

MIROSLAW RATKIEWICZ

*Instytut Biologii
Uniwersytet w Białymstoku
Świerkowa 20B, 15-950 Białystok
e-mail: ermi@uwb.edu.pl*

WPŁYW BARIER GENETYCZNYCH I ŚRODOWISKOWYCH ORAZ CZYNNIKÓW HISTORYCZNYCH NA PRZEPŁYW GENÓW I STRUKTURĘ POPULACJI U ZWIERZĄT

WPROWADZENIE

Przepływ genów jest jedną z głównych sił ewolucyjnych. Działa on przeciwnie do dryfu genetycznego, powodując, że w małych populacjach utrzymuje się zmienność genetyczna. W konsekwencji, dzięki istnieniu zróżnicowanych genotypów, w populacji zachowana zostaje zdolność do zmian adaptacyjnych. Z kolei, brak lub silnie ograniczony przepływ genów sprzyja dywergencji genetycznej populacji wskutek dryfu (WRIGHT 1977), a także przyspiesza ewentualny proces adaptacji do lokalnych warunków środowiska. Ograniczony przepływ genów, który umożliwia powstanie zróżnicowanych pul genowych wskutek dryfu genetycznego oraz izolacji pre- i postzygotycznej, jest uważany za jeden z warunków specjacji. Poziom przepływ genów i jego skutki zależą nie tylko od liczby migrantów wymienianych między populacjami, lecz także od dystansu geograficznego dzielącego badane populacje, czy też cech zajmowanego przez nie środowiska. Zróżnicowanie genetyczne między populacjami powinno wzrastać wraz z dzielącym je dystansem geograficznym. Jest to możliwe wtedy, gdy dyspersja osobników jest dużo mniejsza niż zasięg występowania całego gatunku. Zależność między dystansem geograficznym i genetycznym wystąpi, gdy populacje będą w równowadze dryfu i dyspersji. Założenia te leżą u podstaw zaproponowanego przez SLATKINA (1993) modelu „izolacji przez dystans” (IBD). Jednak większość populacji naturalnych zasiedla środowisko niejednorodne, niektóre z nich mogą być małe

i izolowane, mieć niski poziom zmienności genetycznej, podczas gdy inne są liczne i mogą być połączone intensywnym przepływem genów. Taka sytuacja zaburza równowagę dryfu i dyspersji i w konsekwencji prowadzi do odchylenia od modelu IBD. Struktura genetyczna jest zdeterminowana nie tylko procesami ewolucyjnymi zachodzącymi w teraźniejszości, lecz została ukształtowana także przez historię populacji (AVISE 2000). Na obszarze Europy, gdzie następujące po sobie cykle zlodowaceń i interglacjałów powodowały fragmentację i zmniejszanie się zasiedlanych obszarów, a następnie ekspansję populacji, można wciąż odnaleźć genetyczne ślady różnych procesów z przeszłości (HEWITT 1999). Określenie roli poszczególnych czynników: dryfu genetycznego i przepływu genów, w takich niedawno powstałych populacjach jest zadaniem trudnym. W trakcie, lub też tuż po ekspansji z jednego źródła, zróżnicowanie genetyczne między populacjami będzie małe, nawet na dużych obszarach. Gdy wskutek izolacji nasilą się efekty dryfu, wartości zróżnicowania genetycznego (F_{ST}) będą zazwyczaj wysokie. Z kolei, przewaga dyspersji spowoduje uzyskanie niskich wartości zróżnicowania genetycznego nie tylko między bliskimi, ale też populacjami odległymi geograficznie, podobnie jak w modelu ekspansji (HUTCHISON i TEMPLETON 1999). W środowisku naturalnym, z zasady heterogennym, występują różnorodne bariery dla dyspersji osobników, co również może prowadzić do zróżnicowania genetycznego populacji, na-

ślądując model IBD. Bariery takie jak np. pasma górskie, rzeki czy tereny niedogodne do osiedlenia się, częściej występują między geograficznie odległymi populacjami niż między populacjami położonymi blisko siebie, zatem oba czynniki (dystans geograficzny i bariery środowiskowe) mogą oddziaływać jednocześnie na strukturę populacji. Może to znacznie utrudniać interpretację wyników uzyskanych z testowania modelu IBD, ponieważ nie da się łatwo określić, który z czynników i w jakim stopniu jest odpowiedzialny za obserwowany układ różnic genetycznych między populacjami. Zastosowanie zarówno nowych narzędzi biologii molekularnej, jak i odpowiedniego oprogramowania oraz narzędzi statystycznych, od niedawna umożliwia badanie interakcji pomiędzy cechami środowiska a procesami ewolucyjnymi, takimi jak przepływ genów, dryf genetyczny, czy dobór naturalny. Zaawansowane analizy statystyczne (np. geostatystyka, procedury maksymalnego prawdopodobieństwa i algorytm Bayesa) są również pomocne w identyfikowaniu „kryptycznych” barier, które określa się jako miejsca ograniczonego przepływu genów między populacjami bez wyraźnej przyczyny, lub są to strefy wtórnego kontaktu populacji, które zróżnicowały się w allopatrii. Zagadnieniami tymi zajmuje się genetyka krajobrazu (ang. landscape genetics), która jest połączeniem nowoczesnej genetyki populacji i ekologii krajobrazu (MANEL i współaut. 2003). Dyscyplina ta analizuje czynniki środowiskowe i genetyczne oddziałujące na strukturę populacji w celu wykrycia nieciągłości genetycznej (bariery dla przepływu genów) oraz powiązania badanej nieciągłości z cechami środowiska naturalnego. Ogromną zaletą tego typu badań jest to, że nie definiuje się populacji *a priori*, przed rozpoczęciem badań, lecz pobiera się próby równomiernie na całym obszarze, a następnie z wykorzystaniem informacji genetycznych definiuje się liczbę zróżnicowanych genetycznie grup populacji oraz położenie barier (PRITCHARD i współaut. 2000, MANEL i współaut. 2003).

Poznanie charakteru i położenia barier ma podstawowe znaczenie w biologii ewolucyjnej i ekologii, ponieważ pozwala wnioskować o wpływie dyspersji na strukturę genetyczną populacji, określać czynniki decydujące o powstawaniu lokalnych adaptacji i rozprzestrzenianie się korzystnych mutacji (MANEL i współaut. 2003). Badania takie mają również aspekt praktyczny, gdyż umożliwiają identyfikację naturalnych granic popula-

cji, przez co identyfikuje się ważne jednostki ewolucyjne, mające kluczowe znaczenie w ochronie rzadkich i ginących gatunków. Aby prawidłowo zidentyfikować nieciągłość genetyczną między populacjami należy zbadać markery genetyczne o różnym sposobie dziedziczenia (markery dziedziczone po obu jak i po jednym z rodziców), gdyż często istnieją różnice w dyspersji osobników różnej płci (BORKOWSKA i RATKIEWICZ 2004). Na przykład PIERTNEY i współaut. (1998) wykazali, że zabagnione tereny doliny rzeki stanowią istotną barierę dla dyspersji samców pardwy szkockiej (*Lagopus lagopus scoticus*), podczas gdy nie stanowi to przeszkody dla dyspersji samic tego gatunku.

