

Dr Andrzej Oleksa

## Załącznik 2

Autoreferat przedstawiający opis osiągnięcia  
naukowego

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. nr 65, poz. 595 ze zm.)

oraz pozostałe zainteresowania i osiągnięcia naukowe

## 1. Imię i nazwisko

Andrzej Oleksa

## 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

- a) 1998 r., dyplom magistra biologii, specjalność: biologia środowiskowa, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, tytuł pracy: „Motyle dzienne Górznieńsko-Lidzbarskiego Parku Krajobrazowego”
- b) 2003 r., dyplom doktora nauk biologicznych w zakresie biologii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, tytuł rozprawy: „Wymagania środowiskowe i struktura metapopulacji dostojki akwilonaris *Boloria aquilonaris* Stichel, 1908 (Lepidoptera: Nymphalidae) na Pojezierzach Iławskim i Olsztyńskim”

## 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych

1998-2003 – studia doktoranckie na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu, Instytut Biologii i Nauk o Ziemi

2003-2004 – Akademia Bydgoska im. Kazimierza Wielkiego, Instytut Biologii, Zakład Ekologii, asystent

2004-2006 – Akademia Bydgoska im. Kazimierza Wielkiego (od 2005 r. Uniwersytet Kazimierza Wielkiego), Instytut Biologii, Zakład Ekologii, adiunkt

2006-obecnie – Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Genetyki, adiunkt

## 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. nr 65, poz. 595 ze zm.):

Cykl sześciu publikacji pod tytułem „**Ekologia i ochrona owadów związanych z dziuplami drzew**”<sup>1</sup>

- I. **Oleksa A** (2009) Conservation and ecology of the hermit beetle *Osmoderma eremita* s.l. in Poland. J Buse, KNA. Alexander, T Ranius, T Assmann (Eds). *Saproxylic beetles - their role and diversity in European woodland and tree habitats*. Proceedings of the 5th Symposium and Workshop on the Conservation of Saproxylic Beetle. *Pensoft Series Faunistica* 89: 177–188. [IF=brak ; MNiSW=7]

*Praca o charakterze przeglądowym, samodzielna (udział własny 100%).*

- II. **Oleksa A**, Ulrich W, Gawroński R (2007) Host tree preferences of hermit beetles (*Osmoderma eremita* Scop., Coleoptera) in a network of rural avenues in Poland. *Polish Journal of Ecology* 55(2): 315-323. [IF=0,433; MNiSW=15]

---

<sup>1</sup> Oświadczenia wszystkich współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie poszczególnych prac znajdują się w Załączniku 8

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań (kierownik projektu badawczego), zaplanowaniu badań terenowych, współudziale w wykonaniu badań terenowych, przeprowadzeniu analiz statystycznych i napisaniu wszystkich części pracy. Mój udział szacuję na 75%.

- III. **Oleksa A**, Ulrich W, Gawroński R (2006) Occurrence of the marbled-rose chafer (*Protaetia lugubris* Herbst, Coleoptera, Cetoniidae) in rural avenues in northern Poland. *Journal of Insect Conservation* 10: 241-247. [IF=0.690; MNiSW=15]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań (kierownik projektu badawczego), zaplanowaniu badań terenowych, współudziale w wykonaniu badań terenowych, opracowaniu danych i napisaniu pracy. Mój udział szacuję na 75%.

- IV. **Oleksa A**, Gawroński R, Tofilski A (2013) Rural avenues as a refuge for feral honey bee population. *Journal of Insect Conservation* 17(3):465-472. [IF=1,801; MNiSW=35]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań (kierownik projektu badawczego), zaplanowaniu badań terenowych, współudziale w wykonaniu badań terenowych, opracowaniu danych i napisaniu pracy. Mój udział szacuję na 80%.

- V. Svensson GP, **Oleksa A**, Gawroński R, Lassance J-M, Larsson MC (2009) Enantiomeric conservation of the male-produced sex pheromone facilitates monitoring of threatened European hermit beetles (*Osmoderma* spp.). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 133:276–282. [IF<sub>2009</sub>=1,568; MNiSW<sub>2009</sub>=35]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na wybraniu stanowisk do przeprowadzenia eksperymentu terenowego, wykonaniu części kontroli terenowych, zbiorze materiału do izolacji DNA, przeprowadzeniu izolacji DNA, sekwencjonowaniu COI mtDNA, przeprowadzeniu rekonstrukcji filogenezy badanych chrząszczy, napisaniu części pracy dotyczącej metod molekularnych i wyników, udziale w pisaniu dyskusji. Mój udział szacuję na 40%.

- VI. **Oleksa A**, Chybicki IJ, Gawroński R, Svensson GP, Burczyk J (2013) Isolation by distance in saproxylic beetles may increase with niche specialisation. *Journal of Insect Conservation* 17(2):219-233. [IF=1,801; MNiSW=35]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań (kierownik projektu badawczego), zaplanowaniu badań, współudziale w zbiorze materiałów w terenie, określeniu genotypów AFLP, wykonaniu analiz statystycznych i napisaniu zarysu wszystkich części pracy. Mój udział szacuję na 50%.

## 5. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

### 5.1. Wstęp

Ochrona różnorodności biologicznej jest uznana za jedno z największych, a zarazem najtrudniejszych wyzwań stojących przed ludzkością (UN 1992). W praktyce, trudność ochrony bioróżnorodności wiąże się z koniecznością zarządzania obejmującego wszelkie poziomy organizacji biologicznej, począwszy od poziomu zmienności genetycznej, a skończywszy na ekosystemach i całych krajobrazach (Groves i in. 2002).

W strefie klimatu umiarkowanego, znaczna część różnorodności biologicznej związana jest z lasami i innymi ekosystemami, których istotną składową są drzewa. Ze względu na długą historię użytkowania przez człowieka, lasy strefy umiarkowanej są silnie przekształcone, szczególnie w Europie. Największych zaburzeń doświadczyły ekosystemy lasów liściastych, które ze względu na żyzne gleby zostały przekształcone w uprawy rolne. Ocenia się, że zaledwie 3,2% z występujących na świecie lasów liściastych można sklasyfikować jako naturalne (Potapov i in. 2008). W efekcie, liczne gatunki związane z tym typem ekosystemu stały się poważnie zagrożone (Speight 1989; Nieto and Alexander 2010). Szczególnie dotyczy to organizmów uzależnionych od martwego i zamierającego drewna, tj. tzw. gatunków saproksylicznych (Stokland i in. 2012). Specyficzną postacią martwego drewna jest mursz występujący w dziuplach dużych i starych drzew. Obecnie drzewa takie są rzadkością w użytkowanych gospodarczo lasach, natomiast większe ich skupiska obecne są w krajobrazach kulturowych, gdzie występują m.in. w alejach przydrożnych czy parkach. Wyspecjalizowane gatunki, których występowanie ograniczone jest do dziupli drzew, należą do najbardziej zagrożonych grup organizmów. Przykładowo, w Szwecji 107 z 542 (tj. 20%) figurujących na czerwonych listach bezkręgowców saproksylicznych to gatunki żyjące w próchnowiskach w dziuplach drzew (Jonsell i in. 1998). Od dziupli drzew uzależnione są także liczne inne organizmy, w tym m.in. grzyby (Randhawa i in. 2001), roztocza (Taylor i Ranius 2014) oraz kręgowce (Gibbons i in. 2002). Z tego względu dziuple drzew uważane są za tzw. elementy zwornikowe (*keystone structures*) ekosystemów, tj. struktury o nieproporcjonalnie dużym znaczeniu dla różnorodności biologicznej (Remm i Löhmus 2011; Stagoll i in. 2012; Lindenmayer i in. 2013). Mimo to, na całym świecie obserwowany jest zanik dziuplastych drzew, co powoduje że pilne staje się stworzenie skutecznych programów ochrony dla organizmów związanych z dziuplami.

Pierwszym krokiem w kierunku skutecznej ochrony organizmów jest zrozumienie czynników ograniczających ich występowanie, w tym zakresu ich tolerancji ekologicznej oraz właściwego dla danego gatunku tempa rozprzestrzeniania się (dyspersji). Opracowanie efektywnych programów ochrony dla wielu gatunków wydaje się obecnie przedwczesne, gdyż wiedza na temat ich wymagań opiera się jedynie na nieusystematyzowanych, anegdotycznych obserwacjach, a nie danych ilościowych i wnioskach wynikających z rygorystycznego testowania hipotez. Celem niniejszego cyklu prac jest wypełnienie luki dotyczącej wiedzy na temat ekologii wybranych owadów związanych z dziuplami drzew, które prowadzono z myślą o optymalizacji metod ich ochrony. Badania te prowadzono głównie w bogatych w drzewa dziuplaste, liniowych zadrzewieniach krajobrazów kulturowych, w tym szczególnie w alejach przydrożnych północnej Polski. Zadrzewienia te w ostatnich latach są intensywnie niszczone, głównie w wyniku modernizacji dróg (Worobiec i Liżewska 2009). Wraz z nimi stopniowo zanikają populacje organizmów ściśle uzależnionych od dziuplastych starodrzewów. Dla opracowania programów ochrony zagrożonych gatunków w krajobrazach podlegających fragmentacji konieczne jest nie tylko opracowanie metod ich monitoringu (PRACA VI) oraz zrozumienie preferencji ekologicznych (prace I-V), ale również oszacowanie zdolności

dyspersyjnych tych owadów (PRACA VI). Tempo i zasięg dyspersji umożliwiają bowiem określenie szans przetrwania gatunku przy danym stopniu fragmentacji środowiska. Mam również nadzieję, że wyniki moich badań dostarczą argumentów na rzecz ochrony dziuplastych drzew i alei – miejsc szczególnie bogatych w dziuple i związane z nimi organizmy.

## 5.2. Materiał i metody

### 5.2.1. Badane gatunki owadów

Prace wchodzące w skład prezentowanego cyklu dotyczą owadów, dla których dziuple w pniach drzew stanowią schronienie i/lub miejsce rozrodu, tj. dwu gatunków chrząszczy – pachnicy dębowej *Osmoderma eremita* s.l.<sup>2</sup> (cztery prace wchodzące w skład cyklu, tj. I, II, V i VI) i wecie marmurkowej *Protaetia marmorata* (dwie prace, tj. III i V) oraz pszczołe miodnej *Apis mellifera* (jedna praca, tj. IV). Jeśli uwzględnimy fakt, że dziuple tworzą się w pniach drzew w wyniku aktywności grzybów, wszystkie badane gatunki (wliczając pszczołę miodną) można określić jako saproksylobionty, tj. organizmy zależne od grzybowego rozkładu drewna albo produktów tego rozkładu, obecnych w żywych bądź martwych drzewach i ich częściach (Alexander 2008).

Badane gatunki chrząszczy klasyfikowane są w obrębie rodziny kruszczy *Cetoniidae* w nadrodzinie poświętnikowatych *Scarabaeoidea*. W nadrodzinie tej powszechnie spotykaną specjalizacją pokarmową larw jest odżywanie się martwą materią organiczną (odchody zwierząt, ściółka, kompost czy mursz drzewny powstały w wyniku grzybowego rozkładu drewna). Badane gatunki związane są z obszernymi próchnowiskami w obrębie dziupli stojących, żywych drzew.

