

GENETYKA MOLEKULARNA W BADANIACH GŁUSZCOWATYCH – POPULACJE I PODGATUNKI 20 LAT PÓŹNIEJ

Robert Rutkowski

Muzeum i Instytut Zoologii PAN



Charakterystyka zmienności genetycznej w populacjach i między populacjami

- Markery mikrosatelitarne i DNA mitochondrialny
- Niska zmienność genetyczna w populacjach izolowanych
- Wyraźny wpływ fragmentacji na poziom zmienności genetycznej
- Brak wyraźnego związku między wyróżnionymi podgatunkami i genetyczną struktura populacji

Przeglądy – *Overviews* Notatki Ornitologiczne 2007, 48: 259–272

Populacje i podgatunki – genetyka molekularna w badaniach europejskich głuszcowatych *Tetraonidae*

Robert Rutkowski, Marek Keller, Patrycja Jagołkowska

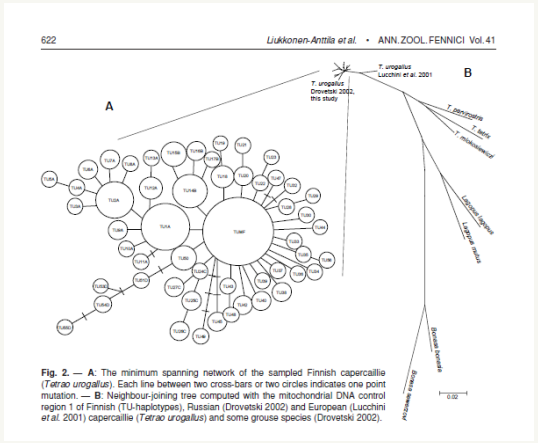


Fig. 2. — A: The minimum spanning network of the sampled Finnish capercaillie (*Tetrao urogallus*). Each line between two cross-bars or two circles indicates one point mutation. — B: Neighbour-joining tree computed with the mitochondrial DNA control region 1 of Finnish (TU-haplotypes), Russian (Drovetski 2002) and European (Lucchini *et al.* 2001) capercaillie (*Tetrao urogallus*) and some grouse species (Drovetski 2002).

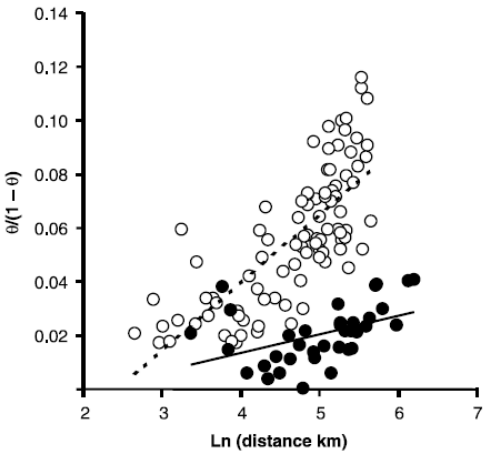


Fig. 3 Pairwise genetic differentiation between sampling sites plotted against the Neperian logarithm of Euclidean distance (in kilometres) computed for fragmented (Alps: open circles) vs. continuous (Finland: dark circles) black grouse populations.

1776 G. SEGELBACHER, J. HÖGLUND and I. STORCH

permutations and a one-tailed test. We also tested population genetic structure by means of a hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) using ARLEQUIN Version 2.0 (Schneider *et al.* 2000) with three levels of population structure: total population, groups (boreal, Alpine and isolated populations) and individual populations.

Investigating the distribution of allele frequencies across populations can assess population differentiation. An exact probability test for departures from random allelic frequencies (Raymond & Rousset 1995a) was carried out using GENEPOP. Individual genotypes were ordinated in a multidimensional space by principal component analysis (PCA) based on PCAGEN (http://www.unil.ch/izea/softwares/pcagen.html).

Geographic distance was the straight-line distance

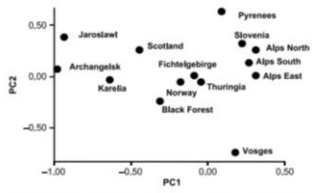


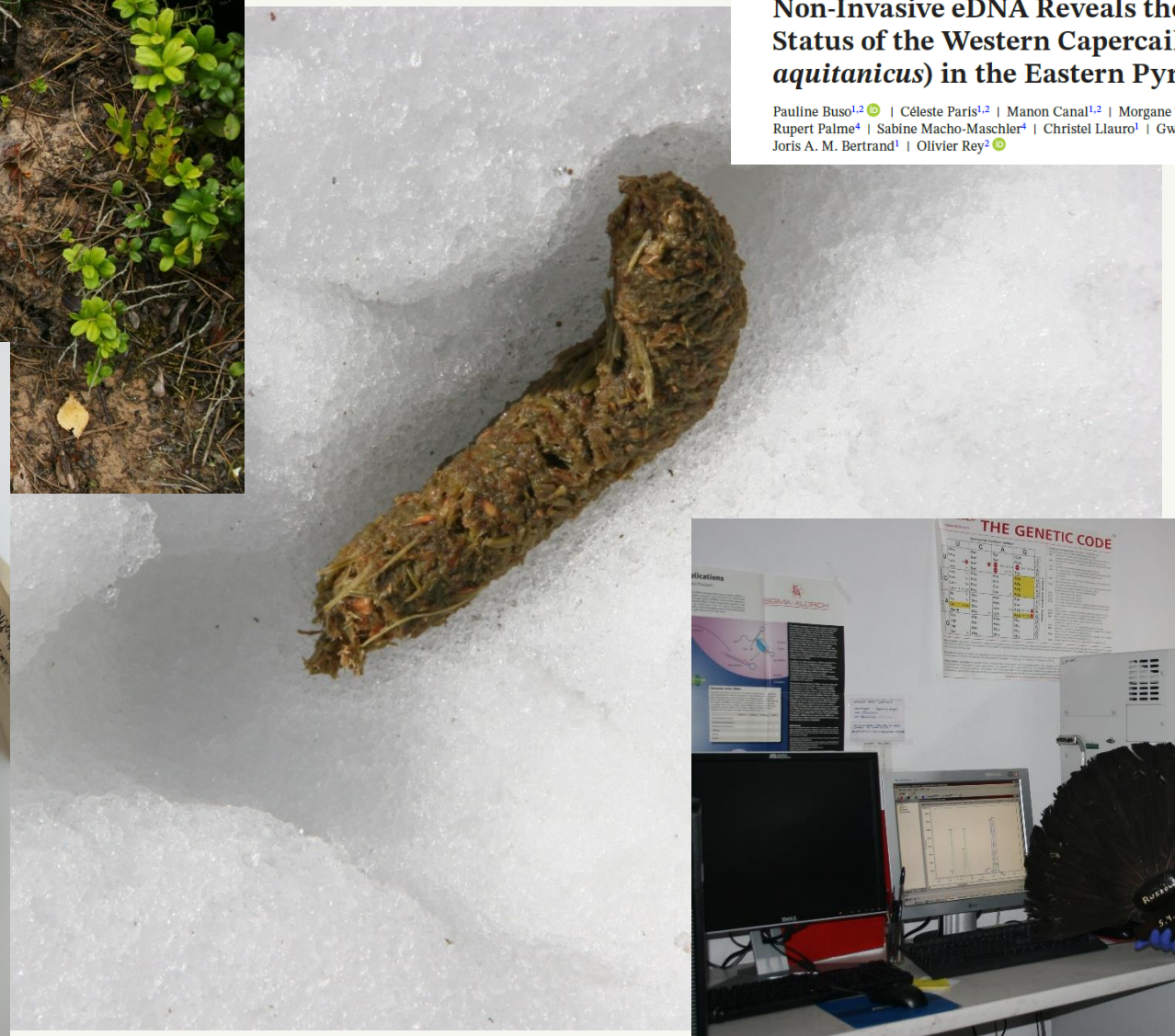
Fig. 2 Principal components analysis scores of European capercaillie microsatellite genotypes plotted on the two first axes (PC1, PC2) of a PCA performed using PCAGEN.

