

Autoreferat

Czynniki wpływające na zróżnicowanie i strukturę genetyczną łośnia (*Alces alces*) w Europie

1. Imię i nazwisko: Magdalena Niedziałkowska

2. Posiadane stopnie naukowe:

2002 r. magister ochrony środowiska, Międzywydziałowe Studia Ochrony Środowiska, Uniwersytet Warszawski, tytuł pracy magisterskiej: „Czynniki wpływające

na rozmieszczenie wilka w północnej Polsce – analiza z wykorzystaniem techniki GIS”

2008 r. doktor nauk biologicznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, tytuł rozprawy doktorskiej: „Struktura genetyczna populacji jelenia w puszczach północno-wschodniej Polski”.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

kwiecień – lipiec 2003 r. – dokumentalista w Zakładzie Badania Ssaków PAN w Białowieży

2003 - 2008 – asystent w Zakładzie Badania Ssaków PAN w Białowieży

2009 - 2010 – adiunkt w Zakładzie Badania Ssaków PAN w Białowieży

od 2011 - adiunkt w Instytucie Biologii Ssaków PAN w Białowieży

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.)

a) Tytuł osiągnięcia naukowego

**Czynniki wpływające na zróżnicowanie i strukturę genetyczną łośnia
(*Alces alces*) w Europie**

b) Spis publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

1. **Niedziałkowska M.**, Hundertmark K.J., Jędrzejewska B., Niedziałkowski K., Sidorovich V.E., Górny M., Veeroja R., Solberg E.J., Laaksonen S., Sand H., Solovyev V.A., Shkvyria M., Tiainen J., Okhlopov I.M., Juškaitis R., Done G., Borodulin V.A., Tulandin E.A., Jędrzejewski W. 2014. Spatial structure in European moose (*Alces alces*): genetic data reveal a complex population history. *Journal of Biogeography* 41: 2173-2184.
2. **Niedziałkowska M.**, Hundertmark K.J., Jędrzejewska B., Sidorovich V.E., Zalewska H., Veeroja R., Solberg E., Laaksonen S., Sand H., Solovyev V.A., Sagaydak A., Tiainen J., Juskaitis R., Done G., Borodulin V.A., Tulandin E.A., Niedziałkowski K. 2016. The contemporary genetic pattern of European moose is shaped by postglacial recolonization, bottlenecks, and the geographical barrier of the Baltic Sea. *Biological Journal of the Linnean Society* 117: 879-894.
3. **Niedziałkowska M.**, Jędrzejewska B., Danyłow J., Niedziałkowski K. 2016. Diverse rates of gene flow and long-distance migration in two moose *Alces alces* subpopulations in Europe. *Mammal Research* 61: 171-178.
4. **Niedziałkowska M.** Phylogeography of European moose (*Alces alces*) based on contemporary mtDNA data and archeological records. 2017. *Mammalian Biology* 84: 35-43. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.mambio.2017.01.004> (w druku).

c) *Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników*

Badania nad zróżnicowaniem genetycznym populacji łosia w Europie były realizowane w ramach projektu „Łoś (*Alces alces*) - Struktura genetyczna populacji w Europie Środkowo-Wschodniej oraz czynniki ją determinujące” finansowanego ze środków MNiSW. Materiał do tego projektu zbierany był również w ramach projektu finansowanego z 7 PR UE pt.: „*Biodiversity of East-European and Siberian large mammals on the level of genetic variation of populations – BIOGEAST*”, a także projektu Międzynarodowego Współfinansowanego pt.: „*Bioróżnorodność wschodnio-europejskich i syberyjskich dużych ssaków na poziomie genetycznej zmienności populacji*”, finansowanego ze środków MNiSW. Zbiór materiałów wykorzystanych w tych badaniach był prowadzony w ramach współpracy naukowej z różnymi instytucjami w kraju i za granicą, głównie z obszaru Europy północnej, środkowej i wschodniej. Efektem tej współpracy są publikacje naukowe, w których

współautorami są m.in. osoby dostarczające materiał do badań. Analizy statystyczne uzyskanych danych były realizowane we współpracy z prof. dr. Krisem Hundertmarkiem z Department of Biology and Wildlife, University of Alaska w Fairbanks, USA w ramach realizacji projektu finansowanego z 7. PR UE, *Research Potential in Conservation and Sustainable Management of Biodiversity - BIOCONSUS*.

Wstęp

Do niedawna istniały tylko dane na temat zróżnicowania genetycznego europejskiego łośia w lokalnych populacjach, brakowało natomiast informacji dotyczących struktury genetycznej tego gatunku w skali całego, ciągłego zasięgu w Europie. Łoś przetrwał maksimum ostatniego zlodowacenia w kilku regionach południowej, środkowej i wschodniej Europy (Sommer i Nadachowski 2006, Kosintsev 2007). Po ustąpieniu lodowca łośie zasiedliły niemal cały kontynent europejski z wyjątkiem jego południowych krańców. Największy zasięg w Europie gatunek ten osiągnął ok. 10 000 lat temu (Schmölcke i Zachos 2005), a następnie zaczął się on kurczyć. Na przełomie XIX i XX wieku liczebność tego gatunku była najniższa i przetrwał on tylko w kilku niewielkich populacjach w Fennoskandii, na obszarze dzisiejszej wschodniej Polski i Białorusi. Największa populacja tego gatunku przetrwała prawdopodobnie na obszarze europejskiej części Rosji (Filonov 1983). Po drugiej wojnie światowej populacja łośia zaczęła wzrastać i obecnie gatunek ten występuje w północnej, wschodniej i centralnej Europie. Do wzrostu jego liczebności w Polsce przyczyniła się także udana reintrodukcja tego gatunku do Puszczy Kampinoskiej w latach 50-tych XX wieku (Dzięciołowski and Pielowski 1993).

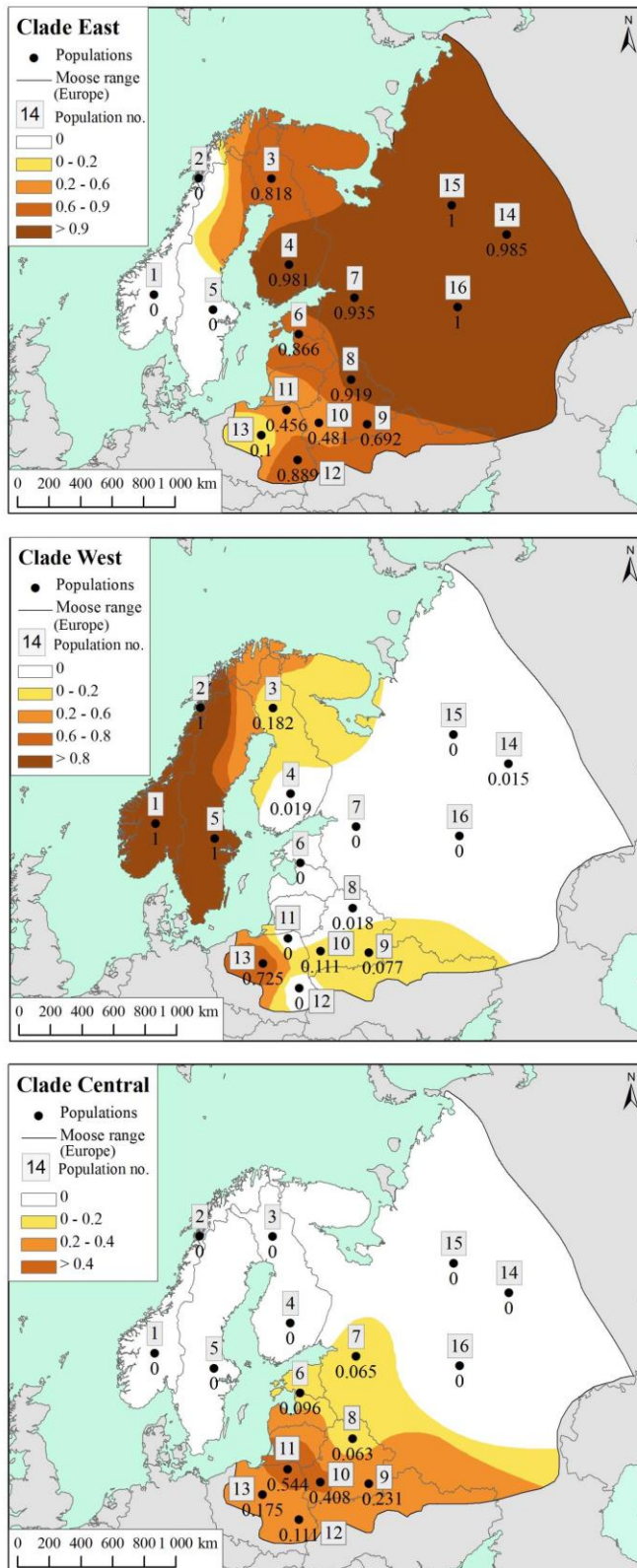
Cel badań

Celem badań było zbadanie zróżnicowania genetycznego, struktury genetycznej oraz przepływu genów w populacji łośia w Europie na podstawie analiz mitochondrialnego DNA (mtDNA) i mikrosatelitarnego DNA, a także porównanie wyników tych analiz z historią

populacji oraz rozmieszczeniem szczątków kopalnych tego gatunku na tym obszarze. Założono, że wyniki badań mtDNA pozwolą również na identyfikację potencjalnych refugiów łośia z okresu maksimum ostatniego zlodowacenia oraz umożliwią określenie roli różnych czynników wpływających na obecnie obserwowaną strukturę i zróżnicowanie genetyczne tego gatunku.

