

**Filogeografia rodzaju *Anthriscus* Pers. ze szczególnym uwzględnieniem sekcji *Cacosciadium* (Rchb.) Neilr.**

Mgr Renata Kurzyna-Młynik

Zakład Systematyki i Geografii Roślin

Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

Promotor: dr hab. Krzysztof Spalik, prof. UW

Recenzenci: dr hab. Paweł Golik

prof. dr hab. Adam Zając

Filogenetyka molekularna zrewolucjonizowała metodologię biogeografii historycznej, pozwalając na formalne testowanie hipotez wyjaśniających współczesne rozmieszczenie organizmów: wikariancji (specjacji allopatrycznej) i dyspersji. Filogenetyczna analiza kształtowania się zasięgów organizmów, czyli filogeografia, zwłaszcza prowadzona z wykorzystaniem wydatowanych drzew filogenetycznych, umożliwia odtwarzanie historii ewolucyjnej badanego taksonu – miejsca jego powstania, dróg migracji i ośrodków wtórnego różnicowania się. Rekonstrukcje historycznych przemian biot i zależności między nimi bazują na uogólnieniach wniosków z badań historii poszczególnych taksonów. Najwięcej informacji dla takich porównań dostarczają taksony obejmujące blisko spokrewnione gatunki prezentujące różne typy rozmieszczenia geograficznego oraz zróżnicowane pod względem ekologicznym. Jednym z takich taksonów jest rodzaj *Anthriscus* (*Apiaceae*, podrodzina *Apioideae*, plemię *Scandiceae*), a zwłaszcza jego sekcja *Cacosciadium*. Stosunkowo niewielka liczba gatunków i taksonów niższej rangi wyróżnionych w jego obrębie, dosyć słabe zróżnicowanie morfologiczne oraz niepewne granice między nimi sugerują, że radiacja rodzaju miała miejsce stosunkowo niedawno, zatem zróżnicowanie morfologiczne i geograficzne taksonów ciągle powinno odzwierciedlać procesy ewolucyjne, które doprowadziły do ich ukształtowania. Z drugiej strony trybule (*Anthriscus*) charakteryzują się szerokim rozprzestrzenieniem geograficznym oraz dużym spektrum ekologicznym, co pozwala wnioskować nie tylko o ich własnej historii ewolucyjnej, ale i pośrednio o historii przemian środowiska biotycznego i abiotycznego, skutkujących powstawaniem i zanikaniem barier, a co za tym idzie – specjacją na drodze wikariancji (izolacji geograficznej) oraz migracjami gatunków.

Rodzaj obejmuje ok. 9 gatunków roślin zielnych o zróżnicowanej morfologii i ekologii, występujących w Europie, Azji i górach północnej i wschodniej Afryki. Na podstawie cech morfologicznych, ekologii i wyników analizy jądrowych sekwencji rDNA ITS wyróżniono

cztery sekcje: *Anthriscus*, *Cerefolium*, *Caroides* i *Cacosciadium*. W pierwszej zgrupowano gatunki jednoroczne: *A. caucalis* i *A. tenerrima*, w drugiej jednoroczny *A. cerefolium*, w trzeciej dwa wieloletnie endemity kaukaskie: *A. kotschyi* i *A. ruprechtii*, a w czwartej cztery dwuletnie lub wieloletnie, trudne do rozgraniczenia gatunki: *A. nitida*, *A. lamprocarpa*, *A. schmalhauseni* i polimorficzny *A. sylvestris* z czterema podgatunkami: *sylvestris*, *nemorosa*, *fumarioides* i *alpina*. Dotychczas nie wyjaśniono jednak do końca stosunków pokrewieństwa między taksonami, zwłaszcza w obrębie ostatniej sekcji.

Celem badań było odtworzenie historii ewolucyjnej trybul, a przede wszystkim ich biogeograficznego różnicowania się poprzez oszacowanie filogenezy rodzaju oraz umiejscowienie jej w czasie i przestrzeni – powiązanie ze współczesnym rozmieszczeniem geograficznym analizowanych linii filogenetycznych, określenie czasów ich rozejścia się i odniesienie ich do przemian środowiska geograficznego (zmiany klimatu, zlodowacenia, orogenezy itd.).

