeloval v okviru pred nekaj leti vpeljane strategije t. i. pametne specializacije, ki bi Sloveniji omogočil tržni preboj na različnih področjih. S čim ste se vključili v ta projekt?

► Primerov je, poleg prej omenjenih metod za hitro zaznavanje mikroorganizmov, še več. Tako je recimo ena od naših mlekarj prišla na misel, da bi svojemu jogurtu dodala ekstrakt, na primer hmelja, za katerega je znano, da ima veliko antioksidativnih snovi. Podobna je zamisel o dodajanju propolisa nekaterim vrstam hrane, saj zanj dobro vemo, da deluje antimikrobno in spodbuja imunski odziv telesa. V slednjem primeru smo na NIB-u preverjali antimikrobno delovanje različnih ekstraktov propolisa. Antioksidativne in antimikrobne lastnosti ima tudi rožmarin, ki bi ga lahko dodajali na primer kruhu. Tudi za ekstrakt rožmarina smo pokazali, da v dovolj velikih koncentracijah učinkuje protimikrobno; dodajali bi ga lahko v marinade. S tem bi dosegli več ciljev – preprečili bi razvoj patogenih mikroorganizmov, marinada pa bi tudi imela prijetnejši okus in bi obenem delovala antioksidativno.

V kakšni meri pa so te stvari dejansko zaživele v proizvodni praksi?

► Nekatere so kar lepo zaživele. Denimo priprava postopka testiranja s hitrimi molekularnimi tehnikami za ugotavljanje prisotnosti snovi, ki kvarijo proizvode, na primer kvasovk, ki lahko povzročijo njihovo vretje. Postopki so pripravljene tako, da se lahko izvedejo na realnih vzorcih v proizvodnji. Pogosta težava pri uvajanju različnih rešitev v prakso je finančna podhranjenost podjetij. Strokovnjaki in razvojniki, ki stopijo v stik z nami, imajo veliko zamisli, energije in so inovativni. Problem pa so sredstva, ki bi jih podjetja morala vložiti v razvoj in implementacijo novosti v proizvodnjo. Vsekakor je določeno znanje razvito in na voljo.

Če se še malo vrnem k projektu Hrana za prihodnost – v okviru tega smo sodelovali tudi pri analizi kakovosti mesa za proizvodnjo paštete. Meso procesirajo, meljejo in obdelujejo še na druge načine, pri čemer pride do takšnih sprememb, da je na videz skoraj nerazpoznavno. Dr. Magda Tušek Žnidarič je z mikroskopijo analizirala strukturo mišičnega tkiva pred in po predpripravi. Naročnika je namreč zanimalo, ali to pomeni tudi veliko modifikacijo mišičnih vlaken na ultrastrukturni ravni, od česar je odvisna cena paštete na trgu; manj ko je meso sprocesirano, višja je cena. Izkazalo se je, da je meso kljub tem postopkom v bistvu dobro ohranjeno. To je proizvajalcu omogočilo dokazati, da ima pašteto višje kakovosti.

S kom pri svojem delu še sodelujete? Morda tudi z veterinarji?

► Z veterinarji z Inštituta za perutnino, ptice, plazilce in male sesalce, ki deluje na Veterinarski fakulteti v Ljubljani, smo res sodelovali pri razvoju metode za hitro določanje bakterije *E. coli*, ki povzroča veliko smrtnost med piščanci. Če pride do okužbe, lahko rejec v enem samem tednu izgubi celo jato. Proti tej bakteriji sicer obstaja možnost preventivnega cepljenja, a tega se rejci izogibajo. Zato smo razvili hitro molekularno metodo, ki jo lahko uporabijo inšpektorji ob obisku farme. Sami smo obiskali nekaj farm, piščancem odvzeli brise in jih testirali. Takoj smo lahko ugotovili, ali so potencialno patogene bakterije *E. coli* morda prisotne in



▲ Jata piščancev brojlerjev, v kateri se potencialna okužba lahko zelo hitro razširi. (Foto: Polona Kogovšek)

pomenijo nevarnost za izbruh bolezni. Na ta način lahko rejec hitreje ukrepa in zaščiti jate piščancev. V nasprotnem primeru bi namreč moral na potrditev prisotnosti *E. coli* čakati več dni.

Za kakšne metode testiranja pa gre pri tem in v podobnih primerih?

► Največ uporabljamo metodi verižna reakcija s polimerazo (ang. *polymerase chain reaction*, PCR) v realnem času in LAMP; to je kratica njenega angleškega poimenovanja, ki smo ga prevedli v »izotermalno pomnoževanje posredovano z zanko«. Gre za približno 20 let staro tehnologijo, ki pa smo jo priradili in razvili specifične teste za bakterije, ki jih iščemo. Poleg tega smo razvili postopek priprave vzorca tako, da se ga lahko opravi na terenu; to je t. i. »on sight«, terenska diagnostika. Od drugih molekularnih diagnostičnih metod se LAMP razlikuje

po hitrosti. Druge zahtevajo več časa, uro in pol, dve ali celo tri ure, še posebno, če je potrebna predhodna priprava vzorca. S to hitro metodo in z napravo, ki je dovolj majhna, da jo lahko nosimo s sabo, pa pridemo do rezultata že v 15 minutah. Tudi testiranje piščancev na prisotnost patogene bakterije je zahtevalo le četrt ure.

Metodo LAMP smo vpeljali še za določanje fitoplazem vinske trte, tudi za različne viruse na paradizniku, krompirju ... Lahko navedem še en primer ugotavljanja bakterije *E. coli*, ki predstavlja velik problem tudi pri proizvodnji kalčkov. V velikih bazenih z vodo kalčki rastejo približno dva tedna, nato se jih pobere in brez kakršnegakoli tretmaja proda. Če se v vodi namnožijo bakterije, je to neposredno nevarno za človeka, saj se uživajo surovi. Okužba s kalčki je pred leti povzročila zastrupitev in smrt več kot 50 ljudi v Nemčiji.



▲ Pomarančevac v poskusnem nasadu v Valenciji (Valencian Institute of Agricultural Research, IVIA, Španija). (Foto: Polona Kogovšek)

Vodite tudi dva projekta pri Evropski agenciji za varnost hrane? Za kakšna projekta gre?

► Agencija financira tudi projekte, s katerimi se ugotavlja varnost pridelave z vidika zdravja rastlin. Tako na NIB-u vodim dva projekta, s katerima spremljamo prisotnost spor glive, ki povzroča bolezen na agrumih, imenovano črna pegavost agrumov. Te glive v Evropi še ni, sprva so celo predvidevali, da mediteransko okolje ni primerno za njeno širitev, a je njeno odkritje v nam bližnji Tuniziji leta 2019 to domnevo ovrglo. Spore te glive se širijo po zraku ali z dežjem, zato je pomembno, da za pravočasno ukrepanje in zaščito spremljamo njeno prisotnost v zraku. Zato vzorčimo zrak in dež v več državah EU in Tuniziji. Na ta način bomo sproti preverjali, ali je gliva prišla v EU, in obenem spremljali epidemijo glive v Tuniziji. Velik izziv pa predstavljajo agrumi, ki ne kažejo bolezenskih znamenj, so pa okuženi. Da bi ta vidik nenamerne širitve bolezni raziskali in ovrednotili, smo se v letu 2020 povezali v večjo projektno skupino (Euphresco). Poleg evropskih raziskovalcev iz držav, ki gojijo agrume, so se v projekt vključili tudi strokovnjaki iz Brazilije. Ti se že srečujejo s to boleznijo in težavami izvoza agrumov, saj je lahko pošiljka po tem, ko že prispe v EU, zavrnjena, ker sadeži med potjo razvijejo bolezenska znamenja.

” Na NIB-u vodim dva projekta, ki ju financira Evropska agencija za varnost hrane. Z njima spremljamo prisotnost spor glive, ki povzroča bolezen, imenovano črna pegavost agrumov.

Kakšni pa so prihodnji izzivi na področju, s katerim se ukvarjate?

► Vsekakor nam je v interesu še nadaljnje sodelovanje s kmetijskimi in prehranskimi podjetji. Hitre metode, ki smo jih razvijali, se nam zdijo pomembne in njihova implementacija v proizvodnjo koristna. Še zlasti, če upoštevamo trende, da je analize treba opravljati čedalje hitreje, saj to lahko

zmanjšuje škodo in stroške. Je pa to za podjetja velik logističen zalogaj, saj je treba spremeniti način dela in testiranja. Prehranska podjetja so na primer zavezana standardom, ki hitrih molekularnih metod za detekcijo mikroorganizmov še ne vključujejo. Pričakovati je, da se bodo začele te metode uvajati v standarde, bo pa to gotovo časovno zahtevno. Ampak mislim, da nekatera velika tuja podjetja te hitre metode že uporabljajo v svojih proizvodnih laboratorijih. To je vsekakor izziv za prihodnost za naša prehranska podjetja.