Segelbacher G., Hoglund J., Storch I. 2003
Liukkonen-Anttila T., Ratti O., Kvist L., Helle P., Orell M. 2004
Caizergues A., Ratti O., Helle P., Rotelli L., Ellison L., Rasplus J.-Y. 2003

Materiał







Environmental DNA

WILEY

Environmental DNA
Open Access
Dedicated to the study and use of environmental DNA for basic and applied sciences

ORIGINAL ARTICLE OPEN ACCESS

Non-Invasive eDNA Reveals the Ecological and Genetic Status of the Western Capercaillie (*Tetrao urogallus aquitanicus*) in the Eastern Pyrenees

Pauline Buso[1,2] | Céleste Paris[1,2] | Manon Canal[1,2] | Morgane Tassaint[1,2] | Sylvain Daniello[3] | Anaïs Gibert[1] | Rupert Palme[4] | Sabine Macho-Maschler[4] | Christel Llauro[1] | Gwenaël Jacob[5] | Valérie Delorme-Hinoux[1] | Joris A. M. Bertrand[1] | Olivier Rey[2]

Filogeograficzna pozycja populacji krajowych

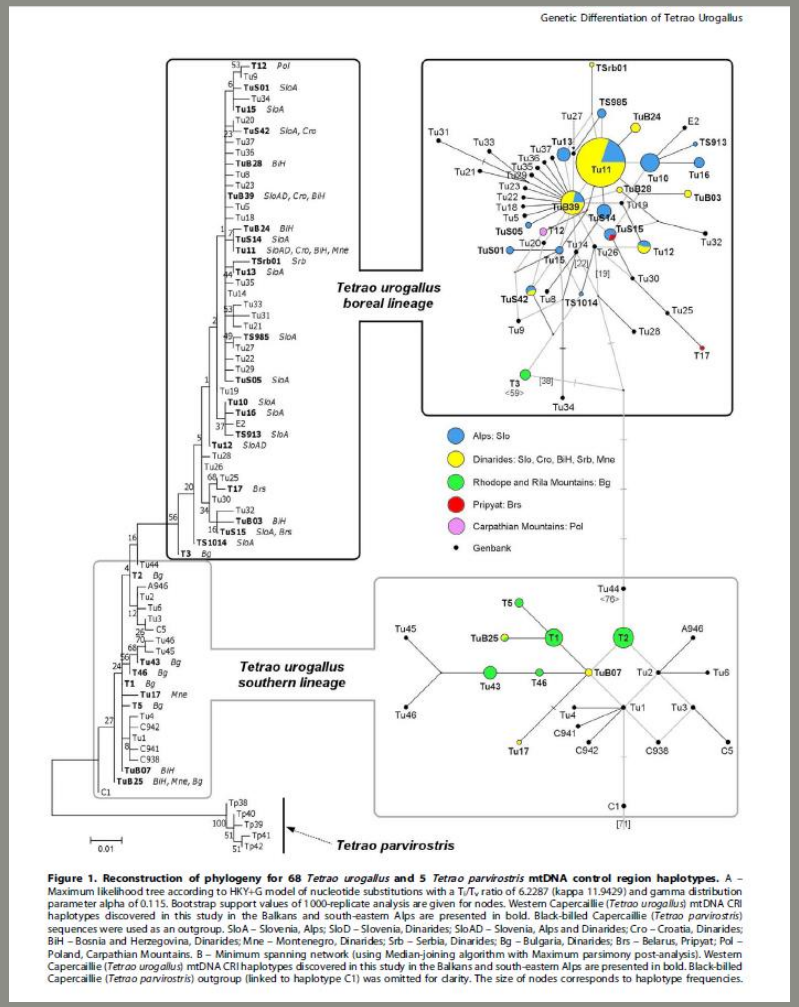
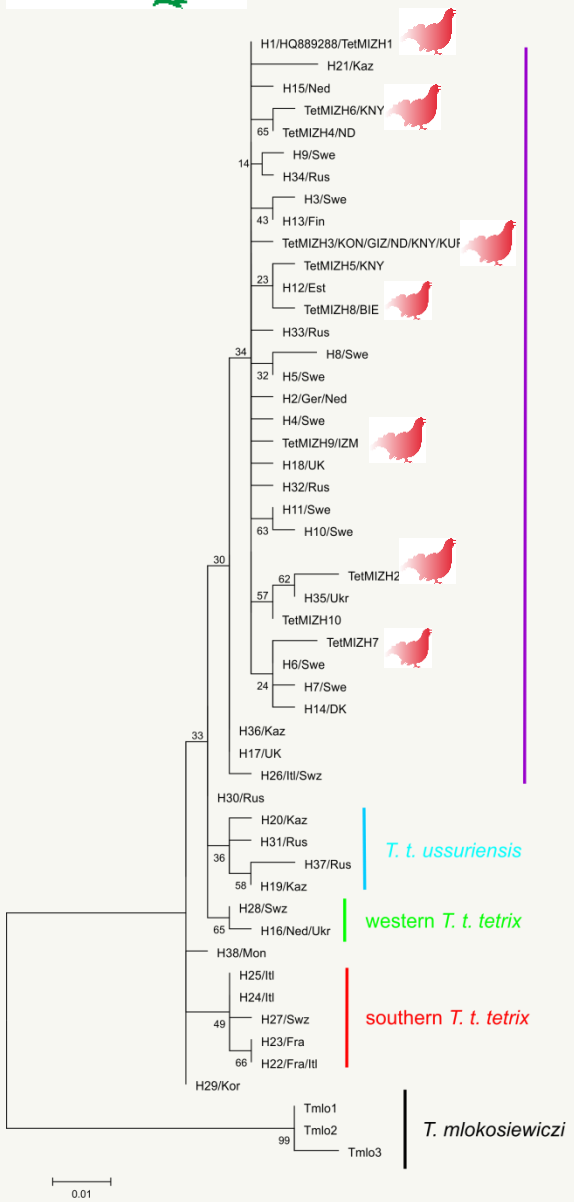


