

# Streszczenie

## Rola poligamii w ekspansji wierzby czarniawej

**Paweł Mirski**

W toku ewolucji rośliny okrytonasienne wykształciły różnorodne systemy seksualne – od hermafrodytyzmu przez wiele stadiów pośrednich do dwupienności, czyli obecności w populacji osobników męskich i żeńskich. Płeć u roślin okrytonasiennych może być uwarunkowana zarówno genetycznie (przez chromosomy płciowe, pojedyncze lub wiele genów), jak i przez czynniki środowiskowe (warunki siedliska oraz klimatu i ich zmiany, pasożyty i inne). Różnorodność i współdziałanie mechanizmów determinacji płci u tych roślin sprawia, że są one plastyczne w optymalizacji systemów seksualnych do warunków środowiska. Badanie plastyczności systemów seksualnych i czynników ją determinujących pozwala ocenić potencjał adaptacyjny roślin i ich zdolności kolonizacyjne. W tym kontekście, interesującym systemem seksualnym jest poligamia, czyli system, w którym poza osobnikami męskimi i żeńskimi, w populacjach występują też osobniki hermafrodytyczne (obupłciowe). W tym zakresie poligamia nazywana jest też subdioecją lub trioecją. Zjawisko to jest jednym z ostatnich stadiów ewolucji dwupienności i łączy w sobie częściowo korzyści związane z występowaniem w populacjach osobników męskich i żeńskich, co umożliwi wymianę genów przez zapłodnienie krzyżowe, jak i samozgodnych hermafrodytów, pozwalających na zawiązywanie nasion na drodze samozapylenia. Poligamia jest stosunkowo rzadkim systemem seksualnym i dotyczy około 3,6% roślin okrytonasiennych, w tym także gatunków, które osiągnęły ewolucyjne stadium dwupienności, lecz przynajmniej w części swojego zasięgu geograficznego charakteryzują się poligamią. Takimi gatunkami są np. szczyr trwały (*Mercurialis annua*), klon jesionolistny (*Acer negundo*) i wierzba czarniawa (*Salix myrsinifolia*), która była obiektem moich badań.

*Salix myrsinifolia* jest krzewem lub niskim drzewem należącym do elementu euro-syberyjskiego o charakterystycznej borealno-górskiej dysjunkcji. Południowo-zachodnia granica zasięgu geograficznego występowania wierzby czarniawej przebiega przez tereny nizinne północno-wschodniej Polski, a jego rozszerzanie następuje na południe i zachód kraju. Ekspansji geograficznej towarzyszy częste wkraczanie tego gatunku na siedliska antropogeniczne. Wierzba czarniawa, podobnie jak zdecydowana większość gatunków z rodzaju *Salix*, uznawana jest za dwupienną. Faliński

(1998)<sup>1</sup> stwierdził jednak, że na obszarze północno-wschodniej Polski, regularnie wykazuje ona poligamiczny system seksualny. Manifestuje się on obecnością trzech form płciowych w populacji - występowaniem osobników o kwiatostanach zawierających kwiaty męskie i żeńskie (osobniki hermafrodytyczne) wspólnie z osobnikami wykształcającymi wyłącznie kwiatostany męskie i osobnikami wykształcającymi wyłącznie kwiatostany żeńskie. Faliński stwierdził również, że częstość występowania hermafrodytów rośnie wraz z ruderalizacją siedlisk i nasilała się w ciągu kilku lat (obserwacje na znakowanych osobnikach w populacjach w Dolinie Biebrzy i pod Białymstokiem). Ponadto, osobniki hermafrodytyczne zostały przez niego opisane jako osiągające większe rozmiary, cechujące się szybszym wzrostem i bardziej płodne. Dokonany przeze mnie przegląd literatury na temat odstępstw od dwupienności w rodzaju *Salix* wykazał, że przynajmniej 18 gatunków wierzby (z rodzaju liczącego 330-500 gatunków) cechuje się częściową plastycznością systemów seksualnych, ale w przypadku wierzby czarniawej zjawisko to jest najbardziej nasilone i towarzyszy obserwowanej ekspansji geograficznej. Skłoniło mnie to do ukierunkowania moich badań i postawienia głównej hipotezy zakładającej, że zmiana systemu seksualnego z dwupiennego na poligamiczny jest adaptacją do ekspansji geograficznej gatunku. Analizując związek powrotu do poligamicznego systemu seksualnego z ekspansją geograficzną, postawiłem dziesięć szczegółowych hipotez. Na początku, chciałem potwierdzić główną hipotezę, odpowiadając na pytanie czy obecność zjawiska poligamii jest istotnie związana z wtórnym zasięgiem geograficznym? Założyłem, że frekwencja osobników hermafrodytycznych w populacjach na obszarze wtórnego zasięgu jest wyższa niż na obszarze pierwotnego zasięgu (h1). Następnie, podjąłem się weryfikacji sugestii Falińskiego, dotyczących przewagi konkurencyjnej osobników hermafrodytycznych nad męskimi i żeńskimi. Założyłem, że osobniki hermafrodytyczne mają większy potencjał konkurencyjny i reprodukcyjny niż osobniki męskie i żeńskie. Konkurencyjność hermafrodytów powinna manifestować się szybszym wzrostem i osiąganiem większych rozmiarów (h2.1), większą liczbą kwiatostanów i ich większymi rozmiarami oraz wyższą liczbą kwiatów w kwiatostanie (h2.2), mniejszą podatnością na zgryzanie niż atrakcyjniejsze dla roślinożerców osobniki męskie (h2.3). Ponadto powinny cechować się wyższą żywotnością i przeżywalnością (h2.4). Założyłem też, że osobniki hermafrodytyczne są częstsze na siedliskach antropogenicznych niż naturalnych oraz na obszarach o wyższym zalesieniu, które może stanowić barierę dla zapylaczy tego gatunku (h3). Założyłem również, że struktura płciowa populacji jest zmienna - zarówno w czasie, jak i w przestrzeni (h4). Udział osobników hermafrodytycznych powinien zależeć od stosunku udziału osobników męskich i żeńskich, od szerokości geograficznej (ekspansja postępuje głównie w gradiencie północ-południe) oraz od charakteru krajobrazu (osobniki