Tudi tumorji poskrbijo za svoje okolje

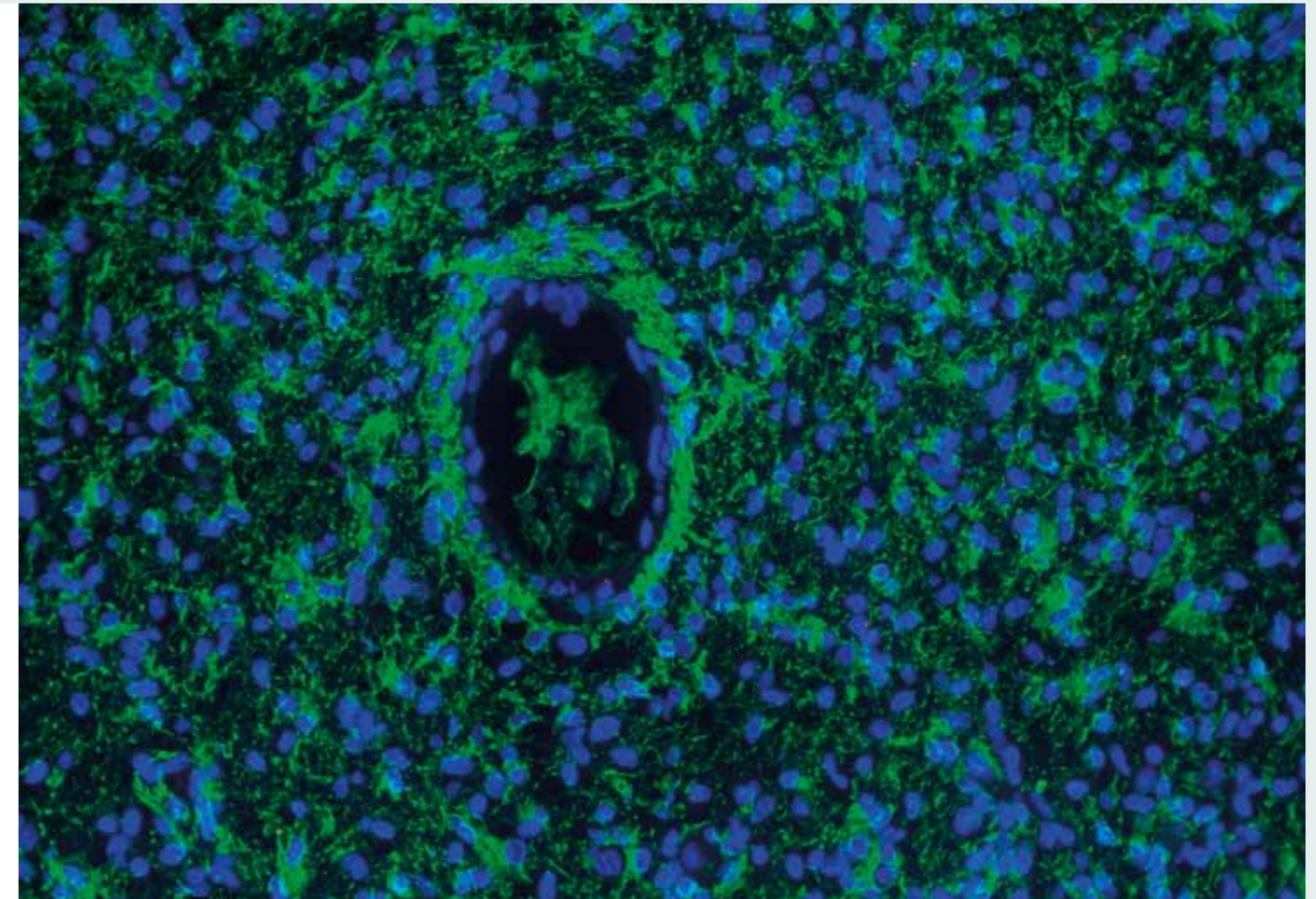
» Raziskave, ki skušajo razkriti, kako se matične celice glioblastoma razlikujejo od drugih celic, bi lahko pripomogle k razvoju terapije te za zdaj neozdravljive oblike raka.

Na NIB-u se z raziskovanjem biologije raka ukvarjajo že dolgo. **Dr. Metka Novak in Bernarda Majc** v raziskovalni skupini pod vodstvom prof. dr. Tamare Lah Turnšek opravljata tudi raziskave, ki bi lahko pomagale pripeljati do učinkovite tarčne terapije glioblastoma, agresivne oblike možganskega raka. Gre za izjemen raziskovalen izziv, saj kljub prizadevanjem v zadnjih desetletjih znanost še ni našla učinkovite terapije za to smrtonosno bolezen. Pri tem se opirata na nekatera najnovejša spoznanja in odkritja, uvajata pa tudi lastne nove pristope.

Rak, ki lahko vznikne v vseh tkivih in organih človeškega organizma, je, globalno gledano, drugi glavni razlog za smrt. Po podatkih za leto 2018 je na svetu zahteval življenje 9,6 milijona ljudi, od tega v Sloveniji več kot 6000. Do leta 2030 naj bi iz različnih razlogov število smrti v svetu naraslo na 13 milijonov letno. Med številnimi tipi raka jih je nekaj opredeljenih kot redki raki. Mednje spada

glioblastom, najpogostejši tip možganskega raka, za katerim v Sloveniji letno zbolijo okoli 60 ljudi. Najbolj ogroženi za razvoj možganskega tumorja so ljudje v starosti med 55 in 60 let, žal pa so posamezni bolniki tudi mlajši od 30 let.

Glioblastom se razvije v možganih iz astrocitov, ene od vrst možganskih celic, pri katerih pride do nenadzorovane rasti in invazije (razraščanja) v zdravo možganovino. Medtem ko se pri zdravljenju drugih oblik raka široko uveljavlja tarčna terapija, usmerjena le proti rakavim celicam, je pri zdravljenju glioblastoma na voljo le splošno zdravljenje, ki podaljša čas kakovostnega življenja. Zdravljenje obsega operativni poseg, kemoterapijo in obsevanje. Operativni poseg opravijo pri večini obolelih; izjema so le tisti, pri katerih operacija zaradi napredovanja bolezni ne bi doprinesla k podaljšanju življenja. Pri ljudeh, ki se zdravijo, se čas preživetja od prvih simptomov do smrti podaljša na okoli 15–18 mesecev, brez terapije umrejo v povprečju v manj kot petih mesecih.



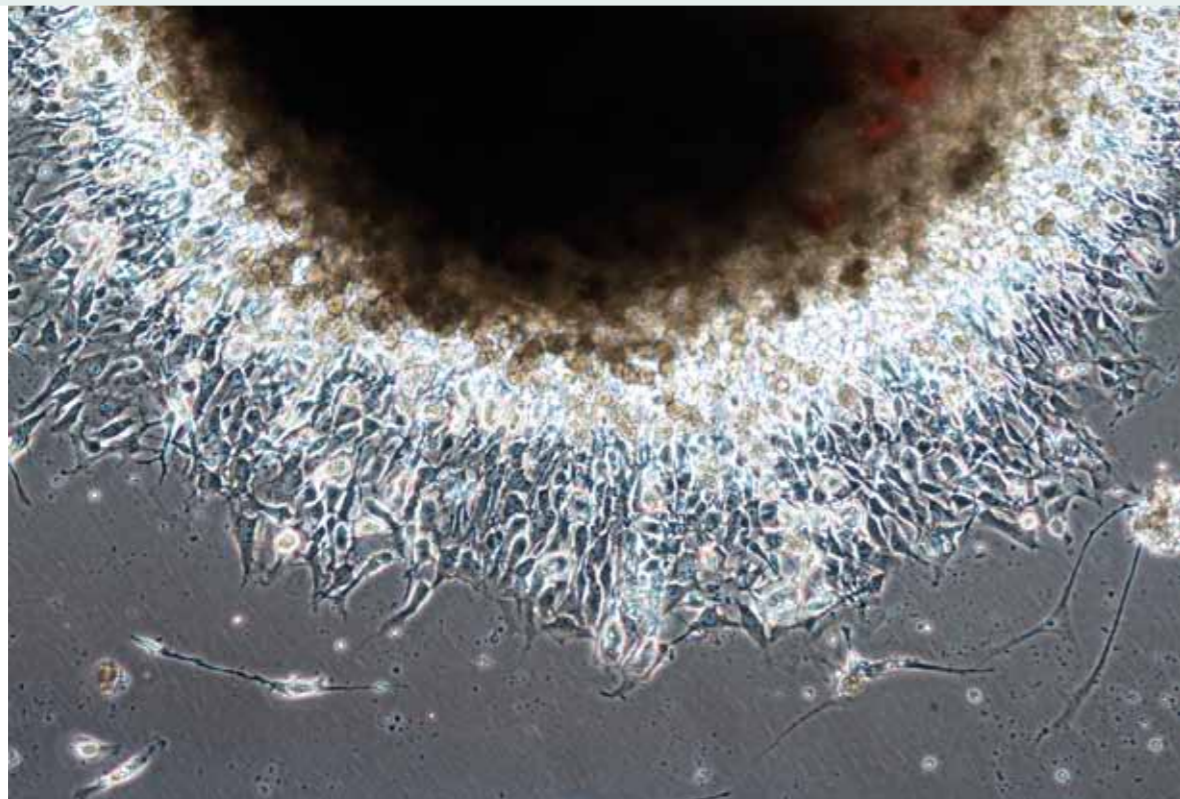
▲ Tumorsko mikrookolje sestavljajo predvsem možganske rakave celice, ki so na sliki obarvane zeleno. Jedra celic, tako rakavih kot nerakavih, so obarvana modro. Slikano s fluorescentnim invertnim mikroskopom pri 200-kratni povečavi. (Foto: Bernarda Majc)

Zdravljenje dodatno otežuje krvno-možganska pregrada, ki ščiti možgane pred toksičnimi molekulami iz krvnega obtoka, a hkrati tudi onemogoča vstop zdravilom. Ker rakavega tkiva z operacijo ni mogoče v celoti odstraniti, saj so posamezne rakave celice nevidne, pride do ponovne rasti tumorja na istem in še na drugih mestih. Celice, ki povzročijo ponovno rast tumorja, so tako imenovane glioblastomske matične celice. Te celice so izziv, ki je v zadnjem obdobju v ospredju raziskovanja.