Materiał do badań stanowiły głównie okazy zielnikowe z różnych zbiorów europejskich. Analizie poddano wszystkie gatunki i podgatunki rozpoznawane obecnie w obrębie rodzaju *Anthriscus*, przy czym każdy z nich reprezentowany był przez przedstawicieli z całego naturalnego zasięgu. Uzyskano sekwencje czterech znaczników molekularnych – jądrowe sekwencje rDNA ITS dla 147 prób o długości od 591 do 607 pz i trzy chloroplastowe niekodujące sekwencje przestrzeni międzygenowej: *psbA-trnH* (176-189 pz), *trnS-trnG* (541-561 pz) i *rpoB-trnC* (1208-1238 pz) dla 101 prób. Ponadto otrzymano także sekwencje kilku przedstawicieli podplemienia *Scandicinae* spoza rodzaju *Anthriscus*, które wykorzystano jako grupę zewnętrzną.

Relacje pokrewieństwa szacowano oddzielnie na podstawie sekwencji jądrowych i chloroplastowych stosując cztery metody: największej parsymonii, łączenia sąsiadów, największej wiarygodności i analizy bayesowskiej. Następnie za pomocą testu Templetona, K-H, S-H i AU zbadano spójność drzew filogenetycznych opartych na sekwencjach ITS i cpDNA oraz wskazano gałęzie drzew, które wprowadzają istotne niezgodności. Wygenerowano również sieci haplotypów z wykorzystaniem algorytmu parsymonii statystycznej, a następnie oszacowano związek tych sieci z rozmieszczeniem geograficznym prób za pomocą analizy kładów zagnieżdżonych. Ostatecznie wydatowano główne zdarzenia w ewolucji rodzaju za pomocą analizy bayesowskiej z wykorzystaniem ścisłego oraz swobodnego (lognormalnego nieskorelowanego) zegara molekularnego.

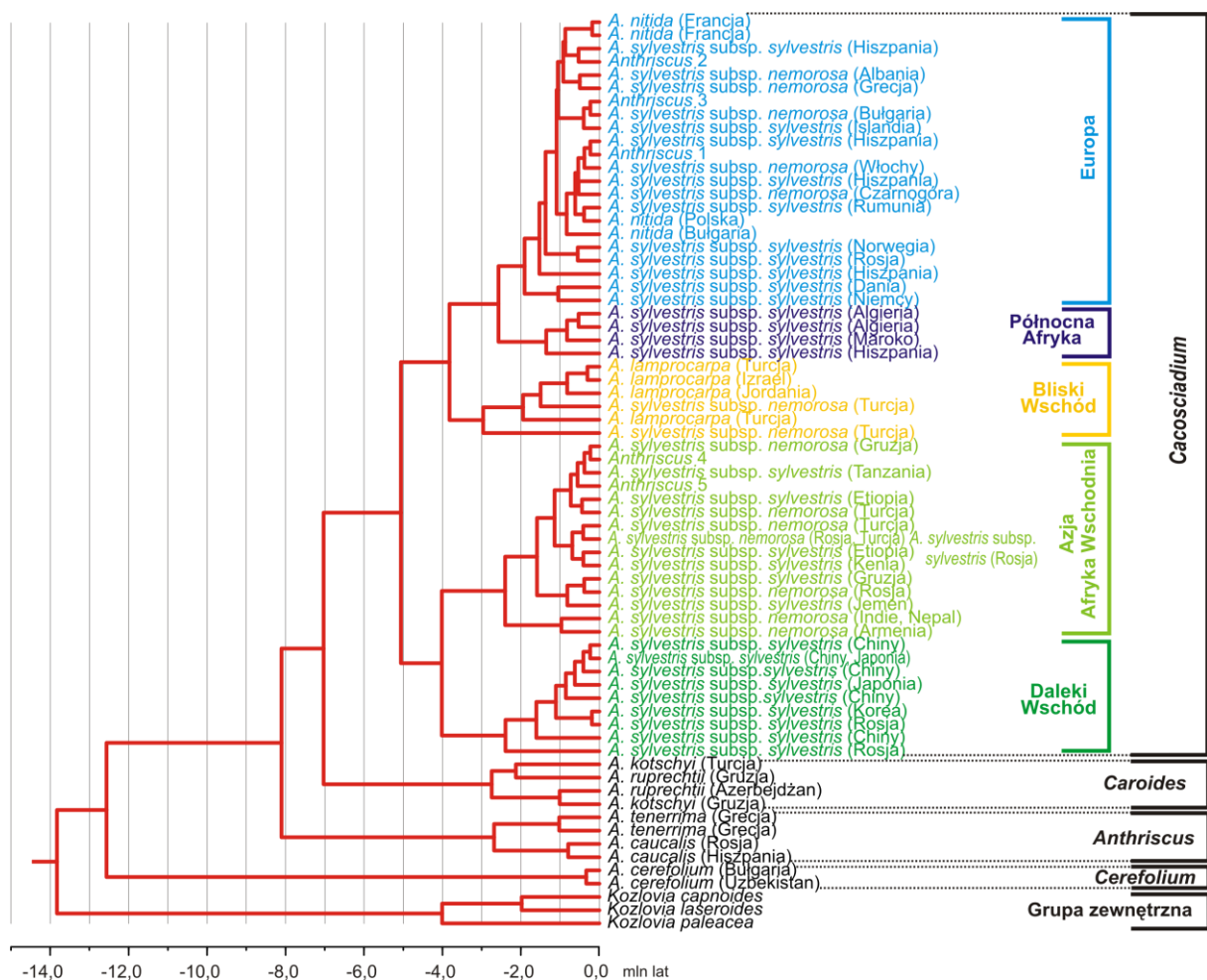
Filogeneza rodzaju *Anthriscus* zbudowana na podstawie sekwencji ITS była niezgodna z oszacowaniem opartym na sekwencjach chloroplastowych, za co najprawdopodobniej odpowiadają specyficzne właściwości tego regionu jądrowego. Miała ona bardzo niską