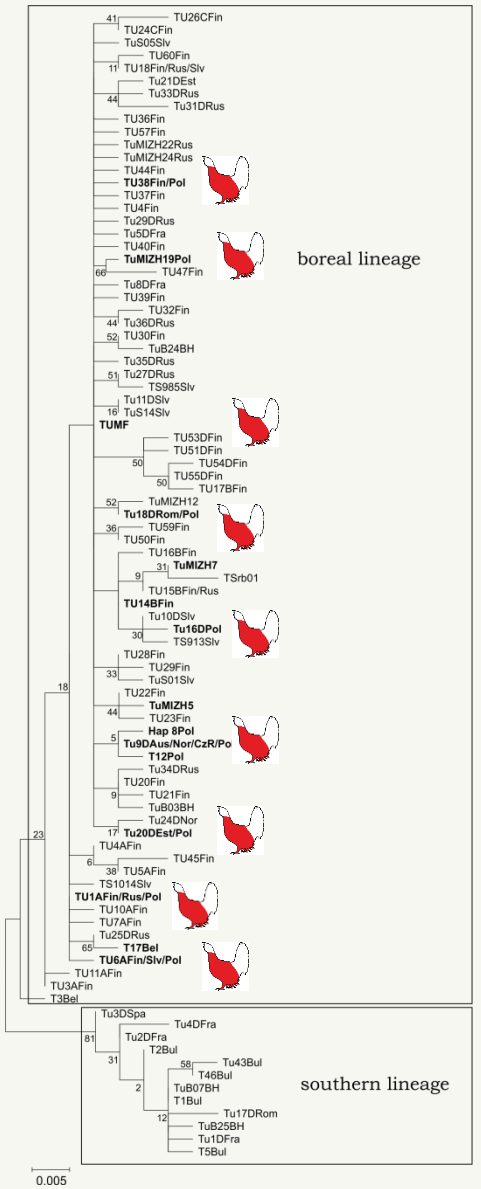
Figure 1. Reconstruction of phylogeny for 68 *Tetrao urogallus* and 5 *Tetrao parvirostris* mtDNA control region haplotypes. A – Maximum likelihood tree according to HKY+G model of nucleotide substitutions with a T_i/T_v ratio of 6.2287 (kappa 11.9429) and gamma distribution parameter alpha of 0.115. Bootstrap support values of 1000-replicate analysis are given for nodes. Western Capercaillie (*Tetrao urogallus*) mtDNA CRI haplotypes discovered in this study in the Balkans and south-eastern Alps are presented in bold. Black-billed Capercaillie (*Tetrao parvirostris*) sequences were used as an outgroup. SloA – Slovenia, Alps; SloD – Slovenia, Dinarides; SloAD – Slovenia, Alps and Dinarides; Cro – Croatia, Dinarides; BiH – Bosnia and Herzegovina, Dinarides; Mne – Montenegro, Dinarides; Srb – Serbia, Dinarides; Bg – Bulgaria, Dinarides; Brs – Belarus, Pripyat; Pol – Poland, Carpathian Mountains. B – Minimum spanning network (using Median-joining algorithm with Maximum parsimony post-analysis). Western Capercaillie (*Tetrao urogallus*) mtDNA CRI haplotypes discovered in this study in the Balkans and south-eastern Alps are presented in bold. Black-billed Capercaillie (*Tetrao parvirostris*) outgroup (linked to haplotype C1) was omitted for clarity. The size of nodes corresponds to haplotype frequencies.

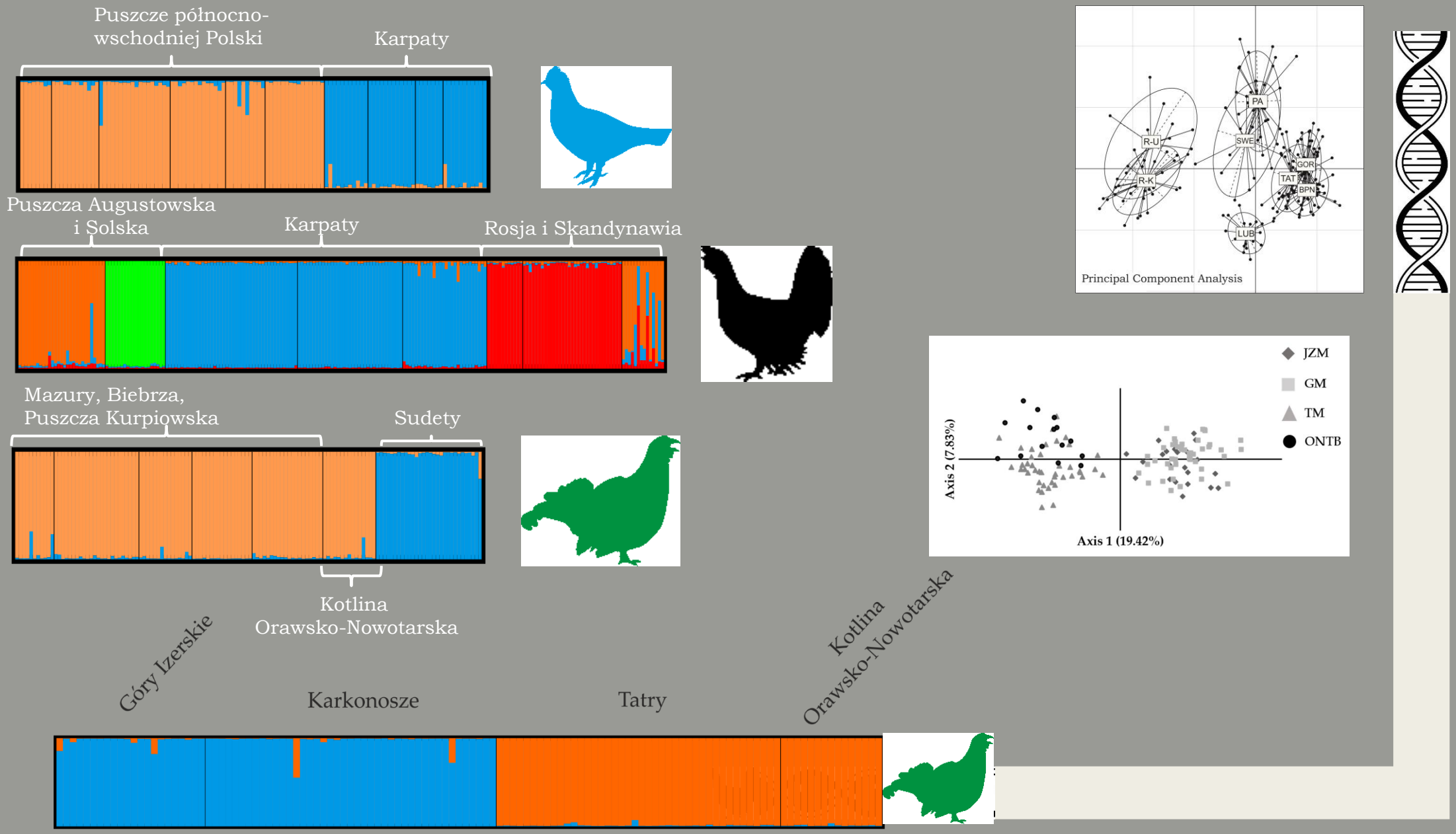
Duriez O., Sachet J. M., Menonni E., Pidancier N., Miquet C., Taberlet P. 2007