Glioblastomske matične celice se skrivajo v notranjosti tumorskega tkiva v posebnih mikrookoljih, tako imenovanih nišah. V njih so zaščitene pred učinki standardne terapije, kot sta obsevanje in kemoterapija. Zaradi močnih obrambnih celičnih mehanizmov ter razvitih

mehanizmov, ki omogočajo zelo hitro popraviljanje DNK, so tako rekoč neuničljive. Kje so niše, v katerih so matične celice, kaj te niše sestavlja in kako razkriti glioblastomske matične celice, skušajo raziskovalci NIB-a odkriti skupaj z raziskovalci z Akademskega medicinskega centra Univerze v Amsterdamu.

Novakova in Majčeva se primarno ukvarjata z vprašanjem, kako trajno uničiti matične celice glioblastoma. Pri tem gre za raziskave, ki skušajo razkriti, kakšna je njihova posebnost, v čem se razlikujejo od drugih celic. To bi omogočilo razvoj selektivne terapije – take, ki ne bo ubila tudi zdravih celic. Raziskovanje vključuje iskanje bioloških označevalcev glioblastomskih matičnih celic, kar omogoča boljše ciljanje – uporabo učinkovin, ki uničujejo samo te celice. Skupina,



▲ Rast glioblastomskih celic iz koščka tumorja bolnika z glioblastomom. Slikano s svetlobnim mikroskopom pri 40-kratni povečavi. (Foto: Metka Novak)

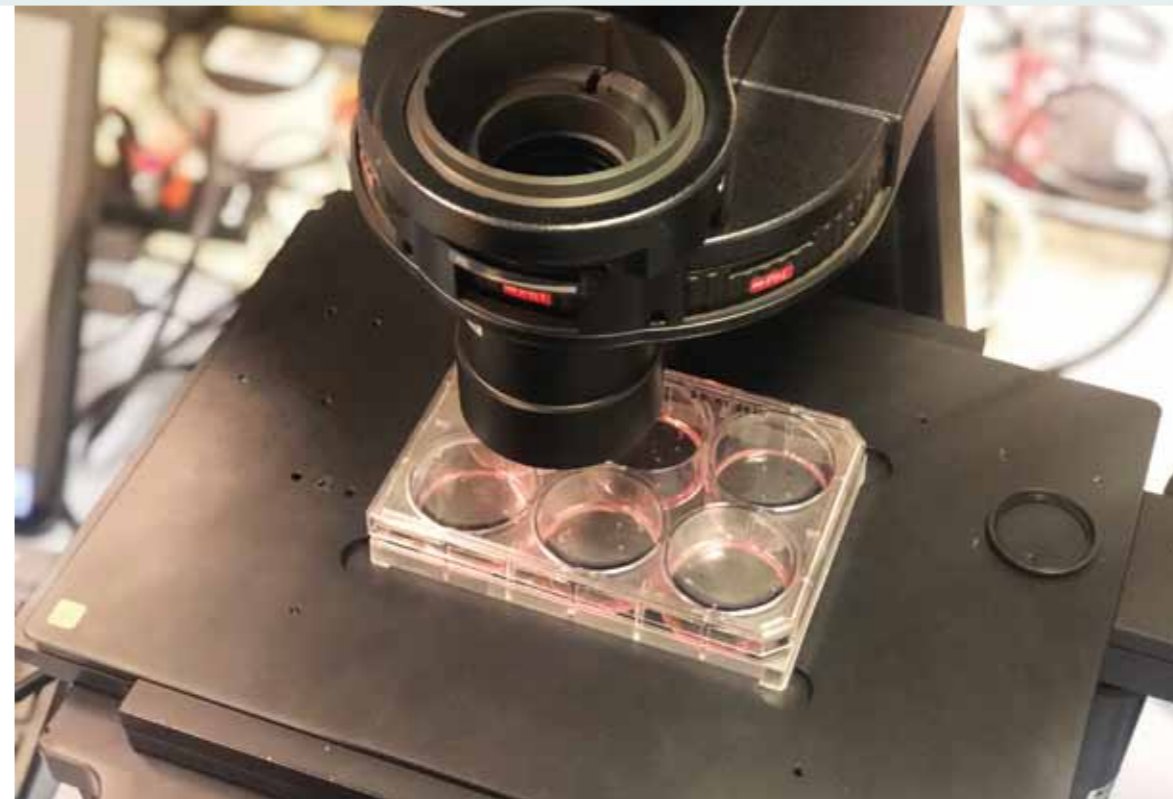
v kateri delujeta, je odkrila zelo specifičen biološki označevalec za glioblastomske matične celice CD9. To je zelo pomembno odkritje, saj predstavlja obetavno tarčo za uničenje proti terapiji odpornih rakavih matičnih celic.

Težava spopadanja z glioblastomom pa je še širša. Tumor sestavljajo rakave in nerakave celice, pomembno pa je tudi okolje, v katerem se tumor nahaja. Tumor si okolje podredi, da le-to dela v njegovo korist. V zvezi z rakom se že okoli 200 let uporablja besedna zveza »seme in prst« (ang. *seed and soil*). Da seme raste, je potrebna dobra prst. Če so rakave celice, predvsem matične rakave celice, seme, potem prst predstavlja organi, v katerih rak nastane, raste in se razvija. Zato je za razumevanje delovanja raka izredno pomembno tudi poznavanje njegovega okolja. V primeru glioblastoma so to možgani in celotno tumorsko mikrookolje. To mikrookolje predstavljajo nerakave celice, kot so stromalne, imunske in še druge celice, ki mu omogočajo rast. Terapija ni uspešna, če je osredotočena le na »seme«, ampak mora posegati tudi v okolico tumorja, v njegov

ščit. Rak namreč poskrbi, da ga njegovo okolje ščiti in mu omogoča napredovanje.

Rakave celice komunicirajo med seboj in z nerakavimi celicami v okolici prek signalnih molekul, ki imajo vlogo prenašalcev sporočil. Mednje spadajo tudi kemokini, ki nadzorujejo komunikacijo ter premikanje rakavih in nerakavih celic v njihovi okolici. Kemokini, ki jih izločajo rakave celice, zavirajo delovanje celic, kot so imunske celice, in s tem povzročijo imunosupresorsko okolje. Pri normalnem stanju bi imunske celice tumor uničile, a ker jih le-ta spremeni, svojega poslanstva ne opravijo. Takšno okolje omogoča širjenje rakavih celic v zdravo možganovino in nastanek zasevkov oz. metastaz.

Med raziskovalnimi vprašanji, ki si jih raziskovalki zastavljata, je tudi vprašanje, kaj se zgodi, če prekineta komunikacijo, ki poteka prek različnih kemokinov med tumorjem in različnimi celicami v okolici. Bo tumor prenehal rasti in se širiti v normalno tkivo, ko ne bo več mogel usmerjati delovanja okoliških celic? Se bo tumor zmanjšal?



▲ Opazovanje rasti glioblastomskih organoidov pod posebnimi pogoji s svetlobnim mikroskopom. (Foto: Bernarda Majc)

Tako sta preskusili maraviroc. To zdravilo se uporablja pri ljudeh z virusom HIV, kjer prepreči vstop virusa v imunske celice, ki prav tako izločajo kemokine. Vendar raziskovalki poudarjata, da je potrebnih še precej raziskav, ki bi potrdile dejansko učinkovitost tega zdravila tudi za terapijo glioblastoma. Tumorsko mikrookolje je izredno heterogeno, kompleksno in dinamično. Pri inhibiranju delovanja določenih tarčnih molekul ali neke funkcije molekule lahko le-to prevzame neka druga molekula. Prav tako tudi opozarjata, da bi to lahko bil le del v mozaiku terapevtskih ukrepov, saj je za uspešno zdravljenje raka največkrat potrebna kombinacija operativnega posega, obsevanja, kemoterapevtikov in tarčnih zdravil.