Wyniki

Na podstawie analiz fragmentu regionu kontrolnego mtDNA (538 pz) wyekstrahowanego z 657 prób zebranych niemal z całego, ciągłego zasięgu europejskiego łośia (w sumie 16 lokalizacji), stwierdzono (**praca 1**), że na badanym obszarze występują 3 klady europejskiej linii tego gatunku: wschodnia, zachodnia i centralna. Jedynie kilka osobników należących do linii azjatycko-amerykańskiej zidentyfikowano wśród prób pozyskanych z Estonii. W sumie na obszarze Europy zidentyfikowano 17 haplotypów mtDNA. Rozmieszczenie przestrzenne trzech zidentyfikowanych kładów jest różne, choć zasięgi dwóch z nich nakładają się (Ryc. 1). Najwięcej badanych osobników należało do kladu wschodniego, którego zasięg również jest największy i nie występuje jedynie w Skandynawii. Kład zachodni, drugi co do wielkości zasięgu, występuje głównie w Skandynawii i centralnej Polsce. Niewielki jego udział odnotowano wśród łośi z Europy wschodniej. Kładem o najmniejszym zasięgu i najmniejszej liczbie haplotypów okazał się kład centralny. Największy jego udział stwierdzono wśród osobników z północno-wschodniej Polski i zachodniej Białorusi (Ryc. 1). Na podstawie analiz filogenetycznych z wykorzystaniem dwóch różnych temp mutacji obliczonych dla bydła (Bradley i in. 1996) i żubra (Burzyńska i in. 1999) stwierdzono, że trzy klady mtDNA wyewoluowały 35 000 – 20 000 lat temu, czyli w okresie maksimum ostatniego zlodowacenia. Żaden z kładów nie jest obecnie w ekspansji demograficznej, co wynika m.in. z kształtu skonstruowanej sieci haplotypów. Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, że największe zróżnicowanie mtDNA (zarówno pod względem zróżnicowania



Ryc. 1. Geograficzne rozmieszczenie haplotypów łośia (*Alces alces*) w Europie, należących do kladu wschodniego, zachodniego i centralnego oraz ich udział w lokalnych populacjach.

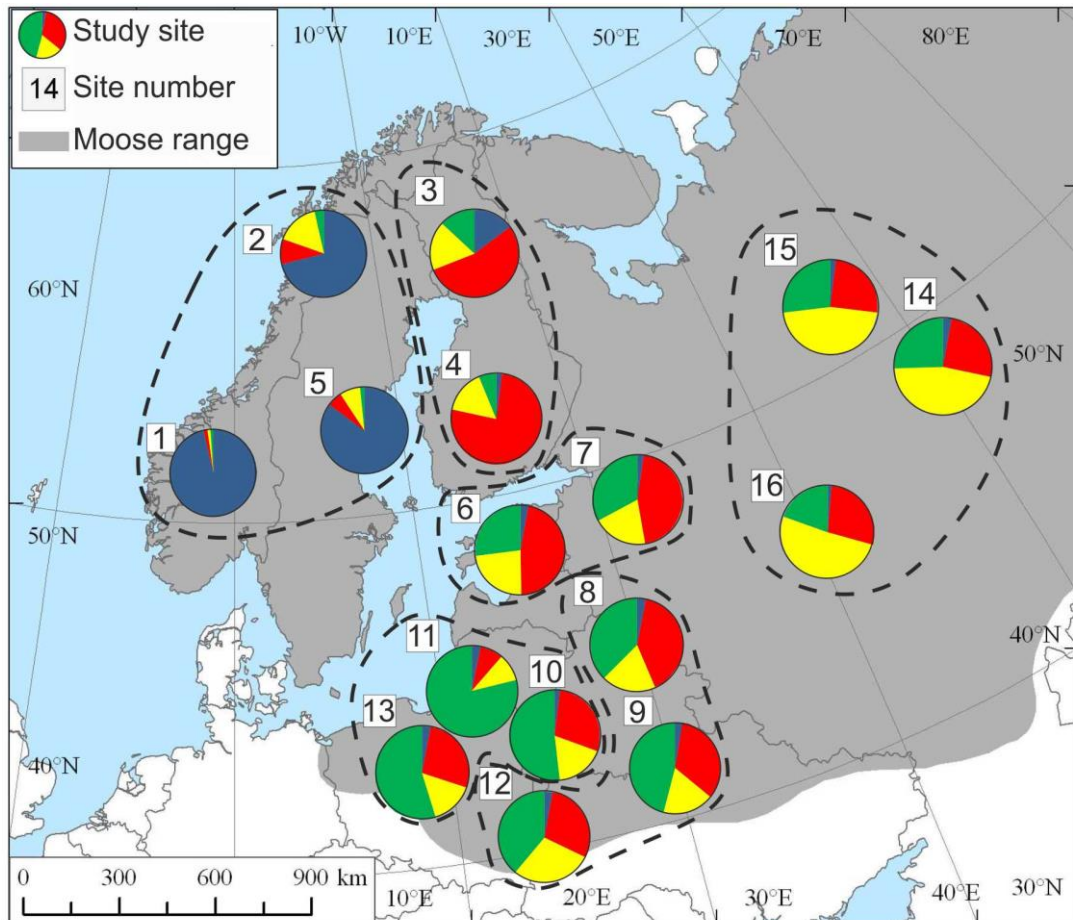
haplotypowego, jak i nukleotydowego) występuje wśród łośi zamieszkujących wschodnią Polskę, zachodnią Białoruś, południową Norwegię i północną Finlandię. Najmniej zmienne, okazały się łośie ze Szwecji i południowej Finlandii. Ponadto wykazano, że na badanym terenie z największym prawdopodobieństwem występują trzy lub cztery subpopulacje wyznaczone na podstawie analiz mtDNA łośia: jedna lub dwie w Skandynawii, trzecia obejmująca swym zasięgiem całą Europę Wschodnią oraz Finlandię i czwarta (najmniejsza) zasiedlająca centralną Polskę i pochodząca w znacznej części od osobników reintrodukowanych do Puszczy Kampinoskiej w XX wieku. Zidentyfikowane subpopulacje nie wykazują ekspansji demograficznej. Stwierdzono ich zgodność z modelem ekspansji przestrzennej. Wykazano również, że badane subpopulacje przeszły w przeszłości przez efekt „wąskiego gardła”: ich zróżnicowanie genetyczne uległo redukcji na skutek znacznego spadku liczebności populacji.

Dane uzyskane z analiz mtDNA zostały również wykorzystane do obliczenia efektywnej wielkości populacji. Wykazano, że była ona stała od okresu maksimum ostatniego zlodowacenia, ale uległa znacznemu zmniejszeniu w ciągu ostatnich 3000 lat do ok. 1750 osobników dzisiaj. Następnie odtworzono historię demograficzną populacji za pomocą metody ABC (ang. *approximate Bayesian computation*). Najbardziej prawdopodobny z testowanych modeli zakładał, że trzy klady mtDNA łośi w Europie rozdzieliły się około 28 000 lat temu, czyli w okresie ostatniego zlodowacenia, a następnie ok. 9000 lat temu (w czasie postglacjalnej migracji) klady wschodni i centralny połączyły się. Mediana szacowanego ostatniego znaczącego spadku liczebności wynosi 1800 lat temu.

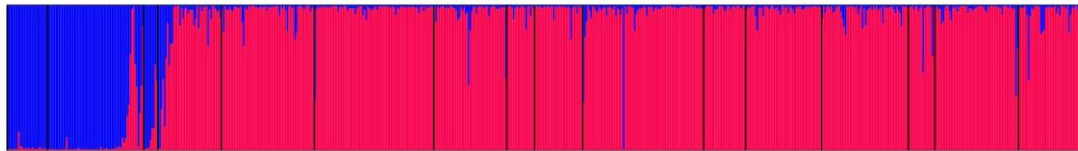
Analizy mikrosatelitarnego DNA (**praca 2**) pozwoliły na określenie, jak postglacjalna rekolonizacja, historia demograficzna i Morze Bałtyckie (jako bariera geograficzna), wpływają na obecnie obserwowaną strukturę genetyczną populacji. Przeanalizowano 694 próby łośia z 16 lokalizacji w Europie z wykorzystaniem 14 loci mikrosatelitarnych. Na

podstawie analiz przeprowadzonych w programie Geneland (Guillot i in. 2005), który poza frekwencją alleli wykorzystuje w obliczeniach rozmieszczenie prób w przestrzeni, wykazano, że zbadana populacja z największym prawdopodobieństwem składa się z dwóch subpopulacji: jednej mniejszej, zasiedlającej Skandynawię i drugiej, znacznie większej, obejmującej pozostałą część terenu badań. Analizy przeprowadzone w programie Structure (Pritchard i in. 2000, Falush i in. 2003), który na podstawie frekwencji alleli grupuje osobniki w genetyczne klastry, spełniające założenia równowagi Hardy'ego-Weinberga, wykazały, że na badanym terenie występują dwie subpopulacje łośia, których rozmieszczenie w przestrzeni odpowiada zasięgom subpopulacji wyznaczonych w programie Geneland. Większą z nich program Structure na kolejnych etapach analiz rozdzielił na 3 klastry. W sumie na obszarze badań stwierdzono 4 klastry mikrosatelitarnego DNA łośia (Ryc. 2), których obecność może wynikać z historii badanej populacji. Pierwszy z nich występuje w Skandynawii, drugi głównie w Finlandii, trzeci obejmuje swym zasięgiem niemal cały teren badań (w różnych proporcjach w różnych lokalizacjach) z wyjątkiem Skandynawii, a do czwartego należą osobniki pochodzące z centralnej i wschodniej Polski i zachodniej Białorusi. Dalsze analizy wykazały obecność wewnętrznej struktury w subpopulacji skandynawskiej, w której łośie z północnej części Norwegii okazały się odrębne genetycznie od łośi z południowej części tego kraju i Szwecji (Ryc. 2).