Rutkowski et al. 2012; 2017a; 2018; **Santorek et al**. 2026

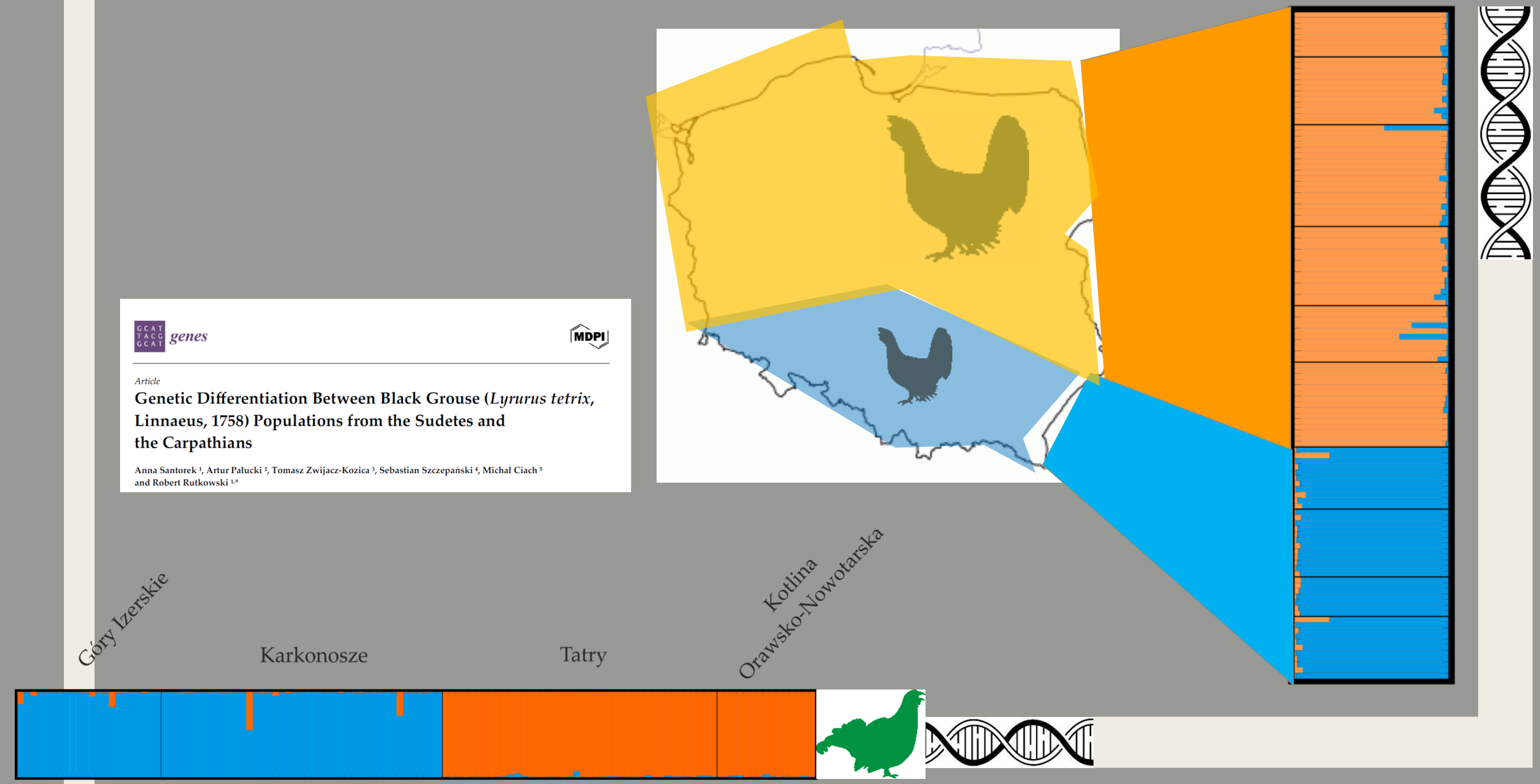
genes

MDPI

Article

Genetic Differentiation Between Black Grouse (*Lyrurus tetrix*, Linnaeus, 1758) Populations from the Sudetes and the Carpathians

Anna Santorek [1], Artur Pałucki [2], Tomasz Zwijacz-Kozica [3], Sebastian Szczepański [4], Michał Ciach [5] and Robert Rutkowski [1,*]



Analizy na poziomie poszczególnych populacji *Głuszec kantabryjski*

- **Bardzo niska współczesna efektywna wielkość populacji (Ne)**, pomimo wyższej liczebności populacji (Nc).
- Stosunek **Ne/Nc wynosi około 0,15**, co oznacza, że efektywna wielkość populacji odpowiada jedynie ok. 15% jej liczebności.
- Oszacowania Ne **stabilizują się przy próbie obejmującej ok. 20 osobników**; większe próby istotnie zwiększają precyzję estymacji.
- **Przestrzennie ograniczone pobieranie prób może prowadzić do zaniżenia Ne**.
- Wyższy udział osobników spokrewnionych w próbie jest związany z **niższymi oszacowaniami Ne**.
- Wiarygodna ocena Ne wymaga uwzględnienia **schematu pobierania prób, struktury przestrzennej populacji oraz danych demograficznych i ekologicznych**

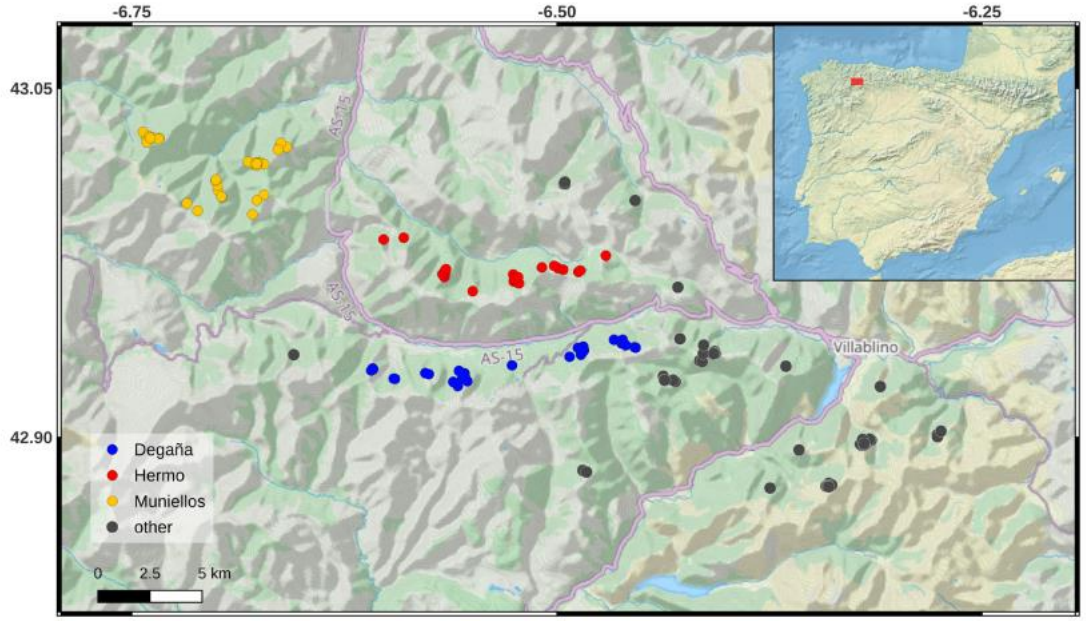


Figure 1.Map of the study area showing the 135 capercaillie individuals identified and included in the study, and coloured by the main valleys or sub-basins where they were found in most recaptures. The basemap for the study area is the OSM Landscape by Thunderforest, under CC-BY-SA, based on data by OpenStreetMap, under ODbL. Retrieved 1 July 2025, www.thunderforest.com/maps/landscape. The basemap for the overview is based on Natural Earth, free vector and raster map data at naturalearthdata.com.