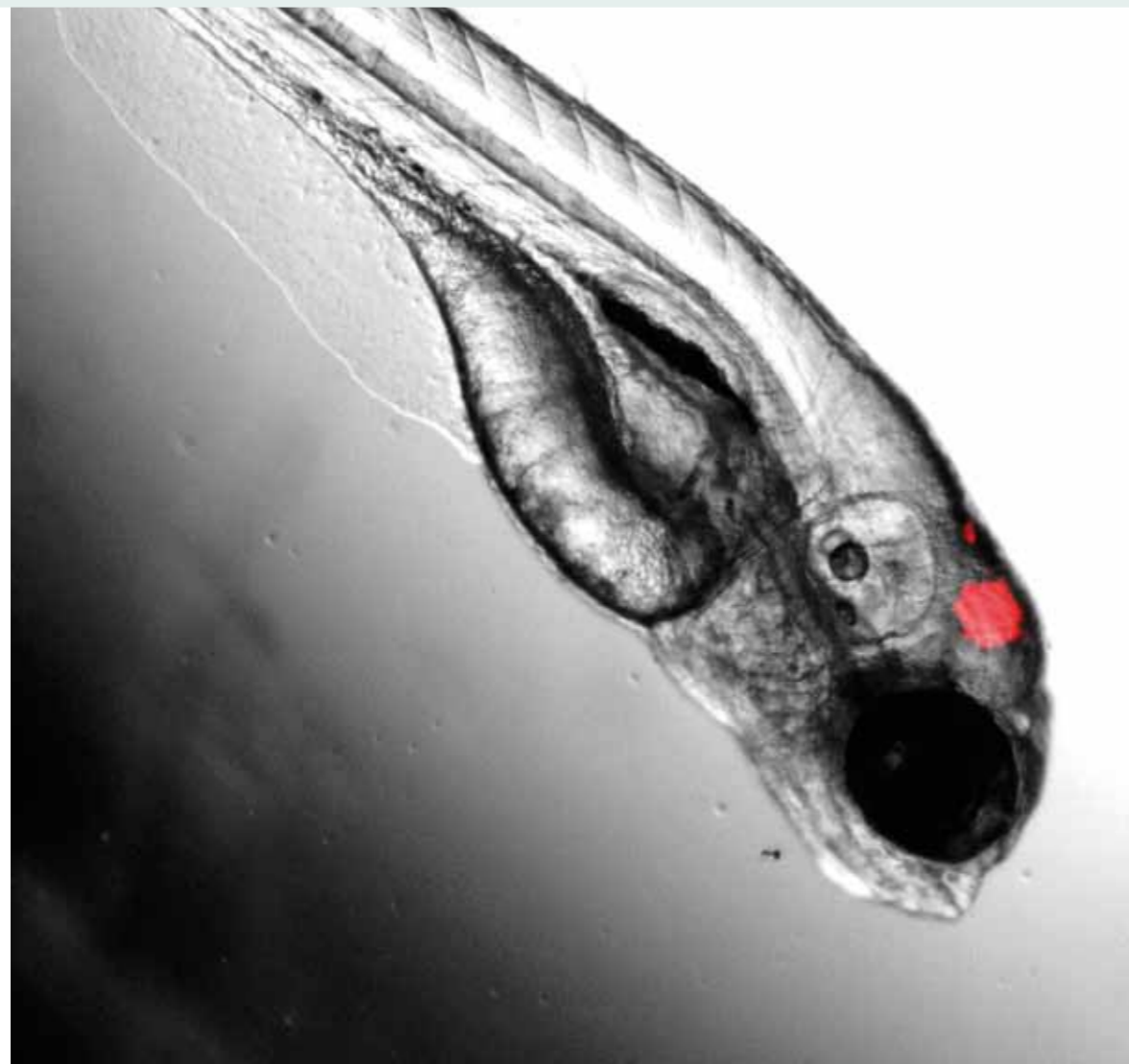
Pri iskanju načina, ki bi izboljšal učinkovitost terapije glioblastoma, NIB sodeluje tudi s Kliničnim oddelkom za nevrokirurgijo UKC Ljubljana. Od tu dobiva vzorce tumorjev, ki jih operativno odstranijo bolnikom. Iz koščka tumorja pridobijo rakave celice, na katerih potem proučujejo delovanje in učinkovitost različnih

novih protirakavih učinkovin ter standardne terapije.

Na prelomu tisočletja so se začele v raziskavah raka postopoma uveljavljati tridimenzionalne celične kulture, ki izvirajo iz rakavih matičnih celic. Slednje tvorijo celični model, ki posnema zgradbo in značilnosti primarnega tumorja. To je model, ki utira pot v uspešnejši razvoj zdravil in v smer medicine po meri posameznika.

Raziskovalki se ukvarjata z razvojem tridimenzionalnih modelov, glioblastomskih organoidov. Organoid je nekakšen poenostavljen, miniaturni organ in kot tak dokaj dober približek resničnega tumorja. Preskušanje novih in že znanih protirakavih snovi in obsevanja, ki bi lahko uničili rakave celice, je na organoidih veliko ustrežnejše, saj vsebujejo matične in zrele rakave celice ter vse tisto, kar pravi tumor obdaja (njegovo okolje), kot so imunske celice, zdrave stromalne celice, žilice ...

Uporaba organoidov pri raziskavah, namenjenih za zdravljenje raka, bi lahko odpravila vrzel med



▲ Spremljanje rasti možganskega tumorja v zarodku ribe cebrice (*Brachydanio rerio*). Tumorske celice so obarvane rdeče. Slikano s fluorescentnim mikroskopom pri 40-kratni povečavi. (Foto: Metka Novak)

živalskimi modeli in kliničnimi študijami zdravi ljudi. To bi omogočilo hitrejše, bolj ciljno usmerjene klinične raziskave, zmanjšanje stroškov in povečanje uspešnosti raziskav. Od predkliničnih raziskav neke učinkovine, ki bi potencialno lahko postala zdravilo, pa do zaključene faze kliničnega testiranja na ljudeh namreč običajno mine okoli deset let. Ta postopek uspešno prestane le okoli en odstotek prva obetavnih učinkovin.

Poleg preskusov na organoidih opravljata Novakova in Majčeva tudi testiranja potencialnih protirakavih učinkovin na zarodkih rib cebric. Ti so zelo primeren *in vivo* model za proučevanje

napredovanja raka in preskušanje novih protirakavih terapij. Zarodki cebric so namreč prozorni in omogočajo zelo dobro vizualizacijo celičnih procesov. Tako lahko preprosto z mikroskopom opazujeta, kako se rakave celice delijo in razraščajo po njihovi vsaditvi v možgane zarodkov cebric. Poleg tega imajo cebrice že razvite možganske celice in strukturo možganov, ki dobro posnema mikrookolje tumorja pri človeku.

Podobno ambiciozna želja, kot je omenjeni razvoj glioblastomskih organoidov, je vzpostavitev njihove biobanke. Raziskovalki pojasnjujeta, da bi tako shranjene modele organoidov lahko

uporabljali v vseh nadaljnjih študijah glioblastoma. Za druge tipe raka, kot je rak dojke, banke, v katerih je mogoče kupiti preskusne modele in na njih izvajati raziskave, v svetu že obstajajo. NIB, ki ima kot rečeno dobre povezave z Oddelkom za nevrokirurgijo v Ljubljani,

Inštitutom za patologijo v Ljubljani, povezuje pa se tudi z Inštitutom za biokemijo na ljubljanski Medicinski fakulteti in Onkološkim inštitutom, ima že zdaj temelje za obširno biobanko (t. i. gliobanko), saj že od leta 2012 zbirajo tkivne vzorce glioblastomskih tumorjev.



▲ Raziskovalci po vsem svetu si neutrudno prizadevajo razviti nove tehnologije in nove terapevtske pristope, ki bi pripomogli k boljšemu razumevanju raka možganov in izboljšanju preživetja bolnikov s to smrtonosno boleznijo. K temu velikemu cilju stremita tudi raziskovalki dr. Metka Novak (levo) in Bernarda Majc (desno). (Foto: osebni arhiv)

RAZNOLIKOST MNENJ

MATJAŽ NOVAK

Ostanki citostatikov v okolju



▲ Ekološko kmetovanje in globalna znanost sta za Matjaža Novaka zmagovalna kombinacija. (Foto: osebni arhiv)

Citostatiki, skupina zdravil, ki se uporablja za zdravljenje raka, so bili do nedavnega v ocenah tveganja za okolje skoraj popolnoma spregledani. Glavni razlog so bile majhne zaužite količine teh zdravil in posledično prepričanje, da so njihove koncentracije v okolju izredno nizke. Zato se je predvidevalo, da ne predstavljajo posebnega tveganja. A to prepričanje se kaže kot zmotno. S problematiko ostankov citostatikov v okolju in njihovimi škodljivimi učinki nanj s poudarkom na genotoksičnosti (sposobnosti poškodovanja dednega materiala) se je v svoji disertaciji ukvarjal dr. Matjaž Novak. Leta 2018 je zanj prejel nagrado NIB-a, poimenovano po prof. dr. Miroslavu Zeiu, pobudniku ustanovitve Inštituta. Z raziskavami citostatikov nadaljuje, saj je njihova poraba zaradi naraščanja pogostosti rakavih obolenj, drugega najpogostejšega vzroka smrti, iz leta v leto večja. To pomeni tudi naraščanje vnosa citostatikov v okolje. Nekatere meritve so ta trend že dokazale. Gre za problematiko, ki je le slabo raziskana in si v prihodnje nedvomno zasluži več pozornosti.