Chrząszcze z rodzaju *Osmoderma* znane są ze względu na charakterystyczny zapach, przypominający woń śliwek lub niewyprawionej skóry (Larsson i in. 2003). Jest to wydzielany w dużych ilościach feromon samców (PRACA V). Zasięg pachnicy dębowej *Osmoderma eremita* s.l.<sup>2</sup> pokrywa się ze strefą lasów liściastych Europy (Ranius i in. 2005b). Ze względu na objęcie tego gatunku rygorystyczną ochroną w ramach Dyrektywy Siedliskowej Unii Europejskiej, ekologia tych chrząszczy stała się w ostatniej dekadzie przedmiotem intensywnych badań (Ranius i in. 2005b; praca I). W Polsce podlega ochronie prawnej oraz figuruje w czerwonej księdze gatunków zagrożonych (Szwafko 2004). Larwy pachnicy przechodzą długotrwały, 3-letni rozwój w obrębie dziupli drzewa, odżywiając się rozłożonym przez grzyby drewnem (Pawłowski 1961). W literaturze spotkać można pogląd, że gatunek ten preferuje dziuple dębów, jednak badania preferencji względem gatunków drzew w Polsce północnej wykazały wyraźną preferencję w kierunku lipy i unikanie klonów (PRACA II).

Jeszcze do niedawna występujące w Europie pachnice traktowane były jako jeden gatunek *Osmoderma eremita*, wykazujący pewną zmienność geograficzną i dzielony w związku z tym na trzy podgatunki (Krell 1997). W wyniku badań sekwencji pierwszej jednostki oksydazy cytochromowej (COI) zaproponowany został podział na 4 lub 5 odrębnych gatunków (Audisio i in. 2009), przy czym jak dotąd w Polsce dowiedziono występowania tylko jednego z nich, tj. *O. barnabita* (PRACA V)<sup>2</sup>.

Wepa marmurkowana *Protaetia marmorata* (= *Liocola lugubris*), podobnie jak pachnica, przechodzi kilkuletni rozwój w dziuplach drzew, gdzie larwy odżywiają się murszem (Pawłowski 1961). Gatunek ten ma szerszy zakres tolerancji ekologicznej, zarówno pod względem parametrów fizycznych dziupli, jak i gatunków drzew, które zasiedla (PRACA III). Wepa nie jest w Polsce objęta ochroną gatunkową ani też nie figuruje na czerwonej liście zagrożonych gatunków. Według europejskiej

---

<sup>2</sup> W części prac wchodzących w skład cyklu starszych niż publikacja Audisio i in. z 2009 r. dla określenia badanej populacji pachnicy z pń.-wsch. Polski użyto określenia *Osmoderma eremita*. Należy pamiętać, że zgodnie z obecnie obowiązującymi poglądami jest to gatunek *O. barnabita*, ewentualnie gatunek z grupy *Osmoderma eremita* – *O. eremita* sensu lato

czerwonej listy chrząszczy saproksylicznych (Nieto i Alexander 2010) została sklasyfikowana jako gatunek najmniejszej troski (LC, *least concern*).

Trzeci z badanych gatunków, pszczoła miodna *Apis mellifera*, jest społecznym gatunkiem wykorzystującym dziuple drzew jako miejsca budowania gniazd – zawieszonych pionowo, woskowych plastrów, wykorzystywanych zarówno do gromadzenia zapasów jak i wychowywania potomstwa. Pierwotny zasięg pszczoły miodnej obejmował Afrykę, Europę i zachodnią Azję (Ruttner 1988). W całym tym areale głównym miejscem budowania gniazd były dziuple drzew. Obecnie znaczna część populacji pszczoły jest utrzymywana i kontrolowana przez człowieka, jednak gatunek ten trudno uznać za całkowicie udomowiony, gdyż procesy reprodukcyjne i przepływ genów często nie podlegają kontroli człowieka. Oprócz pszczoł utrzymywanych przez człowieka, liczne rodziny pszczoły występują także w stanie dzikim, budując gniazda w dziuplach drzew (PRACA IV; Tofilski i Oleksa 2013). Zrozumienie wymagań pszczoły względem miejsc gniazdowania w dziuplach może pomóc w zachowaniu naturalnych zasobów genowych tych niezwykle ważnych pod względem ekonomicznym i ekologicznym owadów. Pszczoły żyjące w warunkach naturalnych nie podlegają sztucznej selekcji, toteż mogą być rezerwuarem genów eliminowanych w wyniku hodowli.

### 5.2.2. Preferencje ekologiczne owadów zasiedlających dziuple (PRACE I-IV)

Znaczna część prac prezentowanego cyklu poświęcona jest określeniu wymagań siedliskowych owadów związanych z dziuplami drzew (PRACE I-IV). Istnieją co najmniej dwa powody, dla których tego rodzaju badania mogą być interesujące. Po pierwsze, poznanie optymalnego stanu środowiska sprzyjającego występowaniu danego organizmu ułatwia jego ochronę, gdyż pozwala uniknąć przekształceń zagrażających trwałości jego populacji. Po drugie, wiedza o wymaganiach środowiskowych ułatwia wytypowanie potencjalnych siedlisk gatunku, zarówno dla tworzenia sieci obszarów chronionych, jak i dla planowania dalszych badań. Niestety, w odniesieniu do wielu gatunków wymagających ochrony jak dotąd brakuje podstawowych informacji o ich związkach ze środowiskiem. Wiedza na temat ekologii organizmów zakorzeniona jest głęboko w XIX-wiecznej historii naturalnej, opierając się na mniej czy bardziej przygodnych obserwacjach występowania organizmów w środowisku (PRACA I). Przyrodnicy od dawna gromadzą obserwacje dotyczące miejsc spotkań rozmaitych gatunków, ich związków troficznych, fenologii itd. W większości przypadków tego rodzaju obserwacje są jedynym źródłem wiedzy o wymaganiach siedliskowych, jednak taka wiedza jest zawodna, gdyż u jej podstaw nie leży żadna obiektywna metoda badawcza, ani obiektywne próbkowanie. Dla przykładu, istnieje pokaźna liczba doniesień na temat obserwacji pachnicy w różnych gatunkach drzew, jednak doniesienia te nie wykraczają poza proste wyliczenia, ile razy gatunek był notowany w określonych okolicznościach (przegląd w pracy Ranius i in. 2005). Dla pozostałych gatunków uwzględnionych w prezentowanym cyklu publikacji brakowało nawet tego rodzaju doniesień.

W celu ilościowego opisanie preferencji ekologicznych, konieczne jest statystyczne porównanie wykorzystania środowiska i jego dostępności. O preferencji wobec pewnego zakresu zmiennych opisujących środowisko można mówić wtedy, gdy organizm dokonuje wyboru spośród wielu możliwych zasobów oferowanych przez jego otoczenie. Preferencję można zdefiniować również jako prawdopodobieństwo wyboru przez organizm określonego zasobu, wtedy gdy alternatywne zasoby są równie dostępne (Beyer i in. 2010).

PRACA I ma charakter przeglądowny. Zawiera informacje na temat rozmieszczenia pachnicy w Polsce, zasiedlanych typów środowisk oraz występowania w dziuplach różnych gatunków drzew. Zasygnalizowane zostały w niej także problemy zagrożeń i ochrony tego gatunku. W PRACACH II-IV występowanie gatunków owadów w dziuplach drzew porównane zostało z ogólną dostępnością drzew o określonych charakterystykach. Przyjęta hipoteza zerowa zakładała, że zasiedlanie drzew o różnych

charakterystykach zależy wyłącznie od ich dostępności (było losowe). W celu weryfikacji tej hipotezy, porównano częstości dziuplastych drzew różnych gatunków obecnych w alejach przydrożnych z częstościami drzew, w których potwierdzono występowanie owadów.

W PRACACH II i III dokonano wyczerpującej inwentaryzacji wybranych alei w centralnej części Pojezierza Ławskiego, opisując je pod względem gatunków drzew, obwodów pni, stanu zdrowotnego, obecności dziupli, wielkości i ekspozycji otworu dziupli oraz występowania dwóch gatunków z rodziny kruszczycowatych, tj. pachnicy dębowej *Osmoderma eremita* oraz wepy marmurkowanej *Protaetia marmorata*. Drzewa określano jako zasiedlone, gdy dokonano obserwacji osobników we wnętrzu drzewa lub przy otworze wejściowym dziupli, lub gdy w próchnowisku odnaleziono ślady występowania (odchody larw, pozostałości osłonek poczwarkowych, fragmenty martwych chrząszczy). Związek pomiędzy występowaniem chrząszczy a zmiennymi wyjaśniającymi został zbadany przy pomocy ogólnych modeli liniowych (GLM) oraz wielowymiarowej analizy wariancji. Dodatkowo, preferencje chrząszczy względem gatunków drzew, klas grubości i zdrowotności drzew zostały porównane z modelem losowej próby. Model ten zakłada, że zasiedlenie drzew jest losowe, dlatego względna częstość występowania w drzewach o określonych cechach powinna zależeć jedynie od dostępności takich drzew. Rozbieżność pomiędzy zaobserwowanym wzorcem występowania a modelem zerowym świadczyć może o wybiórczym preferowaniu lub unikaniu danej klasy drzew.

PRACA IV została poświęcona określeniu czynników decydujących o występowaniu pszczoł miodnych w dziuplach, zarówno na poziomie drzew, jak i całych stanowisk (alei). Badania oparto na 200 losowo wybranych fragmentach alei przydrożnych, obejmujących po ok. 70 drzew, rozmieszczonych na obszarze północno-wschodniej Polski. Drzewa zostały scharakteryzowane pod względem gatunku, średnicy pnia i stanu zdrowotnego, natomiast charakterystyka na poziomie stanowisk obejmowała udziały gatunków drzew, przeciętne średnice i udziały drzew dziuplastych. Związek pomiędzy zasiedleniem dziupli przez pszczoły a zmiennymi wyjaśniającymi został zbadany przy pomocy uogólnionych modeli liniowych (GLZ). W celu wyboru optymalnego zbioru zmiennych wyjaśniających obecność pszczoł (tj. wykazującego najkorzystniejszy stosunek wyjaśnionej wariancji zmiennej zależnej do ilości zmiennych wyjaśniających), posłużono się kryterium informacyjnym Akaike. Dodatkowo, preferencje względem zasiedlanych drzew o różnych charakterystykach zbadano przy pomocy modelu losowej próby. Ze względu na fakt, że część gatunków drzew (lipy, klon zwyczajny i jawor) jest dla pszczoł również ważnym źródłem pokarmu, spodziewaliśmy się, że pszczoły mogą preferować aleje składające się z tych gatunków drzew.

W PRACY IV dokonano także oszacowania zagęszczenia dziko żyjących rodzin pszczoły miodnej. Dane uzyskane dla szczegółowo zinwentaryzowanych alei (ogółem, 142 km liniowych zadrzewień) ekstrapolowano na cały region o znanym zagęszczeniu alei. Analiza taka miała na celu określenie wielkości populacji dziko żyjącej oraz jej relatywnej wielkości w stosunku do populacji zarządzanej przez człowieka.

### 5.2.3. Ocena zdolności dyspersyjnych na podstawie markerów DNA (PRACA VI)

Zdolności dyspersyjne są podstawowym parametrem decydującym o szansach przetrwania populacji występujących w pofragmentowanych środowiskach, szczególnie w przypadku istnienia przestrzennej struktury genetycznej (Hanski and Gilpin 1997; Clobert i in. 2004). Ograniczone tempo dyspersji pomiędzy płatami środowiska zasiedlonymi przez populacje lokalne przyczynia się do wzrostu ich zróżnicowania, natomiast dryf genetyczny powoduje obniżenie zmienności genetycznej w ramach takich populacji, zwłaszcza charakteryzujących się małą liczebnością. W efekcie, dochodzi do wzrostu wsobności wraz z negatywnymi konsekwencjami tego zjawiska dla dostosowania osobników, a także obniżenia zdolności adaptacyjnych populacji do zmieniającego się środowiska. Obydwa te zjawiska prowadzą do wzrostu ryzyka wymarcia (Frankham 2005).