Wykonano także analizy sPCA (*ang. spatial principal component analysis*) oraz DAPC (*ang. discriminant analysis of principal components*), które również wykazały wyraźne podziały w badanej populacji i znaczne różnice genetyczne między osobnikami z poszczególnych części Fennoskandii, a także wewnątrz subpopulacji kontynentalnej oraz znaczącą odrębność genetyczną łośi ze Skandynawii i pozostałej części zasięgu tego gatunku. Analizy te wskazały też obszary w centralnej części zasięgu europejskiego łośia, gdzie mieszą się osobniki z różnych genetycznych grup.

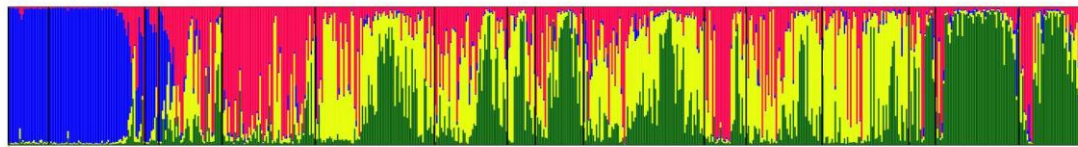


K = 2

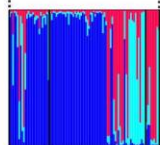


1 5 2 3 4 7 6 9 10 8 16 15 14 12 11 13

K = 4



1 5 2 3 4 7 6 9 10 8 16 15 14 12 11 13



1 5 2

Scandinavian moose population only, K = 3
(study sites 1, 2, 5)

Ryc. 2. Panel górny: rozmieszczenie i udział klastrów mikrosatelitarnego DNA wyznaczonych przez program Structure dla $K = 4$. Przerywaną linią zaznaczono granice 6 badanych grup łośa. Panel dolny: klastry mikrosatelitarnego DNA wyznaczone przez program Structure dla $K = 2$, $K = 4$ i $K = 3$ (ostatnia część dolnego panelu dotyczy tylko skandynawskiej subpopulacji łośa); każda linia pionowa oznacza jednego osobnika, każdy kolor oznacza jeden klastrowy.

W kolejnym etapie badaną populację łośia podzielono na 6 grup na podstawie udziału poszczególnych 4 klastrow wyznaczonych w analizach Structure w 16 lokalizacjach (Ryc. 2), z których pochodziły badane próby i obejmujących: 1) Skandynawię, 2) Finlandię, 3) Estonię, Łotwę i zachodnią Rosję, 4) wschodnią Białoruś, Litwę, Ukrainę i południowo-wschodnią Polskę, 5) Polskę, obwód kaliningradzki w Rosji i zachodnią Białoruś oraz 6) północną, centralną i wschodnią Rosję. Największe bogactwo alleliczne stwierdzono w grupie nr 6, a największą liczbę alleli prywatnych w grupach nr 4 i 6. Grupy te, obok grupy nr 3 charakteryzowały się także najwyższą heterozygotycznością. Najmniej zróżnicowana genetycznie okazał się grupa skandynawska (nr 1), która miała jednocześnie najwyższy wskaźnik wsobności. Wskaźnik zróżnicowania genetycznego (F_{st}) między badanymi grupami łośi wahał się od 0,001 i 0,075 i w niemal wszystkich (poza jednym) przypadkach był statystycznie istotny. Największe wartości F_{st} stwierdzono pomiędzy grupą skandynawską i pozostałymi.

Sprawdzono także, czy w badanej populacji istnieje izolacja przez dystans, tzn. czy zróżnicowanie genetyczne (wyrażone poprzez liniowy wskaźnik F_{st}) istotnie wzrasta wraz z odległością geograficzną pomiędzy poszczególnymi lokalizacjami i osobnikami. W obydwu przypadkach te zależności były istotne statystycznie, ale lepszym modelem okazał się taki, w którym zastosowano odległości geograficzne uwzględniające obecność Morza Bałtyckiego jako bariery migracyjnej (odległości obliczono uwzględniając tylko drogę lądową). Genetyczne zróżnicowanie najszybciej wzrastało wraz z odległością w przypadku par lokalizacji skandynawskich i fińskich, choć zależność ta była na granicy istotności statystycznej ($P = 0,059$). Zależności pomiędzy parami skandynawskimi i kontynentalnymi oraz tylko pomiędzy kontynentalnymi były słabe i statystycznie nieistotne.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono dużą zgodność między strukturą genetyczną europejskiej populacji łośia wyznaczoną na podstawie analiz DNA mitochondrialnego i jądrowego. Strefa kontaktu dwóch (zachodniego i wschodniego) kładów mtDNA znajduje się w tym samym obszarze, co strefa kontaktu dwóch głównych subpopulacji (skandynawskiej i kontynentalnej) wyznaczonych na podstawie analiz mikrosatelitarnego DNA. Także w subpopulacji kontynentalnej, rozmieszczenie klastrów mikrosatelitarnego DNA w dużym stopniu odpowiada zasięgom poszczególnych kładów mtDNA. Na przykład obszar, gdzie dominuje udział klastrów drugiego i trzeciego, pokrywa się z rozmieszczeniem kładu wschodniego, a zasięg klastra czwartego obejmującego Polskę i Białoruś odpowiada rozmieszczeniu kładu centralnego. Korelacje udziału poszczególnych klastrów mikrosatelitarnego DNA z udziałem odpowiadających im kładom mtDNA w 16 badanych lokalizacjach są istotne statystycznie.

Przeprowadzone analizy ABC uwzględniające podział badanej populacji łośia na 4 klastry wyznaczone w programie Structure wykazały, że najlepszy model opisujący historię demograficzną populacji, zakłada, że pierwszy podział na subpopulację skandynawską i kontynentalną nastąpił ok. 29 000 lat temu, na początku okresu maksimum ostatniego zlodowacenia. Dalszy podział populacji na obecnie występujące klastry nastąpił znacznie później i prawdopodobnie związane jest z przejściem populacji przez „wąskie gardło”, które miało miejsce ok. 1250 lat temu.

Dane dotyczące analiz mikrosatelitarnego DNA łośia zostały również wykorzystane do oszacowania, czy i w jakim stopniu następuje przepływ genów w badanej populacji łośia w Europie (**praca 3**) zarówno pomiędzy 16 lokalizacjami, jak i 6 grupami opisanymi w poprzedniej pracy. Wykazano, że istnieją znaczne różnice w tempie migracji w każdej z dwóch głównych subpopulacji łośia w Europie, wyznaczonych na podstawie wcześniejszych analiz genetycznych. Współczynnik autokorelacji był statystycznie istotny na dystansie 300-

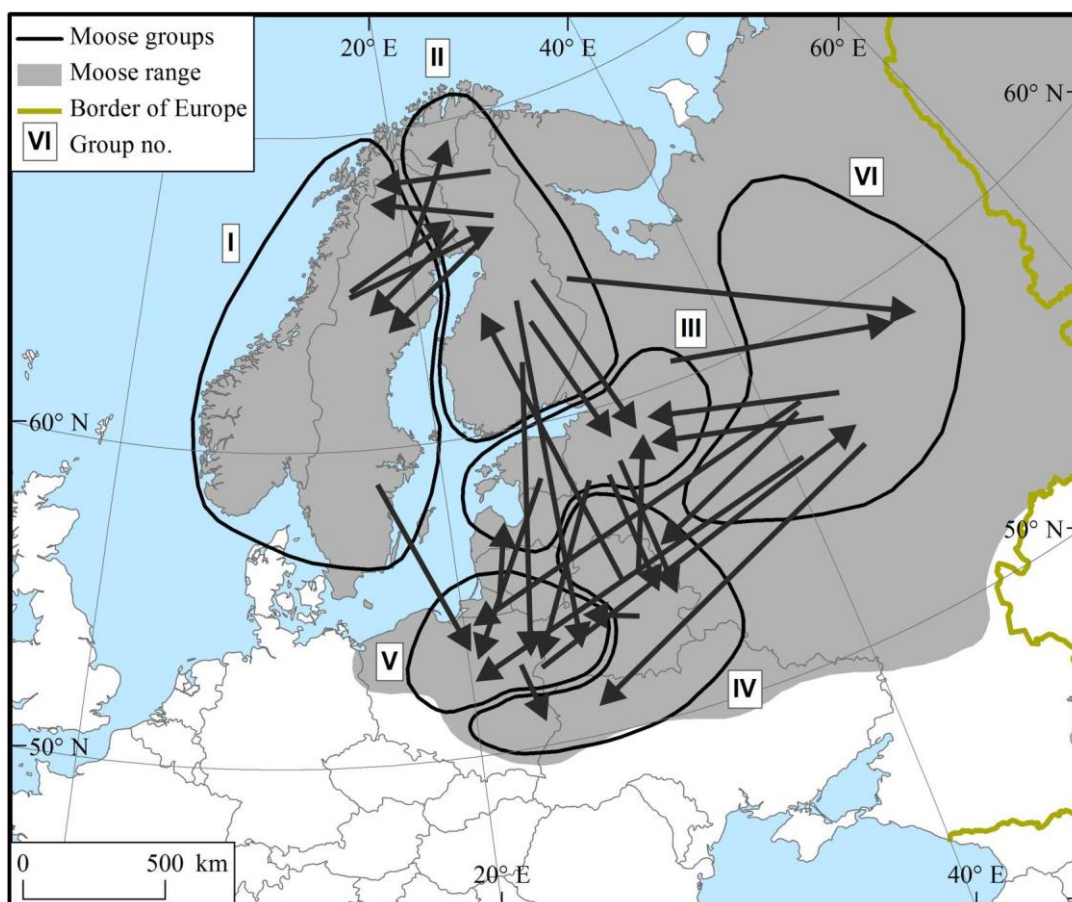
400 km w Skandynawii i 400-500 km w subpopulacji kontynentalnej. W całej populacji łośia w Europie istotna struktura genetyczna jest widoczna na dystansie 500-600 km. Wartość współczynnika autokorelacji w subpopulacji skandynawskiej była dwukrotnie wyższa niż w subpopulacji kontynentalnej i do odległości 300 km wartość ta była mniej więcej stała, ale gwałtownie malała na dystansie 300-400 km. W części kontynentalnej zasięgu łośia wartość współczynnika autokorelacji wolno spadała na dystansie do 500 km.