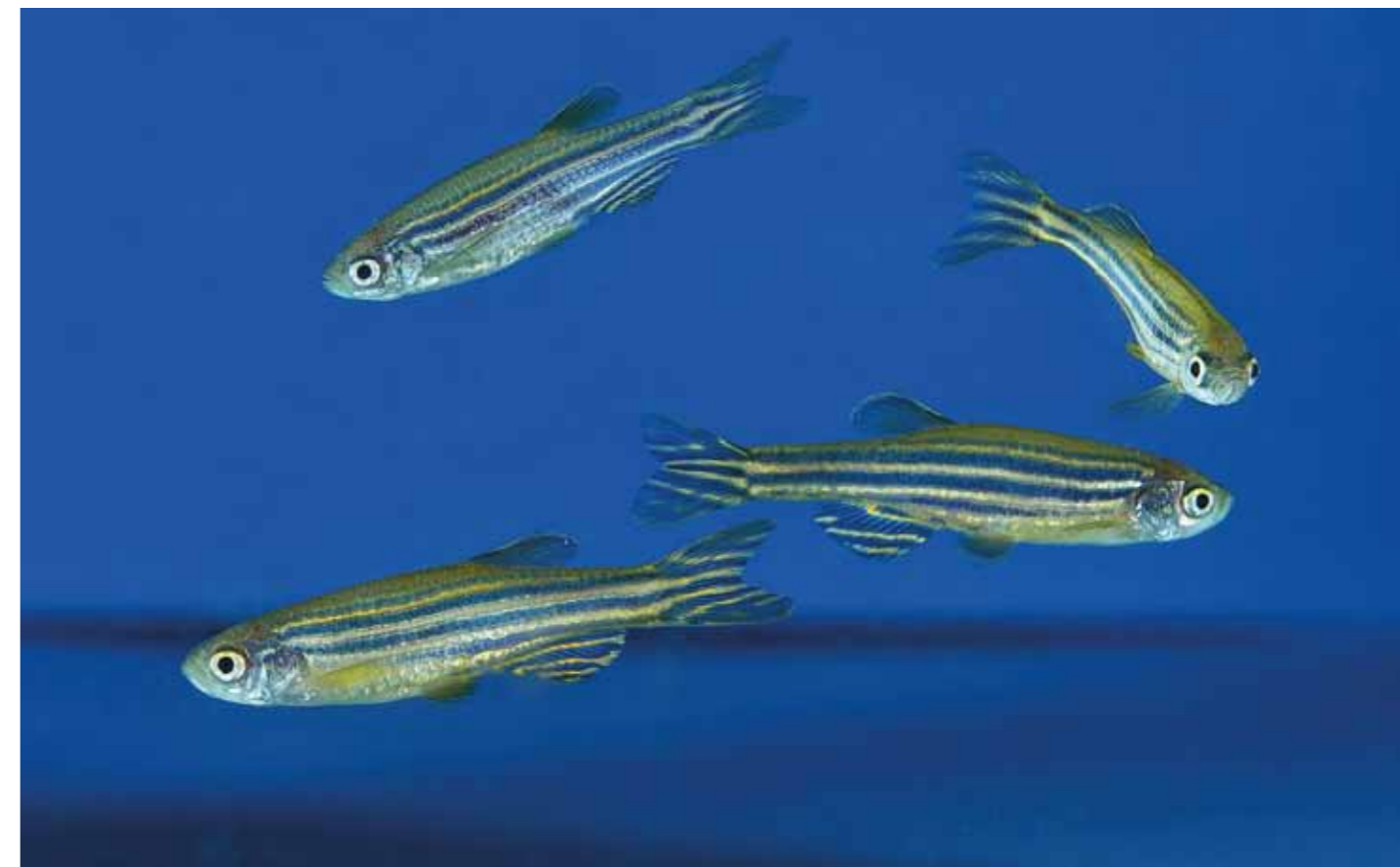
Kako pridejo ostanki citostatikov v okolje?

► Citostatiki se, podobno kot ostala zdravila, po uporabi iz telesa zdravljenega osebe izločijo z urinom in blatom. V izločkih je mešanica nespremenjene učinkovine in njenih različnih metabolitov. Tako pristanejo v mešanih in/ali bolnišničnih komunalnih odplakah, ki se prek komunalnih čistilnih naprav iztekajo v okolje, največkrat reko. Funkcija se spremeni in prej zdravila v okolju postanejo onesnaževala. S tem predstavljajo potencialno nevarnost za vse posredno izpostavljene okoljske organizme. Do nedavnega je bilo zelo malo znanega o njihovem pojavljanju oziroma prisotnosti v okolju, predvsem pa je bilo zelo malo informacij o učinkih na okolje. Obstoječe študije so potrdile njihovo prisotnost ne le v odpadnih vodah, ampak tudi v površinskih vodah, jezerih in rekah.

Zakaj pa so bili citostatiki v raziskovalnem smislu tako zapostavljeni?

► To je bila predvsem posledica precej nižjih zaužitih količin v primerjavi z nekaterimi drugimi skupinami zdravil (npr. antibiotiki, protivnetna in protibolečinska zdravila) in posledično izredno nizkih pričakovanih koncentracij v okolju. To je vodilo do zmotnega prepričanja, da pri teh nizkih koncentracijah najverjetneje ne predstavljajo tveganja za okolje. Ker so pričakovali najvišje koncentracije v bolnišničnih odplakah, so se prve raziskave osredotočile na te odpadne vode. Šele kasnejši napredek v analitski kemiji in razvoj občutljivejših metod sta omogočila merjenje prisotnosti teh snovi v površinskih vodah, v katerih se običajno pojavljajo pri tudi do tisoč- in večkrat nižjih koncentracijah.

▼ Cebrice (*Brachydanio rerio*), priljubljene akvarijske ribice, so tudi izjemno pomemben modelni organizem za vretenčarje v različnih znanstvenih raziskavah, vključno z raziskavami ostankov citostatikov v okolju. (Foto: Davorin Tome)





▲ Analize učinkov v realnem okolju odvzetih vzorcev bolnišničnih ali komunalnih odplak potekajo v laboratorijskih razmerah. (Foto: arhiv NIB-a)

Komunalne odplake se prek čistilnih naprav iztekajo v okolje. Ali te ne morejo iz njih odstraniti ostankov citostatikov?

► Popolnoma odstraniti jih je skoraj nemogoče, kajti praviloma gre za izredno obstojne molekule. Ravno lastnosti, kot sta slaba biorazgradljivost in visoka hidrofilitnost, ki jim omogočajo, da imajo v pacientovem telesu podaljšan zdravilni učinek, jih delajo odporne tudi proti postopkom čiščenja, ki se uporabljajo v klasičnih čistilnih napravah. Zato te niso sposobne popolnoma odstraniti teh zdravil ali pa jih odstranijo le deloma in tako nazadnje pristanejo v vodnem okolju. Biološka razgradnja citostatikov z mikroorganizmi v aktivnem blatu klasičnih čistilnih naprav je relativno slaba, kadar pride do biološke razgradnje, pa ni nujno, da te snovi razpadejo v produkte, ki so za posredno izpostavljene okoljske organizme manj nevarni.

Zavedati se moramo, da ostanke citostatikov in zdravil na splošno sestavlja kompleksna mešanica nemetabolizirane izvorne učinkovine (aktivna sestavina zdravila, ki je odgovorna za farmakološki učinek) in njenih metabolitov, ki so posledica razgradnje učinkovine v pacientovem telesu. Ko te snovi pristanejo v okolju, pa lahko zaradi delovanja različnih mikroorganizmov ali kemijsko-fizikalnih dejavnikov (svetloba, temperatura ...) iz njih nastanejo še t. i. transformacijski proizvodi. Razmerje med temi snovmi je lahko zelo različno in je v največji meri odvisno od tipa izvorne učinkovine (citostatika) in od pogojev v okolju (sezonska dinamika). Razlike so tudi v njihovi biološki aktivnosti oziroma škodljivih posledicah za posredno izpostavljene okoljske organizme. V določenih primerih so se metaboliti izkazali celo za bolj škodljivi kot izvorne učinkovine. Na žalost pa so škodljivi

učinki metabolitov in transformacijskih proizvodov v primerjavi z izvornimi učinkovinami izredno slabo raziskani, pri čemer ne smemo pozabiti, da tudi o slednjih ne vemo prav veliko.

Naj se zadržimo še pri vprašanju, od kod citostatiki prihajajo v okolje. Omenili ste pričakovano najvišje koncentracije v odplakah iz bolnišnic. Ali so prisotni tudi v drugih odplakah, a manj koncentrirani?

► Sprva so za primarni vir vnosa res veljale bolnišnične odpadne vode, v katerih se načeloma citostatiki pojavljajo v višjih koncentracijah, vendar pa je to povsem odvisno od tipa citostatika. Pacienti so bili včasih hospitalizirani in so daljše obdobje preživeli v bolnišnicah, tako da so večino ostankov izločili v bolnišnici. Vendar se je to v zadnjih 15 letih močno spremenilo. Zaradi pojave novih tipov citostatikov, ki se lahko uporabljajo daljše obdobje in se zaužijejo v obliki tablet, se je zdravljenje bolnikov v glavnem preselilo v domačo oskrbo. Posledično so mešane komunalne odplake postale pomembnejši vir vnosa teh zdravil v okolje. S tem pa je vnos tudi precej bolj razpršen.

Kako pa je s sinergijskimi učinki različnih citostatikov, ki pridejo v okolje?

► Trenutno je na voljo nekaj več kot 260 citostatikov, ki se uporabljajo za zdravljenje različnih tipov raka in se med sabo razlikujejo po mehanizmu delovanja, s katerim ubijajo rakave celice. Zaradi teh razlik v delovanju tudi predstavljajo različno tveganje za posredno izpostavljene organizme. V določenih primerih se pri zdravljenju uporablja kombinacija več različnih citostatikov hkrati. Kakorkoli: v zadnji fazi vsi ostanki teh zdravil končajo v okolju. Organizmi so zato izpostavljeni kompleksni mešanici vseh citostatikov, ki se uporabljajo v določenem času na določenem mestu. Glede na mehanizem delovanja lahko nekatere skupine citostatikov, ko se pojavljajo v kombinaciji, predstavljajo večje tveganje kot posamezne spojine. To je zelo realen problem, ki pa ga je izredno težko proučevati tudi zato, ker je možnih kombinacij ogromno in je nemogoče testirati vse. Če k temu dodamo še

ostala onesnaževala (težke kovine, fitofarmaceutske pripravke, endokrine motilce ipd.), ki so prav tako prisotna v okolju, je lahko tveganje še večje, vendar je podatkov o tem izredno malo.

Se raziskovalci vendarle lotevate tudi takih raziskav?