Mimo wzrostu zainteresowania ekologią owadów saproksylicznych, wynikającego z dostrzeżenia ich ogromnej różnorodności gatunkowej i roli w ekosystemach, tylko nieliczne gatunki badano dotychczas pod względem zdolności dyspersyjnych (Ranius 2006). Wiąże się to zapewne z obiektywnymi trudnościami metodologicznymi, związanymi ze śledzeniem przemieszczeń tych niewielkich organizmów. Klasyczne metody badania dyspersji u owadów obejmują metody związane ze znakowaniem i powtórным odłowem (MRR, *mark-release-recapture*) oraz wykorzystaniem nadajników radiowych (telemetry). Te drugie, z uwagi na masę, mogą być z powodzeniem zastosowane tylko u największych owadów. Spośród chrząszczy saproksylicznych żyjących w dziuplach badano w ten sposób jedynie pachnicę *Osmoderma eremita* (Hedin and Ranius 2002; Hedin i in. 2007; Dubois i in. 2010; Chiari i in. 2012). Głównym ograniczeniem w stosowaniu metod MRR i telemetry w badaniach dyspersji jest fakt, że najdalsze przemieszczenia pozostają z reguły niewykryte, co powoduje częste niedoszacowanie zasięgu dyspersji.

Cennych informacji na temat tempa i zasięgu dyspersji (w tym także dalekodystansowej) dostarczyć mogą badania przestrzennej struktury genetycznej populacji. Ze względu na fakt, że prawdopodobieństwo kojarzenia się między osobnikami jest odwrotnie proporcjonalne do odległości między nimi, również podobieństwo genetyczne między osobnikami (mierzone np. współczynnikiem pokrewieństwa) maleje wraz z odległością. W warunkach izolacji przez odległość, zakładając równowagę między dryfem genetycznym i dyspersją, pokrewieństwo jest liniową funkcją logarytmu odległości między osobnikami (Rousset 2000).

PRACA VI miała na celu sprawdzenie hipotezy, że natężenie zjawiska izolacji przez odległość rośnie wraz ze stopniem specjalizacji ekologicznej, wykorzystując w tym celu parę gatunków bliskich sobie taksonomicznie i ekologicznie. Gatunki chrząszczy wybrane do badań różniły się stopniem specjalizacji ekologicznej (por. PRACE II i III), przy czym pachnica posiada węższą niszę ekologiczną niż wepa. Zgodnie z przewidywaniami teoretycznymi (Travis i Dytham 1998, 1999), fragmentacja wywiera silniejszy wpływ na gatunek wyspecjalizowany (*O. barnabita*) w porównaniu do gatunku o szerszej niszy (*P. marmorata*), ponieważ rozmieszczenie potencjalnych płatów środowisk specjalisty jest mniej przewidywalne niż środowisk odpowiednich dla generalisty. Inaczej mówiąc, osobniki gatunku wyspecjalizowanego ponoszą większe ryzyko dyspersji, gdyż opuszczając jeden płat środowiska, mogą nie trafić do innego. Tym samym, u specjalistów powinna istnieć selekcja przeciwko ryzykownym zachowaniom dyspersyjnym, co z czasem prowadzi do powstania silniejszej przestrzennej struktury genetycznej niż u generalistów.

Związek pomiędzy odległościami genetycznymi i geograficznymi był eksplorowany przy pomocy analizy autokorelacji przestrzennej współczynnika pokrewieństwa (*kinship coefficient*, Hardy i Vekemans 2002). W celu porównania intensywności przestrzennej struktury genetycznej badanych gatunków posłużono się współczynnikiem  $Sp = -b_1 / (1 - f^{(1)})$ , gdzie  $b_1$  jest współczynnikiem nachylenia w regresji log-liniowej pomiędzy współczynnikiem pokrewieństwa a odległością geograficzną, zaś  $f^{(1)}$  jest średnim współczynnikiem pokrewieństwa osobników zebranych w obrębie pierwszej klasy dystansu (w prezentowanych badaniach dotyczyło to jednego drzewa). Współczynnik  $Sp$  jest odwrotnie proporcjonalny w stosunku do efektywnej wielkości obszaru sąsiedztwa Wrighta ( $Nb$ ), co umożliwia oszacowanie także tego parametru, a także osiowej wariancji dyspersji ( $\sigma$ ), czyli miary całkowitego przepływu genów zbliżonej do średniej odległości dyspersji.

Możliwość badań struktury genetycznej populacji gatunków niemodelowych ograniczona jest często przez dostępność odpowiednich markerów molekularnych. Zazwyczaj w badaniach przestrzennej struktury genetycznej preferowane są wysoce polimorficzne markery kodominujące, takie jak np. mikrosatelity (Awise 2004). W PRACY VI użyto markerów AFLP (polimorfizm długości amplifikowanych fragmentów, Vos i in. 1995). W przypadku markerów AFLP, ich niski polimorfizm rekompensowany jest przez dużą liczbę loci dostępnych do badań. Zaletą jest także możliwość zastosowania w badaniach organizmów o słabo poznanych genomach. Poważnym ograniczeniem jest natomiast dominujący sposób dziedziczenia tych markerów, który utrudnia ocenę efektywnej wielkości



populacji oraz indywidualnych współczynników wsobności. Parametry te posiadają krytyczne znaczenie szczególnie w przypadku gatunków rzadkich i zagrożonych, często odznaczających się niewielką wielkością populacji oraz ograniczonymi zdolnościami dyspersyjnymi. Założenia co do poziomu wsobności mają także wpływ na estymację współczynnika pokrewieństwa, wykorzystywanego w opisanej powyżej analizie przestrzennej struktury genetycznej (Hardy and Vekemans 2002). Badania wsobności przeprowadzono przy pomocy metody opracowanej dla markerów dominujących przez Chybickiego i in. (2011) i zaimplementowanej w programie I4A.

#### 5.2.4. Wykorzystanie feromonów w inwentaryzacji pachnicy (PRACA V)

Inwentaryzacja i monitoring owadów żyjących w dziuplach są utrudnione z uwagi na małą dostępność samych dziupli. Dotyczy to zwłaszcza dziupli o małych i/lub wysoko położonych otworach wylotowych. Do pewnego stopnia rozwiązaniem jest chwytanie owadów na zewnątrz dziupli. Do odłowu stosuje się różnego rodzaju pułapki, które można podzielić na urządzenia bierne (chwytające przemieszczające się owady w sposób nieselektywny) i aktywne (wabiące). W tych drugich mogą być stosowane różnorodne atraktanty, takie jak substancje pokarmowe i feromony płciowe.

Identyfikacja feromonu płciowego u *O. eremita* jako R- $\gamma$ -dekalaktonu umożliwiła jego skuteczne zastosowanie w badaniach występowania gatunku (Larsson i in. 2003). Był to bodajże pierwszy przypadek, w którym badania nad feromonem zostały podjęte nie ze względu na zwalczanie gatunku, ale dla potrzeb jego ochrony. Należy jednak odnotować, że późniejsze badania postawiły pod znakiem zapytania stosowalność jednej substancji wabiącej w całym europejskim zasięgu. Okazało się, że europejskie pachnice wykazują bardzo duże zróżnicowanie genetyczne, dające podstawy do podziału gatunku na kilka mniejszych jednostek – przypuszczalnych gatunków (Audisio i in. 2007, 2009; PRACA V). Jeśli gatunki te są izolowane rozrodczo, musi istnieć mechanizm takiej izolacji. System komunikacji oparty na feromonach płciowych może być główną siłą napędową specjacji, powodującą behawioralną izolację rozrodczą przez wybiórcze kojarzenie osobników należących do odmiennych linii feromonowych (Pélozuelo i in. 2007). Istnienie tego rodzaju linii byłoby zatem wysoce prawdopodobne także u pachnicy. Celem PRACY V było zatem przetestowanie ewentualnych różnic w wykorzystaniu enancjomerów dekalaktonu pomiędzy pachnicami z refugium apenińskiego i bałkańskiego.

Zgodnie z ogólnym rozmieszczeniem poszczególnych linii ewolucyjnych (przypuszczalnych gatunków) pachnicy w Europie, na terenie Polski należy się spodziewać pochodzącego z refugium bałkańskiego gatunku *Osmoderma barnabita* Motschulski, 1845. Porównanie zbadanych sekwencji pierwszej podjednostki oksydazy cytochromowej (COI) badanej populacji pachnicy z Polski (FJ984575 – FJ984581) z sekwencjami zdeponowanymi w GeneBanku (AM423156 – AM423161) potwierdziły przynależności do tego właśnie gatunku. Średni dystans genetyczny pomiędzy sekwencjami z badanej populacji a sekwencjami *O. eremita* s. str. wyniósł 10,5%, podczas gdy dystans między uzyskanymi sekwencjami a sekwencjami *O. barnabita* z GeneBanku wyniósł 1,2% (PRACA VI). Uzyskane filogramy, na których badane sekwencje z Polski grupowały się w obrębie *O. barnabita*, niezależnie od metody (NJ, UPGMA, minimalnej ewolucji) wykazywały identyczną bądź niemal identyczną topologię, w wysokim stopniu wspartą wynikami testu *bootstrap*.

W ramach przeprowadzonego eksperymentu weryfikującego wykorzystanie enancjomerów dekalaktonu przez *O. barnabita*, przeprowadziliśmy identyfikację substancji wydzielanej przez samce *O. barnabita* przy użyciu chromatografii gazowej. Dodatkowo, przeprowadziliśmy całosezonowe odłowu pachnic do trzech rodzajów pułapek: (1) zaopatrzonych w 500  $\mu$ l R-enancjomeru, (2) zaopatrzonych w 2  $\times$  500  $\mu$ l mieszaniny racemicznej (aby uzyskać takie same tempo uwalniania R-enancjomeru w obydwu rodzajach pułapek), (3) pułapek bez substancji wabiącej (kontrola). Odłowu te pozwoliły na sprawdzenie reaktywności pachnic *O. barnabita* na obydwie formy feromonu w warunkach terenowych.