Postęp w biologii molekularnej, automatyzacja technik i znaczne obniżenie kosztów analiz pozwala szybko badać setki markerów genetycznych, co jest jednym z wymogów współczesnych badań. Jednak nawet nieduże zestawy danych, złożone z 10-30 loci uważanych za selekcyjnie neutralne, mogą zawierać pojedyncze markery poddane działaniu doboru. Identyfikacja takich loci, którą zajmuje się genomika populacji (LUKART i współaut. 2003, RATKIEWICZ 2006), ma zasadnicze znaczenie dla zrozumienia procesów mikroewolucyjnych, ponieważ tylko mechanizmy oddziałujące na cały genom mogą dostarczyć wiarygodnych informacji na temat zmian demograficznych w przeszłości i filogenezy badanych populacji. Natomiast analiza procesów ewolucyjnych oddziałujących na niektóre loci stwarza możliwość badania adaptacji osobników do różnych warunków środowiska. Przeprowadzenie takich analiz umożliwi określenie wpływu różnych sił ewolucyjnych (dobór naturalny, dryf genetyczny, migracje) na strukturę genetyczną populacji. Mała liczba zróżnicowanych genetycznie loci może oznaczać dywergencję wskutek działania doboru rozrywającego w procesie adaptacji do lokalnych warunków środowiska. Z kolei, zróżnicowanie dużej części genomu jest efektem działania dryfu w populacjach zasiedlających geograficznie odrębne obszary (patrz WILDING i współaut. 2001).

Innym istotnym zagadnieniem jest poznanie czasu dywergencji. Zarówno w biologii ewolucyjnej i ekologii ważnym walorem jest ustalenie, czy różnice między populacjami są spowodowane czynnikami, które miały miejsce w odległej przeszłości, czy też ich pochodzenie jest niedawne i wynika z np. działalności człowieka? Proces różnicowania się pul genowych prowadzący w konsekwencji do

specjacji z reguły jest procesem długotrwałym. Dlatego też poznanie jednostek ewolucyjnych będących na różnych etapach procesu dywergencji umożliwia śledzenie jego przebiegu od częściowo izolowanych populacji, zidentyfikowanych ras i podgatunków, do niedawno powstałych gatunków.

Celem niniejszego artykułu jest określenie wpływu barier genetycznych i środowiskowych oraz czynników historycznych na przepływ genów i strukturę populacji. Aspekty te zostaną szerzej omówione na przykładzie badanych przeze mnie czterech gatunków zwie-

rząt. Są to badania: (1) nornika zwyczajnego w heterogennym środowisku doliny Biebrzy (Ratkiewicz i współaut. w przygotowaniu), (2) jelenia szlachetnego, którego populacje we Francji są poddane izolacji i translokacjom (HARTL i współaut. 2005), (3) ryjówki aksamitnej – gatunku tworzącego grupy karyologiczne i liczne rasy chromosomowe w Polsce i Eurazji (WÓJCIK i współaut. 2002) oraz (4) kosternika palemona, motyla, którego dwa podgatunki występują sympatrycznie w Puszczy Białowieskiej (RATKIEWICZ i JAROSZEWICZ 2006).

IDENTYFIKACJA BARIER DLA PRZEPŁYWU GENÓW – IZOLOWANE POPULACJE NORNIKA ZWYCZAJNEGO W HETEROGENNYM ŚRODOWISKU DOLINY BIEBRZY

Nornik zwyczajny, *Microtus arvalis*, jest jednym z najliczniejszych ssaków Polski. Gatunek ten, pospolity na obszarze całego kraju, występuje na terenach otwartych, polach, łąkach i nieużytkach, a jego cały zasięg rozciąga się od centralnej Rosji do oceanicznego wybrzeża Francji i Hiszpanii (MITCHELL-JONES i współaut. 1999). U nornika zwyczajnego wykryte zostały różne linie filogenetyczne mitochondrialnego DNA, których zasięgi nie zachodzą na siebie (HAYNES i współaut. 2003). Linie te najprawdopodobniej wywodzą się z różnych refugium polodowcowych. W dolinie Biebrzy gatunek ten zasiedla dwa typy środowisk: pola uprawne wokół terenów bagiennych oraz grądziaki – małe pagórki mineralne wyniesione ponad poziom okresowego zalewu doliny, na których już w XVI w. powstały osady ludzkie i uprawy rolne. Obecnie większość grądzików przedstawia enklawy terenów użytkowanych przed ponad 50 laty, a następnie zdziczałych i przekształcających się w murawy, a w dalszej kolejności podlegające sukcesji przez zakrzaczenia do pokrycia zwartym drzewostanem. Stosunkowo niewielka powierzchnia grądzików oraz ich izolacja przez otoczenie rozległymi obszarami bagiennymi, a także fakt, że nornik zwyczajny ginie podczas wiosennych powodzi (JACOBS 2003) pozwala przypuszczać, że populacje nornika zwyczajnego, zasiedlające poszczególne grądziaki, będą się różniły od siebie nawzajem. Wskutek działania dryfu zmienność genetyczna w populacjach może być mała, a różnice genetyczne między populacjami duże. Z kolei, populacje z pól uprawnych wokół bagien powinny charakteryzo-

wać się dużą zmiennością, ale i małym zróżnicowaniem genetycznym – zgodnie z klasycznymi założeniami wpływu fragmentacji środowisk na strukturę genetyczną populacji (YOUNG i CLARKE 2000). Badania nornika zwyczajnego z 20 populacji, przeprowadzone przez Ratkiewicza i współaut. (w przygotowaniu), z użyciem 34 loci białkowych wykazały jednak, że poziom wewnątrzpopulacyjnej zmienności genetycznej nie różnił się istotnie między populacjami grądzikowymi i populacjami z terenów wokół bagien. Utrzymywanie się zmienności genetycznej w małych populacjach nornika zwyczajnego zasiedlających heterogenne środowisko doliny Biebrzy można więc tłumaczyć za pomocą faktu, który opisali dla nornika jako gatunku BOYCE i BOYCE (1988). Autorzy ci podają, że systemy nor są zasiedlane z reguły przez 2-3 spokrewnione samice i jednego, nie spokrewnionego z nimi samca. Układ ten wynika zapewne z większej dyspersji samców niż samic (HAMILTON i współaut. 2005), a potomstwo powstałe wskutek takich poligynicznych kojarzeń będzie się charakteryzowało wysoką heterozygotycznością (BASSET i współaut. 2001). Stosunkowo wysoki poziom zmienności genetycznej w populacjach grądzikowych może wynikać także z dyspersji nornika, ułatwianej do niedawna przez człowieka wskutek utrzymywania grobli, koszenia turzycowisk i transportu siana. Dane odnoszące się do karczownika ziemnowodnego (*Arvicola terrestris*) dostarczyły podobnych wyników, a o utrzymywaniu się polimorfizmu w małych populacjach tego gatunku decyduje niska wariancja w sukcesie reprodukcyjnym między koloniami

oraz dyspersja większa niż dystans między najbliższymi grupami sąsiedzkimi (AARS i współaut. 2006).

Zróżnicowanie genetyczne między populacjami nornika zwyczajnego z pól uprawnych ($F_{ST} = 0,112$) było istotnie większe ($P < 0,05$) niż między populacjami grądzikowymi ($F_{ST} = 0,066$). Ten nieoczekiwany wynik wymagał przeprowadzenia dalszych analiz, które pozwoliłyby na wyjaśnienie obserwowanego układu. Populacje grądzikowe były oddalone od siebie średnio o 3,4 km (zakres: 0,8–7,13 km), podczas gdy średni dystans geograficzny, który dzielił populacje z terenów otwartych to 11,8 km (zakres: 2,5–18 km). Małe zróżnicowanie genetyczne populacji grądzikowych może więc być spowodowane większym przepływem genów między bliższymi populacjami. Analiza modelu izolacji przez dystans dla 20 populacji wykazała, że zróżnicowanie genetyczne istotnie wzrasta wraz z dystansem geograficznym ($r = 0,26$; $P < 0,05$), jednak taka analiza, przeprowadzona oddzielnie dla 12 populacji grądzikowych, jak i 8 z terenów pól uprawnych, nie potwierdziła takiej zależności (odpowiednio: $r = 0,15$ i $r = 0,08$, ns). Brak korelacji i duży rozrzut punktów dla par porównywanych populacji na obu wykresach regresji dystansu genetycznego względem dystansu geograficznego może świadczyć o przewadze dryfu nad dyspersją (HUTCHISON i TEMPLETON 1999). Inne więc czynniki, niż dzielący populacje dystans geograficzny, są odpowiedzialne za obserwowany wzór zmienności. Ze względu na występowanie kilku linii filogenetycznych mtDNA w obrębie zasięgu nornika zwyczajnego (HAYNES i współaut. 2003), nie można było wykluczyć, że obserwowane zróżnicowanie genetyczne populacji wokół doliny Biebrzy odzwierciedla strefę wtórnego kontaktu dwóch różnych linii. Jednak analiza sekwencji genu kodującego cytochrom b (mtDNA) u 18 osobników nornika zwyczajnego na badanym obszarze wykazała istnienie tylko jednej, tzw. wschodniej linii, a stwierdzonych 7 haplotypów różniło się od siebie zaledwie 1–2 substytucjami, podczas gdy co najmniej 20 substytucji różniło badane haplotypy od linii centralnej (Ratkiewicz i współaut. w przygotowaniu). Oznacza to, że na obszarze doliny Biebrzy nie jest zlokalizowana żadna bariera genetyczna (tj. strefa wtórnego kontaktu) dla przepływu genów. Inne niż genetyczne czynniki są więc odpowiedzialne za obserwowane zróżnicowanie genetyczne populacji. Najprawdopodobniej