rozdzielczość w obrębie sekcji *Cacosciadium*, w przeciwieństwie do filogenezy uzyskanej z sekwencji chloroplastowych. Ta ostatnia wykazała wyraźny wzorzec geograficzny, nie była jednak w pełni zgodna z tradycyjną taksonomią rodzaju, ponieważ w większości wyróżnionych kładów znalazły się okazy zaliczane do różnych taksonów, o odmiennych cechach morfologicznych i ekologicznych (rys. 1). Wyniki analiz filogenetycznych sugerują, że w obrębie sekcji *Cacosciadium* mamy do czynienia z niekompletnym sortowaniem linii filogenetycznych i relacjami o charakterze siateczkowatym między taksonami.

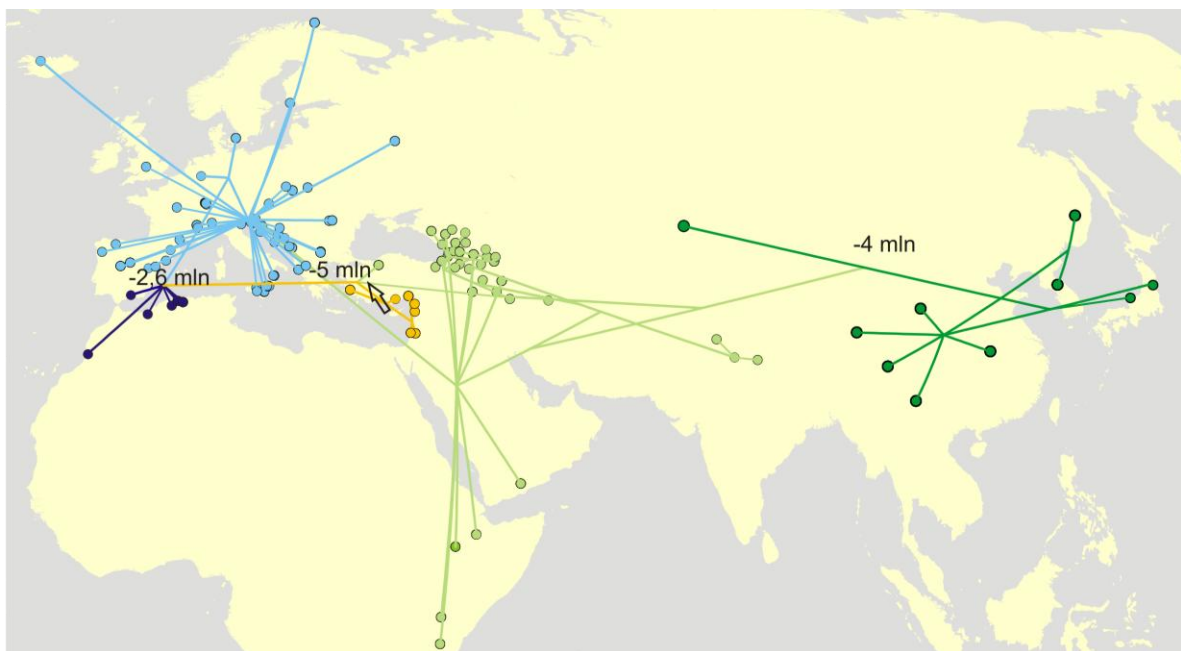
W sieciach haplotypów zbudowanych na podstawie sekwencji ITS i chloroplastowych pojawiały się pętle wskazujące na niepewność w oszacowaniu. Dla obu sieci analiza kładów zagnieżdżonych wykazała istotny statystycznie związek między topologią sieci a pochodzeniem geograficznym analizowanych prób, przy czym w przypadku sekwencji chloroplastowych wzorzec geograficzny był wyraźniejszy.