Stwierdzono, na podstawie testu przypisania (ang. *assignment test*), że przepływ genów pomiędzy trzema lokalizacjami (demami) w subpopulacji skandynawskiej jest znacznie niższy niż pomiędzy pozostałymi lokalizacjami. Najintensywniejszy przepływ genów zaobserwowano między czterema demami zasiedlającymi kraje nadbałtyckie i Białoruś, a także między łośiami z północno-wschodniej oraz centralnej części europejskiej części Rosji. Przepływ genów między parami demów spadał wraz ze wzrostem odległości między nimi, ale wykazano, że istnieją istotne różnice pomiędzy poszczególnymi lokalizacjami. Najsłabszy przepływ genów odnotowano między demami norweskimi i pozostałymi demami. Natomiast wyjątkowo intensywny przepływ genów zaobserwowano z demu w północnej części europejskiej części Rosji (obwodu archangielskiego) do demów położonych nawet w odległości 2000 km.

Stwierdzono, że największymi barierami w przepływie genów w populacji łośia w Europie stanowi Morze Bałtyckie i obszar w północnej części Finlandii w pobliżu granicy ze Szwecją i Norwegią. Druga istotna bariera została wykryta na obszarze pokrytym przez góry, wzdłuż granicy Norwegii i Szwecji. Mniej znaczące bariery odnotowano w najbardziej na zachód wysuniętej części zasięgu europejskiego łośia tzn. w północno-wschodniej Polsce i obwodzie kaliningradzkim oraz w najbardziej wysuniętej na wschód części obszaru objętego badaniami tzn. w obwodzie kirowskim. Przyczyną ograniczonego przepływu genów w północno-wschodniej Polsce i obwodzie kaliningradzkim może być genetyczna odrębność

demu zasiedlającego ten obszar, wynikająca z jego historii ewolucyjnej oraz być może obecnie działających procesów ekologicznych. Badania przeprowadzone przez Świsłocką i in. (2015) wykazały, że tempo emigracji łosi z Doliny Biebrzy jest znacznie wyższe niż tempo imigracji do tej lokalnej populacji, co prawdopodobnie wynika z wysokich zagęszczeń tego gatunku w tym rejonie. Natomiast istnienie bariery migracyjnej w obwodzie kirovskim może wynikać z obecności dużych systemów rzecznych odgradzających łosie z tego demu od innych części zasięgu tego gatunku w europejskiej części Rosji.

Przeprowadzone analizy wykazały, że 4,6 % badanych osobników stanowią migranci I pokolenia (Ryc. 3). Z 32 takich migrantów, 27 zostało znalezionych w części kontynentalnej zasięgu europejskiego łosia. Poza jednym przypadkiem, nie stwierdzono migrantów między subpopulacjami skandynawską i kontynentalną. Wykryto kilku migrantów pomiędzy



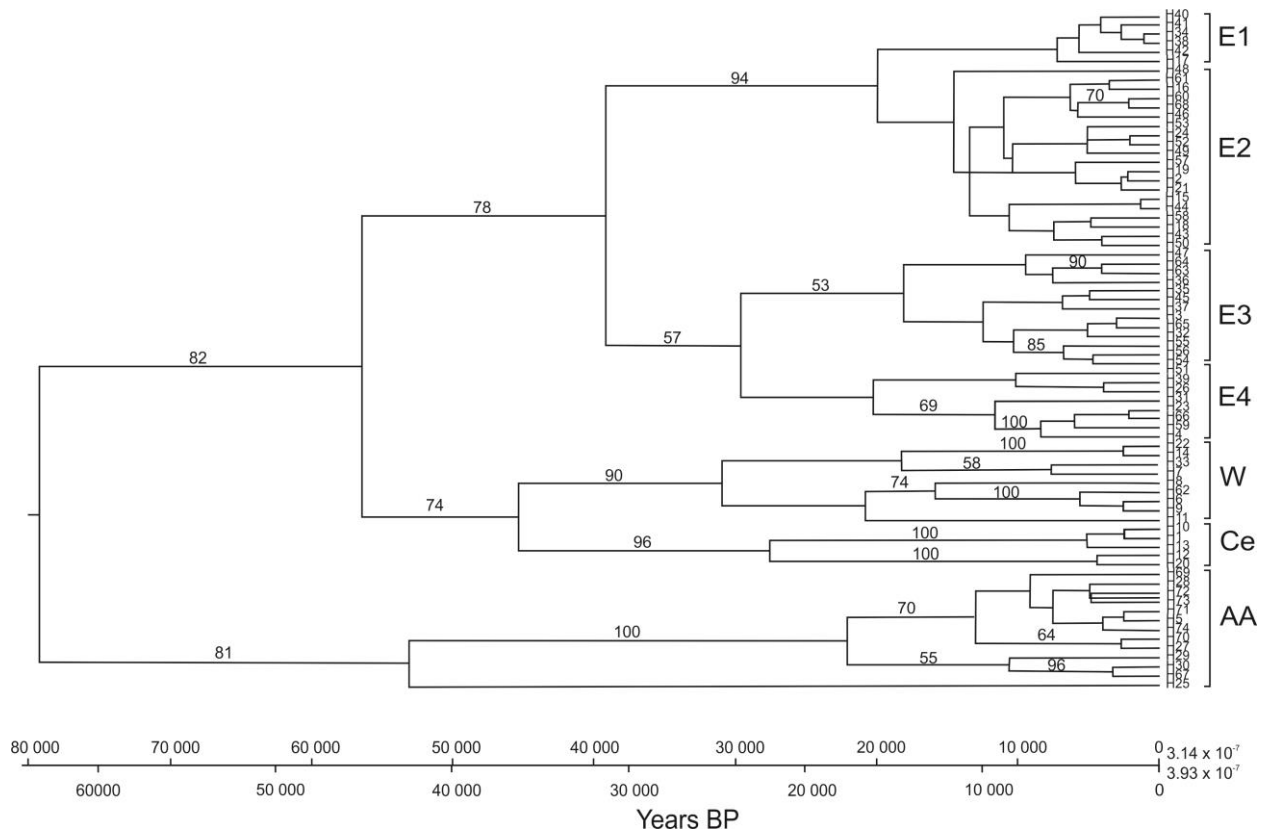
Ryc. 3 Migranci pierwszego pokolenia wyznaczeni pomiędzy sześcioma grupami łosi określonymi na podstawie analiz mikrosatelitarnego DNA (**praca 2**).

Finlandią i innymi grupami łośia z części kontynentalnej Europy, ale poza jednym przypadkiem, łośie migrowały z północy w kierunku południowym. Średni dystans pokonywany przez osobniki migrujące drogą lądową, między genetycznie różnymi grupami łośi, wynosił ok. 980 km (zakres 136-2563 km, SE = 95 km).