### 5.3. Wyniki i dyskusja

#### 5.3.1. Występowanie i preferencje ekologiczne owadów zasiedlających dziuple (PRACE I-IV)

Pachnica dębowa *Osmoderma eremita* s.l. jest gatunkiem o szerokim rozmieszczeniu na terenie Polski (PRACA I). Podobnie jak w niemal całej Europie, chrząszcz ten stosunkowo najczęściej spotykany jest w zadrzewieniach krajobrazów kulturowych. Analiza 679 obserwacji z terenu całej Polski wskazuje, że najczęściej gatunek był stwierdzany w lipach *Tilia* spp. (ok. 60% wszystkich obserwacji), dębach *Quercus* spp. (ok. 25% obserwacji) i ogłowionych wierzbach *Salix alba* i *S. fragilis* (ok. 5% obserwacji). Pozostałych 10% stwierdzeń dokonano w 9 innych gatunkach drzew liściastych. Wyjątkowo, pachnica notowana była nawet w sośnie *Pinus sylvestris* (1 obserwacja) i cisie *Taxus baccata* (3 obserwacje). Mimo, że gatunek często opisywany był w literaturze jako „gatunek lasów pierwotnych” czy „puszczański”, większość zasiedlonych drzew zlokalizowana była w krajobrazach od dawna intensywnie użytkowanych przez człowieka. W bardziej szczegółowych badaniach w skali regionalnej prowadzonych w alejach Pojezierza Ławskiego, na prawdopodobieństwo zasiedlenia drzew przez pachnicę (PRACA II) wpływał najsilniej gatunek drzewa i grubość pnia. W badanej próbie drzew stwierdzono 1002 drzewa dziuplaste (ok. 1/4 badanych drzew). Pachnicę odnaleziono w 114 drzewach (czyli w 11% drzew dziuplastych). Rozmieszczenie pachnicy nie było przypadkowe pod względem gatunków drzew. Pachnica wykazywała preferencje względem lipy *Tilia cordata* i olszy *Alnus glutinosa* oraz występowała rzadziej niż można by się spodziewać w klonach *Acer* spp. i grabach *Carpinus betulus*. Wbrew utartym poglądom utrwalonym m.in. w polskiej nazwie gatunku (pachnica „dębowa”), zasiedlenie dębu nie odbiegało od poziomu wynikającego z dostępności tego gatunku drzewa (tzn. dęby nie były ani unikane, ani preferowane). Czynnikiem silnie wpływającym na występowanie pachnicy była natomiast grubość pnia - chrząszcze preferowały drzewa grubsze, o obwodzie około 450 cm, jednak dawało się również zauważyć nieco niższe zasiedlenie drzew bardzo grubych (powyżej 500 cm obwodu). Pachnica nie wykazywała znaczących preferencji względem wielkości otworu wejściowego dziupli, ekspozycji i rodzaju nawierzchni drogi. Tego rodzaju efekt był wcześniej wykazywany w przypadku populacji ze Szwecji, czyli z północnego skrajnego zasięgu grupy gatunków *O. eremita* (Ranius i Nilsson 1997), gdzie gatunek preferuje dziuple o najcieplejszym mikroklimacie.

W odróżnieniu od pachnicy, u węzy marmurkowej nie stwierdzono preferencji względem gatunków drzew (PRACA III). Jest to zatem gatunek mniej wymagający, który potencjalnie może kolonizować większą liczbę drzew. Zaobserwowano preferencje wobec grubszych drzew, jednak w odróżnieniu od pachnicy, chętnie zasiedlane były także nieco cieńsze drzewa (pow. 200 cm obwodu). Nie stwierdzono znaczących preferencji odnośnie wielkości otworu dziupli, jej ekspozycji i typu nawierzchni drogi. Uzyskane wyniki wskazały, że *P. marmorata* jest generalistą, zasiedlającym szerokie spektrum dziuplastych drzew. Jako taki, może być uważany za wskaźnik korzystnych warunków dla wielu gatunków związanych z rozłożonym drewnem w dziuplach drzew.

Zmienną najsilniej wpływającą na zasiedlenie dziuplastych drzew przez pszczoły miodne (PRACA IV) była grubość pnia, tj. prawdopodobieństwo zasiedlenia wzrastało wraz z grubością pnia. Włączenie gatunku drzewa do modelu GLZ nie zwiększało jego mocy wyjaśniającej. Częstość zasiedlenia większości (21 spośród 23) gatunków drzew nie odbiegała od częstości spodziewanych na podstawie rozpowszechnienia samych drzew. Jedynie w przypadku olszy czarnej *Alnus glutinosa* stwierdzono zasiedlanie częstsze, zaś w grabach *Carpinus betulus* – rzadsze od spodziewanego. Unikanie grabu wiązać należy z niewielkimi zazwyczaj rozmiarami tych drzew. Wbrew oczekiwaniom, pszczoły nie preferowały dziupli w drzewach nektarodajnych. Największa liczba stwierdzeń gniazd pszczelich w lipie może być w pełni wyjaśniona poprzez fakt największego udziału tego gatunku drzewa w alejach. Na poziomie całych stanowisk, najlepszym predykatorem występowania pszczół był udział

drzew dziuplastych, zaś wpływ składu gatunkowy drzew w alei okazał się nieistotny. Całkowite zagęszczenie dziko żyjących rodzin pszczoły miodnej w regionie oszacowano na  $0,1 \text{ rodziny} \times \text{km}^{-2}$ .

Uzyskane wyniki wskazują na szczególne znaczenie grubszych drzew dziuplastych. W przypadku wszystkich trzech badanych gatunków owadów, grubość pni drzew okazała się najważniejszym czynnikiem decydującym o zasiedleniu drzew. Prawdopodobnie spowodowane to jest przez fakt, że w grubych pniach mogą występować większe dziuple, oferujące więcej pożywienia dla larw (chrząszcze), bądź więcej przestrzeni dla zbudowania gniazda (pszczoła).

Wyniki prezentowanych badań dowodzą szczególnej roli liniowych zadrzewień krajobrazów kulturowych w utrzymaniu gatunków związanych z dziuplastymi drzewami. Występowanie pachnicy potwierdzono w 2,9% drzew (11% drzew z dziuplą) (PRACA II), wepy w 1,9% drzew (7,4% drzew z dziuplą), zaś pszczoły miodnej w 0,3 % drzew (1,3 % drzew z dziuplą). Wyniki badań o zbliżonej metodyce prowadzonych na stanowiskach leśnych, badanych m.in. w ramach monitoringu Głównego Inspektoratu Ochrony Środowiska (Oleksa 2010), jednoznacznie wskazują, że przynajmniej w przypadku pachnicy poziom zasiedlenia drzew w alejach przekracza znacznie wartości obserwowane na terenach leśnych. Tym samym, wbrew utartym stereotypom postrzegania tego gatunku jako „reliktu puszczańskiego”, jego ochrona nie powinna ograniczać się do stanowisk *stricte* leśnych.

Podobnie, ochrona pachnicy dębowej nie może ograniczać się do zadrzewień dębowych. Na Pojezierzu Iławskim gatunek znacznie częściej występuje w gatunkach drzew o miękkim drewnie. Wynika to zapewne z faktu, że drzewa te są znacznie bardziej podatne na próchnienie, gdyż nie tworzą tak silnych barier obronnych przed infekcjami grzybowymi. Wyniki nowszych badań wskazują, że oprócz alei przydrożnych, kolejnym bardzo ważnym siedliskiem pachnicy są także tradycyjne zadrzewienia ogławianych wierzb (*S. alba* i *S. fragilis*), jeszcze do niedawna szeroko rozpowszechnione w krajobrazach rolniczych środkowej Europy, zwłaszcza w dolinach rzecznych (Sebek i in. 2012; Sebek i in. 2013). Z drugiej strony, zarówno wyniki PRACY II jak i badań przeprowadzonych we Francji (Dubois i in. 2009) pokazują, że pachnica na tyle rzadko zasiedla klony (*Acer platanoides* i *A. pseudoplatanus* w Polsce, *A. campestre* we Francji), że można mówić o ich unikaniu. Z tej przyczyny, nie należy rekomendować tworzenia nasadzeń klonowych w ramach programów aktywnej ochrony pachnicy.

Uzyskana wiedza na temat preferencji pachnicy została już przetransferowana do praktyki ochrony przyrody, gdyż umożliwiła opracowanie wytycznych dotyczących doboru gatunków drzew w nasadzeniach przydrożnych w ramach programu „Drogi dla Natury – ochrona alei przydrożnych jako korytarzy ekologicznych pachnicy” (Fundacja EkoRozwoju, aleje.org.pl). Głównym celem projektu jest zapewnienie funkcjonowania i przetrwania populacji pachnicy dębowej poprzez odtwarzanie i ochronę alei przydrożnych, łączących izolowane stanowiska i subpopulacje pachnicy dębowej. Projekt realizowany jest na Dolnym Śląsku i przyległych obszarach Wielkopolski i Lubuskiego, Powiśla i Warmii oraz w Małopolsce, ze szczególnym uwzględnieniem obszarów Natura 2000. W ramach projektu "Drogi dla Natury" pełniłem funkcję kierownika naukowego w latach 2010-2013. Obecnie projekt kontynuowany jest jako kampania promocji zadrzewień w krajobrazie rolniczym jako siedlisk przyrody i korytarzy ekologicznych, przy wsparciu przez program LIFE+ Unii Europejskiej oraz Narodowy Fundusz Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej.

### 5.3.2. Ocena zdolności dyspersyjnych na podstawie markerów DNA (PRACA VI)

Przeprowadzona analiza przestrzennej struktury genetycznej *O. barnabita* i *P. marmorata* dowiodła, że populacje obydwu gatunków są pod silnym wpływem ograniczonego przepływu genów i izolacji przez odległość. W szczególności, chrząszcze odłowione w obrębie jednego drzewa wykazywały najwyższych współczynnik pokrewieństwa (u pachnicy:  $0,26 \pm 0,04$ , u wepy:  $0,06 \pm 0,006$ ), który

następnie wykazywał w przybliżeniu log-liniowy spadek wraz z odległością. Wysokie pokrewieństwo owadów zebranych w niewielkiej odległości dobitnie wskazuje na ograniczone zdolności dyspersyjne. Warto jednak podkreślić, że u dwu badanych gatunków natężenie struktury przestrzennej nie było jednakowe. Zgodnie z przewidywaniami teoretycznymi, gatunek o węższej niszy ekologicznej wykazywał zarówno wyższe pokrewieństwo w zerowej klasie dystansu, jak również cechował się bardziej stromą linią regresji pomiędzy odległością dzielącą osobniki a ich podobieństwem genetycznym.

Wychodząc od wyników na temat natężenia przestrzennej struktury genetycznej, oszacowano następnie dla obydwu gatunków dwie charakterystyki intensywności przepływu genów, tj. wielkość obszaru sąsiedztwa Wrighta ( $Nb$ ) oraz osiową wariancję dyspersji ( $\sigma$ ), miarę zbliżoną do średniej odległości dyspersji. Wyniki zależały mocno od zakładanego efektywnego zagęszczenia populacji ( $D_e$ ), które *de facto* pozostawało nieznane. Niemniej jednak, dla większości realistycznych wartości zagęszczenia, iteratywna estymacja w programie SPAGeDi (Hardy i Vekemans 2002) osiągała konwergencję. Sugeruje to dobrą zgodność między obserwowanym wzorcem przestrzennej struktury genetycznej a teorią izolacji przez odległość, przynajmniej dla *O. barnabita*. Dla najwyższego efektywnego zagęszczenia populacji dla którego estymacja osiągnęła konwergencję (50 osobników  $\times$  km<sup>-2</sup>), osiowa wariancja dyspersji została oszacowana na  $501 \pm 110$  m, zaś wielkość obszaru sąsiedztwa  $78,9 \pm 35,0$  osobników.

W przypadku *P. marmorata* zasięg i tempo dyspersji są wystarczająco duże, by doprowadzić do homogenizacji przestrzennej struktury genetycznej populacji już w skali kilkuset metrów. W związku z tym, oszacowane miary przepływu genów są obarczone dużą wariancją, co może świadczyć że u tego gatunku nie jest spełnione założenie o istnieniu równowagi między dyspersją a dryfem genetycznym, będące podstawą modelu oceny przestrzennej struktury genetycznej. Uzyskane wyniki wskazują, że *O. barnabita* cechuje się 3 – 6,5 razy mniejszą wielkością obszaru sąsiedztwa i 1,7 – 2,5 razy mniejszym zasięgiem dyspersji niż *P. marmorata*. Różnice te były zgodne z hipotezą, że gatunki bardziej wyspecjalizowane wykazują ograniczone zdolności dyspersyjne w porównaniu z gatunkami o szerszym spektrum ekologicznym.