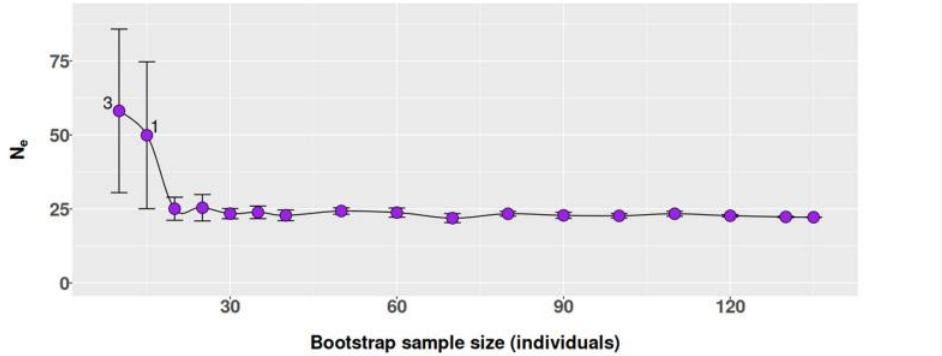
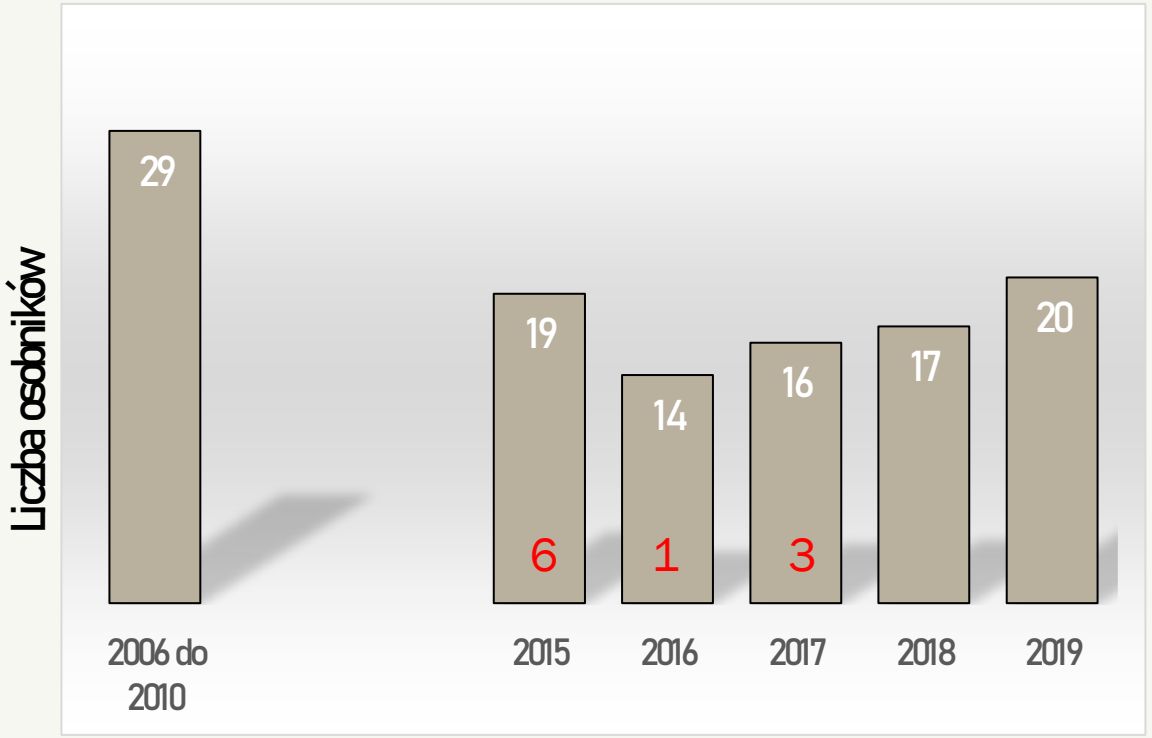
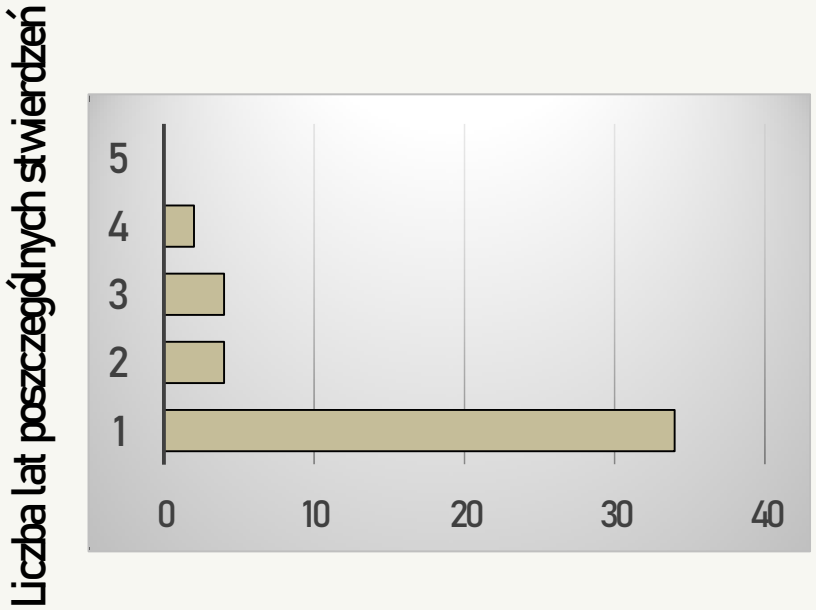


Figure 2. Estimates of effective population size N_e as a function of bootstrapped sample size. Points represent the mean N_e (± SE) across 10 replicates for each sample size. Last point corresponds with the N_e estimate obtained using all samples. Inset numbers indicate the number of unreliable N_e estimates.

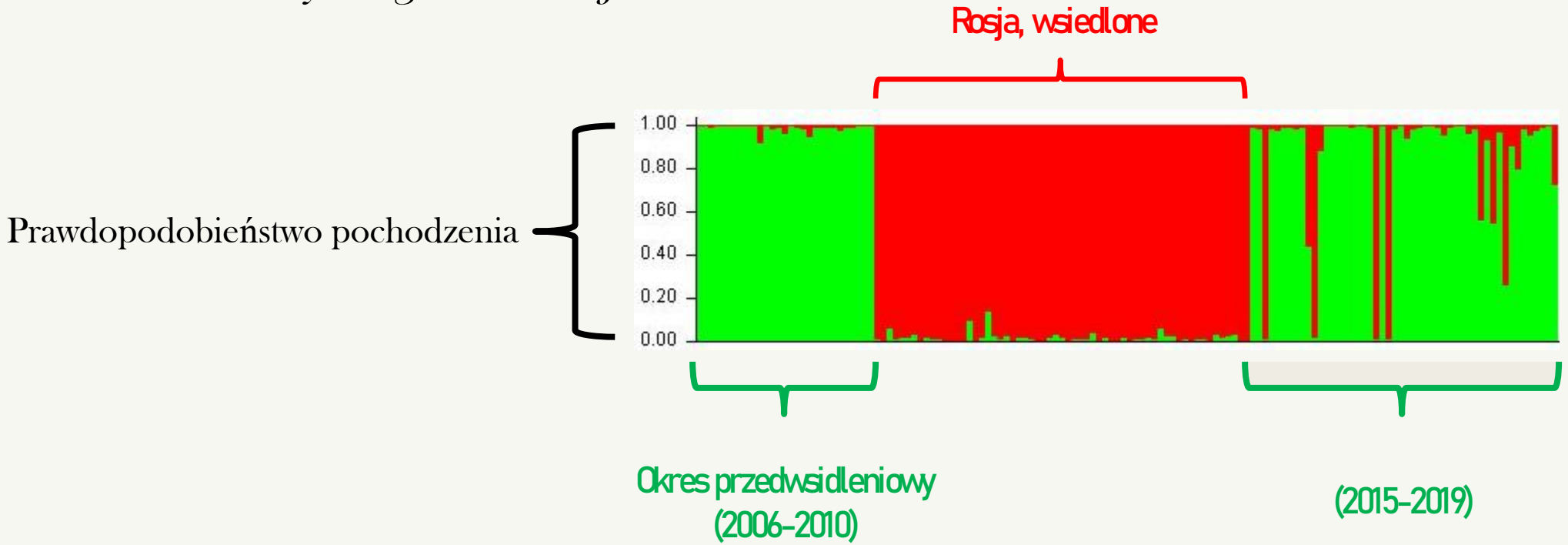
Analizy na poziomie poszczególnych populacji *Głuszec w Puszczy Augustowskiej*