Na podstawie wszystkich dostępnych sekwencji regionu kontrolnego mtDNA łośia określono wzorzec zróżnicowania filogenetycznego tego gatunku, w całym zasięgu jego europejskiej linii (**praca 4**), a także rozpoznano obszary o największym zróżnicowaniu różnych haplogrup i linii mtDNA na tym obszarze. Następnie dane genetyczne zostały porównane z rozmieszczeniem szczątków kopalnych łośia, znalezionych na badanym terenie i datowanych na okres maksimum ostatniego zlodowacenia (26 000-15 000 BP), w celu określenia potencjalnych refugium glacialnych europejskiej linii łośia oraz dróg postglacialnej rekolonizacji kontynentu. Wśród ponad 1500 sekwencji regionu kontrolnego mtDNA, wykryto 78 haplotypów, z tym, że sekwencje 4 z nich nie były dostępne w GenBanku, więc zostały przypisane do odpowiednich haplogrup na podstawie danych opublikowanych w pracy Wennerström i in. (2016). Stwierdzono, że ponad 80% badanych sekwencji należy do europejskiej linii łośia (klady E1-E4, W i Ce, Ryc 3), natomiast pozostałe grupowały się z linią azjatycko-amerykańską, która na potrzeby tej pracy, została określona jako „haplogrupa”. W przeprowadzonych analizach filogenetycznych zastosowano te same dwa różne tempa mutacji, a także te same parametry obliczeń, jakie były wykorzystywane w poprzedniej pracy (**praca 1**: Niedziałkowska i in. 2014). Jednak czas rozdzielenia się dwóch linii mtDNA łośia europejskiego i azjatycko-amerykańskiego, obliczony na podstawie znacznie większych zgromadzonych tu danych, okazał się starszy (65 000 - 80 000 lat temu, Ryc. 4) niż oszacowany w poprzedniej pracy (ok. 40 000 - 55 000 lat temu). Europejska linia mtDNA łośia składa się z dwóch głównych kładów: wschodniego i centralno-zachodniego, które rozdzieliły się 45 000–55 000 lat temu, przed okresem maksimum ostatniego

zlodowacenia. Dalsze rozdzielenie kładu centralno-zachodniego na dwie haplogrupy (Ce i W), także miało miejsce przed okresem maksimum ostatniego zlodowacenia, ok. 35 000–45 000 lat temu, podobnie jak rozdzielenie się kładu wschodniego na dwa subklady (Ryc. 4). Dalsze różnicowanie się tych subkladów w cztery haplogrupy kładu wschodniego nastąpiło w czasie ostatniego zlodowacenia, ale większość haplotypów, które obserwujemy dzisiaj wyewoluowało później, w holocenie, nie wcześniej niż w ciągu ostatnich 10 tysięcy lat. Ewolucja europejskiego łośia okazała się procesem długotrwałym i rozdzielenie się różnych populacji w refugiach w czasie maksimum ostatniego zlodowacenia było tylko jednym z kilku czynników wpływających na ewolucję tego gatunku.

Szacowany czas rozdzielenia kładów, obliczony za pomocą analiz filogenetycznych z zastosowaniem zegara molekularnego, jest nieco starszy niż czas obliczonego poprzez analizę ABC (**w pracy 1**). Jednakże 95% przedział ufności dla czasu rozdzielenia obliczonego na podstawie analiz ABC jest szeroki i górna granica tego czasu wynosi 57 000 lat temu, więc również obejmuje okres przed maksimum ostatniego zlodowacenia. Różnice w oszacowanym czasie rozdzielenia wynikają prawdopodobnie z różnej wielkości danych wykorzystanych w tych analizach: w poprzednich badaniach wykorzystano 16 haplotypów mtDNA (**praca 1**), a w obecnych 65 haplotypów mtDNA europejskiej linii łośia (**praca 4**). Zróżnicowanie genetyczne łośia europejskiego, zwłaszcza kładu wschodniego, jest zatem znacznie większe niż poprzednio sądzono (Hundertmark i in. 2002, **praca 1**). Ponad 70% haplotypów europejskiego łośia należy do kładu wschodniego. Jest to zgodne z wynikami poprzednio przeprowadzonych badań (**praca 1**), które wykazały, że efektywna wielkość populacji kładu wschodniego jest największa spośród wszystkich trzech kładów mtDNA europejskiego łośia.

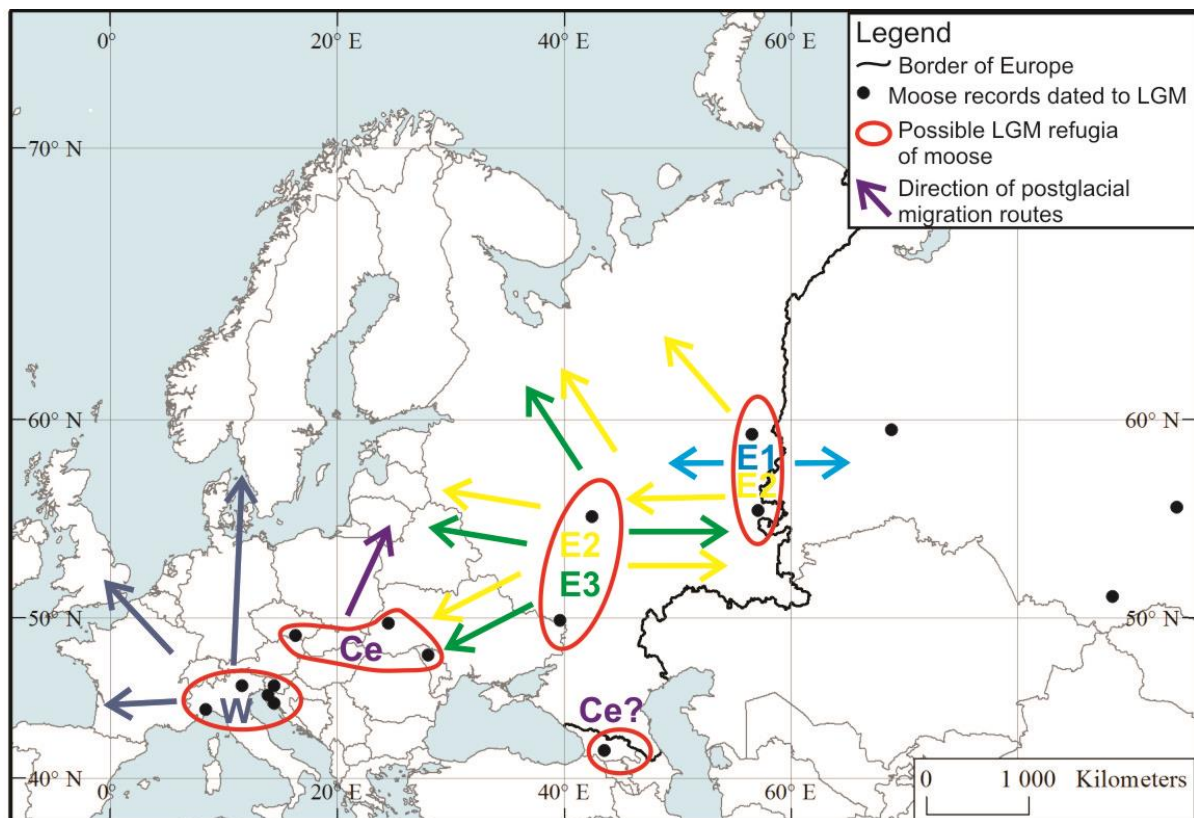


Ryc. 4. Drzewo filogenetyczne skonstruowane w programie Beast 1.8.4 z wykorzystaniem 74 sekwencji fragmentu regionu kontrolnego mtDNA łościa (*Alces alces*) dostępnych w banku genów GenBank. Haplogrupy: E1 - E4 – wschodnia, 1 - wschodnia 4, W – zachodnia, Ce – centralna, AA – azjatycko-amerykańska. Liczby nad gałęziami: prawdopodobieństwo *a posteriori* w procentach (pokazane są wartości powyżej 50%).

Porównano rozmieszczenie i frekwencje występowania 7 wyróżnionych haplogrup w 20 demach (lokalnych populacjach) zasiedlających Europę i Zachodnią Syberię. Stwierdzono, że zasięg linii europejskiej łościa obejmował obszary od północnej i centralnej Europy do zachodniej Syberii, gdzie jej udział zmniejszał się do 50%. Na podstawie danych literaturowych wiadomo również, że linia ta zamieszkuje północną część zachodniej Syberii. Występowanie pojedynczych osobników posiadających haplotypy z tej linii stwierdzono nawet we wschodniej Azji. Natomiast rozmieszczenie poszczególnych haplogrup linii europejskiej jest bardzo zróżnicowane: zasięg dwóch z nich (E2 i E3) jest bardzo szeroki i haplogrupy te występują na obszarze niemal całej Europy i Zachodniej Syberii, natomiast haplogrupa E1 występuje tylko we wschodniej części zasięgu europejskiej linii łościa, a haplogrupa E4 jest rzadka, a jej zasięg jest bardzo pofragmentowany. Również położenie

centralnych części zasięgów, gdzie liczba haplotypów z poszczególnych haplogrup była największa, było różne.

Największe zróżnicowanie genetyczne, obliczone na podstawie frekwencji różnych haplogrup w 20 demach, stwierdzono we wschodniej części Uralu i Zachodniej Syberii, a najniższe w Skandynawii. Wyższe wartości wskaźnika zróżnicowania genetycznego odnotowano także w zachodniej części Uralu, na granicy Finlandii, Norwegii i Szwecji oraz na obszarze obejmującym Białoruś oraz część Litwy, Ukrainy i wschodniej Polski. Rejony, gdzie zróżnicowanie genetyczne populacji łośa jest najwyższe to obszary nakładania się zasięgi różnych haplogrup i linii genetycznych łośa. Te strefy kontaktu powstały



Ryc. 5. Sugerowane refugia z okresu maksimum ostatniego zlodowacenia i drogi postglacialnej migracji różnych haplogrup łośa w Europie. Kolory oznaczają różne haplogrupy. E1 - E3 – wschodnie 1 - 3, W – zachodnia, Ce – centralna. Dane dotyczące rozmieszczenia szczątków łośa datowanych na okres ostatniego zlodowacenia pochodzą z: Musil (1985); Markova i in. (1995); Sommer i Nadachowski (2006); Kosintsev (2007); Nadachowski i in. (2015) i źródła tam cytowane; Stefaniak (2015).

prawdopodobnie w trakcie postglacjalnej migracji, kiedy to populacje łośi z różnych refugium glacialnych spotkały się. W takim przypadku wyższe zróżnicowanie genetyczne nie odzwierciedla refugium glacialnych, gdzie gatunek ten przetrwał okres maksimum ostatniego zlodowacenia.