Uzyskane szacunkowe wartości przeciętnego zasięgu dyspersji pachnicy na podstawie markerów DNA przewyższają o rząd wielkości oceny uzyskane przy pomocy klasycznych metod polegających na śledzeniu przemieszczeń osobników, które wyniosły ok. 60 m w szwedzkiej populacji *O. eremita* (Ranius i Hedin 2001; Hedin i Ranius 2002). Rozbieżność ta może wynikać z faktu, że metody biorące pod uwagę tylko obserwacje przemieszczeń osobników mogą pomijać dyspersję długodystansową, która jest możliwa do wychwycenia dzięki metodom genetycznym. Należy również zwrócić uwagę, że metody polegające na śledzeniu przemieszczania osobników opisują proces dyspersji zachodzący najczęściej krótkoterminowo, w ramach jednego pokolenia. Natomiast metody oparte na analizie przestrzennej struktury genetycznej wnioskują pośrednio o procesie dyspersji, jaki zachodził w ciągu kilku pokoleń. Z tego względu, miary dyspersji uzyskane w oparciu o analizy przestrzennej struktury genetycznej mogą być traktowane jako wartości 'uśrednione', nie obarczone błędem próby (np. pojedynczego sezonu badań), które z powodzeniem mogą być wykorzystywane w modelowaniu procesów demograficznych organizmów i projektowaniu programów ochrony gatunkowej.

Tym niemniej, nie jest wykluczone również, że dyspersja wykazuje duże zróżnicowanie geograficzne w obrębie zasięgu gatunków z grupy *O. eremita*, podlegając odmiennym presjom selekcyjnym w warunkach dużej bądź niskiej fragmentacji środowiska. W populacjach *O. eremita* s. str. poza Skandynawią, średni zasięg dyspersji został oszacowany raczej na setki niż dziesiątki metrów (Dubois i in. 2010; Chiari i in. 2012). Wyniki PRACY VI wskazują, że *O. barnabita* może być mniej

wrażliwa na fragmentację środowiska niż dotychczas sądzono. Należy jednak podkreślić, że wynik oszacowany na podstawie markerów DNA opiera się na historycznym procesie przepływu genów, który dokonywał się prawdopodobnie w warunkach większej ciągłości środowisk niż obserwowana współcześnie. Wciąż nie jest pewne, czy osobniki w trakcie dyspersji są w stanie pokonywać bezdrzewne tereny, czy też przemieszczają się wyłącznie w obrębie sieci zadrzewień.

### 5.3.3. Wykorzystanie feromonów w inwentaryzacji pachnicy (PRACA V)

Analiza chromatograficzna substancji lotnych wydzielanych przez samce *O. barnabita* dowiodła, że wydzielają one wyłącznie *R*-enancjomer  $\gamma$ -dekalaktonu. Co więcej, w próbkach substancji nie stwierdzono żadnych innych laktonów, które mogłyby pełnić rolę dodatkowych składników feromonu płciowego.

Podczas eksperymentu terenowego polegającego na odłowieniu pułapek zaopatrzonych w *R*- $\gamma$ -dekalakton (*R*) i mieszaninę racemiczną ( $2 \times R+S$ ), nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy liczbą odłowionych osobników między obydwoma rodzajami pułapek. Wynik ten dowodzi, że feromonem płciowym wytwarzanym przez samce *O. barnabita* jest wyłącznie *R*-enancjomer, czyli ta sama substancja która pełni analogiczną rolę u blisko spokrewnionego taksonu *O. eremita*. W związku z tym, wydaje się, że mechanizm przypuszczalnej izolacji rozrodczej pomiędzy tymi dwoma taksonami nie polega na wykorzystaniu odmiennych feromonów płciowych. Wynika stąd, że na obszarach sympatrycznego występowania obydwu taksonów (Audisio i in. 2009) izolacja pomiędzy obydwoma formami musi polegać na innym mechanizmie, np. wynikać z obecności wciąż nierozpoznanych substancji towarzyszących *R*- $\gamma$ -dekalaktonowi, albo bliżej nieokreślonych mechanizmach behawioralnych ułatwiających wzajemne rozpoznawanie domniemanych gatunków.

Uzyskane wyniki mają także walor praktyczny, dowodząc, że w monitoringu wschodniego gatunku pachnicy *O. barnabita* może być z powodzeniem stosowana ta sama substancja, co w przypadku blisko spokrewnionego gatunku zachodnioeuropejskiego. Wobec powszechnego występowania pachnic w zadrzewieniach towarzyszących infrastrukturze drogowej, ich adekwatna detekcja może mieć duże znaczenie zarówno dla ochrony gatunku, jak i uzyskiwania pozwoleń prawnych na realizację inwestycji.

## 5.4. Podsumowanie

Prace wchodzące w skład prezentowanego cyklu publikacji dotyczyły zaledwie trzech gatunków z bardzo bogatego zgrupowania owadów związanych z dziuplami drzew. Mimo to, uzyskane wyniki przyczyniły się do poszerzenia wiedzy na temat wymagań środowiskowych gatunków, które można uznać za gatunki parasolowe dla ochrony zgrupowań organizmów związanych z dziuplami drzew, tj. gatunki, których ochrona zapewnia zabezpieczenie dużej liczby innych, współwystępujących gatunków (Roberge i Angelstam 2004). Wyniki prac pozwoliły na wyciągnięcie konkluzji, które mogą ułatwić tworzenie programu ochrony dla zadrzewień krajobrazów kulturowych, uwzględniających preferencje gatunków o zróżnicowanych wymaganiach.

Dla dwóch badanych gatunków chrząszczy wykazano, że istotnym czynnikiem ograniczającym ich występowanie może być obniżona ciągłość przestrzenna zasiedlanych środowisk. Wobec ograniczonych zdolności dyspersyjnych prowadzi ona do nasilenia się niekorzystnych zjawisk genetycznych, takich jak kojarzenie w pokrewieństwie i związany z tym wzrost wsobności.

Badania nad komunikacją feromonową u wschodnioeuropejskiej pachnicy *Osmoderma barnabita* potwierdziły, że gatunek ten wykorzystuje jako feromon płciowy tę samą substancję, co zachodnioeuropejski takson *O. eremita*. Tym samym, mechanizmu przypuszczalnej izolacji rozrodczej nie można wytłumaczyć odmiennością sygnałów chemicznych umożliwiających kojarzenie.

## 6. Omówienie pozostałych osiągnięć badawczych

### 6.1. Genetyka konserwatorska pszczoły miodnej

Poza badaniami owadów saproksylicznych, głównym tematem moich zainteresowań jest genetyka konserwatorska pszczoły miodnej. Badania te poświęcone są ochronie rodzimego dla Polski podgatunku *Apis mellifera mellifera* (w Polsce niezbyt trafnie określanym jako „pszczoła środkowoeuropejska”). Głównym zagrożeniem dla integralności tego podgatunku jest hybrydyzacja z pszczołami obcego pochodzenia, wywodzącymi się głównie z Europy południowo-wschodniej. W Polsce, oprócz rodzimego podgatunku, do hodowli dopuszczone są również pszczoły kaukaskie *A. m. caucasica* i kraińskie *A. m. carnica*, przy czym największą popularnością cieszą się te drugie. Są one preferowane przez pszczelarzy, gdyż wyróżniają się cechami ułatwiającymi ich wykorzystanie w gospodarce pasiecznej: wczesnym i szybkim rozwojem wiosennym, mniejszą skłonnością do rójki, dobrym trzymaniem się plastrów i łagodnością. Z drugiej strony, rodzimy podgatunek mimo większej agresywności i skłonności do rójek może być cennym źródłem genów warunkujących adaptację do lokalnych warunków pożytkowych i klimatycznych. Problem zaniku *A. m. mellifera* dostrzegalny jest w niemal całym zasięgu podgatunku, obejmującym pierwotnie Europę na północ od Pirenejów, Alp i Karpat. W Europie zachodniej, a zwłaszcza w Niemczech, doszło już do niemal całkowitego zastąpienia autochtonicznej pszczoły przez formy pochodzące z odrębnych gałęzi ewolucyjnych. W Polsce problem zaniku rodzimej pszczoły wystąpił później (Gromisz 1997). Stosunkowo wcześniej, bo już w latach 1970' powołano zamknięte rejony hodowli zachowawczej *A. m. mellifera*. Ocenę materiału hodowlanego w takich rejonach prowadzono w oparciu o cechy behawioralne, użytkowe i morfologiczne. Celem wykonanych przez mój zespół badań była ocena poziomu introgresji obcych genów do chronionych populacji rodzimego podgatunku z wykorzystaniem markerów DNA jądrowego i mitochondrialnego. Ponadto, wobec niewystarczającej izolacji przez odległości zainteresowani byliśmy również mechanizmami decydującymi o ograniczeniach przepływu genów pomiędzy podgatunkami pszczoły miodnej.

#### 6.1.1. Ocena poziomu introgresji w zamkniętej hodowli zachowawczej *A. m. mellifera* w Puszczy Augustowskiej

Mimo ogromnego znaczenia ekonomicznego pszczoły miodnej, zmienność genetyczna tego gatunku w Polsce była jak dotąd słabo rozpoznana przy pomocy markerów DNA. Większość dotychczasowych badań służących określeniu przynależności podgatunkowej pszczół z terenu Polski opierała się na cechach morfologicznych, w tym zwłaszcza na użytkowaniu skrzydeł (Gerula i in. 2009). Wyniki tych analiz wskazywały, że ostatnim źródłem zmienności genetycznej autochtonicznego podgatunku *A. m. mellifera* mogą być cztery zarejestrowane linie hodowlane: Asta, Augustowska, Kampinoska, i Północna. Dwie z nich (Augustowska i Kampinoska), utrzymywane są w ramach zamkniętych rejonów hodowli zachowawczej, tj. rozległych obszarów, na których nie dopuszcza się wprowadzania pszczół nierodzimych. Ocena hodowlana tak utrzymywanych linii opiera się wyłącznie na cechach morfologicznych i użytkowych. Celem pracy Oleksy i in. (2011) było sprawdzenie, na ile stosowane dotychczas metody ochrony zachowawczej zapobiegają introgresji obcych genów, w szczególności:

- Czy stosowane metody oceny materiału hodowlanego pozwalają wyeliminować pszczoły obcego pochodzenia?
- Czy istniejąca strefa ochronna skutecznie zapobiega przepływowi obcych genów spoza zamkniętego rejonu hodowli?

Przeprowadzone badania dotyczyły dwóch linii hodowlanych rodzimych pszczół z północno-wschodniej Polski, tj. Augustowskiej i Północnej. Zbiór materiału do badań został zaprojektowany w taki sposób, by objąć trzy strefy różniące się reżimem ochronnym: (1) strefę centralną w środkowej części Puszczy Augustowskiej, w której zlokalizowane jest główne stado zachowawcze pszczół augustowskiej, (2) strefę izolacyjną o promieniu ok. 10 km wokół strefy centralnej, do której nie wolno sprowadzać matek pszczelich obcego pochodzenia, (3) teren północno-wschodniej Polski poza Puszcza Augustowską, nie objęty reżimem ochronnym. Z tej ostatniej strefy badaniom poddano pszczół od hodowców deklarujących utrzymywanie pszczół środkowoeuropejskiej. Ponadto, w badaniach uwzględniono pojedynczą populację *A. m. carnica* z Oddziału Pszczelnictwa Instytutu Sadownictwa w Puławach jako próbę referencyjną dla tego podgatunku.