na tym obszarze zlokalizowana jest bariera środowiskowa, która poprzez ograniczenie dyspersji osobników spowodowała dywergencję populacji. Gatunek ten, chociaż liczny i pospolity na terenie Polski, wydaje się być bardzo podatny na izolację i fragmentację, gdyż osobniki cechuje przywiązanie do własnego areału, nawet gdy środowisko uległo znacznemu przekształceniu (JACOBS i HEMPEL 2003). Ponadto dyspersja nornika zwyczajnego jest silnie zależna od płci, i dla samic jest ona dwudziestokrotnie mniejsza niż w przypadku samców (HAMILTON i współaut. 2005). Tak silna filopatryczność samic z pewnością sprzyja dywergencji genetycznej populacji. Przeprowadzone analizy składowych głównych (PCA) sugerują istnienie dwóch zróżnicowanych genetycznie grup populacji nornika zwyczajnego w dolinie Biebrzy. Grupowanie się populacji ma wyraźny układ północ-południe względem podmokłych obszarów doliny Biebrzy (Ratkiewicz i współaut. w przygotowaniu), odzwierciedlając zapewne kierunki kolonizacji. W celu określenia położenia bariery dla przepływu genów między populacjami nornika zwyczajnego zanalizowano macierz wartości zróżnicowania genetycznego (F_{ST}) między parami badanych populacji z wykorzystaniem algorytmu Monmoniera (MANEL i współaut. 2003). Algorytm ten posługuje się triangulacją Delaunay'a (MANEL i współaut. 2003). Polega ona na łączeniu trzech sąsiadujących ze sobą populacji w taki sposób, że populacje znajdują się w rogach trójkątów, a w jego wnętrzu nie ma żadnej populacji. Wyznaczanie położenia bariery rozpoczyna się od znalezienia pary populacji tworzącej bok zewnętrznego trójkąta, dla której wartość F_{ST} jest największa. Określenie dalszego przebiegu bariery przeprowadza się identyfikując kolejne pary populacji o wysokich wartościach F_{ST} aż do momentu osiągnięcia linii trójkąta zewnętrznego. Procedura ta potwierdziła wcześniejsze wyniki i wykazała, że bariera środowiskowa oddziela 5 populacji (jedną grądzikową i cztery z terenów pól uprawnych) zlokalizowanych w północnej części doliny Biebrzy od 15 pozostałych. Dolina Biebrzy, i jej podmokłe obszary turzycowisk i olsów, była więc najprawdopodobniej silną barierą w ekspansji nornika zwyczajnego na północ, prowadząc do znacznej dywergencji genetycznej występujących tam populacji. Rolę innej doliny rzecznej jako bariery dla przepływu genów wykazano także w przypadku amerykańskiego gryzonia, *Phenacomys longicaudatus* (MILLER i współ-

aut. 2006). Interesującym jest fakt, że dywergencja populacji nornika obserwowana w genach jądrowych wskutek izolacji środowiskowej zaszła stosunkowo niedawno, skoro oszacowany na podstawie sekwencji mtDNA

czas ekspansji wyniósł 4500–7500 lat temu (Ratkiewicz i współaut. w przygotowaniu). Jest to argument potwierdzający, że nornik zwyczajny jest gatunkiem bardzo podatnym na izolację i fragmentację środowisk.

POPULACJE JELENIA SZLACHETNEGO WE FRANCJI PODDANE IZOLACJI I TRANSLOKACJOM

Fragmentacja środowisk, w szczególności wywołana działaniami człowieka, może powodować dywergencję genetyczną populacji wielu gatunków, nie tylko drobnych ssaków, lecz i takich, o których sądzi się, że rozmiary ich ciała, duże arealy osobnicze i zdolność do długodystansowych dyspersji czynią je mało podatnymi na fragmentację i izolację. Badania 16 populacji jelenia szlachetnego, *Cervus elaphus*, we Francji, z zastosowaniem elektroforezy białek i mtDNA-RFLP (polimorfizmu restrykcyjnych fragmentów mtDNA) wykazały duże zróżnicowanie populacji tego gatunku (HARTL i współaut. 2005). Ponadto, zmienność mtDNA w populacjach z rejonu Paryża i w dolinie Loary była zaskakująco wysoka, gdy w pozostałych próbach najczęściej występował pojedynczy typ mtDNA. Za obecną strukturę genetyczną populacji jelenia szlachetnego we Francji odpowiadają najprawdopodobniej dwa czynniki: translokacje oraz fragmentacja środowisk spowodowana działalnością człowieka (mała lesistość, autostrady). Niewątpliwym efektem translokacji wydaje się być wysoka zmienność populacji w rejonie Paryża i w dolinie Loary oraz duże różnice genetyczne w małej skali lokalnej. Analizowane obszary są też jednymi z najbardziej zmienionych przez człowieka i nie da się wykluczyć także wpływu fragmentacji środowisk spowodowanej antropopresją na strukturę genetyczną populacji. Niestety, brak

dokładnych informacji co do translokacji jeleni we Francji uniemożliwia w sposób jednoznaczny ustalenie, który z wymienionych czynników odegrał większą rolę w kształtowaniu obecnej struktury genetycznej populacji tego dużego gatunku ssaka. Również dla sarny COULON i współaut. (2006) wykazali wpływ barier środowiskowych (autostrada, rzeki i kanały) na strukturę genetyczną populacji na niedawno zasiedlonym obszarze. Z kolei RILEY i współaut. (2006) zanalizowali wpływ dróg szybkiego ruchu na dyspersję i przepływ genów socjalnych drapieżników (ryśa rudego i kojota), które wyniosły odpowiednio: 5–32% (w ciągu 7 lat badań) i 0,5% na pokolenie. Autorzy sugerowali, że chociaż zwierzęta przekraczają bariery, to tacy imigranci niezmiernie rzadko rozmnażają się, w efekcie przepływ genów dla tych socjalnych ssaków jest o rząd wielkości mniejszy niż sądzono. Wynikać to może z faktu, że czynniki antropogeniczne powodują powstawanie nie-naturalnych arealów osobniczych, ponadto zmniejszają one szanse osobnika na spotkanie partnera do rozrodu. Konsekwencje dla genetycznej struktury populacji są więc poważne, bo choć bariery antropogeniczne nie ograniczają całkowicie dyspersji, mogą – poprzez zaburzenia w strukturze przestrzennej i socjalnej – niemal zupełnie uniemożliwiać przepływ genów.