---

<sup>1</sup> Faliński J. B. 1998. Androgyny of individuals and polygamy in the populations of *Salix myrsinifolia* Salisb. in the south-western part of its geographical range (NE-Poland). Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 1/2: 238–266

różnych płci mogą mieć w tym zakresie odmienne wymagania) (h5). Ponadto, biorąc pod uwagę doniesienie Falińskiego (1998) o możliwościach zmiany płci u *S. myrsinifolia* na poziomie osobnika, założyłem, że płęć u wierzy czarniawej jest labilna i na obszarze wtórnego zasięgu będzie zmieniać się najczęściej na hermafrodytyczną (h6). Uznałem także, że zróżnicowanie roli poligamii w różnych częściach badanego zasięgu geograficznego przekłada się na przestrzenne zróżnicowanie struktury genetycznej. Przewidywałem, że różnorodność genetyczna na poziomie gatunku jest wysoka (h7), jako że określany jest on jako poliploid (hexaploid), ma wysoki potencjał reprodukcyjny i może hybrydować z innymi wierzbami. Różnorodność genetyczna powinna być jednak istotnie wyższa w populacjach dwupiennych ze względu na występowanie w nich wyłącznie zapylenia krzyżowego, niż w populacjach poligamicznych ze względu na wysokie prawdopodobieństwo samozapylenia u osobników hermafrodytycznych (h8). Przewidywałem również, że osobniki hermafrodytyczne mogą różnić się od męskich i żeńskich ploidalnością lub stanowić wyróżniającą się genetycznie grupę (h9). Ostatniej hipoteza zakłada, że zjawisko poligamii jest cechą wtórną, a nie ancestralną, w stosunku do dwupienności (h10), a co za tym idzie, że dobór systemu płciowego może stanowić w przypadku tego gatunku adaptację.

W celu weryfikacji powyższych hipotez powtórzyłem w latach 2010-2011 obserwacje struktury płciowej *S. myrsinifolia* w 30 populacjach (16 we wtórnym i 14 w pierwotnym zasięgu), badanych w 1995 i 2001 roku przez Falińskiego. Populacje rozmieszczone były w gradiencie północ-południe (zgodnie z kierunkiem ekspansji) w północno-wschodniej Polsce (wtórna część zasięgu) i na Litwie wraz z Suwalszczyzną (pierwotna część zasięgu). Aby zbadać stałość płci i wybrane charakterystyki każdej z płci kontynuowałem także zapoczątkowane przez Falińskiego obserwacje 500 oznakowanych osobników w populacji na Grobli Honczarowskiej w Dolinie Biebrzy. W obu przypadkach, w okresie kwitnienia mierzyłem wysokość i średnicę osobników, oznaczałem płęć, szacowałem liczbę kwiatostanów i żywotność osobników (na podstawie udziału pędów martwych) oraz badałem wpływ zgryzania przez roślinożerców. Ponadto, w populacji na Polanie Białowieskiej na losowej próbie 20 kwiatostanów z 20 osobników różnej płci liczyłem kwiaty i mierzyłem długość kwiatostanów. Lokalizację wszystkich populacji rejestrowałem przy użyciu odbiornika GPS. Na jej podstawie oceniałem wpływ charakteru ekosystemów na strukturę płciową populacji, wykorzystując do tego celu bazę danych o pokryciu terenu Corine Land Cover i oprogramowanie GIS, w którym zliczałem udział poszczególnych form pokrycia terenu w otoczeniu 1 km i 5,5 km od centrum każdej populacji. Na próbie 40 osobników różnej płci z ośmiu populacji we wtórnej części zasięgu mierzono zawartość jądrowego DNA i określano poziom ploidalności, wykorzystując metodę cytometrii przepływową. Ze wszystkich populacji zbierałem materiał w postaci liści z maksymalnie 20 osobników do badań struktury genetycznej. Następnie wykonano analizy laboratoryjne z