Wyniki datowania molekularnego sugerują, że rodzaj *Anthriscus* zaczął różnicować się około 14-10 mln lat temu, w środkowym miocenie, prawdopodobnie na Bliskim Wschodzie, co zbiega w czasie z ochłodzeniem klimatu mającym miejsce około 15-13 mln lat temu. Główne klady, odpowiadające poszczególnym sekcjom, wydzieliły się jeszcze w późnym miocenie, najprawdopodobniej również w rejonie zachodnioazjatyckim, czemu sprzyjała późnomiocenska wysoka aktywność orogeniczna na tym obszarze, spowodowana zderzeniem Półwyspu Arabskiego z Euroazją. Migracja trybul z tego regionu następowała w dwóch kierunkach: do Europy i Azji (rys. 2). Już na początku pliocenu nastąpił podział przodków sekcji *Cacosciadium* na dwie linie: pierwszą, dającą początek populacjom azjatyckim i wschodnioafrykańskim, oraz drugą, obejmującą populacje bliskowschodnie, północnoafrykańskie i europejskie. W obrębie pierwszej z nich, bardzo szybko (około 4 mln lat temu) wydzieliły się populacje dalekowschodnie. U schyłku pliocenu z drugiej linii wyodrębniły się przodkowie współczesnych trybul bliskowschodnich, a następnie, na początku plejstocenu, trybule migrowały przez góry Afryki Północnej do Europy (rys. 1, 2).

Uzyskane wyniki sugerują, że sekcja *Cacosciadium* jest stosunkowo młoda ewolucyjnie. Radiacja jej miała miejsce prawdopodobnie w czwartorzędzie, kiedy to następujące po sobie zlodowacenia i ocieplenia klimatu skutecznie zakłócały procesy izolacji poszczególnych linii filogenetycznych. Powtarzające się wyjścia roślin z ostoi w okresie interglacjalów i powroty do nich w okresie glacialów, powodowały wielokrotne krzyżowania, co znajduje odzwierciedlenie w słabo rozwiązanej filogenezie sekcji. Na uwagę zasługuje szlak migracji z Bliskiego Wschodu przez Afrykę Północną na Półwysep Iberyjski, który nie był dotychczas stwierdzony u innych taksonów.



Rys. 1. Chronogram ilustrujący czasy rozejścia się głównych kładów w rodzaju *Anthriscus* uzyskany w wyniku analizy sekwencji cpDNA z wykorzystaniem punktu kalibracyjnego uzyskanego w analizie sekwencji ITS z założeniem swobodnego zegara molekularnego. Sekwencje oznaczone *Anthriscus* 1, 2, 3, 4 i 5 oznaczają powszechnie występujące haplotypy.



Rys. 2. Szlaki migracji przedstawicieli sekcji *Cacosciadium* uzyskane na podstawie sekwencji cpDNA poprzez nałożenie drzewa oszacowanego metodą największej wiarygodności na mapę geograficzną z wykorzystaniem aplikacji Geophylobuilder. Strzałką oznaczono korzeń sekcji.