- W latach **2015-2019** stwierdzono występowanie **44 osobników**, w tym **10 osobników pochodzących z wsiedleń**
- Proporcja kur do kogutów w latach **2015-2019** wynosiła **1 : 1,6**
- W latach **2015-2019** stwierdzono występowanie **jednego osobnika** z poprzedniego okresu badań (2006-2010, kogut)



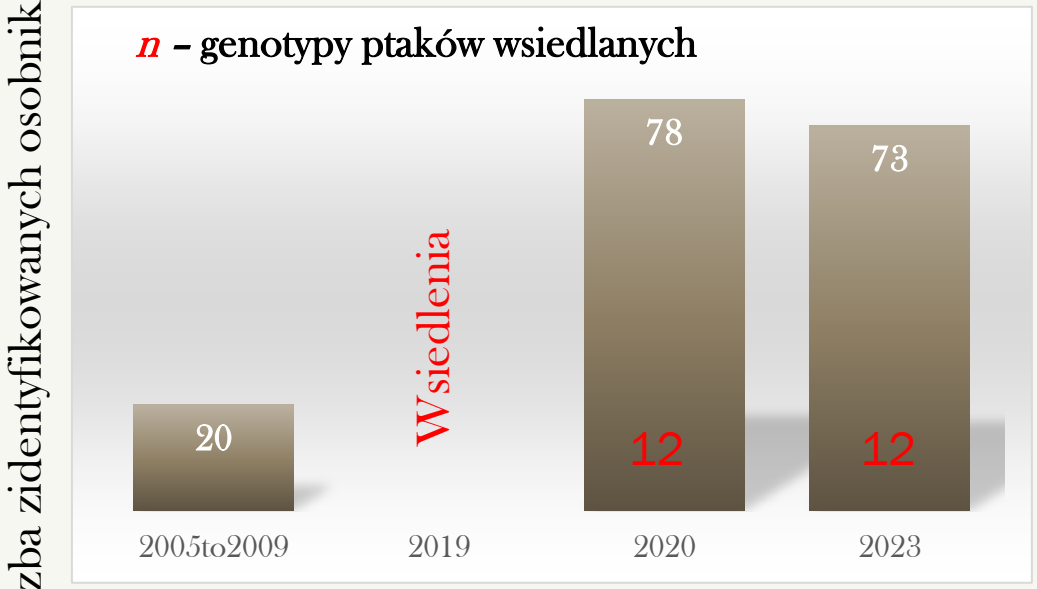


Analizy na poziomie poszczególnych populacji *Głuszec w Puszczy Augustowskiej*



- Wyraźny podział na dwie grupy genetyczne, odpowiadające populacjom geograficznym Puszcza Augustowska/Rosja
- W latach 2015–2019 wśród ptaków rodzimych stwierdzono 4 osobniki przypisane do populacji rosyjskiej
- W latach 2015–2019 stwierdzono 4 osobniki pochodzenia mieszańcowego Puszcza Augustowska X Rosja

Analizy poszczególnych populacji
Puszcza Solska



- W latach **2020-2023** zidentyfikowano **112 osobników**, w tym **16 ptaków introdukowanych** z hodowli
- Proporcja płci (F/M) w latach 2020-2023 wynosiła **1:1.3**
- W latach 2020-2023 nie stwierdzono genotypów osobników sprzed okresu introdukcyjnego (2005-209)

There were **39 individuals, identified in 2020**, which were **found again** in **2023.**

Census population size **2009: 150 osobników**
***MNA**: 20*
Census population size 2020-2023*:* **140 osobników**
MNA: 112

Analizy temporalne

- Historyczne DNA stanowi **punkt odniesienia** do oceny współczesnych zmian genetycznych
- Fragmentacji siedlisk towarzyszy **postępujące ograniczenie przepływu genów**
- Spadek **efektywnej wielkości populacji (Ne)** może wyprzedzać wykrywalną utratę różnorodności genetycznej
- Analizy temporalne pozwalają identyfikować populacje typu **source, sink** oraz **stepping-stone**
- Historyczne populacje **cietrzewia** były **genetycznie bogatsze niż niektóre współczesne, silnie pofragmentowane populacje**
- Monitoring genetyczny w czasie pozwala wykrywać zarówno **spadek zmienności genetycznej, jak i odtworzenie przepływu genów**

Wildlife Biology 21: 283–293, 2015
doi: 10.2981/wlb.00093
© 2015 The Authors. This is an Open Access article
Subject Editor: Sara Oyler-McCance. Editor-in-Chief: Ilse Storch. Accepted 31 January 2015

Ukrainian black grouse *Tetrao tetrix*: genetic diversity and population structure

Mariia Pavlovska and Jacob Höglund

M. Pavlovska (mayawest88@gmail.com), CISCaS Evdak, National Pedagogical Dragomanov University, Pyrogova Str. 9, UA-01601 Kyiv, Ukraine. – J. Höglund, Dept. of Ecology and Genetics, Uppsala Univ., Norbyvägen 18D, SE-75236 Uppsala, Sweden

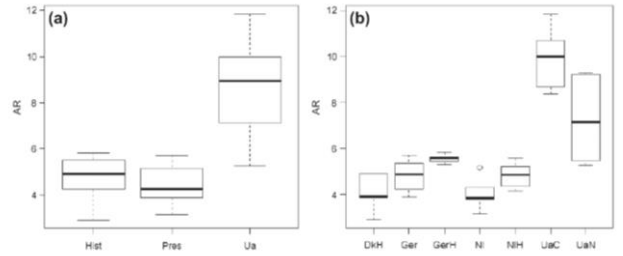


Figure 4. The differences in microsatellite allelic richness of European populations of black grouse: (a) the populations pooled in three categories – the present European (Pres), the historic European (Hist) and Ukrainian (Ua); (b) the populations considered as separate units: Danish historical (DkH), German present (Ger), German historical (GerH), Dutch present (Nl), Dutch historical (NlH), Carpathian Ukrainian (UaC) and northern Ukrainian (UaN). Boxes represent median (thick line through boxes) and 75% (upper and lower end of boxes) and 95% (upper and lower hinges) interquartile ranges. Circles are outside values.