HISTORIA EWOLUCYJNA, ZRÓŻNICOWANIE GENETYCZNE I PRZEPŁYW GENÓW MIĘDZY RASAMI CHROMOSOMOWYMI RYJÓWKI AKSAMITNEJ W POLSCE

Ryjówka aksamitna, *Sorex araneus*, z uwagi na swój kariotyp jest bardzo nietypowym ssakiem, gdyż posiada zmienną liczbą chromosomów (WÓJCIK i współaut. 2002). Liczba ramion chromosomowych u ryjówki jest stała i wynosi $NF = 40$, jednak w różnych częściach zasięgu, wskutek fuzji Robertsona (Rb) i/lub wzajemnych translokacji ramion chromosomowych (WART), powstało ponad 70 ras chromosomowych, cechujących się

odmiennymi kombinacjami ramion chromosomów metacentrycznych (patrz WÓJCIK i współaut. 2002). Również w obrębie danej rasy możliwy jest polimorfizm Robertsona polegający na występowaniu trzech kategorii osobników: homozygot akrocentrycznych i metacentrycznych oraz heterozygot Rb. U heterozygot Rb w mejozie powstaje triwalent złożony z jednego chromosomu metacentrycznego i dwóch akrocentrycznych (patrz:

WÓJCIK i współaut. 2002). Rasy chromosomowe pogrupowano w kilka grup kariologicznych, charakteryzujących się określonymi kombinacjami metacentryków i wydzielono w ten sposób Zachodnią, Wschodnią, Północną i dwie Syberyjskie grupy Kariologiczne (patrz WÓJCIK i współaut. 2002 oraz cytowana tam literatura). Znaczne różnice kariotypowe między grupami kariologicznymi oraz ich odrębne, nie zachodzące na siebie zasięgi, pozwalają przypuszczać, że wywodzą się one z różnych refugium z czasów ostatniego zlodowacenia. Jeśli tak rzeczywiście jest, różnicom chromosomowym powinny towarzyszyć różnice genetyczne między rasami i grupami kariologicznymi. W miejscach kontaktu ras chromosomowych powstały liczne strefy hybrydyzacji, które cechuje występowanie osobników pochodzenia mieszańcowego, tworzących w mejozie kompleksy chromosomowe złożone z 4–11 elementów. Różna struktura chromosomowa tych stref sprawia, że są one doskonałym obiektem do badań znaczenia różnic kariotypowych w procesie specjacji, określania poziomu przepływu genów i stopnia introgresji między zróżnicowanymi pod względem chromosomów rasami, wyznaczania liczby i położenia genów zaangażowanych w mechanizmy izolujące. Ze względu na fakt, że strefy hybrydyzacji często zlokalizowane są w miejscu występowania barier środowiskowych, istnieje też możliwość określenia wpływu czynników pozagenetycznych na przepływ genów i strukturę badanej strefy kontaktu.

Na obszarze Polski FEDYK i współaut. (2000) stwierdzili występowanie 10 ras chromosomowych ryjówki aksamitnej, należących do dwóch grup kariologicznych: zachodniej (WEKG) i wschodniej (EEKG). Model ewolucji ras chromosomowych w Polsce zakłada powstawanie metacentryków w drodze fuzji Rb, a następnie rozprzestrzenianie się chromosomów metacentrycznych na obszarze występowania populacji akrocentrycznych (WÓJCIK 1993). Ten model utrwalania się metacentryków Rb jest dosyć prawdopodobny, gdyż proste heterozygoty Rb u ryjówki aksamitnej, w porównaniu z homozygotami, mają tylko nieznacznie obniżone dostosowanie. Wykazano ponadto, że mechanizm *dive'u* meiotycznego, czyli uprzywilejowane przechodzenie do gamet jednych chromosomów względem innych, faworyzuje chromosomy dwuramienne (patrz WÓJCIK i współaut. 2002 oraz cytowana tam literatura). Z drugiej strony, utrwalanie się rzadkich wariantów, w

tym przypadku chromosomów metacentrycznych, może łatwo następować w małych, izolowanych populacjach wskutek działania dryfu genetycznego. Obecnie, populacje ryjówki aksamitnej są bardzo liczne, istnieje jednak możliwość, że przechodziły one redukcję liczebności podczas ekspansji polodowcowej. Powinien więc w takich populacjach pozostać zapis molekularny tego procesu, przejawiający się niskim poziomem zmienności. Stwierdzenie faktu redukcji liczebności populacji w przeszłości stanowić może argument, że warianty chromosomowe, niezależnie od tego w jaki sposób powstały (fuzje Rb czy WART), zostały utrwalone wskutek działania dryfu. Jeśli w okresie postglacjalnym redukcja liczebności nie miała jednak miejsca, może to pośrednio świadczyć, że główną rolę w ewolucji ras chromosomowych tego gatunku odegrały fuzje Rb, a nie WART. Te ostatnie mają niemal na pewno obniżone dostosowanie względem prostych heterozygot Rb, mogą się więc utrwalić jedynie wskutek dryfu, który jest efektywny w małych populacjach (patrz WÓJCIK i współaut. 2002). W obrębie WEKG występuje pięć różnych fuzji Robertsona, podczas gdy w EEKG stwierdzono obecność aż dziewięciu różnych wariantów Rb (patrz WÓJCIK i współaut. 2002). Teoretycznie jest więc możliwe, że niektóre metacentryki w obrębie EEKG powstały wskutek WART. Badania sekwencji genu kodującego cytochrom b w mtDNA przeprowadzone przez RATKIEWICZA i współaut. (2002) były próbą ustalenia, czy wielkość populacji ryjówek była w przeszłości zredukowana. To pośrednio pozwoliło na wnioskowanie, który typ mutacji (Rb czy WART) odgrywał główną rolę w ewolucji ras chromosomowych *S. araneus* w Polsce. Określiłiśmy także prawdopodobny czas powstania ras chromosomowych i grup kariologicznych. Niski poziom zmienności nukleotydowej oraz różnice rzędu kilku substytucji nukleotydowych między stwierdzonymi 21 haplotypami, a także topologia drzewa ewolucyjnego w kształcie gwiazdy (jeden centralny haplotyp i wywodzące się od niego pozostałe haplotypy) wskazuje na brak różnic molekularnych między rasami chromosomowymi należącymi do WEKG i EEKG, jak i na ich niedawne powstanie. Może to oznaczać, że wywodzą się one z jednego refugium, a poszczególne rasy mogły powstać w trakcie polodowcowej ekspansji (RATKIEWICZ i współaut. 2002, JADWISZCZAK i współaut. 2006). Inny sposób wnioskowania o historii ewolucyjnej populacji wykorzystuje