Ocena przynależności badanych pszczół została oparta na markerach genomu mitochondrialnego oraz jądrowego, ponieważ ze względu na odmienny charakter dziedziczenia (odpowiednio, w linii macecznej oraz oburodzicielsko) analizy przeprowadzone za pomocą obydwu rodzajów markerów dają możliwość oceny roli obydwu płci w przepływie genów między badanymi populacjami. Jako marker mitochondrialny wykorzystano polimorficzny region między genami COI i COII. Analiza restrykcyjna tego regionu pozwala na odróżnienie pszczół wywodzących się z odrębnych gałęzi ewolucyjnych (Garnery i in. 1993). Z kolei w roli markerów genomu jądrowego wykorzystano 9 loci mikrosatelitarnych, popularnie stosowanych w badaniach pochodzenia pszczół (Solignac i in. 2003). Ocena introgresji genów wywodzących się z linii ewolucyjnej C (podgatunek *A. m. carnica*) została przeprowadzona dzięki grupowaniu metodą STRUCTURE (Pritchard i in. 2000), a także poprzez obliczenie częstości alleli uznawanych za diagnostyczne dla południowo-wschodniej Europy.

Wyniki badań wskazują, że program ochrony pszczół Augustowskiej okazał się skuteczny, mimo że w ramach ochrony zachowawczej zorganizowano stosunkowo niewielką strefę izolacyjną. W strefie centralnej stwierdzono minimalną obecność obcych mitochondriów (1 rodzina na 30 badanych, tj. 3,3%), natomiast udział obcych genów jądrowych oszacowano na 11%. Warto jednak podkreślić, że tylko u 3 matek z 30 badanych udział obcych genów był istotnie większy od zera. Podobne wartości introgresji w genomie jądrowym odnotowano dla strefy izolacyjnej (9%), jednak tutaj znacznie więcej pszczół posiadało mitochondria obcego pochodzenia (45% rodzin). Najwyższy udział obcych genów jądrowych oszacowano dla pszczół spoza Puszczy Augustowskiej – 32%, przy 50% udziale markerów mitochondrialnych typowych dla podgatunku *A. m. carnica*.

Większy udział markerów obcego pochodzenia w genomie mitochondrialnym niż w jądrowym dowodzi, że introgresja obcych genów zachodzi głównie dzięki importowi matek *A. m. carnica*. Jeśli unasiennianie matek w kolejnych pokoleniach zachodzi w sposób naturalny (tj. podczas lotów weselnych), częstość obcych genów jądrowych może się stopniowo zmniejszać w wyniku kojarzenia z trutniami lokalnego pochodzenia. Z drugiej strony, obecność w strefie izolacyjnej DNA mitochondrialnego obcego pochodzenia nie zagraża tożsamości genetycznej rodzimej populacji utrzymywanej w strefie centralnej, gdyż ewentualny przepływ genów ze strefy izolacyjnej dokonuje się wyłącznie za pośrednictwem trutni, nie przekazujących swych mitochondriów potomstwu.

Uzyskane wyniki pokazują także, że zastosowanie markerów molekularnych może być cennym uzupełnieniem tradycyjnych metod morfometrycznych, dotychczas stosowanych dla oceny materiału hodowlanego.

### 6.1.2. Częściowa izolacja rozrodcza pomiędzy podgatunkami *A. m. mellifera* i *A. m. carnica*

Trwający od co najmniej kilku dekad intensywny import pszczelich matek krajńskich w połączeniu z dalekim zasięgiem przepływu genów powinien doprowadzić do szybkiego wymieszania puli genowej pszczół w Polsce. Tymczasem opisane powyżej wyniki badań dowiodły ograniczonej introgresji genów pszczół krajńskich w populacji pszczoły rodzimej, która chroniona była dzięki utworzeniu bardzo małej (jak na zdolności dyspersyjnej gatunku) strefy izolacyjnej. Co więcej, udział mieszańców okazał się stosunkowo niewielki. Fakty te mogą wskazywać na istnienie ograniczeń kojarzenia pomiędzy pszczołami z podgatunków *A. m. mellifera* i *A. m. carnica*. Różne bariery rozrodcze (zarówno pre-, jak i postzygotyczne) zostały zaobserwowane dotychczas pomiędzy azjatyckimi gatunkami z rodzaju *Apis*, jednak istnienie wybiórczego kojarzenia pomiędzy różnymi liniami ewolucyjnymi w obrębie gatunków zostało znacznie słabiej udokumentowane (Koeniger i Koeniger 2000).

W celu zweryfikowania hipotez, że matki pszczele są częściej unasienniane przez trutnie tego samego podgatunku, przeprowadziliśmy eksperyment polegający na wystawieniu dziewiczych matek pszczelich do naturalnego unasiennienia w terenie zasiedlonym przez pszczoły z obydwu podgatunków (Oleksa i in. 2013). W eksperymencie wykorzystano 24 matki *A. m. mellifera* i 24 matki *A. m. carnica*, które umieszczono w ulikach mini-plus we wspólnej lokalizacji na okres 1,5 miesiąca celem odbycia naturalnych lotów weselnych. Po tym okresie, od każdej matki zebrano grupę potomstwa (8 robotnic), które genotypowano przy użyciu 17 loci mikrostaelitarnych. Następnie, wykorzystując wiedzę o genotypach potomstwa, określono genotypy ojcowskie oraz określono prawdopodobieństwo ich przynależności do *A. m. mellifera* i *A. m. carnica*. Związek pomiędzy współczynnikami przynależności matek pszczelich i ich partnerów seksualnych badano analizie przy pomocy współczynnika korelacji Spearmana. Dodatkowo, celem określenia częstości obydwu podgatunków w najbliższej okolicy, zbadano także próbę pszczół ze 100 rodzin z trzech pobliskich pasiek. Porównania współczynników przynależności pomiędzy grupami (matki vs. trutnie, obydwa płcie vs. pszczoły w sąsiednich pasiekach) prowadzono przy pomocy testu *U* Manna-Whitneya.

Przeprowadzony eksperyment wykazał, że matki pszczele mają tendencję do kojarzenia się z trutniami własnego podgatunku (współczynnik korelacji Spearmana między prawdopodobieństwami przynależności matek i unasienniających je trutni wyniósł 0,589,  $p=0,0004$ ). Potomstwo matek *A. m. mellifera* miało za ojców niemal wyłącznie trutnie z tego samego podgatunku. Odmienne przedstawiała się kwestia kojarzeń matek *A. m. carnica* – zostały one unasiennione przez trutnie obydwu podgatunków, w proporcjach nie różniących od spotykanych w pobliskich pasiekach. Być może spowodowane było to przez mniejszą dostępność trutni *A. m. carnica* – częstość genów tego podgatunku w badanej okolicy oszacowano na zaledwie 13,5%. Zaobserwowana asymetria w przepływie genów między podgatunkami zgodna jest z hipotezą wzmocnienia izolacji reprodukcyjnej (*reinforcement hypothesis*), która wykształca się zwykle w strefach wtórnego kontaktu między izolowanymi taksonami (Howard 1993). Powstanie takiej bariery jest bardziej prawdopodobne u rodzimych *A. m. mellifera*, które podlegają doborowi naturalnemu w warunkach stałego ryzyka hybrydyzacji z *A. m. carnica*. Z kolei komercyjne linie tego drugiego podgatunku w Polsce utrzymywane są głównie dzięki sztucznemu unasiennianiu, podlegając głównie sztucznej selekcji.

Wyniki przeprowadzonego eksperymentu są zgodne z hipotezą o istnieniu częściowej izolacji rozrodczej między europejskimi podgatunkami pszczoły miodnej. Eksperyment nie rozstrzygnął natomiast, na czym polega mechanizm takowej izolacji. W rachubę wchodzić mogą zarówno bariery prezygotyczne, takie jak np. zróżnicowanie czasu lub miejsca lotów godowych albo obniżona



kompatybilność gamet pomiędzy podgatunkami, jak i bariery postzygotyczne, np. obniżona przeżywalność zygot mieszańców.

Badania dotyczące zjawisk wybiórczego kojarzenia u pszczoły miodnej pokazują, że nawet biologia gatunków modelowych i dobrze zbadanych kryje jeszcze wiele tajemnic. Obecnie pracuję nad dalszymi eksperymentami służącymi ujawnieniu mechanizmów obserwowanej izolacji rozrodczej oraz nad określeniem wpływu krzyżówek pomiędzy odległymi liniami ewolucyjnymi pszczoły miodnej na dostosowanie pszczół.

## 6.2. Genetyka konserwatorska drzew leśnych

Część prac znajdujących się w moim dorobku naukowym dotyczy zagadnień związanych z problemami kształtowania zmienności genetycznej w populacjach drzew leśnych. Są one efektem realizacji wspólnych projektów badawczych z kolegami z Katedry Genetyki UKW, dla których wiodącym tematem badań jest genetyka populacyjna drzew.

Badania z zakresu genetyki konserwatorskiej drzew dotyczyły dwóch gatunków drzew uważanych za zagrożone ze względu na występowanie w formie niewielkich populacji: cisa *Taxus baccata* (Chybicki i in. 2011; Chybicki i in. 2012a) i dębu omszonego *Quercus robur* (Chybicki i in. 2012b). Ten drugi gatunek znajduje się ponadto pod stałą presją hybrydyzacji z rodzimymi gatunkami dębów: szypułkowym *Q. robur* i bezszypułkowym *Q. petraea*. Trzeci spośród badanych gatunków, buk zwyczajny *Fagus sylvatica* nie jest uważany za zagrożony, jednak jego przykład dostarcza sposobności do badań nad kształtowaniem przestrzennej struktury genetycznej (Chybicki i in. 2009). Badane gatunki drzew łączy fakt, że mimo wysokiego potencjału dyspersyjnego (wiatropylność, przenoszenie nasion przez ptaki), cechują się silną przestrzenną strukturą krewniaczą. Dlatego, niezależnie od wielkości populacji, mogą być one zagrożone przez negatywne skutki wsobności.

W pracy poświęconej analizie wsobności osobniczej i struktury pokrewieństwa u cisa (Chybicki i in. 2011) wykorzystaliśmy dwa rodzaje markerów DNA, tj. mikrosatelity i AFLP, do oceny natężenia zjawiska izolacji przez odległość w dwóch największych polskich populacjach cisa. W obydwu badanych populacjach wszystkie oszacowane miary przestrzennej struktury genetycznej są istotnie większe od zera. Markery AFLP ujawniały silniejszy wzorzec struktury przestrzennej niż mikrosatelity, co może być spowodowane m.in. przez odmienną odpowiedź na dobór (jest większa szansa, że loci AFLP mogą być sprzężone z loci znajdującymi się pod wpływem doboru). Uzyskane wyniki wskazują, że na natężenie przestrzennej struktury genetycznej w populacjach cisa szczególnie mocno wpływa zagęszczenie drzewostanu, które może ograniczać ruch powietrza w dolnych warstwach lasu i tym samym dyspersję pyłku.