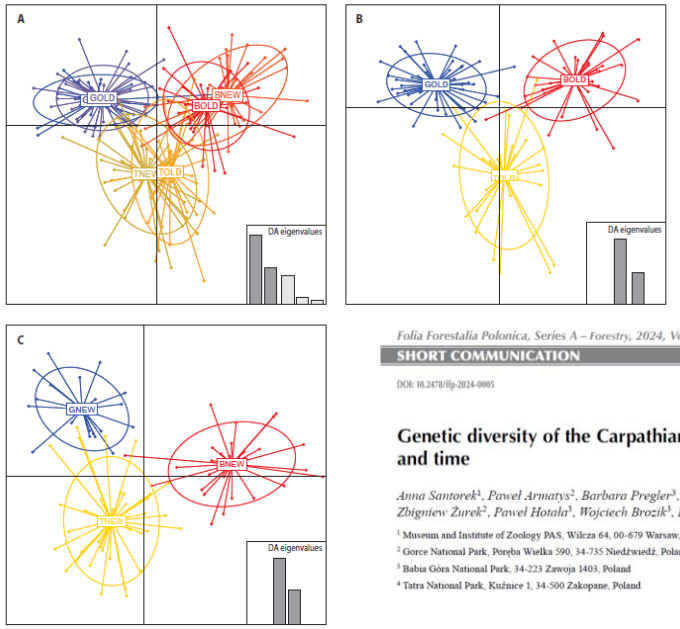


Figure 3. Results of DAPC analysis. DAPCs are shown for the first (x-axis) and the second (y-axis) discriminant function. Abbreviations of groups (subpopulations) as in Table 1. A – results of DAPC analysis based on unique genotypes in each subpopulation in each period; B – results of DAPC analysis based on unique genotypes identified in 2010–2013; C– results of DAPC analysis based on unique genotypes identified in 2021–2022

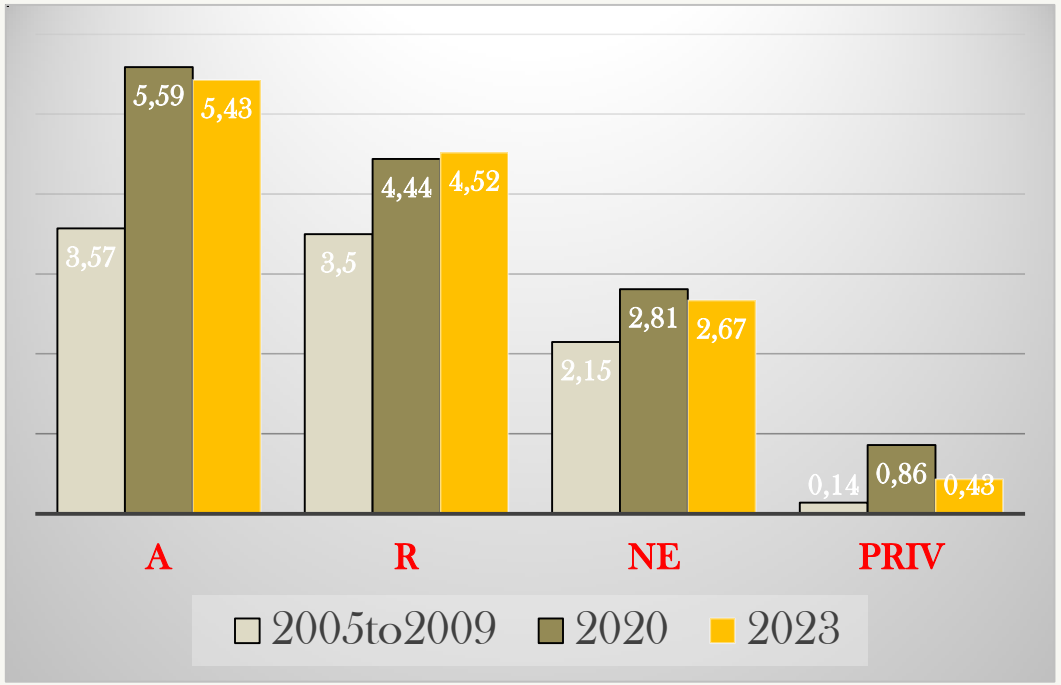
Folia Forestalia Polonica, Series A – Forestry, 2024, Vol. 66 (1), 46–60
SHORT COMMUNICATION
DOI: 10.2478/ffp-2024-0005

Genetic diversity of the Carpathian capercaillie in space and time

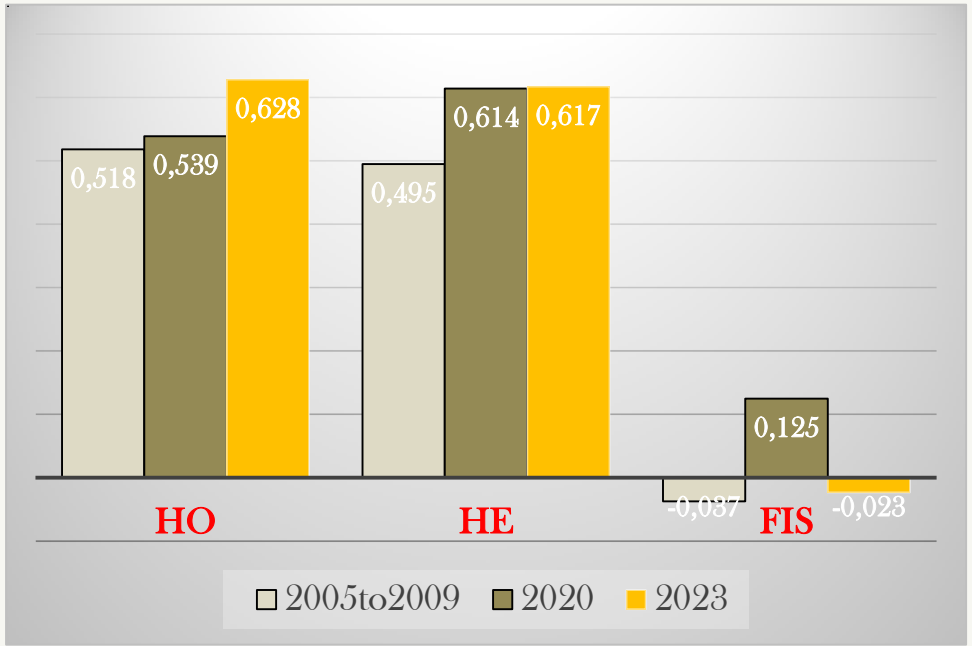
Anna Santorek[1], Paweł Armatys[2], Barbara Pregler[3], Tomasz Zwijacz-Kozica[4], Zbigniew Żurek[2], Paweł Hotała[3], Wojciech Brozik[3], Robert Rutkowski[1]

[1] Museum and Institute of Zoology PAS, Wilcza 64, 00-679 Warsaw, Poland, e-mail: rrutkowski@miiz.waw.pl
[2] Gorce National Park, Poręba Wielka 590, 34-735 Niedźwiedź, Poland
[3] Babia Góra National Park, 34-223 Zawoja 1403, Poland
[4] Tatra National Park, Kuźnice 1, 34-500 Zakopane, Poland

Analizy temporalne
Głuszec w Puszczy Solskiej



A – liczba alleli
R – skorygowana liczba alleli
NE – efektywna liczba alleli
PRIV – liczba alleli unikatowych
HO – heterozygotyczność obserwowana
HE – heterozygotyczność oczekiwana
FIS – współczynnik inbredu



Bardzo niskie zróżnicowanie genetyczne między okresami badań

F_{ST} = 0,02 dla wszystkich zidentyfikowanych ptaków
F_{ST} = 0,007 z wyłączeniem osobników wsiedlonych

Genomika

- Uzyskano **wysokiej jakości**, chromosomowy genom **referencyjny głuszca** (~1,01 Gb; **99% sekwencji** przypisanych do chromosomów),
- Mocna podstawa do precyzyjnych **analiz zmienności genetycznej**, **inbredu** i **struktury populacji**
- Cenne źródło informacji do opracowania **nowych markerów do analiz zdegradowanego DNA z prób nieinwazyjnych**