analizę obserwowanego i oczekiwanego rozkładu różnic między parami porównywanych sekwencji (ROGERS 1995). Analiza ta umożliwiła szacowanie czasu ekspansji ryjówek na około 37000–62000 lat temu. Rozkład różnic sekwencji (ang. mismatch distribution) był unimodalny, najliczniejszą grupę stanowiły haplotypy różniące się czterema substytucjami, co sugeruje niedawną ekspansję z jednego źródła (refugium) oraz stosunkowo wysoką efektywną wielkość populacji (N_e). Wyznaczona z rozkładu różnic nukleotydowych wartość N_e wyniosła setki tysięcy osobników (RATKIEWICZ i współaut. 2002), co oznacza, że w trakcie polodowcowej ekspansji nie było redukcji liczebności populacji. Może to oznaczać, że fuzje Robertsona, a nie WART, odegrały główną rolę w ewolucji ras *S. araneus* w Polsce. Analizy molekularne potwierdzają zaproponowany przez WÓJCIKA (1993) model ewolucji ras chromosomowych *S. araneus* w Polsce. Nie można jednak wykluczyć, że w różnych częściach zasięgu ewolucja chromosomowa przebiegała w sposób niejednakowy i w jednych rejonach miały miejsce fuzje Rb, podczas gdy w innych wzajemne translokacje ramion prowadziły do powstawania różnych ras chromosomowych (patrz WÓJCIK i współaut. 2002). Należy też pamiętać, że procesy ewolucyjne dla mtDNA i genów jądrowych zazwyczaj zachodzą w niejednakowy sposób. Ze względu na różnice w ploidalności i sposobie dziedziczenia (gdyż mtDNA jest haploidalny i dziedziczy się tylko po matce), efektywna wielkość populacji dla genów jądrowych jest więc z reguły wyższa niż dla mtDNA (HAMILTON i współaut. 2005). Stwierdzony brak redukcji liczebności populacji przy użyciu takiego markera jakim jest mtDNA pozwala przypuszczać, że N_e dla genów jądrowych również nie przechodziło redukcji wielkości. Jednak wnioskowanie takie jest pośrednie i redukcję liczebności populacji należałoby przetestować bezpośrednio dla genów jądrowych. Redukcji liczebności nie stwierdzono dla allozymów w 9 populacjach z różnych ras chromosomowych (RATKIEWICZ i współaut. 2002). W strefach hybrydyzacji ras chromosomowych badania genów jądrowych (allozymów i mikrosatelitarnego DNA) wykazały jednak taką redukcję w niektórych populacjach (RATKIEWICZ i współaut. 2003, JADWISZCZAK i współaut. 2006). W celu poprawnego wnioskowania co do ewolucji ras konieczne jest więc badanie różnych klas markerów molekularnych oraz przeprowadzenie badań w strefach hybrydyzacji

różniących się strukturą chromosomową i położeniem w środowisku. Badania wykonane z zastosowaniem trzech klas markerów molekularnych: mikrosatelitarnego DNA zlokalizowanego na autosomach, jednego locus mikrosatelitarnego na chromosomie Y oraz mtDNA (JADWISZCZAK i współaut. 2006) wskazały na brak różnic genetycznych w strefie hybrydyzacji ras chromosomowych Drnholec i Białowieża. Może to oznaczać swobodny przepływ genów między rasami. Jednak badana strefa hybrydyzacji, która zlokalizowana jest po dwóch stronach nasypu kolejowego w pobliżu miejscowości Rokitnia na trasie kolejowej Warszawa-Lublin, cechuje się występowaniem ostrych klinów frekwencji chromosomów metacentrycznych na dystansie wyraźnie mniejszym niż 1 km, a hybrydy powstałe z kojarzeń osobników z różnych ras mogą posiadać w mejozie kompleksy chromosomowe złożone nawet z 10 elementów (SZALAŁ i współaut. 1996). Brak różnic genetycznych między badanymi populacjami ryjówek nie musi więc oznaczać wysokiego poziomu przepływu genów, lecz jest raczej konsekwencją niedawnej ekspansji obu ras z jednego refugium (JADWISZCZAK i współaut. 2006). Czasowe analizy zmian frekwencji alleli w badanej strefie hybrydyzacji ras chromosomowych Drnholec i Białowieża sugerują, że populacje w centrum strefy są genetycznie niestabilne, a efektywna wielkość populacji, wskutek niskiego dostosowania hybrydów, jest mała (Ratkiewicz i współaut. w przygotowaniu). Nie oznacza to jednak, że przepływ genów między rasami nie zachodzi. W badaniach innej strefy hybrydyzacji ryjówek aksamitnej FEDYK i współaut. (1991) wykazali istnienie mechanizmów ułatwiających przepływ genów między rasami. Polega on na akumulacji rekombinantów międzyrasowych w centrum strefy. Osobniki takie w mejozie tworzą co najwyżej triwalenty, przez co płodność w populacjach hybrydowych nie jest mocno obniżona. Zróżnicowanie genetyczne w strefie z modyfikacją ułatwiającą przepływ genów było nieco niższe ($F_{ST} = 0,015$) (RATKIEWICZ i współaut. 2000), niż w strefach bez modyfikacji ($F_{ST} = 0,021$ i $0,025$) (RATKIEWICZ i współaut. 2003, Ratkiewicz i współaut. w przygotowaniu). Fakt ten może potwierdzać istnienie ułatwionego przepływu genów w strefie kontaktu o podwyższonej częstości rekombinantów.

Badania mające na celu określenie roli barier środowiskowych dla przepływu genów u ryjówek aksamitnej z reguły wykazywały brak

zależności między cechami środowiska a zróżnicowaniem genetycznym populacji. Na przykład RATKIEWICZ i współaut. (2000) nie stwierdzili wpływu bariery, jaką jest morena zwięzająca dolinę rzeki, na przepływ genów. Jednak w przekształconym przez człowieka środowisku przepływ genów między populacjami ryjówek może być znacznie ograniczony (LUGON-MOULIN i HAUSSE 2002). Podobnie RATKIEWICZ i współaut. (2003) wykazali, że populacja ryjówek zlokalizowana na terenie miasta Pasłęk była najbardziej zróżnicowana spośród wszystkich 12 badanych populacji, usytuowanych na 36-kilometrowym transekcie w strefie kontaktu ras Guzowy Młyn i Łęgucki Młyn.

Jednym z głównych celów badań stref hybrydyzacji ras chromosomowych jest dostarczenie jednoznacznych wniosków na temat roli różnic chromosomowych w procesie powstawania nowych gatunków. Model teoretyczny zakłada ograniczoną rekombinację w kariotypach hybrydowych (NAVARRO i BARTON 2003). Geny zlokalizowane na chromosomach uwikłanych w kompleksy meiotyczne powinny wykazywać większe zróżnicowanie genetyczne niż te, które znajdują się na chromosomach identycznych dla obu ras. Aby określić wpływ różnic chromosomowych na przepływ genów BASSET i współaut. (2006a) zmapowali położenie 20 loci mikrosatelitarnych u ryjówek aksamitnej i wykorzystali je do badania dwóch różnych stref hybrydyzacji w Alpach. Analiza zróżnicowania genetycznego między *Sorex antinorii* (gatunek ten do niedawna był uważany za jedną z ras chromosomowych *S. araneus*) (BRÜNNER i współaut. 2002) i dwoma rasami: Cordon i Vaud ryjówek aksamitnej wykazała, że zróżnicowanie genetyczne dla loci znajdujących się na chromosomach tworzących kompleksy meiotyczne było generalnie większe niż dla loci leżących na pozostałych chromosomach (BASSET 2005). Jednak różnice te były statystycznie istotne jedynie w strefie hybrydyzacji *S. antinorii*/ Vaud, gdzie występują hybrydy posiadające w mejozie łańcuch złożony aż z 11 elementów. Autor ten sugerował, że oba czynniki: obniżona płodność hybrydów i zredukowana rekombinacja chromosomów, mają wpływ na strukturę genetyczną tej strefy hybrydyzacji. Należy dodać, że *Sorex antinorii*, wyraźnie odmienny pod względem chromosomów i genów od *S. araneus*, przetrwał ostatnie zlodowacenie w oddzielnym refugium zlokalizowanym na półwyspie Apenińskim (patrz WÓJCIK i współaut. 2002).

Z kolei, porównanie dywergencji genetycznej loci mikrosatelitarnego DNA w strefie hybrydyzacji ras Drnholec i Białowieża wykazało małe zróżnicowanie genetyczne, niezależnie od faktu, czy badany locus znajdował się na chromosomie tworzącym kompleks meiotyczny, czy też usytuowany był na chromosomach identycznych u obu ras (JADWISZCZAK i współaut. 2006). Wynik ten jest kolejnym argumentem przemawiającym za pochodzeniem ras Drnholec i Białowieża, więc i WEKG i EEKG, z jednego refugium.