► Ker se zavedamo resnosti te problematike, smo se v svojih raziskavah res lotili tudi tega. V prvi študiji smo proučevali učinke kompleksne mešanice, sestavljene iz štirih najpogostejše zaznanih citostatikov pri njihovih najvišjih izmerjenih koncentracijah v odpadni vodi Onkološkega inštituta v Ljubljani. V tej študiji smo dokazali, da ta kompleksna zmes, sestavljena iz dejanskih izmerjenih koncentracij v odpadnih vodah, povzroči poškodbe DNK v izpostavljenih ribjih celicah *in vitro*. Ko smo testirali posamezne citostatike pri istih koncentracijah, kot so bili v kompleksni zmesi, poškodb DNK nismo zaznali oziroma smo jih zaznali pri veliko višjih koncentracijah.

” Z novimi tipi citostatikov se je zdravljenje bolnikov z rakom v glavnem preselilo v domačo oskrbo. Zato so mešane komunalne odplake postale pomembnejši vir vnosa teh zdravil v okolje od bolnišničnih odplak.

V naslednji študiji smo testirali realne okoljske vzorce, in sicer bolnišnične in komunalne odplake pred in po iztoku v čistilno napravo v Sloveniji in Španiji. Pri tem smo upoštevali sezonsko dinamiko; vzorčenje in testiranje smo opravili januarja in junija. Zanimalo nas je, ali lahko te odpadne vode povzročijo akutne ali kronične učinke pri izpostavljenih vodnih bolhah ter genotoksične učinke (poškodbo dednega materiala, DNK in kromosomov) pri izpostavljenih višjih rastlinah in ribjih jetrnih celicah. To smo preverjali v kontroliranih laboratorijskih pogojih. Hkrati pa smo na istih vzorcih odpadnih voda opravili tudi kemijske meritve, kjer smo določali prisotnost 22 aktivnih učinkovin, njihovih metabolitov in transformacijskih proizvodov citostatikov. Rezultati te raziskave, pri



▲ Reke so pogosto na pogled lepe, ohranjene in čiste, a so v njih lahko tudi ostanki zdravil, ki imajo na žive organizme negativne učinke. Na fotografiji Sava pri Brestanici. (Foto: Davorin Tome)

kateri smo sodelovali s kolegi iz Španije, Italije in Avstrije, so pokazali, da vzorci odpadne vode iz Slovenije vsebujejo načeloma višje koncentracije citostatikov na vseh vzorčnih mestih, in sicer neodvisno od sezone. Najbolj obremenjena je bila bolnišnična odpadna voda iz Onkološkega inštituta v Sloveniji, najnižje količine pa so bile po pričakovanih izmerjene na iztoku iz čistilne naprave.

Kakšne pa so bile ugotovitve glede učinkov na vodne bolhe, rastline in ribje celice?

► Toksikološke študije so pokazale, da testirane odpadne vode povzročijo akutne in kronične učinke na izpostavljenih vodnih bolhah ter poškodbe kromosomov pri višjih rastlinah (tradeskancija in čebula). Pri jetrnih celicah rib pa povzročajo poškodbe DNK. Posledično lahko te odpadne vode predstavljajo tveganje za okolje, čeprav so koncentracije za posamezne citostatike izredno nizke, tudi za več tisočkrat nižje od tistih, ki povzročajo biološke učinke, ko jih testiramo posamezno. To nakazuje na možno sinergistično delovanje, ko se pojavijo hkrati v okolju. Zanimivo je tudi, da smo

zanimajo, prisotne v preiskovanem vzorcu in v kakšnih koncentracijah. Problem teh analiz pa je njihova občutljivost. Namreč: določena onesnaževala, kot so citostatiki, se pojavljajo v okolju v izredno nizkih koncentracijah, lahko celo pod mejo detekcije, kar lahko privede do zmotnega zaključka, da ti v okolju sploh niso prisotni. Take vrste študij nam tudi ne podajo informacij o morebitnih stranskih učinkih na posredno izpostavljenih okoljskih organizmih. Za to vrsto odgovorov so potrebne biološke študije, v katerih za razliko od kemijskih analiz proučujemo dejanske biološke učinke na testiranih celicah ali organizmih. Rezultati bioloških študij nam torej povejo, kakšne posledice ima izpostavitve določenim snovem ali realnim vzorcem na izbran živi sistem. Kemijske analize tudi ne podajo odgovorov na vprašanje, kakšni so biološki učinki v primeru hkratne izpostavitve več onesnaževalom, ki so sicer znotraj dopustnih meja ali celo pod mejo detekcije, oziroma kaj se dogaja s posameznim onesnaževalom v prehranjevalni verigi.

Kako torej raziskujete dejanske biološke učinke onesnaževal?

► Prisotnost onesnaževal in predvsem njihove posledice prisotnosti v nekem okoljskem vzorcu določamo posredno prek učinka na živi sistem (modelni organizmi in celične kulture v laboratoriju). Ker ne moremo spremljati vseh bioloških učinkov hkrati, se v raziskavah osredotočimo na določene, po navadi take, ki so v povezavi z znanim mehanizmom delovanja snovi, ki jih proučujemo. Velik del citostatikov, tako imenovani klasični citostatiki, izražajo protirakavo delovanje s poškodovanjem dednega materiala rakavih celic. Ker ta genotoksični mehanizem delovanja – poškodba genetskega materiala – ni dovolj specifičen, citostatiki prizadenejo tudi pacientove normalne celice, predvsem tiste, ki se hitro delijo. To se odraža v obliki dobro znanih stranskih učinkov terapije – slabokrvnosti, zmanjšani reproduktivni sposobnosti, slabosti, bruhanju, odpadanju las, celo v pojavljanju sekundarnih tumorjev ... Ko ostanki citostatikov dosežejo vodno okolje, pa lahko teoretično prizadenejo DNK posredno izpostavljenih okoljskih organizmov. Ker za genotoksične kemikalije ni praga delovanja, saj je za nastanek raka

» Prisotnost onesnaževal in predvsem posledice njihove prisotnosti v nekem okoljskem vzorcu določamo posredno prek učinka na živi sistem (modelni organizmi in celične kulture v laboratoriju).

ugotovili korelacijo med zaznanimi citostatiki (njihovimi koncentracijami) in biološkimi učinki. Seveda pa je v teh odpadnih vodah ogromno drugih ostankov zdravil in ostalih onesnaževal, ki jih nismo vključili v kemijske analize in so lahko doprinesli k opazovanim škodljivim učinkom.

Zakaj kemijske analize niso dovolj za oceno tveganja določenih onesnaževal, kot so tudi citostatiki, za okolje?

► V primeru kemijskih analiz dobimo podatke, ali so določene snovi, ki jih iščemo oziroma nas

dovolj ena »prava« mutacija (mutacija, ki vodi v nekontrolirano rast in delitev celic ter se prenaša na naslednje generacije celic), so za posredno izpostavljene organizme lahko potencialno nevarne že izredno nizke koncentracije. Izjemno problematična pa je kronična, dolgotrajnejša izpostavitve posameznega organizma ali izpostavitve prek več generacij. Kar velja tudi za nizke koncentracije, pri katerih se pojavljajo citostatiki v okolju. To smo potrdili z raziskavo, v kateri smo ribe cebrice za pol leta prek dveh generacij izpostavili nizkim koncentracijam 5-fluorouracila, zelo razširjenega citostatika. Rezultati so pokazali, da tako nizke koncentracije ne povzročijo smrtnosti rib niti v primeru kronične izpostavitve. Povzročijo pa poškodbe genetskega materiala, histopatološke spremembe jeter in ledvic ter spremembe v izražanju genov, povezanih z odgovorom na DNK poškodbe druge generacije rib. To pa se lahko dolgoročno odraža na vitalnosti celotne populacije rib.

» Nujne so predvsem raziskave kronične izpostavitve pri nizkih koncentracijah, ki so blizu tistim, ki jih pričakujemo v okolju, in raziskave, v katere so vključene okoljsko relevantne mešanice onesnaževal.

Zdravilo proti raku torej lahko zaradi mehanizma delovanja, s katerim ubija rakave celice, povzroči tudi nastanek raka?

► Tako je. Kot že prej omenjeno, določeni citostatiki ubijejo rakave celice tako, da povzročijo poškodbe genetskega materiala in ko je teh poškodb preveč, celica umre. Ker se rakave celice delijo hitreje od normalnih (to je lastnost, ki jih dela rakave), so te tudi bolj prizadete. Ker pa mehanizem genotoksičnosti ni dovolj specifičen, ta zdravila prizadenejo tudi druge, normalne celice, saj imajo te prav tako DNK, le da jih na splošno prizadenejo v manjšem obsegu. Izjema so celice, ki se, tako kot rakave, hitro delijo – lasni mešički, sluznica, krvne in spolne celice. Zato imajo ti klasični citostatiki toliko hudih stranskih učinkov. Mnoga izmed teh zdravil Mednarodna agencija za raziskave raka

(IARC, International Agency for Research on Cancer) klasificira kot genotoksična, mutagena, teratogena in celo kancerogena – torej lahko sama po sebi povzročajo nastanek raka. Vendar je v primeru rakavih bolnikov razmerje med tveganjem za nastanek sekundarnega raka in zdravljenjem v korist zdravljenja. Je pa nujno treba minimizirati možnost izpostavitve zdravih ljudi, kot so zdravstveni delavci, ki delajo s temi zdravili in pacienti pa tudi svoji pacientov.