Dodatkowy walor pracy polegał na opracowaniu Bayesowskiej metody oceny wewnątrzpopulacyjnej wsobności w oparciu o markery dominujące, takie jak np. AFLP. Porównanie z wynikami uzyskanymi dla mikrosatelitów wraz z przeprowadzonymi symulacjami wskazują, że metoda ta pozwala na uzyskanie wysoce wiarygodnych oszacowań. Otwiera to możliwości badań dotyczących organizmów o słabo poznanych genomach, dla których nie opracowano dotychczas dogodnych markerów kodominujących. Markery AFLP mogą być szeroko używane w badaniach populacyjnych gatunków zagrożonych, gdyż są markerami uniwersalnymi i nie wymagają kosztownych procedur przygotowawczych (jak np. SSR). Mała zawartość informacyjna loci AFLP (system bialleliczny), może być z powodzeniem kompensowana poprzez wykorzystanie dużej liczby loci. Uzyskane przez nas wyniki wskazują, że dla oszacowania wysoce wiarygodnych ocen średniej wsobności osobniczej w populacji, wystarczy ok. 50 osobników poddanych genotypowaniu w co najmniej 100 loci AFLP. Przy mniejszej

liczbie dostępnych prób (jak często zdarza się w przypadku gatunków rzadkich i zagrożonych) dodatkową precyzję można uzyskać dzięki zbadaniu większej liczby loci.

Kolejna praca na temat cisa pospolitego dotyczyła oszacowania natężenia dryfu genetycznego w chronionych populacjach tego gatunku (Chybicki i in. 2012a) oraz implikacji tego zjawiska dla optymalizacji ochrony zasobów genowych. Jeśli celem programów ochrony jest utrzymanie potencjału adaptacyjnego populacji, ważne jest zmniejszanie ryzyka ograniczenia efektywnej wielkości populacji oraz wzrostu depresji wsobnej poprzez utrzymanie odpowiednio dużej liczebności populacji o wysokim poziomie zmienności. Oprócz ochrony *in-situ*, celowi temu mogą służyć zabiegi *ex-situ*, takie jak utrzymywanie banków nasion lub plantacji, wykorzystywanych jako źródło materiału do translokacji i (re)introdukcji. Optymalnie, wybór populacji (względnie osobników) do ochrony *ex situ* uwzględnia zwykle kryteria genetyczne, takie jak np. współczynniki opisujące wsobność lub polimorfizm w populacji, jednak często jako przybliżenie tych miar stosuje się cenzusową wielkość populacji ( $N_c$ ). Miara ta może być jednak zwodnicza, gdyż na procesy genetyczne w populacji ma raczej wpływ jej wielkość efektywna ( $N_e$ ) niż cenzusowa, przy czym obydwie te miary mogą się znacząco różnić ze względu na procesy takie jak np. nierównomierny sukces reprodukcyjny osobników albo proporcje ilościowe osobników męskich i żeńskich. Cis, jako gatunek dwupienny, a zarazem ograniczony do niewielkich, izolowanych populacji, jest interesującym obiektem badań związków pomiędzy cenzusową i efektywną wielkością populacji. W naszych badaniach uwzględniliśmy sześć chronionych populacji cisa, dla których wykorzystując mikrosatelity oceniliśmy bogactwo alleliczne, wsobność oraz efektywną wielkość populacji metodą nierównowagi sprzężeń.

Uzyskane wyniki wskazują, że badane populacje są silnie zróżnicowane, a także wykazują znaczące różnice natężenia dryfu genetycznego. Okazało się, że bogactwo alleliczne było związane z efektywną wielkością populacji, a nie z wielkością cenzusową. Stosunek  $N_e/N_c$  był jednak różny w poszczególnych populacjach, co wynika prawdopodobnie ze zróżnicowanych historii populacji. Nasze wyniki pokazują, że wybór populacji jako źródła dla reintrodukcji, oparty tylko na cenzusowej wielkości populacji, może prowadzić do całkowicie błędnych decyzji.

Praca na temat silnie izolowanej populacji dębu omszonego poświęcona była zjawisku utrzymywania odrębności genetycznej populacji w obecności dwóch innych, wzajemnie płodnych gatunków dębów, szypułkowego *Q. robur* i bezszypułkowego *Q. petrea* (Chybicki i in. 2012b). Badania prowadzono w jedynej w Polsce populacji dębu omszonego w Bielinku nad Odrą, które jest odległa o ok. 300 km od najbliższych stanowisk tego gatunku w Turyngii i Czechach. Wcześniejsze badania dowiodły, że wszystkie trzy rodzime gatunki dębów występujące w Europie środkowej mogą się ze sobą krzyżować, dając płodne mieszańce. Dęby omszone z Bielinka są szczególnie zagrożone genetycznym wymarciem w wyniku introgresywnej hybrydyzacji z uwagi na małą wielkość populacji ( $N_c \approx 2,2$  tys.), znaczną izolację geograficzną względem innych populacji własnego gatunku oraz otoczenie przez znacznie większe populacje dwu pozostałych gatunków. Morfologia liści dębów omszonych z Bielinka odbiega od spotykanej w regionie śródziemnomorskim, wykazując cechy pośrednie między nimi a *Q. petrea* i *Q. robur*. Może to świadczyć o silnej introgresji w populacji z Bielinka. Wykorzystując 9 loci mikrosatelitarnych, oraz metodę grupowania w programie Geneland (Guillot i in. 2008), określiliśmy najbardziej prawdopodobną liczbę populacji genetycznych w badanym materiale dębu omszonego i referencyjnych próbach dębów z Polski. Dodatkowo, zbadano natężenie struktury krewniaczej, poziom wsobności oraz efektywną wielkość populacji dębu omszonego z Bielinka.

Poziom introgresji genów *Q. petrea* i *Q. robur* w populacji *Q. pubescens* został oszacowany na 4,5%. Wskazuje to na silną izolację genetyczną dębu omszonego z Bielinka i nie świadczy na rzecz hipotezy o silnym zmieszaniu tej marginalnej populacji. Wynik ten jest zaskakujący, jeśli wziąć pod uwagę bardzo niską efektywną wielkość populacji dębu omszonego ( $N_e=36$  [95% CI 22-55]).

Oznacza to, że liczba osobników biorących udział w rozmnażaniu jest w tej populacji bardzo ograniczona, co może być także związane z ograniczoną dyspersją za pośrednictwem pyłku i nasion. Biorąc pod uwagę silną podaż pyłku pozostałych dwóch gatunków, wyraźna separacja puli genowej *Q. pubescens* może wynikać z istnienia barier reprodukcyjnych, które ewoluują w strefach mieszańcowych gdy dostosowanie mieszańców jest niższe niż form rodzicielskich (*reinforcement hypothesis*, Howard 1993). Uzyskane wyniki rzucają światło na pochodzenie populacji z Bielinka. Efektywną wielkość populacji założycielskiej oszacowano na ok. 7 tys. osobników, stąd można wnosić że badana populacja stanowi pozostałość historycznej populacji o szerszym zasięgu, której liczebność zaczęła spadać między 4,2 a 2,5 tys. lat temu. Okres ten pokrywa się z tzw. holocenijskim optimum klimatycznym. W tym okresie zasięg dębu omszonego mógł sięgać dalej na północ niż obecnie, zaś istniejąca do tej pory szczątkowa populacja nad Dolną Odrą może być jej ostatnią pozostałością. Ponieważ oszacowany okres zajścia efektu wąskiego gardła genetycznego (*bottleneck*) jest znacznie wcześniejszy niż najwcześniejsze próby wdrażania racjonalnej gospodarki leśnej, raczej mało prawdopodobne jest założenie populacji z Bielinka przez człowieka.

Celem badań przeprowadzonych na buku (Chybicki i in. 2009) było zbadanie kształtowania się zjawiska izolacji przez odległość w naturalnych odnowieniach tego gatunku. Zjawisko to powstaje w populacjach roślin jako efekt ograniczonej dyspersji, zachodzącej na dwu etapach, tj. za pośrednictwem pyłku i nasion. Można by oczekiwać, że obydwa rodzaje dyspersji potencjalnie mogą zapewnić daleki przepływ genów, który skutecznie zapobiega się przestrzennemu grupowaniu spokrewnionych osobników i wzrostowi wsobności. Dla zbadania tych procesów w dwóch drzewostanach bukowych w północnej Polsce wykorzystano 9 loci mikrosatelitarnych oraz analizę autokorelacji przestrzennej współczynnika pokrewieństwa. Oszacowano także rozkład współczynnika wsobności w badanej populacji. Uzyskane wyniki dowiodły, że w obydwu populacjach występuje wyraźne przestrzenne grupowanie się osobników spokrewnionych w skali do 40 m. Stwierdzono, że drzewa w obydwu populacjach wykazują niską, chociaż istotną wsobność (0,02 – 0,04). Ponadto, oszacowano że zasięg dyspersji pyłku jest nawet do 100 razy dalszy od dyspersji nasion. Wyniki te wskazują, że na powstawanie silnej struktury przestrzennej u buka najsilniej wpływa ograniczona dyspersja nasion.

### 6.3. Inne osiągnięcia

Oprócz zagadnień wskazanych powyżej, w swoim dorobku posiadam szereg opracowań na temat rozmieszczenia, ekologii i ochrony owadów. Wykaz moich osiągnięć w tym zakresie (w okresie po uzyskaniu stopnia doktora) prezentuje Załącznik 4. Do najważniejszych z nich zaliczam:

- Opracowanie rozdziałów do Polskiej Czerwonej Księgi Zwierząt dotyczących trzech zagrożonych gatunków motyli (Oleksa 2004 a,b,c)
- Opracowanie wytycznych dla monitoringu dwóch gatunków owadów chronionych na mocy Dyrektywy Siedliskowej, tj. barczatki kataks *Eriogaster catax* (Oleksa 2012) i pachnicy dębowej *Osmoderma eremita* (Oleksa 2010), a także projektów raportów na temat zachowania tych gatunków w Polsce dla Komisji Europejskiej. W przypadku obydwu gatunków pełnię rolę koordynatora krajowego w monitoringu Głównego Inspektoratu Ochrony Środowiska
- Opracowanie propozycji programu działań dla ochrony pachnicy w Polsce (Oleksa i in. 2012).

