UPPSALA
UNIVERSITET

Disruptiv selektion för parningssystem inom benfisken Kryptolebias marmoratus

Filip Thörn

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2017
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Disruptiv selektion för parningssystem inom benfisken *Kryptolebias marmoratus*

Filip Thörn
Självständigt arbete i biologi 2017

Sammandrag

Androdioika system består av både självförökande hermafroditer och hanar. Escobar *et al*. (2011) menar att dessa system påverkas av *disruptiv selektion* som leder till att antingen höga frekvenser självbefruktning eller höga frekvenser utkorsning beroende på om inavels depressionen som påverkar arten är liten respektive stor. Den här artikeln undersöker *disruptiv selektion* utifrån inavelsdepression, könsutveckling, parningsbeteende, genflöde samt plasticitet med vertebraten *Kryptolebias marmoratus* som utgångspunkt. Artikeln skall med hjälp av dessa fenomen redogöra och besvara om det pågår en selektion inom arten för endast hermafroditer, vilket skulle vara en typ av *disruptiv selektion*. Det går inte att entydigt besvara om det sker en selektion för endast hermafroditer eller inte. En population från Twin Cays, Belize stödjer tesen att *disruptiv selektion* för parningssystem sker inom arten.

Inledning

Det vanligaste parningssystemet inom Metazoa, flercelliga djur, är att vara dioik och föröka sig genom utkorsning, medan hermafroditism förekommer endast i ca 5 % av djurarter. Dessa hermafroditiska arter är sprida över 70 % av alla fylum inom Metazoa vilket betyder att hermafroditism har evolverat fram oberoende för många olika arter (Jarne & Auld 2006). Distributionen hermafroditer inom Angiospermae, gömfröiga växter, är betydligt högre än den inom Metazoa, ca 94 % (Renner &Ricklefs 1995).

En liten del av de djurarter där hermafroditism förekommer har förmågan att självföröka sig. Normalfallet för hermafroditer inom Metazoa är reproduktion genom utkorsning (Jarne & Auld 2006). Wells (1979) har visat att hermafroditer som har möjlighet till självförökning har en fitnessfördel jämfört med utkorsande individer när inavelsdepressionen är låg, och därför kan gener som möjliggör självförökning spridas inom en population. Inavelsdepression är skillnaden i fitness mellan avkomma som producerats genom utkorsning och avkomma genom inavel. Hermafroditer som har möjligheten till självbefruktning konkurrerar ut honor inom en population eftersom de har fler möjligheter att producera avkomma då de inte är beroende av en partner för att föröka sig. Det resulterande parningssystemet är antingen ren hermafroditism eller populationer som består av både hanar och självförökande hermafroditer. Detta kallas androdioika parningssystem (Pannell 2008). På grund av relationen mellan självförökning och inavelsdepression så sker *disruptiv selektion* för antigen självförökning eller utkorsning. *Disruptiv selektion* används för att beskriva selektion för individer som antingen uttrycker en egenskap starkt eller svagt (extremerna av egenskapen), individer som uttrycker egenskapen mittemellan selekteras bort. Det här betyder att disruptiv selektion inom en androdioik art kommer leda till antingen höga eller låga självbefruktningsfrekvenser, individer som har liknande frekvenser av självbefruktning och utkorsning kommer selekteras bort. Självbefruktning är endast under positiv selektion om inavelsdepressionen är låg, om arten upplever hög

inavelsdepression så kommer selektionstrycket få individer att föröka sig genom utkorsning istället (Escobar *et al.* 2011). Det här borde betyda att arter som är androdioika antingen kommer selekteras för höga frekvenser av självförökning eller höga frekvenser av utkorsning. Självförökning har dessutom tendenser att evolvera fram inom arter där utkorsnings möjligheterna är begränsande för att kunna garantera en individs fitness. Baker (1955) menar att i arter där enskilda individer rutinmässigt spridas till nya habitat kommer det selekteras för individer som kan självbefruktas då dessa individer kan bilda nya reproducerande kolonier.