Kaj pa nova, tarčno delujoča zdravila, ki so v uporabi zadnja leta? So ta kaj manj škodljiva kot klasični citostatiki, ki so v uporabi že desetletja?

► V zadnjih 15 letih je res prišlo do močnega razmaha citostatikov z bolj tarčnim mehanizmom delovanja, ki s precej večjo selektivnostjo napadajo rakave celice. Ker zato manj prizadenejo pacientove normalne celice, imajo tudi manj stranskih učinkov. Eden izmed prvih predstavnikov na trgu te vrste je imatinib mezilat, ki spada v skupino tirozin kinaznih inhibitorjev. Ta skupina citostatikov zavira delovanje mutiranih kinaz, ki so odgovorne za nekontrolirano rast rakavih celic, ki pa jih normalne celice ne izražajo. Zato ta skupina citostatikov načeloma ne povzroči okvar dednega materiala in se šteje za varnejšo. V svojih raziskavah pa smo dokazali, da določeni predstavniki te skupine zdravil vendarle lahko povzročajo poškodbe dednega materiala v ribjih in človeških jetrnih celicah *in vitro*, čeprav načeloma v manjši meri kot klasični (genotoksični) citostatiki. Dokazali smo tudi, da imajo lahko drugačne stranske učinke, in sicer lahko delujejo kot motilci endokrinega sistema in cirkadianega ritma pri kronično izpostavljenih ribah.

Vse to kaže, da je ne glede na tip onesnaževala potreben celovitejši pristop k problematiki, kar bo omogočilo realnejšo oceno tveganja za okolje. Predvsem so nujne raziskave kronične izpostavitve pri nizkih koncentracijah, ki so blizu tistim, ki jih pričakujemo v okolju, in raziskave, v katere so vključene okoljsko relevantne mešanice onesnaževal. Poleg klasičnih ekotoksikoloških parametrov, kot so rast, razvoj in preživetje, je treba nujno vključiti tudi bolj specifične molekularne markerje; DNK in kromosomske poškodbe, izražanje genov, vezanih s specifičnim mehanizmom delovanja ipd.



▲ Onesnaževala lahko povzročajo tudi kromosomske nepravilnosti, kot so mostički v času mitoze, vidni v deleči se celici koreninskega vršička čebule. (Foto: Erika Glasenčnik)

Glede na vse povedano bi bilo treba poskrbeti, da bi bilo ostankov citostatikov v okolju čim manj. Kako bi bilo to mogoče doseči?

► Vsekakor bi morali biti bolj previdni, kajti nevarnost za posredno izpostavljene ljudi in okoljske organizme je že dokazana. Trenutne koncentracije v okolju so izredno nizke, zato je vsakršna panika odveč. Ker pa uporaba teh zdravil močno narašča, lahko ob neukrepanju to sčasoma postane problem. Predvsem, če pomislimo, koliko onesnaževal je še hkrati prisotnih v okolju in med katerimi interakcij sploh ne poznamo. Zato bi bilo že zdaj smiselno delovati v smeri zmanjšanja vnosa teh zdravil v okolje, za kar pa so potrebni sistemski ukrepi. K temu bi močno prispevala gradnja ustreznih čistilnih naprav. Takih, ki bi bile sposobne odstraniti te stabilne snovi ali vsaj zmanjšati njihove količine,

preden dosežejo okolje. V zadnjem času je kar nekaj študij, ki se ukvarjajo s testiranjem različnih naprednih tehnik oksidacije (ozon, UV obsevanje) in filtracije. Nekatere so se izkazale za bolj, druge za manj učinkovite. Seveda pa je, kot vse ostalo v naši družbi, pomembno vprašanje ekonomičnosti. Načeloma gre za precej dražje postopke, kot se trenutno uporabljajo v čistilnih napravah. Kratkoročno torej verjetno ni mogoče pričakovati konkretnih sprememb. Morda bi bila še najbolj preprosta rešitev prenosna kemična stranišča, ki bi jih uporabljali pacienti. Njihova vsebina, ki bi je bilo precej manj kot v primeru mešanih komunalnih odpadkov, bi se lažje uničila na primeren način. Vsekakor pa je treba opozarjati, da se ta zdravila, kot tudi nobena druga, ne smejo vreči v smeti ali školjko, ampak le v za to namenjena zbirališča, kjer se nato ustrezno uničijo.

Kakšna je potencialna uporabna vrednost vaših raziskav? Kako bodo njihovi izsledki koristili ljudem?

► Rezultati naših raziskav so uporabni oziroma bodo uporabni za namene regulative; nanje se bodo lahko oprli odločevalci pri sprejemanju zakonodaje. Vsekakor je potrebnih več raziskav, v katerih bodo različne raziskovalne skupine na različnih ravneh (molekularni, celični, organizmi iz različnih trofičnih ravni) raziskovale potencialne škodljive učinke citostatikov na netarčne, posredno izpostavljene okoljske organizme in zdrave ljudi (bolnišnično osebje, svoji pacienti), merile prisotnost citostatikov v delovnem okolju medicinskega osebja, v površinskih vodah in celo v pitni vodi. Šele na podlagi dovolj kakovostnih raziskovalnih podatkov bodo lahko regulatorne institucije, seveda če bodo rezultati kazali v to smer, sprejele ukrepe, ki bi vodili do zmanjševanja ostankov teh zdravil v okolju – podobno kot so večletne raziskave pokazale na škodljive učinke fitofarmaceutskih snovi, antibiotikov in endokrinih motilcev v okolju. Zato si ta tematika zasluži nadaljnjo raziskovalno pozornost. S svojimi študijami dodajamo kamenček v velik, za zdaj le slabo poznan mozaik razumevanja problematike ostankov citostatikov v okolju.

Onkraj obzorij

” **Stoletje, katerega petina je že pretekla, je stoletje bioznanosti. Nacionalni inštitut za biologijo bo v lovu za znanjem tu imel pomembno vlogo in družbi predstavljal svetilnik pri krmarjenju med številnimi čermi Napredka po zahtevni poti Trajnosti, edini poti, ki človeštvu dolgoročno omogoča preživetje.**



Kako bomo to dosegli? Največjo prepreko smo že preskočili, ko smo v začetku leta 2020 podpisali pogodbo za financiranje gradnje Biotehnološkega stičišča NIB iz kohezijskih skladov. To nam zagotavlja, da se bodo ljubljanski deli naših infrastruktur leta 2023 vselili v nove, moderne prostore, ki jih tako krvavo potrebujemo. Naslednja prepreka, ki jo bo treba premagati, je zagotovitev nove raziskovalne opreme, ki nam bo po eni strani omogočala stik z znanstvenim vrhom na mednarodni sceni in po drugi strani dovolj atraktivno opremljene laboratorije, ki bodo privabljali vrhunske raziskovalce. Na NIB-u je trenutno 160 zaposlenih, večinoma raziskovalcev, ki so visoko motivirani (četudi ne finančno; po zaslugi enovitega obravnavanja znanstvenikov v javnem sektorju, kjer trenutno ni posluha za nagrajevanje uspehov). Nadaljnje znanstvene in tehnološke preboje bo mogoče dosegati z načrtnim rekrutiranjem. S svojim renomejem želimo privabiti še več vrhunskih raziskovalcev, ki bodo z nami pisali uspešno zgodbo naprej.

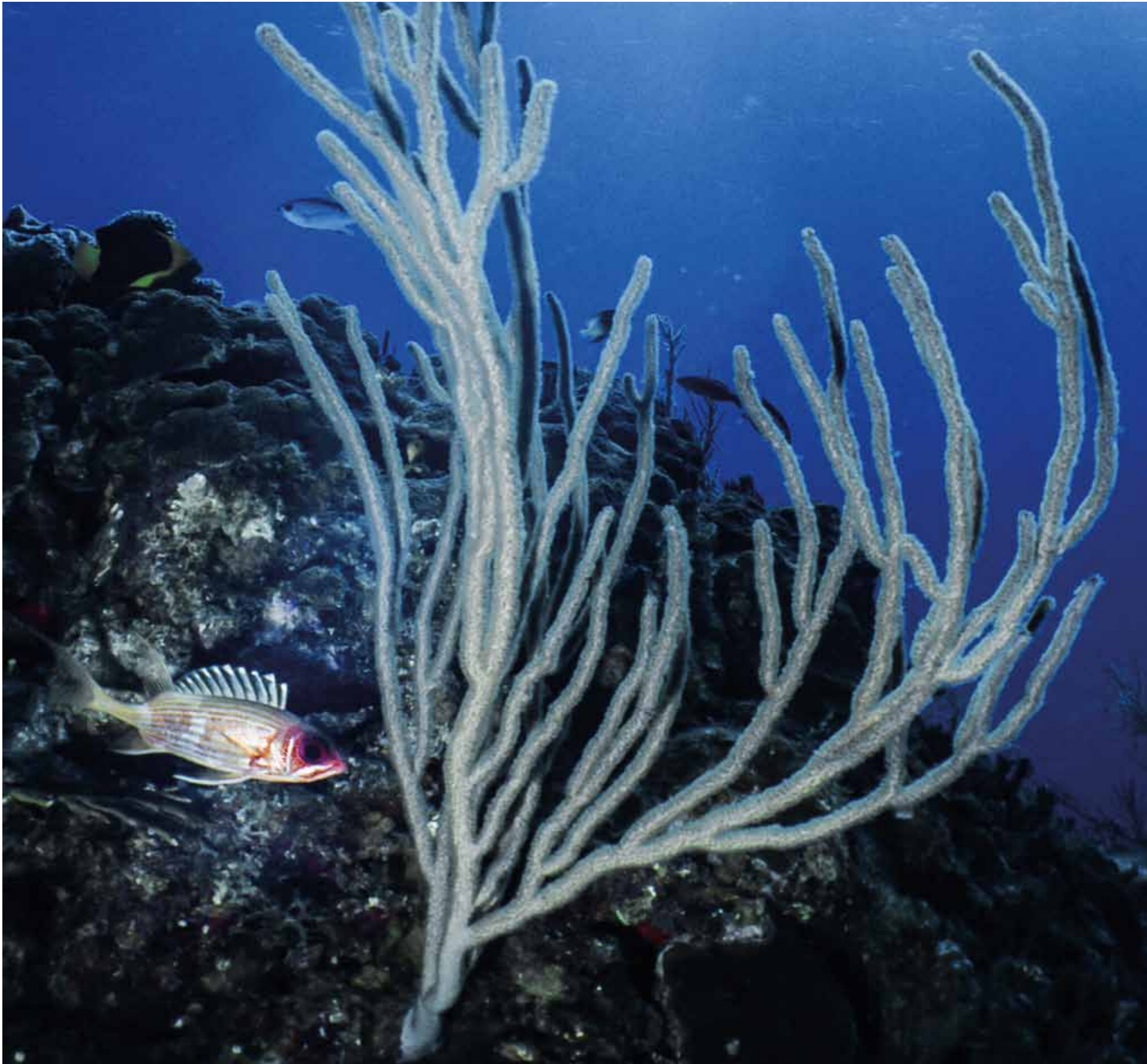
◀ Z raziskovanjem pajkov in njihovih mrež po vsem svetu je Matjaž Kuntner ustvaril svojo lastno mrežo znanja in sodelovanja. (Foto: Luka Svetič)