zastosowaniem trzech polimorficznych sekwencji chloroplastowego DNA (trnL, trnT-trnL, accD-psaI) oraz jądrowego DNA (metodą AFLP), aby określić różnorodność genetyczną gatunku. W celu prześledzenia prawdopodobnej historii ekspansji tego gatunku przeprowadziłem również modelowanie zmian zasięgu w ciągu ostatnich trzech wieków metodą maksymalnej entropii na bazie wcześniej dobranych, nieskorelowanych zmiennych bioklimatycznych (średnia temperatura roczna, zakres średnich temperatur dobowych, izotermiczność, maksymalna temperatura najcieplejszego miesiąca, roczny zakres temperatur, suma opadów rocznych i sezonowość opadów) i informacji o występowaniu gatunku na podstawie dostępnych baz danych.

Wśród trzydziestu badanych populacji, 18 wykazywało poligamiczny, a 12 dwupienny system seksualny. Zdecydowana większość populacji poligamicznych (81%) znajdowała się na obszarze wtórnego zasięgu, a osobniki hermafrodytyczne w populacjach występowały z dużo wyższą frekwencją na obszarze wtórnego (śr. 21%) niż pierwotnego zasięgu (śr. 3%), co potwierdziło pierwszą, fundamentalną dla dalszych dociekań hipotezę (h1).

Pomimo, iż udało mi się wykazać istnienie trimorfizmu w populacjach poligamicznych, osobniki hermafrodytyczne charakteryzowały się pośrednim, między osobnikami męskimi i żeńskimi, rozmiarem krzewów, długością kotek i liczbą kwiatów w kwiatostanie. Testowane cechy nie pozwoliły więc na potwierdzenie hipotezy o lepszych zdolnościach konkurencyjnych hermafrodytów w ekspansji geograficznej (h2.1, h2.2, h2.3, 2.4).

Nie potwierdziłem również hipotezy o częstszym występowaniu populacji poligamicznych na siedliskach antropogenicznych i izolowanych zbiorowiskami leśnymi (h3). Nie można wykluczyć możliwości, że w przypadku tej ostatniej hipotezy, zastosowana metodyka nie była wystarczająco czuła lub że nie ma relacji pomiędzy czynnikami krajobrazowymi a systemem seksualnym u tego gatunku, pomimo stwierdzenia takiej zależności z ruderalizacją siedlisk przez Falińskiego.

Obserwacje struktury płciowej na przestrzeni kilkunastu lat potwierdziły słuszność hipotezy o zmienności struktury płciowej w czasie i przestrzeni (h4). Dominacja osobników żeńskich (55%) w pierwotnym zasięgu geograficznym malała, zbliżając się do równowagi w pomiędzy udziałem osobników żeńskich i męskich (43% vs 35%), obserwowanej we wtórnej części zasięgu. Odwrotnie kształtował się udział hermafrodytów, a udział osobników męskich nie zmieniał się istotnie w przestrzeni, ani w czasie. Zmiany w czasie była zauważalne w przypadku osobników hermafrodytycznych i wykazywały dwa kierunki: wyraźny wzrost udziału we wtórnej i lekki spadek w pierwotnej części zasięgu. Na udział hermafrodytów w populacji pozytywnie wpływała wielkość populacji, a negatywnie szerokość geograficzna i udział infrastruktury w krajobrazie. Wpływ dwóch ostatnich czynników jest zgodny z postawioną hipotezą (h5), ale negatywny wpływ infrastruktury na

udział hermafrodytów okazał się zaskakujący, gdyż Faliński wykazał odwrotną zależność - iż ruderalizacja siedlisk dodatnio koreluje z udziałem tej płci w populacjach. Zbieżnie z wynikami Falińskiego, potwierdziłem hipotezę o labilności płci u *S. myrsinifolia* (h6). W populacji znakowanych osobników (Grobla Honczarowska) 12% wszystkich osobników zmieniła płeć przynajmniej raz na przestrzeni 18 lat. Najczęściej osobniki zmieniały płeć na hermafrodytyczną (67%), rzadziej na żeńską (19%) lub męską (14%). Szczególnie interesujący wydaje się fakt, że zmiany płci zachodziły istotnie częściej u osobników zamierających (podobnie jak w przypadku innego drzewiastego gatunku – *Acer rufinerve*).