Na podstawie porównania położenia centralnych części zasięgów haplogrup łośi z danymi o szczątkach datowanych na okres maksimum ostatniego zlodowacenia (Ryc. 5) potwierdzono, że najbardziej liczny kład wschodni łośia przetrwał ten okres na Uralu, a także na Nizinie Wschodnioeuropejskiej (obecnie środkowa część europejskiej części Rosji). Określenie refugium glacialnych haplogrup centralnej i zachodniej jest utrudnione, ze względu na wymarcie łośia w zachodniej i południowej Europie. Jednak można przypuszczać, że łośi z tych grup przetrwały okres maksimum ostatniego zlodowacenia w kilku obszarach refugialnych w południowej, centralnej i południowo-wschodniej części kontynentu. Przepuszczalnie zróżnicowanie genetyczne tego kładu było większe w przeszłości. Aby potwierdzić te hipotezy, niezbędne są badania z wykorzystaniem analiz kopalnego DNA europejskiego łośia.

Bibliografia

- Bradley, D.G., MacHugh, D.E., Cunningham, P., Loftus, R.T., 1996. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *PNAS* 93, 5131–5135.
- Burzyńska, B., Olech, W., Topczewski, J., 1999. Phylogeny and genetic variation of the European bison *Bison bonasus* based on mitochondrial DNA D-loop sequences. *Acta Theriol.* 44, 253–262.
- Dzięciołowski, R., Pielowski, Z., 1993. Łoś. Wydawnictwo ANTON-5 Sp. z o.o., Warszawa, Poland (in Polish).
- Falush, D., Stephens, M., Pritchard, J.K., 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164, 1567–1587.
- Filonov, K.P., 1983. *Los. Lesnaya Promyshlennost*, Moscow, Russia (in Russian).
- Guillot, G., Mortier, F., Estoup, A., 2005. GENELAND: a computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes* 5, 712–715.
- Hundertmark, K.J., Shields, G.F., Udina, I.G., Bowyer, R.T., Danilkin, A.A., Schwartz, C.C., 2002. Mitochondrial phylogeography of moose (*Alces alces*): Late Pleistocene divergence and population expansion. *Mol. Phylogenet. Evol.* 22, 375–387.

- Kosintsev, P., 2007. Late Pleistocene large mammal faunas from the Urals. *Quaternary International* 160, 112-120.
- Markova, A.K., Smirnov, N.G., Kozharinov, A.V., Kazantseva, N.E., Simakova, A.N., Kitaev, L.M., 1995. Late Pleistocene distribution and diversity of mammals in Northern Eurasia (Paleofauna Database). *Paleontologia and Evolucio* 28–29, 5–143.
- Musil, R., 1985. Palaeobiostatigraphy of terrestrial communities in Europe during the Last Glacial. *Sborník Národního Muzea v Praze* 41(B), 1–84.
- Nadachowski, A., Marciszak, A., Ridush, B., Stefaniak, K., Wilczyński, J., Wojtal, P. 2015. Eksploatacja zasobów fauny przez paleolityczne społeczności łowiecko-zbierackie na przykładzie strefy pery i meta karpackiej, in: Łanczont, M., Madeyska, T. (Eds.), *Paleolityczna ekumena strefy pery- i meta karpackiej*. UMCS, Lublin, Poland (in Polish and in Ukrainian), pp. 837–909.
- Pritchard, J.K., Stephens, M, Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959.
- Schmölcke, U., Zachos, F.E., 2005. Holocene distribution and extinction of the moose (*Alces alces*, Cervidae) in Central Europe. *Mamm. Biol.* 70, 329-344.
- Sommer, R.S., Nadachowski, A., 2006. Glacial refugia of mammals in Europe: evidence from fossil records. *Mammal Review* 36, 251-265.
- Stefaniak, K., 2015. Neogene and Quaternary Cervidae from Poland. Habilitation thesis, Institute of Systematics and Evolution of Animals Polish Academy of Sciences, Kraków, Poland.
- Świsłocka, M., Czajkowska, M., Duda, N., Ratkiewicz, M., 2015. Admixture promotes genetic variation in bottlenecked moose populations in eastern Poland. *Mamm Res* 60, 169-179.
- Wennerström, L., Ryman, N., Tison, J.-L., Hasslow, A., Dalen, L., Laikre, L., 2016. Genetic landscape with sharp discontinuities shaped by complex demographic history in moose (*Alces alces*). *J. Mammal.* 97, 1–13.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych

Moje zainteresowania naukowe dotyczą ekologii populacji, genetyki populacji i filogeografii różnych grup ssaków (dużych ssaków drapieżnych, drobnych ssaków, ssaków kopytnych) w dużej skali przestrzennej (regionalnej, krajowej i kontynentalnej). Mój główny wkład w rozwój nauki polega na zastosowaniach i integracji metodologii z tych dziedzin w celu wyjaśnienia procesów, które kształtują współcześnie lub miały wpływ w przeszłości na obecnie występujące populacje ssaków w Europie.

Badania nad dużymi drapieżnikami

Moje zainteresowania naukami biologicznymi sięgają lat szkolnych, kiedy to m.in. z sukcesami brałam udział w konkursach biologicznych. W trakcie studiów aktywnie działałam w studenckim Kole Naukowym MSOŚ, którego byłam prezesem w latach 2001 - 2002 r. W ramach działalności Koła realizowałam projekt pt.: „*Badania nad populacją wilka w Puszczy Piskiej i Puszczy Nidzickiej*”. W latach 2001-2002, jako studentka IV roku studiów, brałam udział w projekcie prowadzonym pod kierunkiem prof. dr hab. Włodzimierza Jędrzejewskiego z Zakładu Badania Ssaków PAN w ramach „*Ogólnopolskiej Inwentaryzacji wilka i rysia w nadleśnictwach i parkach narodowych Polski*”, a także aktywnie włączałam się w działalność Stowarzyszenia dla Natury „Wilk”. W 2002 roku obroniłam, przygotowaną pod kierunkiem prof. dr. hab. Włodzimierza Jędrzejewskiego i dr. Marcina Brzezińskiego, pracę magisterską „*Czynniki wpływające na rozmieszczenie wilka w północnej Polsce – analiza z wykorzystaniem techniki GIS*”. Materiał do tej pracy został zebrany w trakcie „*Ogólnopolskiej Inwentaryzacji wilka i rysia*”, a wyniki zostały opublikowane w pracy Jędrzejewski et al. (2004), której byłam współautorką.

Po rozpoczęciu pracy w Zakładzie Badania Ssaków PAN (ZBS PAN) wykonałam analizy przestrzenne dotyczące wybiórczości środowiskowej wilka w południowej części Polski, a także podobne analizy dotyczące występowania rysia we wschodniej i południowo-

wschodniej części kraju, również z wykorzystaniem danych zebranych w trakcie „*Ogólnopolskiej Inwentaryzacji wilka i rysia*”. Uzyskane wyniki zostały zaprezentowane w pracach Jędrzejewski i in. (2005) i Niedziałkowska i in. (2006), których byłam współautorką.

Wszystkie przeprowadzone analizy przestrzenne, w których brałam udział, wykazały, że wilki i rysie preferują obszary o wyższej lesistości i mniejszej fragmentacji lasów, a unikają terenów gęsto zabudowanych oraz charakteryzujących się gęstą siecią głównych dróg i linii kolejowych. Ponadto stwierdzono, że w południowej części kraju, ze względu na gęstsza zabudowę i sieć infrastruktury transportowej, istnieją gorsze warunki dla funkcjonowania dużych drapieżników niż w północnej części Polski. Uzyskane wyniki mają zastosowanie w planowaniu obszarów chronionych i korytarzy ekologicznych, których celem jest ochrona dużych ssaków drapieżnych.

Część materiałów zebranych w trakcie „*Ogólnopolskiej Inwentaryzacji wilka i rysia*” wykorzystano do analizy składu pokarmu wilka w Polsce, jak również w kolejnych projektach badawczych, dotyczących zróżnicowania genetycznego tego gatunku w Polsce i innych krajach europejskich na podstawie analiz mitochondrialnego DNA (mtDNA), mikrosatelitarnego DNA i wielkoskalowego sekwencjonowania SNP (ang. *single nucleotide polymorphism*). W trakcie mojej pracy w ZBS PAN brałam udział w analizie danych dotyczących zmienności diety wilka w Polsce, której wyniki są przedstawione w pracy Jędrzejewski i in. (2012). Na podstawie analizy diety wilka stwierdzono, że głównymi ofiarami tego drapieżnika są jeleni (selektywnie wybierany z zespołu kopytnych), sarna (łowiona proporcjonalnie do jej udziału w zespołach kopytnych) i dzik (unikany przez wilki). Mimo podobnej struktury zespołu ssaków kopytnych na różnych obszarach Polski, wykazano istotne statystycznie różnice w diecie wilka, które były zgodne ze strukturą genetyczną tego gatunku (Jędrzejewski i in. 2012).