In kam drvijo biološke znanosti in z njimi NIB? Najbolj aktualni izzivi so povezani z zdravjem človeka in našega okolja. Pandemija t. i. novega koronavirusa, ki je leta 2020 zamajala človeštvo, je primer izziva, na kakršne velja biti pripravljen, saj pandemije vselej preidejo na človeka iz narave, prek našega delovanja in posegov vanjo. Ko omenjamo prihodnost, ki pa je pravzaprav že tu, ne moremo mimo podnebnih sprememb z vsemi posledicami, ki nam pretijo. Za celovito razumevanje takih in še drugih težav človeštva ter uspešno spoprijemanje z njimi je potrebna vrhunska temeljna znanost. Taka, ki združuje biologijo z družboslovjem, modeliranjem in računalniškimi zmogljivostmi. Vendar zgolj multidisciplinarne kompetence niso dovolj. Treba se je tudi otresti antropocentrizma in videti globalne težave z vidika ekosistemov in milijonov vrst živih bitij, ki jih poseljujejo. Naše raziskave, ki obsegajo biodiverzitetne znanosti na vseh ravneh biološke organiziranosti, skupaj s kemijskimi in fizikalnimi zakonitostmi okolja in raznolikih ekosistemov, nudijo prav to. Omogočajo krmarjenje med čermi, ki grozijo človeštvu s samouničenjem.

Svojega pogleda vnaprej ne bi mogel pisati, če se ne bi moji kolegice in kolegi, ki na NIB-u ustvarjajo njegovo sedanost, in tisti, ki so Inštitut pomagali zasnovati ter ga krmariti v preteklosti, maksimalno angažirali znanstveno in osebno. Vsem NIB-ovcem se zahvaljujem, zahvaljujem pa se tudi vsem tistim izven Inštituta, ki podpirajo naš razvoj, ter onim, ki so mi dali možnost vodenja te izjemne ustanove.

Če si dovolim pogled desetletja v prihodnost, vidim NIB kot ne zgolj nacionalni center bioloških znanosti, ampak kot širše regionalno in mednarodno središče. V njem bo ustvarjalo na stotine ljudi vseh starosti in kadri bodo krožili med inštitucijami v Sloveniji in tujini. Z veseljem bodo raziskovali drugod in se še raje vračali v naše okolje. V povezavi z univerzami bo NIB nudil zatočišče najbolj drznim idejam, ki jim velja slediti v iskanju rešitev za nove aplikativne znanstvene preboje ali »le« v iskanju zakonitosti narave. Narava se spreminja in z njo se spreminjamo tudi ljudje. Miselnost mladih me navdaja z optimizmom, da prihaja generacija, ki bo preudarnejša od prejšnjih, ki bo cenila znanje in inovativnost, ki bo znala izkoristiti globalno naravo modernega znanstvenega dela in ne bo vsega prilagajala samo navideznemu napredku. Narava zaobsega vse, estetiko, harmonijo, kompeticijo, predatorstvo. Ohranimo jo takšno tudi naprej. NIB-u želim modro vodenje in srečno plovbo med čermi v zasledovanju ambicioznih znanstvenih ciljev.

Izr. prof. dr. Matjaž Kuntner, direktor NIB-a

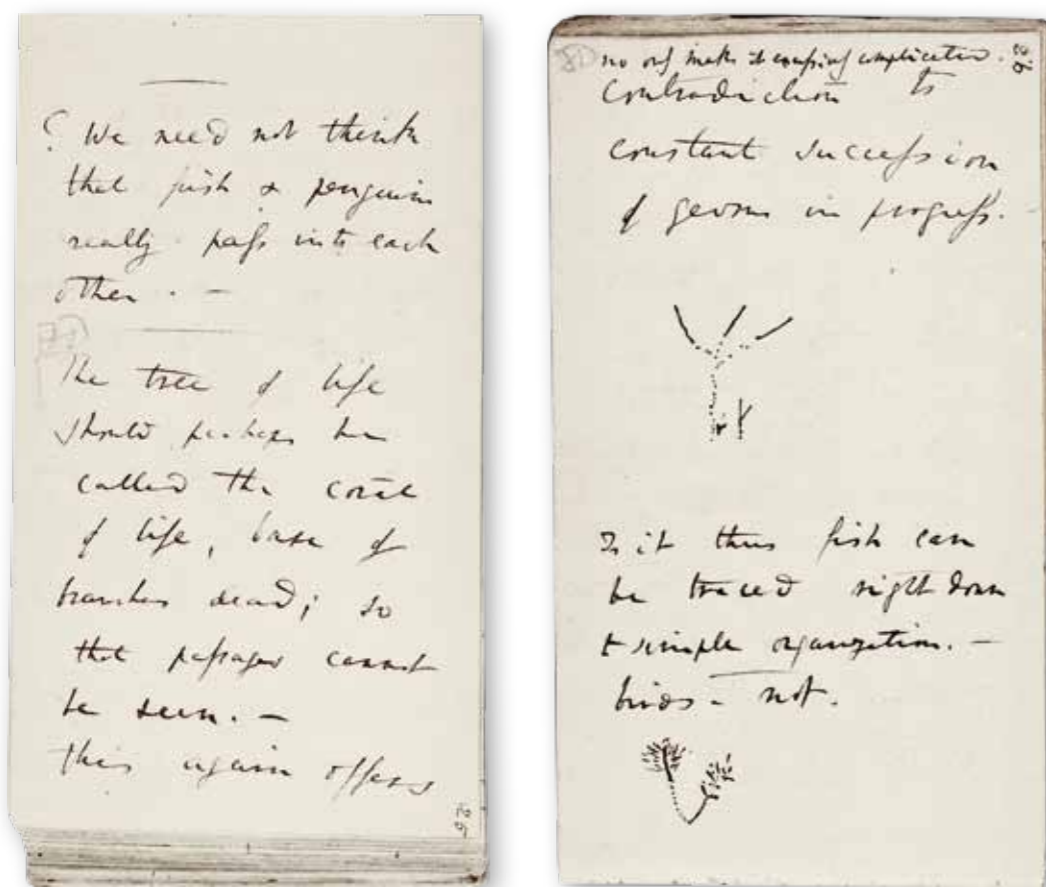


TK Korala življenja

◀ Srečanje s koralami v tropskih morjih na potovanju z ladjo Beagle je Darwina navdihnilo za zamisel o koralni življenja. (Foto: Tom Turk)

99 Veličina tega stališča do življenja z njegovimi različnimi silami, ki so bile prvotno vdihnjene v nekaj oblik ali v eno samo, pa je v tem, da so se iz tako preprostega začetka, medtem ko je naš planet krožil v skladu z ustaljenim zakonom težnosti, razvile in se še naprej razvijajo nadvse lepe in nadvse čudovite oblike.

Charles Darwin, angleški naravoslovec *O nastanku vrst*
(prevod Bogdan Gradišnik)



▲ Razmišljanja o koralnih diagramih v Darwinovem zvezku B.
(Objava z dovoljenjem Cambridge University Library)

Po vrnitvi s potovanja z ladjo Beagle je Charles Darwin predlagal, da bi bilo morda bolje, če bi drevo življenja imenovali koralno življenje. Korala ima odmrta mesta, iz katerih izhajajo razvejitev, odlomljenih delov pa ni videti in je vse skupaj nekako v nasprotju s stalnimi novimi poganjki. Idejo je kasneje opustil, danes pa jo nekateri evolucijski biologi ponovno oživljajo.



NACIONALNI INŠTITUT ZA BIOLOGIJO
NATIONAL INSTITUTE OF BIOLOGY

Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana
T +386 (0)59 232 701
F +386 (0)59 232 715
E tajnistvo@nib.si, www.nib.si