

STRESZCZENIE

Matosiuk Maciej. Hybrydyzacja i introgresja genów między sarną europejską a sarną syberyjską

Specjacja, proces prowadzący do powstania barier izolacji reprodukcyjnej między populacjami oraz pozwalający im zachować genetyczną i fenotypową odrębność, jest od dawna w centrum zainteresowania biologii ewolucyjnej. Gatunki powstałe niedawno często nie mają w pełni wykształconych barier reprodukcyjnych – ich wtórny kontakt może więc prowadzić do krzyżowania się, czyli hybrydyzacji. Hybrydyzacja, poprzez przepływ genów (introgresję) i rekombinację, może zarówno spowalniać bądź zacierać różnicowanie jak i przyspieszać specjację przez adaptacyjną introgresję lub powodować wręcz natychmiastową specjację wskutek allopoliploidyzacji. Historia hybrydyzacji między genetycznie zróżnicowanymi liniami może być bardzo złożona, włączając w to liczne okresy przepływu genów a także asymetrię w kierunku ich przepływu. U zwierząt, mitochondrialny DNA (mtDNA) dziedziczony w linii żeńskiej częściej ulega introgresji aniżeli markery dziedziczone wyłącznie po ojcu lub obojgu rodziców, co prowadzi do asymetrii w introgresji różnych typów markerów (ang. *mito-nuclear discordance*). Badania wskazują także, że utrzymywanie się obcego mtDNA głęboko w obrębie zasięgu drugiego taksonu może mieć charakter adaptacyjny.

Celem mojej rozprawy doktorskiej było określenie istotnych z punktu widzenia biologii ewolucyjnej aspektów hybrydyzacji międzygatunkowej oraz introgresji genów sarny syberyjskiej *Capreolus pygargus* do genomu sarny europejskiej *C. capreolus*: (1) identyfikacja specyficznych gatunkowo linii mtDNA w populacjach sarny europejskiej w Polsce oraz czynników potencjalnie wpływających na ich rozmieszczenie; (2) ustalenie przyczyn, czasu oraz charakteru międzygatunkowej hybrydyzacji – naturalna lub/i antropogeniczna; (3) określenie charakteru introgresji mtDNA (neutralny lub adaptacyjny).

Do realizacji dwóch pierwszych celów posłużyły analizy zmienności sekwencji markerów mtDNA (region kontrolny, cytochrom *b*) oraz związanych z chromosomami płci (SRY, ZFX, DBY4, DBY8) przeprowadzone na próbie 452 osobników pochodzących z 21 populacji sarny europejskiej z Polski i 16 osobników sarny syberyjskiej (**Rozdział I**). Realizując cel trzeci wykonałem porównawczą analizę sekwencji 16 pełnych genomów mitochondrialnych należących do *C. capreolus*,

C. pygargus oraz osobników mieszańcowych sarny europejskiej o mtDNA sarny syberyjskiej (**Rozdział II**). W trakcie tych badań zsekwencjonowałem po raz pierwszy pełny genom mitochondrialny sarny syberyjskiej oraz pierwszy wolny od pseudogenów mitogenom sarny europejskiej.

Analizy dywergencji sekwencji regionu kontrolnego mtDNA wykazały silny podział na dwie linie ewolucyjne odpowiadające gatunkom. Wyklucza to niekompletne sortowanie linii filogenetycznych jako wytłumaczenie zastanej zmienności genetycznej. Przeprowadzone analizy datowania molekularnego wskazują, iż rozdzielenie się specyficznych gatunkowo linii mtDNA w rodzaju *Capreolus* nastąpiło później niż sądzono, bo około 0,81 mln lat temu. Badania struktury genetycznej populacji sarny europejskiej nie tylko potwierdzają obecność mtDNA *C. pygargus* na terenie Polski, dowodzą także, że osobniki hybrydowe są powszechne we wschodniej oraz południowo-wschodniej części kraju. Ich frekwencja w populacjach mieszańcowych wahała się od 7,1% do 50%.