Skuteczne określanie struktury stref hybrydyzacji i introgresji między rasami chromosomowymi ryjówek aksamitnej wymaga zastosowania zaawansowanych analiz, innych niż tradycyjne obliczania wariancji frekwencji alleli między populacjami (F_{ST}), takich jak np. analizy admiksji za pomocą algorytmu Bayesa (PRITCHARD i współaut. 2000). Przeprowadzona przez BASSETA i współaut. (2006b) analiza Bayesa trzech gatunków: *S. coronatus*, *S. antinorii* i *S. araneus* potwierdziła status gatunkowy każdego z badanych taksonów. Jednak analiza Bayesa trzech ras chromosomowych (Cordon, Bretolet, Vaud) wykazała istnienie tylko dwóch klasterów genetycznych. Autorzy sugerowali, że może to być spowodowane hybrydowym pochodzeniem rasy Bretolet, lecz może także oznaczać mały wpływ różnic chromosomowych na strukturę genetyczną populacji, w porównaniu z czynnikami historycznymi. Nie wykryto żadnej introgresji genów między silnie zróżnicowanymi pod względem chromosomów dwoma taksonami: *S. antinorii* i rasą Vaud należącą do *S. araneus*. Natomiast stwierdzona została wyraźna, jednokierunkowa introgresja genów *S. antinorii* do puli genowej *S. araneus* rasy Cordon (BASSET i współaut. 2006b). Introgresja ta zapewne wynika z niewielkich różnic w kariotypie między rasą Cordon i *S. antinorii*.

Jaka jest więc rola różnic chromosomowych w powstawaniu gatunków? SEARLE i WÓJCIK (1998) podkreślają, że specjacja spowodowana różnicami w kariotypie byłaby trudna do udowodnienia, jeśli nie obserwowaloby się jej u tak zmiennego chromosomowo gatunku, jakim jest ryjówek aksamitna. Silnym argumentem za specjacją chromosomową u *S. araneus* są udokumentowane różne etapy tego procesu: od unimodalnych stref hybrydyzacji z dużą liczbą hybrydów i rekombinantów, a przez to znacznym przepływem genów między rasami, przez strefy z jednokierunkową introgresją, do stref z całkowicie ograniczonym przepływem genów.

Wydaje się także, że to właśnie specjacja chromosomowa doprowadziła do powstania

S. antinorii, niedawno opisanego gatunku (BRÜNNER i współaut. 2002).

ROZRÓŻNIANIE PUL GENOWYCH – MOTYLE Z RODZAJU KOSTERNIK, *CARTEROCEPHALUS*

Dywergencja genetyczna populacji może zachodzić w allopatrii, wtedy dryf genetyczny prowadzi do podobnego zróżnicowania większości genów w obrębie genomu. Alternatywny scenariusz zakłada dywergencję jedynie niektórych części genomu, jak ma to zazwyczaj miejsce podczas specjacji sympatrycznej (WILDING i współaut. 2001). Rozróżnienie tych dwóch mechanizmów ewolucyjnych ma w zrozumieniu specjacji podstawowe znaczenie. Sympatrycznie występujące w Puszczy Białowieskiej dwa podgatunki motyla z gatunku kosternik palemon (*Carterocephalus palaemon palaemon* i *C. palaemon tolli*) mogą być dobrym obiektem tego typu analiz. KRZYWICKI (1967) oraz JAROSZEWICZ (2000) wykazali, że podgatunki te różnią się szeregiem cech: (i) morfologicznych (forma *C. p. tolli* jest m. in. nieco większa i ciemniejsza), (ii) ekologicznych (*C. p. tolli* zasiedla bardziej wilgotne środowiska niż forma nominatywna oraz pojawia się kilka dni później niż *C. p. palaemon* i (iii) behawioralnych (samce *C. p. tolli* aktywnie poszukują samic, podczas gdy samce formy nominatywnej są terytorialne). Forma *C. p. tolli* została opisana jako endemit, który mógł powstać w Puszczy Białowieskiej wskutek adaptacji do specyficznych warunków środowiska jakie tam panują (KRZYWICKI 1967). Alternatywna hipoteza zakłada, że obie formy powstały w allopatrii, w dwóch niezależnych refugium, a na terenie Puszczy Białowieskiej utworzyła się strefa wtórnego kontaktu obu podgatunków kosternika palemona. Wysoka wartość zróżnicowania genetycznego, analizy składowych głównych (PCA) i algorytm Bayesa dla danych z 34 loci białkowych wykazały, że pule genowe sympatrycznie występujących podgatunków: *C. p. palaemon* i *C. p. tolli* są odrębne (RATKIEWICZ i JAROSZEWICZ 2006), przez co potwierdzony został ich status taksonomiczny. Autorzy stwierdzili kierunkową introgresję genów od *C. p. palaemon* do *C. p. tolli* (około 11%). Może to być spowodowane faktem, że u tego gatunku samice, imago, pojawiają się wcześniej niż samce. W efekcie samce formy nominatywnej mogą kojarzyć się z samicami *C. p. tolli*, w czasie gdy samce *C. p. tolli* są jeszcze w stadium

poczwaraki. W momencie pojawienia się samców *C. p. tolli*, praktycznie wszystkie samice formy nominatywnej mogą być już zapłodnione przez samce *C. p. palaemon*, przez co introgresja w odwrotnym kierunku prawie nie występuje. Nie można też wykluczyć, że różnice w introgresji wynikają z przewagi liczebnej *C. p. palaemon* względem endemicznego *C. p. tolli*. Porównanie wartości F_{ST} dla 15 loci polimorficznych między *C. p. palaemon* i *C. p. tolli* wykazało istotne zróżnicowanie genetyczne dla 25% genomu, co raczej wyklucza specjację sympatryczną i sugeruje powstanie obu form w różnych refugium. Hipoteza endemizmu *C. p. tolli* (KRZYWICKI 1967) jest więc mało prawdopodobna. Dla porównania WILDING i współaut. (2001), w badaniach dwóch form morfologicznych ślimaka *Littorina saxatilis* żyjących na różnych głębokościach i poddanych różnym presjom selekcyjnym, wykazali, że zaledwie 15 spośród 306 loci AFLP odbiegało wartościami F_{ST} od średniej. Dodatkowym potwierdzeniem allopatrycznej ewolucji podgatunków kosternika palemona jest wysoki poziom polimorfizmu u obu form (RATKIEWICZ i JAROSZEWICZ 2006). U gatunków endemicznych z reguły obserwuje się niską zmienność genetyczną. Wysoki poziom zmienności u *C. p. tolli* nie jest efektem introgresji genów od formy nominatywnej, gdyż obie formy posiadają wiele unikalnych rzadkich alleli, nie występujących u drugiej formy. Pula genowa *C. p. tolli* jest nie mniejsza niż pula genowa formy nominatywnej, istnieje więc wysokie prawdopodobieństwo, że podgatunek ten może występować poza obszarem Puszczy Białowieskiej. Wartym odnotowania jest fakt, że analizy genetyczne potwierdziły możliwość występowania osobników będących przedstawicielami ciemnej formy u *C. p. palaemon*, nierozróżnialnej morfologicznie od *C. p. tolli*. Osobniki te posiadają jednak genotyp charakterystyczny dla formy nominatywnej. Duża zmienność ubarwienia formy nominatywnej nie pozwala więc na jednoznaczne ustalenie statusu taksonomicznego na podstawie cech morfologicznych. Tylko badania genetyczne mogą w jednoznaczny sposób ustalić, który podgatunek występuje na badanym obszarze.

W przypadku badania introgresji, istnieje konieczność stosowania różnych klas markerów genetycznych, gdyż dla genów jądrowych i mtDNA może być ona różna (GOMPERT i współaut. 2006). Przeprowadzone wstępne badania zróżnicowania sekwencji genu oksydazy cytochromowej II (mtDNA) u kosternika palemona w pełni potwierdziły

wyniki badań allozymów i wykazały 0,89% dywergencji pomiędzy *C. p. palaemon* i *C. p. tolli*. Przy założeniu średniego tempa ewolucji dla mtDNA wynoszącego 2% na 1 mln lat, dywergencja obu form rozpoczęła się około 450 000 lat temu (Ratkiewicz i współaut., dane niepubl.).