## Piśmiennictwo

- Alexander KNA (2008) Tree biology and saproxylic Coleoptera: issues of definitions and conservation language. *La Rev d'Ecologie (La Terre la Vie)* 63:1–5.
- Audisio P, Brustel H, Carpaneto GM, et al. (2009) Data on molecular taxonomy and genetic diversification of the European Hermit beetles, a species complex of endangered insects (Coleoptera: Scarabaeidae, Cetoniinae, *Osmoderma*). *J Zool Syst Evol Res* 47:88–95.
- Audisio P, Brustel H, Carpaneto GM, et al. (2007) Updating the taxonomy and distribution of the European *Osmoderma*, and strategies for their conservation (Coleoptera, Scarabaeidae, Cetoniinae). *Fragm Entomol* 39:273–290.
- Avise JC (2004) *Molecular Markers, Natural History, and Evolution*, Second Edi. 684 pp.
- Beyer HL, Haydon DT, Morales JM, et al. (2010) The interpretation of habitat preference metrics under use-availability designs. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365:2245–54.
- Chiari S, Carpaneto GM, Zauli A, et al. (2012) Dispersal patterns of a saproxylic beetle, *Osmoderma eremita*, in Mediterranean woodlands. *Insect Conserv Divers* 6:309–318.
- Chybicki IJ, Oleksa A, Burczyk J (2011) Increased inbreeding and strong kinship structure in *Taxus baccata* estimated from both AFLP and SSR data. *Heredity (Edinb)* 107:589–600.
- Chybicki IJ, Oleksa A, Kowalkowska K (2012a) Variable rates of random genetic drift in protected populations of English yew: implications for gene pool conservation. *Conserv Genet* 13:899–911.
- Chybicki IJ, Oleksa A, Kowalkowska K, Burczyk J (2012b) Genetic evidence of reproductive isolation in a remote enclave of *Quercus pubescens* in the presence of cross-fertile species. *Plant Syst Evol* 298:1045–1056.
- Chybicki IJ, Trojankiewicz M, Oleksa A, et al. (2009) Isolation-by-distance within naturally established populations of European beech (*Fagus sylvatica*). *Botany* 87:791–798.
- Clobert J, Ims R, Rousset F (2004) Causes, mechanisms and consequences of dispersal. In: Hanski I, Gaggiotti O (eds) *Ecol. Genet. Evol. Metapopulations*. Academic Press, Amsterdam, pp 307–335.
- Dubois GF, Gouar PJ, Delettre YR, et al. (2010) Sex-biased and body condition dependent dispersal capacity in the endangered saproxylic beetle *Osmoderma eremita* (Coleoptera: Cetoniidae). *J Insect Conserv* 14:679–687.
- Dubois GF, Vignon V, Delettre YR, et al. (2009) Factors affecting the occurrence of the endangered saproxylic beetle *Osmoderma eremita* (Scopoli, 1763) (Coleoptera: Cetoniidae) in an agricultural landscape. *Landsc Urban Plan* 91:152–159.
- Frankham R (2005) Genetics and extinction. *Biol Conserv* 126:131–140.
- Garnery L, Solignac M, Celebrano G, Cornuet JM (1993) A simple test using restricted PCR-amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L. *Experientia* 49:1016–1021.
- Gerula D, Tofilski A, Węgrzynowicz P, Skowronek W (2009) Computer-assisted discrimination of honey bee subspecies used for breeding in Poland. *J Apic Sci* 53:105–114.
- Gibbons P, Lindenmayer DB, Barry SC, Tanton MT (2002) Hollow selection by vertebrate fauna in forests of southeastern Australia and implications for forest management. *Biol Conserv* 103:1–12.
- Gromisz M (1997) Zasoby pszczoły rodzimej i ich ochron. In: Cierznia T (ed) *Postępy apidologii w Polsce*. Wydawnictwo WSP, Bydgoszcz, pp 47–56.
- Groves CR, Jensen DB, Valutis LL, et al. (2002) Planning for biodiversity conservation: putting conservation science into practice. *Bioscience* 52:499–512.
- Guillot G, Santos F, Estoup A (2008) Analysing georeferenced population genetics data with Geneland: a new algorithm to deal with null alleles and a friendly graphical user interface. *Bioinformatics* 24:1406–1407.

- Hanski I, Gilpin M (1997) Metapopulation Biology: Ecology, Genetics, and Evolution. 512.
- Hardy OJ, Vekemans X (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Mol Ecol Notes* 2:618–620.
- Hedin J, Ranius T (2002) Using radio telemetry to study dispersal of the beetle *Osmoderma eremita*, an inhabitant of tree hollows. *Comput Electron Agric* 35:171–180.
- Hedin J, Ranius T, Nilsson SG, Smith HG (2007) Restricted dispersal in a flying beetle assessed by telemetry. *Biodivers Conserv* 17:675–684.
- Howard D (1993) Reinforcement: origin, dynamics, and fate of an evolutionary hypothesis. In: Harrison R (ed) *Hybrid Zo. Evol. Process.* Oxford University Press, New York, pp 46–69.
- Jonsell M, Weslien J, Ehnstrom B, Ehnstro B (1998) Substrate requirements of red-listed saproxylic invertebrates in Sweden. *Biodivers Conserv* 7:749–764.
- Koeniger N, Koeniger G (2000) Reproductive isolation among species of the genus *Apis*. *Apidologie* 31:313–339.
- Krell F-T (1997) Zu Taxonomie, Chorologie und Eidonomie einiger westpaläarktischer Lamellicornia (Insecta: Coleoptera). *Entomol Nachrichten und Berichte* 40:217–229.
- Larsson MC, Hedin J, Svensson GP, et al. (2003) Characteristic odor of *Osmoderma eremita* identified as a male-released pheromone. *J Chem Ecol* 29:575–587.
- Lindenmayer DB, Laurance WF, Franklin JF, et al. (2013) New policies for old trees: averting a global crisis in a keystone ecological structure. *Conserv Lett* doi: 10.1111/conl.12013
- Nieto A, Alexander KNA (2010) European RedList of Saproxylic Beetles. 47 pp.
- Oleksa A (2010) Pachnica dębowa *Osmoderma eremita*. In: Makomaska-Juchiewicz M (ed) *Monit. gatunków zwierząt. Przew. Metod. Część I.* Główny Inspektorat Ochrony Środowiska, Warszawa, pp 90–111.
- Oleksa A (2004a) *Boloria aquilonaris* (Stichel, 1908) *Dostojka akwilonaris*. In: Głowaciński Z, Nowacki J (eds) *Pol. Czerwona Księga Zwierząt. T. II. Bezkręgowce.* Inst. Ochr. Przyr. PAN & Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego, Kraków - Poznań, pp 256–257.
- Oleksa A (2004b) *Eriogaster catax* (Linnaeus, 1758) *Barczatka kataks*. In: Głowaciński Z, Nowacki J (eds) *Pol. Czerwona Księga Zwierząt. T. II. Bezkręgowce.* Inst. Ochr. Przyr. PAN & Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego, Kraków - Poznań, pp 233–235.
- Oleksa A (2004c) *Phyllodesma ilicifolia* (Linnaeus, 1758) *Barczatka borówczanka*. In: Głowaciński Z, Nowacki J (eds) *Pol. Czerwona Księga Zwierząt. T. II. Bezkręgowce.* Inst. Ochr. Przyr. PAN & Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego, Kraków - Poznań, pp 235–236.
- Oleksa A (2012) *Barczatka kataks Eriogaster catax*. In: Makomaska-Juchiewicz M, Baran P (eds) *Monit. gatunków zwierząt. Przew. Metod. Część II.* Główny Inspektorat Ochrony Środowiska, Warszawa, pp 104 – 123.
- Oleksa A, Chybicki IJ, Tofilski A, Burczyk J (2011) Nuclear and mitochondrial patterns of introgression into native dark bees (*Apis mellifera mellifera*) in Poland. *J Apic Res* 50:116–129.
- Oleksa A, Kadej M, Smolis A, et al. (2012) Ochrona pachnicy w Polsce. Propozycja programu działań. Fundacja EkoRozwoju, Wrocław.
- Oleksa A, Wilde J, Tofilski A, Chybicki IJ (2013) Partial reproductive isolation between European subspecies of honey bees. *Apidologie* 44:611–619.
- Pawłowski J (1961) Próchnojady blaszkorożne w biocenozie leśnej Polski. *Ekol Pol Ser A* 9:355–437.
- Pélozuelo L, Meusnier S, Audiot P, et al. (2007) Assortative mating between European corn borer pheromone races: Beyond assortative meeting. *PLoS One*. doi: 10.1371/journal.pone.0000555

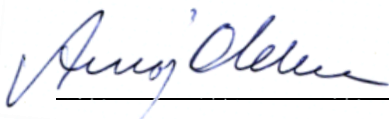
- Potapov P, Yaroshenko A, Turubanova S, et al. (2008) Mapping the world's intact forest landscapes by remote sensing. *Ecol Soc* 13:51.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945–959.
- Randhawa HS, Mussa AY, Khan ZU (2001) Decaying wood in tree trunk hollows as a natural substrate for *Cryptococcus neoformans* and other yeast-like fungi of clinical interest. *Mycopathologia* 151:63–69.
- Ranius T (2006) Measuring the dispersal of saproxylic insects: a key characteristic for their conservation. *Popul Ecol* 48:177–188.
- Ranius T, Aguado L, Antonsson K, et al. (2005a) *Osmoderma eremita* (Coleoptera, Scarabaeidae, Cetoniinae) in Europe. *Anim Biodivers Conserv* 28:1–44.
- Ranius T, Aguado L, Antonsson K, et al. (2005b) *Osmoderma eremita* (Coleoptera: Scarabaeidae: Cetoniinae) in Europe. *Anim Biodivers Conserv* 28:1–44.
- Ranius T, Hedin J (2001) The dispersal rate of a beetle, *Osmoderma eremita*, living in tree hollows. *Oecologia* 126:363–370.
- Ranius T, Nilsson SG (1997) Habitat of *Osmoderma eremita* Scop. (Coleoptera: Scarabaeidae), a beetle living in hollow trees. *J Insect Conserv* 1:193–204.
- Remm J, Lõhmus A (2011) Tree cavities in forests – The broad distribution pattern of a keystone structure for biodiversity. *For Ecol Manage* 262:579–585.
- Roberge J-M, Angelstam PER (2004) Usefulness of the umbrella species concept. *Conserv Biol* 18:76–85.
- Rousset F (2000) Genetic differentiation between individuals. *J Evol Biol* 13:58–62.
- Ruttner F (1988) Biogeography and taxonomy of honeybees. Springer Verlag, Heidelberg, Berlin, New York, 284 pp.
- Sebek P, Altman J, Platek M, Cizek L (2013) Is active management the key to the conservation of saproxylic biodiversity? Pollarding promotes the formation of tree hollows. *PLoS One* 8:1–6.
- Sebek P, Cizek L, Hauck D, Schlaghamersky J (2012) Saproxylic beetles in an isolated pollard willow stand and their association with *Osmoderma barnabita* (Coleoptera: Scarabaeidae). In: Jurc M (ed) Saproxylic beetles Eur. Monit. Biol. Conserv. *Studia Forestalia Slovenica*, pp 67–72
- Solignac M, Vautrin D, Loiseau A, et al. (2003) Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honeybee (*Apis mellifera* L.) genome. *Mol Ecol Notes* 3:307–311.
- Speight M (1989) Saproxylic invertebrates and their conservation. Council of Europe, Strasbourg
- Stagoll K, Lindenmayer DB, Knight E, et al. (2012) Large trees are keystone structures in urban parks. *Conserv Lett* 5:115–122.
- Stokland JN, Siitonen J, Jonsson BG (2012) Biodiversity in Dead Wood. 510 pp.
- Szwałko P (2004) *Osmoderma eremita* (Scopoli, 1763), Pachnica dębowa. In: Głowaciński Z., Nowacki J.(red.). Polska czerwona księga zwierząt, Bezkręgowce. Instytut Ochrony Przyrody PAN, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego, Kraków – Poznań.
- Taylor AR, Ranius T (2014) Tree hollows harbour a specialised oribatid mite fauna. *J Insect Conserv*. doi: 10.1007/s10841-014-9613-0
- Tofilski A, Oleksa A (2013) There are still Bee Trees in Europe. *Bee World* 90:18–19.
- Travis JMJ, Dytham C (1999) Habitat persistence, habitat availability and the evolution of dispersal. *Proc R Soc B Biol Sci* 266:723.

Travis JMJ, Dytham C (1998) The evolution of dispersal in a metapopulation: a spatially explicit, individual-based model. *Proc R Soc B Biol Sci* 265:17–23.

UN (1992) Convention on biological diversity. *Diversity* 30.

Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res* 23:4407–4414.

Worobiec KA, Liżewska I (2009) *Aleje przydrożne. Historia, znaczenie, zagrożenie, ochrona*. Borussia, Olsztyn. 270 pp.



---