Ważnym wynikiem było zidentyfikowanie relatywnie młodej lecz filogenetycznie odrębnej grupy haplotypów mtDNA sarny syberyjskiej, nie stwierdzonych dotąd w naturalnym zasięgu tego gatunku. Haplotypy należące do tej grupy dominowały wśród badanych hybrydów z Polski. Modelowanie nisz ekologicznych potwierdziło, iż sarna syberyjska mogła okresowo poszerzać zasięg swojego występowania na zachód aż do Europy Środkowej. Taki scenariusz najprawdopodobniej miał miejsce po ustąpieniu ostatniego zlodowacenia, zaś kontakt między gatunkami nastąpił 15,1-7,4 tys. lat temu i koincydował z ekspansją na wschód dominującej linii filogenetycznej mtDNA sarny europejskiej. Z ekspansją sarny europejskiej wiąże się najbardziej prawdopodobny mechanizm introgresji genów, wynikający z silnej asymetrii demograficznej między gatunkiem w ekspansji a gatunkiem cofającym swój zasięg. Przejęte wskutek introgresywnej hybrydyzacji warianty mtDNA *C. pygargus* mogły się rozprzestrzenić na czole fali ekspansji wskutek tzw. surfingu genetycznego, co doprowadziło do silnej asymetrii introgresji – szeroko rozprzestrzenionej introgresji mtDNA ale nie markerów jądrowych.

W przypadku, gdy niektóre obce warianty mtDNA są znajdowane daleko poza strefą współwystępowania dwóch gatunków i osiągają wysoką frekwencję, istnieje uzasadnione podejrzenie, iż mogą być one faworyzowane przez dobór naturalny w związku z lepszym przystosowaniem do panujących warunków środowiskowych. Przeprowadzone analizy wykazały, iż niektóre czynniki klimatyczne, takie jak: średnia

temperatura w styczniu, głębokość pokrywy śnieżnej oraz liczba dni z pokrywą śnieżną mogą mieć wpływ na utrzymywanie się wariantów mtDNA *C. pygargus* w populacjach sarny europejskiej w Polsce. Porównanie pełnych genomów mitochondrialnych w rodzaju *Capreolus* pozwoliło precyzyjnie opisać ewolucyjny charakter introgresji mtDNA *C. pygargus* do genomu *C. capreolus*. Analizy wykazały 2,8% dywergencji sekwencji między liniami specyficznymi gatunkowo. Zaledwie 21 z 315 utrwalonych między nimi mutacji reprezentuje substytucje niesynonimiczne. Siedemnaście z nich utrzymało się w linii sarny europejskiej od czasu ostatniego wspólnego przodka. Zatem, warianty protein kodowanych przez mitogenom sarny syberyjskiej tylko nieznacznie różnią się od ancestralnego typu mtDNA sprzed rozdzielenia się linii w rodzaju *Capreolus*. Tempo ewolucji sekwencji mitogenomów w linii sarny europejskiej jest blisko cztery razy wyższe niż w linii sarny syberyjskiej. Konsekwencją tego jest widoczny wpływ działania doboru oczyszczającego, który przeciwdziała utrwaleniu niekorzystnych wariantów. Wysoce zmienna linia sarny europejskiej jest podatna na introgresję mało zmiennego i prawie ancestralnego typu mtDNA sarny syberyjskiej. Zaś brak istotnych śladów pozytywnej selekcji na poziomie kodonów wskazuje, iż powszechna na terenie Polski introgresja mtDNA *C. pygargus* do genomu *C. capreolus* jest neutralna ewolucyjnie.

Uzyskane w niniejszej rozprawie wyniki pozwalają stwierdzić, iż hybrydyzacja między gatunkami w rodzaju *Capreolus* była związana z postglacjalną falą ekspansji sarny europejskiej na wschód. Do rozprzestrzenienia i utrwalenia introgresji obcego mtDNA doszło wskutek losowych zdarzeń demograficznych i tzw. surfing genetycznego. Badania potwierdzają istotną rolę oscylacji klimatycznych w historii ewolucyjnej gatunków. Introdukcje sarny syberyjskiej w XIX i XX w. nie wywarły istotnego wpływu na strukturę genetyczną sarny europejskiej w Polsce. Bliski ancestralnemu mitogenom *C. pygargus* oraz brak molekularnych oznak pozytywnej selekcji sugeruje, iż obserwowana obecnie introgresja mtDNA ma charakter neutralny. Duża zmienność mitogenomów *C. capreolus* ograniczana dobozem oczyszczającym może sprzyjać preferencyjnej introgresji mtDNA sarny syberyjskiej, który jest obciążony mniejszym obciążeniem mutacyjnym. Brak śladów introgresji markerów jądrowych związanych z chromosomami płci oraz *loci* RAD (dane niepublikowane) wskazuje na asymetryczną introgresję, której przyczyny mogą leżeć w zróżnicowanej demografii podczas postglacjalnej historii rodzaju *Capreolus* lub/i niezgodności w mocno zróżnicowanych genomach gatunków saren (model Dobzhansky'ego-Mullera).

Białystok, dn. 20.01.2017

Maciej Matosiak