Badania molekularne wykazały, przeciwnie do przewidywań (h7), że różnorodność genetyczna badanego gatunku kształtowała się na względnie średnim poziomie (śr. % polimorficznych loci =  $32,8 \pm 3,2\%$ , różnorodność genowa Nei'a = 0,117), nieznacznie niższym lub porównywalnym z wynikami badań innych europejskich gatunków wierzb. Jednak zgodnie z kolejną hipotezą (h8) w populacjach dwupiennych różnorodność genetyczna była istotnie wyższa niż w poligamicznych, co potwierdziły istotne różnice we współczynniku różnorodności genowej Nei'a (0,119 vs. 0,116) i indeksie dywergencji genetycznej populacji (1,17 vs. 1,02). W toku analiz chloroplastowego DNA zidentyfikowano 10 haplotypów: 6 najczęstszych było wspólnych dla dwupiennych i poligamicznych populacji, ale 4 unikalne haplotypy zlokalizowane były tylko w populacjach dwupiennych w pierwotnej części zasięgu, co również potwierdza założenia hipotezy h8. Stwierdziłem ponadto, że parametry różnorodności haplotypowej, nukleotydowej oraz wskaźnik dywergencji genetycznej były istotnie skorelowane z szerokością geograficzną, czyli malały wraz z frontem ekspansji.

Osobniki hermafrodytyczne nie wyróżniały się odmiennym poziomem ploidalności. Wszystkie zbadane osobniki, niezależnie od płci, miały bardzo zbliżoną zawartość jądrowego DNA (średnio 2,16 pg/2C), wskazującą na heksaploidalność. Stwierdziłem natomiast, że aż 89% wszystkich osobników hermafrodytycznych reprezentowało jeden z dominujących haplotypów (określany przeze mnie jako haplotyp-kolonizator), którego udział istotnie zwiększał się w gradiencie północ-południe. Może to wskazywać, zgodnie z przewidywaniami (h9), na genetyczny mechanizm determinacji hermafrodytyzmu u *S. myrsinifolia*.

Haplotypy reprezentowane przez osobniki hermafrodytyczne są tylko częścią puli haplotypów w populacjach dwupiennych. Fakt ten sugeruje, że zjawisko to jest wtórne w stosunku do dwupienności (h10), a poligamiczny system seksualny jest powrotem do wcześniejszego stadium ewolucyjnego, który może stanowić adaptację do warunków panujących na skraju zasięgu.

Modelowanie zmian zasięgu potwierdziło, że zasięg wierzby czarniawej stopniowo rozszerzał się na południe na przestrzeni ostatnich 200 - 250 lat w tempie około 80 km/100 lat. Jednak prognozowane zmiany zasięgu sugerują odwrotną tendencję – kurczenie się zasięgu i wycofywanie z badanego obszaru już pod koniec XXI wieku.

Wyniki moich badań wskazują, że system seksualny u wierzby czarniawej, a potencjalnie też wielu innych gatunków roślin okrytonasiennych, może podlegać zmianom, które są efektem dostosowania do warunków środowiska. W przypadku gatunków dwupiennych, takich jak wierzba czarniawa, powrót do bardziej plastycznego systemu seksualnego, jak poligamia, może stanowić mechanizm ułatwiający kolonizację nowych siedlisk oraz ekspansję geograficzną. Plastyczność systemu seksualnego u roślin okrytonasiennych może stanowić ważną ewolucyjnie strategię. W przypadku *S. myrsinifolia* wyrazem tej plastyczności jest zmiana strategii w trakcie poszerzania zasięgu geograficznego. Zjawisko poligamii u wierzby czarniawej może być faworyzowane w początkowych etapach rozwoju populacji (kolonizacja i ekspansja) dzięki możliwości pojedynczych osobników hermafrodytycznych do reprodukcji generatywnej na drodze samozapylenia. W dłuższej perspektywie, procesy te mogą powodować negatywne skutki genetyczne i ekologiczne. Dlatego też w fazie stabilizacji liczebności populacji korzystniejsze wydaje się ograniczenie tych procesów przez eliminację hermafrodytów i powrót do dwupienności.