UWAGI KOŃCOWE

Podsumowując ten przegląd wybranych badań wykonanych z zastosowaniem technik biologii molekularnej chcę zwrócić uwagę na dwie istotne kwestie, w których widoczny jest znaczny postęp naukowy. Są to po pierwsze: miarodajne określenie różnic genetycznych między populacjami, a po drugie jest to nowsze spojrzenie na problem specjacji.

Metody molekularne będą coraz częściej stosowane, by skuteczniej identyfikować granice między zróżnicowanymi genetycznie populacjami. Już teraz stosuje się je do określania położenia i charakteru barier dla przepływu genów, a także identyfikacji ważnych jednostek ewolucyjnych. Będzie to bez wątpienia miało znaczenie w gospodarowaniu populacjami naturalnymi, planowaniu skutecznych form ochrony gatunkowej, kontroli gatunków inwazyjnych. Analizy takie wpłyną także na inny sposób planowania badań, by mogły one uwzględniać aspekt ewolucyjny w kontekście zarówno całego genomu, jak i wybranych loci poddanych działaniu różnych sił ewolucyjnych. Zaletą takich badań jest również fakt, że nie wymagają one definiowania populacji *a priori*, próby pobierać można na badanym obszarze w sposób losowy, a następnie zastosować analizę admiksji i algorytm Bayesa (patrz PRITCHARD i współaut. 2000). Istnieją liczne prace, które pokazują, że historia populacji i czynniki środowiskowe, w tym działalność człowieka, mogą mieć nie mniejszy wpływ na strukturę genetyczną populacji niż różnice chromosomowe, czy obecność zróżnicowanych pul genetycznych wskutek izolacji. Badanie populacji w warunkach naturalnych

metodami molekularnymi jest więc fascynującym przedsięwzięciem, które dostarcza wielu zaskakujących i nowych informacji na temat ewolucji organizmów.

Drugim, jakże ważnym dla nauki zagadnieniem, jest właściwe rozumienie gatunku jako jednostki biologicznej i ewolucyjnej. Nowoczesne techniki badawcze prowadzić będą – bez wątpienia – do uściślenia pojęcia gatunku. Pojęcie to może odzwierciedlać istnienie w genomie regionów, które przez swe efekty fenotypowe znajdują się pod wpływem silnego doboru rozrywającego, wyrażającego się wysokimi wartościami F_{ST} dla genów zlokalizowanych w takich regionach, podczas gdy pozostała część genomu jest niezróżnicowana (BEAUMONT 2005). Porównanie takich rejonów pozwoli określić międzygatunkowe zróżnicowanie adaptacyjne. Obecność w genomie rejonów będących pod wpływem silnego doboru rozrywającego lub nielosowych kojarzeń oznaczać będzie możliwość specjacji, nawet w obecności przepływu genów. Badania ras chromosomowych ryjówki aksamitnej i podgatunków kosternika palemona potwierdzają opinię EMELIANOVA i współaut (2003), którzy sugerowali, że stosunkowo długa i stabilna faza sympatrycznej dywergencji w obecności przepływu genów jest prawdopodobną cechą procesu specjacji.

Podziękowania: Chciałbym wyrazić wdzięczność prof. dr hab. Markowi Gębczyńskiemu za inspirację do napisania niniejszego artykułu oraz wszelką pomoc i sugestie podczas prowadzonych przeze mnie prac badawczych.

HISTORICAL EVENTS, GENETIC AND ENVIRONMENTAL BARRIERS – THEIR IMPACT ON GENE FLOW AND POPULATION STRUCTURE IN ANIMALS

Summary

In many species genetic distances increase with geographic distances, resulting in the "isolation by distance" (IBD) pattern. However, more complex

patterns usually are observed in heterogeneous habitats. Geographic obstacles limit gene flow in a discontinuous way and might confound a simple IBD

relationship. Moreover, current population structure is not only determined by present-day evolutionary processes but also shaped by population history. Barriers to gene flow lead to differences in gene pool composition among populations, so that molecular population genetics methods should allow these barriers to be detected. It is also possible to identify cryptic boundaries, which may represent secondary contacts among previously isolated populations. Landscape genetics approach that combines molecular population genetics and landscape ecology aims to detect such genetic discontinuities and to correlate them with environmental features. In this paper, the effects of genetic and environmental factors that

affect population genetic structure and population history, are explored with a focus on the following examples: (1) the common vole populations in heterogeneous habitats of the Biebrza valley in NE Poland; (2) red deer populations in France that experienced isolation and translocations; (3) different chromosome races of the common shrew in Poland forming hybrid zones and (4) two sympatric subspecies of the chequered skipper in the Białowieża Primeval Forest, NE Poland. Implications of such approaches for evolutionary biology, ecology and conservation biology are discussed in the context of most recent achievements in the field.