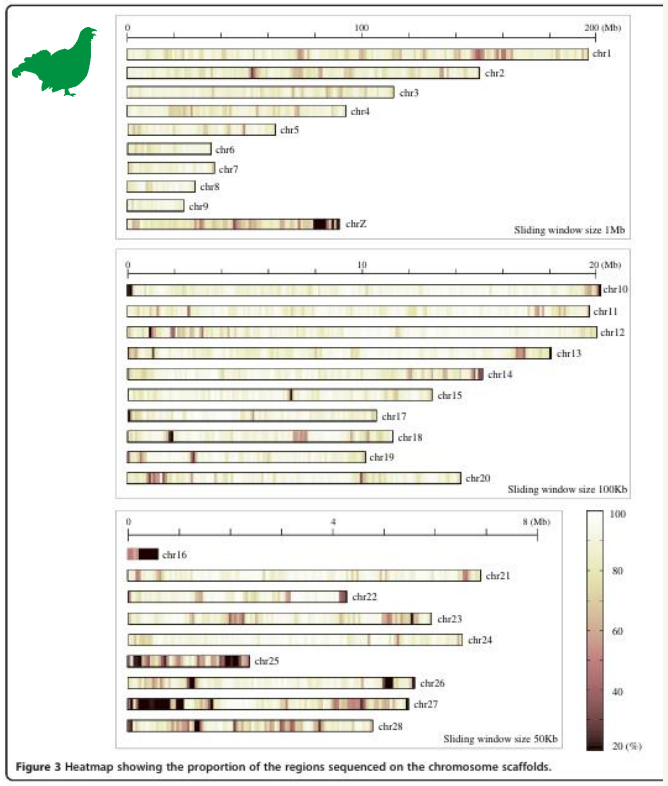


Figure 3 Heatmap showing the proportion of the regions sequenced on the chromosome scaffolds.

Wellcome Open Research 2024, 9:198 Last updated: 02 MAY 2024

Table 1. Genome data for *Tetrao urogallus*, bTetUro1.1.

Project accession data		
Assembly identifier	bTetUro1.1	
Species	*Tetrao urogallus*	
Specimen	bTetUro1	
NCBI taxonomy ID	100830	
BioProject	PRJEB57676	
BioSample ID	SAMEA9654429	
Isolate information	bTetUro1, muscle (DNA and HI-C sequencing)	
Assembly metrics*		***Benchmark***
Consensus quality (QV)	59.5	*≥ 50*
k-mer completeness	100.0%	≥ 95%
BUSCO**	C:96.6%[S:96.3%,D:0.3%], F:0.6%,M:2.8%,n:8,338	*C ≥ 95%*
Percentage of assembly mapped to chromosomes	99%	≥ 95%
Sex chromosomes	Z	*localised homologous pairs*
Organelles	Mitochondrial genome: 16.68 kb	*complete single alleles*
Raw data accessions		
PacificBiosciences SEQUEL II	ERR10499380	
Hi-C Illumina	ERR10501026	
Genome assembly		
Assembly accession	GCA_951394365.1	
Accession of alternate haplotype	GCA_951394355.1	
Span (Mb)	1,013.2	
Number of contigs	1,291	
Contig N50 length (Mb)	1.9	
Number of scaffolds	317	
Scaffold N50 length (Mb)	71.4	
Longest scaffold (Mb)	193.92	

* Assembly metric benchmarks are adapted from column VGP-2020 of "Table 1: Proposed standards and metrics for defining genome assembly quality" from Rhie *et al.* (2021).

** BUSCO scores based on the aves_odb10 BUSCO set using version 5.3.2. C = complete [S = single copy, D = duplicated], F = fragmented, M = missing, n = number of orthologues in comparison. A full set of BUSCO scores is available at https://blobtoolkit.genomehubs.org/view/bTetUro1_1/dataset/bTetUro1_1/busco.

- Wysokie, ale **nierównomierne pokrycie genomu**: ok. **81,5%** głównych chromosomów
- **Chromosom Z** oraz **mikrochromosom 16** wyróżniają się słabszym pokryciem,
- Szczególne znaczenie ma chromosom 16 zawierający **region MHC**

Genomika

Porównano całe genomy 34 osobników trzech gatunków pardwy

Różnice między gatunkami nie były równomiernie rozmieszczone w genomie.

Zidentyfikowano 7 genów potencjalnie związanych z adaptacją, (układ nerwowy, fizjologia), w tym geny związane z odpowiedzią na stres środowiskowy

Duży fragment genomu wspólny dla wszystkich trzech gatunków, gen *ASIP (Agouti)* związany m.in. z pigmentacją. Brązowe upierzenie letnie (?)

U wszystkich trzech gatunków wykryto silny sygnał wzrostu liczebności po wcześniejszych spadkach związanych z okresem ostatniego zlodowacenia.

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Genomic regions of speciation and adaptation among three species of grouse

Received: 20 November 2017
Accepted: 27 November 2018
Published online: 28 January 2019

Radoslav Kozma, Patrik Rödin-Mörch & Jacob Höglund

Understanding the molecular basis of adaption is one of the central goals in evolutionary biology and when investigated across sister species it can provide detailed insight into the mechanisms of speciation. Here, we sequence the genomes of 34 individuals from three closely related grouse species in order to uncover the genomic architecture of speciation and the genes involved in adaptation. We identify 6 regions, containing 7 genes that show lineage specific signs of differential selection across the species. These genes are involved in a variety of cell processes ranging from stress response to neural, gut, olfactory and limb development. Genome wide neutrality test statistics reveal a strong signal of population expansion acting across the genomes. Additionally, we uncover a 3.5 Mb region on chromosome 20 that shows considerably lower levels of differentiation across the three grouse lineages, indicating possible action of uniform selection in this region.

Table 1. Summary of the outlier windows detected across the three F_{ST} comparisons.

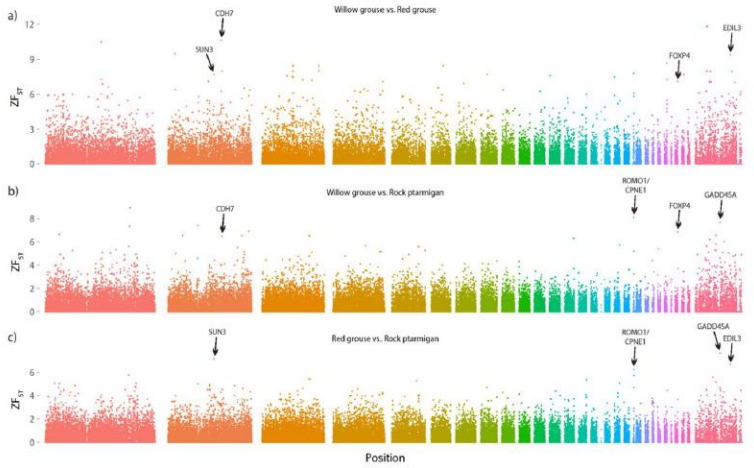


Figure 2. Genome-wide F_{ST} outlier test, showing the three pairwise comparisons of the three study taxa; (**a**) willow grouse vs. red grouse, (**b**) willow grouse vs. rock ptarmigan and c) red grouse vs. rock ptarmigan. The y-axis shows the ZF_{ST} score, where a 15 kb window with a score ≥ 6 is deemed an outlier. Each colour represents a different chromosome, with the autosomes arranged 1–28 (left to right) and chromosome Z located on the far right. The genes lying within same outlier window detected in two of the three comparisons are shown.

PODZIĘKOWANIA

LIFE11 NAT/PL/428
Lasy Państwowe
Parki Narodowe
Ministry of Science and Higher Education (grant N N303 0197 33)

I wszyscy mniej lub bardziej anonimowi współpracownicy, zaangażowani w zbieranie materiału biologicznego


OŚRODEK HODOWLI ZACHOWAWCZEJ GŁUSZCÓW
W NADLEŚNICTWIE GŁĘBOKI BRÓD