Badania nad zróżnicowaniem genetycznym wilka w Polsce, w których uczestniczyłam, wykazały, że istnieją znaczne różnice zarówno pod względem mitochondrialnego, jak i mikrosatelitarnego DNA pomiędzy subpopulacjami wilka zamieszkującymi Karpaty i obszary nizinne Polski. Wilki zamieszkujące zachodnią Polskę i wschodnią część Niemiec genetycznie najbardziej są podobne do osobników tego gatunku zamieszkujących północno-wschodnią część kraju. Wśród wilków zamieszkujących obszary nizinne Polski nieco odmienna od innych jest grupa osobników tego gatunku zamieszkująca obszar przy granicy z Ukrainą (Czarnomska i in. 2013).

Analizy genetyczne SNP z wykorzystaniem 177 prób wilków z 11 krajów Europy, wykazały, że najbardziej odmienna genetycznie populacja wilka w Europie zamieszkuje Włochy. Stwierdzono także, że w obrębie pozostałych obszarów objętych badaniami, istnieją wyraźne różnice genetyczne między wilkami zamieszkującymi Chorwację, Bułgarię i Grecję (populacja dynarsko-bałkańska) i obszary centralno-północnej części kontynentu (Finlandię, Łotwę, Białoruś, Polskę i Rosję). Wilki zamieszkujące Karpaty mają genotypy pośrednie między tymi dwoma populacjami. Na obecnie obserwowany wzorzec zróżnicowania genetycznego wilka w Europie miało wpływ kilka czynników: przetrwanie w refugiach glacialnych, postglacialna rekolonizacja, adaptacje do lokalnych warunków środowiska oraz działalność człowieka (m.in. fragmentacja środowiska, tępienie). Wyniki przeprowadzonych badań mają istotne znaczenie dla ochrony tego drapieżnika i jego siedlisk (Stronen i in. 2013). Wykazano również, że takie same różnice występują między genetycznie wyznaczonymi populacjami wilka w Europie na podstawie frekwencji genów funkcjonalnych np.: odpowiedzialnych za termoregulację i kontrolujących zmysły wzorku, węchu i słuchu (Stronen i in. 2015).

Publikacje (chronologicznie)

Jędrzejewski W., **Niedziałkowska M.**, Nowak S., Jędrzejewska B. 2004. Habitat variables associated with wolf (*Canis lupus*) distribution and abundance in northern Poland. *Diversity and Distribution* 10: 225-233.

Jędrzejewski W., **Niedziałkowska M.**, Mysłajek R., Nowak S., Jędrzejewska B. 2005. Habitat selection by wolves *Canis lupus* in the uplands and mountains of southern Poland. *Acta Theriologica* 50: 417-428.

Niedziałkowska M., Jędrzejewski W., Mysłajek R.W., Nowak S., Jędrzejewska B., Schmidt K. 2006. Environmental correlates of Eurasian lynx occurrence in Poland - Large scale census and GIS mapping. *Biological Conservation* 133: 63-69.

Jędrzejewski W., **Niedziałkowska M.**, Hayward M.W., Goszczyński J., Jędrzejewska B., Borowik T., Bartoń K.A., Nowak S., Harmuszkiewicz J., Juszczak A., Kałamarz T., Kloch A., Koniuch J., Kotiuk K., Mysłajek R.W., Nęczyńska M., Olczyk A., Teleon M., Wojtulewicz M. 2012. Prey choice and diet of wolves related to ungulate communities and wolf subpopulations in Poland. *Journal of Mammalogy* 93: 1480-1492.

Czarnomska S.D., Jędrzejewska B., Borowik T., **Niedziałkowska M.**, Stronen A.V., Nowak S., Mysłajek R.W., Okarma H., Konopiński M., Pilot M., Śmietana W., Caniglia R., Fabbri E., Randi E., Pertoldi C., Jędrzejewski W. 2013. Concordant mitochondrial and microsatellite DNA structuring between Polish lowland and Carpathian Mountain wolves. *Conservation Genetics* 14: 573-588.

Stronen A.V., Jędrzejewska B., Pertoldi C., Demontis D., Randi E., **Niedziałkowska M.**, Pilot M., Sidorovich V.E., Dykyy I., Kusak J., Tsingarska E., Kojola I., Karamanlidis A.A., Ornicans A., Lobkov V.A., Dumenko V., Czarnomska S.D. 2013. North-South differentiation and a region of high diversity in European wolves (*Canis lupus*). *PLOS one* 8(10): e76454.

Stronen A.V., Jędrzejewska B., Pertoldi C., Demontis D., Randi E., **Niedziałkowska M.**, Borowik T., Sidorovich V.E., Kusak J., Kojola I., Karamanlidis A.A., Ozolins J., Dumenko V., Czarnomska S.D. 2015. Genome-wide analyses suggest parallel selection for universal traits may eclipse local environmental selection in a highly mobile carnivore. *Ecology and Evolution* 5: 4410-4425.

Badania dotyczące drobnych ssaków

Kolejny wieloletni temat badawczy, w którego realizację jestem zaangażowana, dotyczy zróżnicowania gatunkowego i genetycznego drobnych ssaków w północno-wschodniej Polsce. Badania te były finansowane ze środków MNiSW w ramach projektu: „*Wpływ wielkości, stanu zachowania i izolacji przestrzennej puszczy północno-wschodniej Polski na różnorodność gatunkową i genetyczną ssaków*”, którego byłam głównym

wykonawcą. Wyniki tych badań zostały opublikowane w dwóch pracach: Czarnomska i in. (2010) oraz Niedziałkowska i in. (2010). Pierwsza z tych publikacji prezentuje rozmieszczenie nowych stanowisk 8 gatunków drobnych ssaków w północno-wschodniej Polsce, stwierdzonych w trakcie prowadzonych prac terenowych w ramach powyższego projektu. Celem drugiej było sprawdzenie, jakie czynniki wpływają na rozmieszczenie i liczebność drobnych ssaków w skali lokalnej i regionalnej w puszczech strefy umiarkowanej porastających północno-wschodnią Polskę. W skali regionalnej liczebność drobnych ssaków pozytywnie korelowała z udziałem drzewostanów liściastych w badanych kompleksach leśnych. W przypadku gryzoni liczebność wzrastała także wraz z wzrostem produktywności w skali lokalnej. Zależność pomiędzy produktywnością lasów i zróżnicowaniem gatunkowym drobnych ssaków była pozytywnie skorelowana, zarówno w skali lokalnej, jak i regionalnej.

Część materiałów zebranych w ramach tego projektu zostało wykorzystanych w badaniach genetycznych dotyczących myszy leśnej (*Apodemus flavicollis*) i nornicy rudej (*Myodes glareolus*). Badania dotyczące pierwszego z tych gatunków były finansowane ze środków MNiSW w ramach projektu: „Myszy leśne (*Apodemus flavicollis*) - wpływ struktury krajobrazu na przestrzenne zróżnicowanie genetyczne populacji w północno-wschodniej Polsce”, którego byłam kierownikiem. Wyniki badań uzyskane w ramach tego projektu zostały wykorzystane do przygotowania rozprawy doktorskiej mgr Sylwii Czarnomskiej. Praca ta została obroniona w 2016 r. Obecnie przygotowywane są dwie publikacje.

Drugi projekt badawczy, którego byłam kierownikiem, dotyczył zróżnicowania genetycznego nornicy rudej i był finansowany z Programu Pomost Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej. Wyniki przeprowadzonych badań zostały już częściowo opublikowane w pracy Tarnowska i in. (2016), której jestem współautorem. Publikacja ta będzie wchodziła w skład rozprawy doktorskiej mgr Ewy Tarnowskiej, która była głównym wykonawcą tego projektu. Rozprawa jest przygotowana pod kierunkiem prof. dr hab. Bogumiły Jędrzejewskiej i moim

(jestem promotorem pomocniczym). Wykazano, że w strefa kontaktu mitochondrialnych linii normicy rudej: karpackiej i wschodniej w północno-wschodniej Polsce jest znacznie szersza niż do tej pory sądzono, a udział linii karpackiej na badanych powierzchniach pozytywnie koreluje z liczbą roślin pochodzących z refugium karpackiego i średnią temperaturą lipca. W przypadku linii wschodniej zależności te były odwrotne. Analizy mikrosatelitarnego DNA wykazały, że na badanym terenie występują dwa lub trzy klastry genetyczne, a ich rozkład przestrzenny w dużym stopniu odpowiada rozmieszczeniu dwóch różnych linii mtDNA. Jednak strefa hybrydyzacji, gdzie większość osobników stanowią mieszańce tych klastrow jest znacznie szersza niż strefa kontaktu linii mtDNA (Tarnowska i in., w przyg.).

Publikacje

Czarnomska S., **Niedzialkowska M.**, Kończak J., Bartoń K.A. 2010. Nowe stanowiska wybranych gatunków drobnych ssaków Micromammalia w północno-wschodniej Polsce. Przegląd Zoologiczny 52-54: 197-202.

Niedzialkowska M., Kończak J., Czarnomska S., Jędrzejewska B. 2010. Species diversity and abundance of small mammals in relation to forest productivity in northeast Poland. Ecoscience 17: 109-119.