LITERATURA

- AARS J., DALLAS J. F., PIERTNEY S. B., MARSHALL F., GOW J. L., TELFER S., LAMBIN X., 2006. *Widespread gene flow and high genetic variability in populations of water voles Arvicola terrestris in patchy habitats*. Mol. Ecol. 15, 1455–1466.
- AVISE J. C., 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- BASSET P., 2005. *Chromosomal rearrangements and genetic structure in the shrew of the Sorex araneus group*. Rozprawa doktorska, Uniwersytet w Lozannie, Lozanna.
- BASSET P., BALLOUX F., PERRIN N., 2001. *Testing demographic models of effective population size*. Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 268, 311–317.
- BASSET P., YANNIC G., YANG F., O'BRIEN P. C. M., GRAPHODATSKY A. S., FERGUSON-SMITH M. A., BALMUS G., VOLOBOUV V. T., HAUSER J., 2006a. *Chromosome localization of microsatellite markers in the shrews of the Sorex araneus group*. Chromos. Res. 14, 253–262.
- BASSET P., YANNIC G., HAUSER J., 2006b. *Genetic and karyotypic structure in the shrews of the Sorex araneus group: are they independent?* Mol. Ecol. 15, 1577–1587.
- BEAUMONT M. A., 2005. *Adaptation and speciation: what can Fst tell us?* TREE 20, 435–440.
- BORKOWSKA A., RATKIEWICZ M., 2004. *Markery molekularne – narzędzia w badaniu dyspersji osobników różnej płci*. Wiad. Ekol. 50, 3–17.
- BOYCE C. C. K., BOYCE J. L., 1988. *Population biology of Microtus arvalis. I. Lifetime reproductive success of solitary and grouped breeding females*. J. Anim. Ecol. 57, 711–722.
- BRÜNNER H., LUGON-MOULIN N., BALLOUX F., FUMAGALLI L., HAUSER J., 2002. *A taxonomical revaluation of the chromosome race Valais of the common shrew, Sorex araneus (Insectivora: Soricidae), from multiple, independent characters*. Acta Theriol. 47, 245–275.
- COULON A., GUILLOT G., COSSON J.-F., ANGIBAUT J. M. A., AULAGNIER S., CARGNELUTTI B., GALAN M., HEWISON A. J. M., 2006. *Genetic structure is influenced by landscape features: empirical evidence from a roe deer population*. Mol. Ecol. 15, 1669–1679.
- EMELIANOV I., MAREC F., MALLET, J., 2003. *Genomic evidence for divergence with gene flow in host races of the larch budmoth*. Proc. R. Soc. Lond. B 271, 97–105.
- FEDYK S., CHĘTNICKI W., BANASZEK A., 1991. *Genetic differentiation of Polish populations of Sorex araneus L. III. Interchromosomal recombination in a hybrid zone*. Evolution 45, 1384–1392.
- FEDYK S., BANASZEK A., CHĘTNICKI W., CICHOMSKA A., SZALAJ K. A., 2000. *Reassessment of the range of the Drnholec race: studies on meiosis in Sorex araneus hybrids*. Acta Theriol. 45 (Suppl. 1), 59–67.
- GOMPERT Z., NICE C. C., FODRYCE J. A., FORISTER M. L., SHAPIRO A. M., 2006. *Identifying units for conservation using molecular systematics: the cautionary tale of the Karner blue butterfly*. Mol. Ecol. 15, 1759–1768.
- HAMILTON G., CURRAT M., RAY N., HECKEL G., BEAUMONT M., EXCOFFIER L., 2005. *Bayesian estimation of recent migration rates after a spatial expansion*. Genetics 170, 409–417.
- HARTL G. B., ZACHOS F. E., NADLINGER K., RATKIEWICZ M., KLEIN F., LANG. G., 2005. *Allozyme and mitochondrial DNA analysis of French red deer (Cervus elaphus) populations: genetic structure and its implications for management and conservation*. Mamm. Biol. 70, 23–34.
- HAYNES S., JAAROLA M., SEARLE J. B., 2003. *Phylogeography of the common vole (Microtus arvalis) with particular emphasis on the colonization of the Orkney archipelago*. Mol. Ecol. 12, 951–956.
- HEWITT G. M., 1999. *Post-glacial re-colonization of European biota*. Biol. J. Linn. Soc. 68, 87–112.
- HUTCHISON D. W., TEMPLETON A. R., 1999. *Correlation of pairwise genetic and geographic distance measures: inferring the relative influences of gene flow and drift on the distribution of genetic variability*. Evolution 53, 1898–1914.
- JACOBS J., 2003. *The response of small mammal populations to flooding*. Mamm. Biol. 68, 102–111.
- JACOBS J., HEMPEL N., 2003. *Effects of farming practices on spatial behaviour of common voles*. J. Ethol. 21, 45–50.
- JADWISZCZAK K., RATKIEWICZ M., BANASZEK A., 2006. *Analysis of molecular differentiation in a hybrid zone between chromosomally distinct races of the common shrew, Sorex araneus (Insectivora: Soricidae) suggests their common ancestry*. Biol. J. Linn. Soc. (w druku).
- JAROSZEWICZ B., 2000. *Zagadnienie odrębności taksonomicznej Carterocephalus palaemon tolli Krzywicki, 1967 w Puszczy Białowieskiej*. Rozprawa doktorska, Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu, Toruń.
- KRZYWICKI M., 1967. *Fauna Papilionoidea i Hesperioidea (Lepidoptera) Puszczy Białowieskiej*. Annales zool. 25, 1–213.

- LUGON-MOULIN N., HAUSSEER J., 2002. *Phylogeographical structure, postglacial recolonization and barriers to gene flow in the distinctive Valais chromosome race of the common shrew (Sorex araneus)*. Mol. Ecol. 11, 785-794.
- LUIKART G., ENGLAND, P. R., TALLMON, D., JORDAN S., TABERLET P., 2003. *The power and the promise of population genomics: from genotyping to genome typing*. Nature Rev. Genet. 4, 981-994.
- MANEL S., SCHWARTZ M. K., LUIKART G., TABERLET P., 2003. *Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics*. TREE 18, 189-197.
- MILLER M. P., BELLINGER R., FORSMAN E. D., HAIG S. M., 2006. *Effects of historical climate change, habitat connectivity, and vicariance on genetic structure and diversity across the range of the red tree vole (Phenacomys longicaudus) in the Pacific Northwestern United States*. Mol. Ecol. 15, 145-159.
- MITCHELL-JONES A. J., AMORI G., BOGDANOWICZ W., 1999. *The Atlas of European Mammals*. Poyser, London.
- NAVARRO A., BARTON N. H., 2003b. *Chromosomal speciation and molecular divergence - Accelerated evolution in rearranged chromosomes*. Science 300, 321-324.
- PIERTNEY S. B., MACCOLL A. D., BACON P. J., DALLAS J. F., 1998. *Local genetic structure in red grouse (Lagopus lagopus scoticus): evidence from microsatellite DNA markers*. Mol Ecol. 7, 1645-54.
- PRITCHARD J. K., STEPHENS M., DONNELLY P., 2000. *Inferences of population structure using multilocus genotype data*. Genetics 155, 945-959.
- RATKIEWICZ M., 2006. *Od genetyki do genomiki populacji - nowe perspektywy badań w ekologii i biologii ewolucyjnej*. Kosmos 55, 129-136.
- RATKIEWICZ M., SUPRUNIUK J., FEDYK S., BANASZEK A., CHĘTNICKI W., SZAŁAJ K., 2000. *Genetic differentiation and gene flow between chromosome races Drnholec and Łęgucki Młyn of the common shrew (Sorex araneus) in northern Poland*. Acta Theriol. 45 (Suppl. 1), 79-91.
- RATKIEWICZ M., FEDYK S., BANASZEK A., CHĘTNICKI W., SZAŁAJ K. A., GIELLY L., TABERLET P., 2002., *The evolutionary history of the two karyotypic groups of the common shrew, Sorex araneus, in Poland*. Heredity 88, 235-242.
- RATKIEWICZ M., BANASZEK A., JADWISZCZAK K., CHĘTNICKI W., FEDYK S., 2003. *Genetic diversity, stability of population structure and barriers to gene flow in the hybrid zone between two Sorex araneus chromosome races*. Mammalia 67, 275-284.
- RATKIEWICZ M., JAROSZEWICZ B., 2006. *Allopatric origins of sympatric forms: the skippers Carterocephalus palaemon palaemon, C. p. tolli and C. silvicolus*. Ann. Zool. Fenn. 43, 285-294.
- RILEY S. P. D., POLLINGER J. P., SAUVAJOT R. M., YORK E. C., BROMLEY C., FULLER T. K., WAYNE R. K., 2006. *A southern California freeway is a physical and social barrier to gene flow in carnivores*. Mol. Ecol. 15, 1733-1741.
- ROGERS A., 1995. *Genetic evidence for a Pleistocene population explosion*. Evolution, 49, 608-615.
- SEARLE J. B., WÓJCIK J. M., 1998. *Chromosomal evolution: the case of Sorex araneus*. [W:] *Evolution of shrews*. WÓJCIK J. M., WOLSAN M. (red.). Zakład Badań Saków, PAN, Białowieża, 219-268.
- SLATKIN M., 1993. *Isolation by distance in equilibrium and nonequilibrium populations*. Evolution 47, 264-279.
- SZAŁAJ K. A., FEDYK S., BANASZEK A., CHĘTNICKI W., RATKIEWICZ M., 1996. *A hybrid zone between two chromosome races of the common shrew, Sorex araneus L., in eastern Poland: preliminary results*. Hereditas 125, 169-176.
- WILDING C., S., BUTLIN R., K., GRAHAME J., 2001. *Differential gene exchange between parapatric morphs of Littorina saxatilis detected using AFLP markers*. J. Evol. Biol. 14, 611-619.
- WÓJCIK J. M. 1993. *Chromosome races of the common shrew Sorex araneus in Poland: a model of karyotype evolution*. Acta Theriol. 38, 315-338.
- WÓJCIK J. M., RATKIEWICZ M., SEARLE J. B., 2002. *Evolution of the common shrew: cytological and molecular aspects*. Acta Theriol. 47, 139-167.
- WRIGHT S., 1977. *Evolution and the Genetics of Populations*. Chicago Press, Chicago.
- YOUNG A. G., CLARKE G. M., 2000. *Genetics, Demography and Variability of Fragmented Populations*. Cambridge University Press, Cambridge.