Tarnowska E., **Niedzialkowska M.**, Gerc J., Korbut Z., Górny M., Jędrzejewska B. 2016. Spatial distribution of the Carpathian and Eastern mtDNA lineages of the bank vole in their contact zone relates to environmental conditions. Biological Journal of the Linnean Society 119: 732-744.

Badania dotyczące ssaków kopytnych

Temat, którym zajęłam się w ramach przygotowywania rozprawy doktorskiej, dotyczył zróżnicowania genetycznego (mtDNA i mikrosatelitarnego DNA) jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus*) w północno-wschodniej Polsce. Promotorem pracy była prof. dr hab. Bogumiła Jędrzejewska. Część materiałów do tych badań zostało zebranych i przeanalizowanych w ramach wspomnianego wyżej projektu dotyczącego zróżnicowania genetycznego i gatunkowego ssaków oraz projektu promotorskiego „*Struktura genetyczna populacji jelenia Cervus elaphus w puszczach północno-wschodniej Polski*” finansowanego

ze środków MNiSW, którego byłam głównym wykonawcą (kierownikiem obydwu projektów była prof. Bogumiła Jędrzejewska). Wyniki rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w dwóch publikacjach naukowych (Niedziałkowska i in. 2012 a, b). Część materiałów zebranych w trakcie badań została wykorzystana do analiz filogenetycznych jelenia w skali całego kontynentu europejskiego, prowadzonych we współpracy z prof. dr. hab. Frankiem Zachosem z Muzeum Historii Naturalnej w Wiedniu, Austria. Wyniki zostały opublikowane w pracy Niedziałkowska i in. (2011). Część prób jelenia z obszaru północno-wschodniej Polski została również wykorzystana do analiz struktury genetycznej mikrosatelitarnego DNA jelenia w Europie (Zachos i in. 2016).

Przeprowadzone analizy wykazały, że na terenie północno-wschodniej Polski i białoruskiej części Puszczy Białowieskiej, występują trzy subpopulacje wyznaczone na podstawie analiz mikrosatelitarnego DNA i 4 subpopulacje wyznaczone na podstawie analiz mtDNA. Na obecnie obserwowaną strukturę genetyczną badanej populacji miała wpływ jej historia demograficzna (spadek liczebności i wyginięcie jelenia na znacznym obszarze Europy w XVIII i XIX w.) oraz działalność człowieka (gospodarka łowiecka, translokacje, Niedziałkowska i in. 2012a). Na badanym terenie nie stwierdzono istotnych barier migracyjnych dla jeleni, natomiast liczba migrantów spadała wraz z odległością między kompleksami leśnymi, z których pochodziły badane osobniki. Większa lesistość pomiędzy poszczególnymi kompleksami leśnymi pozytywnie wpływała na przepływ genów między grupami jeleni je zamieszkującymi (Niedziałkowska i in. 2012b).

Na podstawie analiz filogenetycznych jeleni w skali biogeograficznej stwierdzono, że na terenie Polski występują dwie linie mtDNA jeleni: zachodnia obejmująca swym zasięgiem nizinne obszary Polski i wschodnia zasiedlająca Karpaty. Zasięg linii zachodniej obejmuje Europę zachodnią i centralną i jego wschodnia granica przebiega przez Białoruś, natomiast linia wschodnia występuje we wschodniej, południowo-wschodniej i centralnej części

kontynentu. Na obszarze centralnej Polski i Białorusi stwierdzono obecność osobników zarówno z linii wschodniej, jak i zachodniej (Niedziałkowska i in. 2011). Badania przeprowadzone z wykorzystaniem mikrosatelitarnego DNA wykazały, że jelenie na obszarze Europy są bardzo zróżnicowane genetycznie, a struktura genetyczna wyznaczona na podstawie jądrowego DNA w dużym stopniu odpowiada rozmieszczeniu trzech głównych linii mtDNA (Zachos i in. 2016).

W dalszym ciągu kontynuuję badania nad zróżnicowaniem genetycznym jelenia szlachetnego w Europie. Obecnie kieruję projektem „*Zróżnicowanie genetyczne i wybiórczość środowiskowa jelenia szlachetnego (Cervus elaphus) w Europie i Azji w późnym plejstocenie i holocenie*”, finansowanym ze środków NCN. Projekt jest realizowany we współpracy z kilkoma instytucjami krajowymi (Instytutem Biofizyki i Biochemii PAN, Instytutem Genetyki i Biotechnologii Uniwersytetu Warszawskiego, Zakładem Paleozoologii i Zakładem Genomiki Uniwersytetu we Wrocławiu oraz Zakładem Zastosowań Radioizotopów Politechniki Śląskiej), a także zagranicznymi np.: Muzeum Historii Naturalnej w Wiedniu (Austria), Muzeum Historii Naturalnej w Paryżu (Francja), czy Instytutem Historii Narodowej Akademii Nauk w Mińsku (Białoruś). W ramach tego projektu są przygotowywane dwie rozprawy doktorskie, pani mgr Karoliny Doan i pana mgr. inż. Macieja Sykuta.

Kolejnym zagadnieniem badawczym, w którego realizację jestem zaangażowana, dotyczy zróżnicowania genetycznego i filogeografii saren w Europie. Badania dotyczące wpływu struktury krajobrazu na zróżnicowanie genetyczne populacji saren w północno-wschodniej Polsce były finansowane ze środków MNiSW w ramach projektu badawczego, którego byłam jednym z wykonawców. Kierownikiem projektu był doktorant Leif Soennichsen. Materiał zebrany w trakcie tych badań został wykorzystany przez pana Soennichsena do przygotowania (pod kierunkiem prof. dr hab. Bogumiły Jędrzejewskiej)

rozprawy doktorskiej, a dane dotyczące analiz genetycznych zostały opublikowane w pracy Olano-Marin i in. (2014), której byłam współautorką. Badania te wykazały, że nie istnieją różnice genetyczne między sarnami zamieszkującymi obszary leśne i otwarte w północno-wschodniej Polsce. Część prób saren zebranych w ramach tych badań jest wykorzystywana w ramach projektu badawczego finansowanego ze środków NCN i dotyczącego filogeografii i zróżnicowania genetycznego saren w Europie. Projektem kieruje prof. dr hab. Bogumiła Jędrzejewska, a głównym wykonawcą jest mgr Kamila Plis, która w ramach tych badań przygotowuje rozprawę doktorską. Jestem promotorem pomocniczym tej rozprawy. Przeprowadzone do tej pory badania mtDNA wykazały, że sarna jest gatunkiem bardzo zróżnicowanym genetycznie, a w polskiej populacji tego gatunku stwierdzono znaczny udział osobników z haplotypami mtDNA sarny syberyjskiej (Olano-Marin i in. 2014). Przypuszczamy, że prowadzone przez nas badania pozwolą określić skalę i wyjaśnić przyczynę tej introgresji, która nie jest do końca poznana.

Jako jeden z wykonawców biorę również udział w dwóch projektach badawczych finansowanych ze środków NCN i dotyczących zróżnicowania genetycznego dzika w Polsce i na Białorusi. Pierwszy z tych projektów pt.: *„Polimorfizm mtDNA, chromosomu Y oraz autosomalnych układów mikrosatelitarnych w populacjach dzika (Sus scrofa) z obszaru Polski i Białorusi”* realizowany jest pod kierunkiem dr. hab. Marcina Woźniaka z Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, natomiast drugim pt.: *„Epidemiologia afrykańskiego pomoru świń (ASF) w populacji dzika (Sus scrofa) - rola struktury przestrzennej, socjalnej i genetycznej populacji gospodarza”* kieruje dr Tomasz Podgórski z IBS PAN w Białowieży.

Publikacje

Niedziałkowska M., Jędrzejewska B., Honnen A., Thurid O., Sidorovich V. E., Perzanowski K., Skog A., Hartl G., Borowik T., Bunevich A., Lang J., Zachos F. 2011. Molecular biogeography of red deer *Cervus elaphus* from eastern Europe: insights from mitochondrial DNA sequences. *Acta Theriologica* 56: 1-12.

Niedziałkowska M., Jędrzejewska B., Wójcik J.M., Goodman S.J. 2012a. Genetic structure of red deer population in northeastern Poland in relation to the history of human interventions. *The Journal of Wildlife Management* 76: 1264-1276.

Niedziałkowska M., Fontaine M.C., Jędrzejewska B. 2012b. Factors shaping gene flow in red deer (*Cervus elaphus*) in seminatural landscapes of central Europe. *Canadian Journal of Zoology* 90: 150-162.

Niedziałkowska M. 2013. Zróżnicowanie genetyczne jeleni w północno-wschodniej Polsce. *Las Polski* 22: 19-21.

Olano-Marin J., Plis K., Sönnichsen L., Borowik T., **Niedziałkowska M.**, Jędrzejewska B. 2014. Weak population structure in European roe deer (*Capreolus capreolus*) and evidence of introgressive hybridization with Siberian roe deer (*C. pygargus*) in Northeastern Poland. *PLOS one* 9(10): e10914.

Zachos F.E., Frantz A.C., Kuehn R., Bertouille S., Colyn M., **Niedziałkowska M.**, Pérez-González J., Skog A., Sprëm N., Flamand M.C. 2016. Genetic Structure and Effective Population Sizes in European Red Deer (*Cervus elaphus*) at a Continental Scale: Insights from Microsatellite DNA. *Journal of Heredity* 107: 318-326.

Handwritten signature

Handwritten signature