Självförökning i höga frekvenser leder till fixering av alleler och därmed homozygota individer. En heterozygot individ klarar sig mycket bättre mot parasitangrepp än en homozygotindivid när en överdominansmodell tillämpas. I överdominansmodellen kan heterozygota parasiter infektera fler genotyper än homozygota parasiter samtidigt som heterozygota värdar står emot ett större antal parasiter än homozygota värdar. Agrawal och Lively (2001) menar därför att samevolutionen mellan värd och parasit har en begränsande effekt på självförökningsfrekvensen.

Inom Vertebrata, ryggradsdjur, så finns det endast två arter som är kända att självföröka sig. De här arter är *Kryptolebias ocellatus* och *Kryptolebias marmoratus* som tillhör klassen Osteichthyes, benfiskar, och är systergrupper i familjen Rivulidae (Harrington 1961, Costa *et al.* 2010). *K. ocellatus* är beskriven som en art bestående av endast hermafroditer medan *K. marmoratus* är ett androdioikt system (Davis *et al.* 1990, Costa *et al.* 2010). Genom att vara den enda kända androdioika arten inom Vertebrata är *K. marmoratus* väldigt intressant med avseende på könsfördelning inom androdioikasystem samt för att förstå evolutionen av hermafroditism.

K. marmoratus lever i bräckt vatten i mangroveskogar på Amerikas östkust från Florida till Brasilien, se figur 2 (Davis *et al.* 1990, Richards *et al.* 2011). Frekvensen hanar inom en population är i regel låg, i Florida är frekvensen ca 1 % av hanar. Det finns dock en känd population i Twin Cays, Belize där frekvensen hanar är mycket högre, 10-25 % (Davis *et al.* 1990, Tatarenkov*et al.* 2012). Betyder det att det är en pågående selektion för enbart hermafroditer i *K. marmoratus*, där hanar selekteras bort?

Bevis för disruptiv selektion

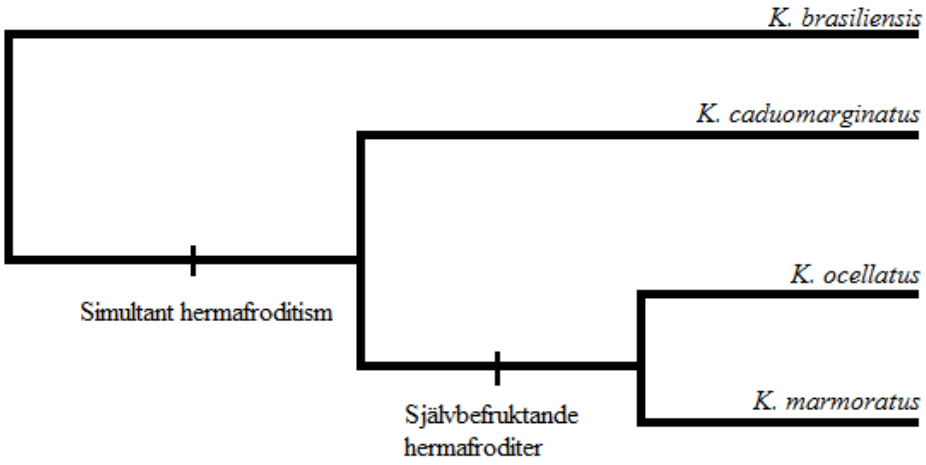
För att kunna svara på om *K. marmoratus* selekteras för en art bestående enbart av hermafroditer så kommer den här artikeln att fokusera på hur självbefruktning fungerar, vilka interaktioner det är mellan könen, vilka möjligheter det finns för variation i genomet samt huruvida populationen i Twin Cays, Belize beter sig annorlunda jämfört med övriga populationer av arten. Genom att studera dessa områden hoppas jag kunna ge klarhet på om androdioika arter utsätts för *disruptiv selektion* för självbefruktningsfrekvenser med *K. marmoratus* som exempel.

Självbefruktning

Harrington (1961) upptäckte genom histologiska studier av gonaderna att de individer av *K. marmoratus* som man antog var honor faktiskt var simultana hermafroditer. Gonaderna av dessa hermafroditer har både testikel och äggstocksvävnad som kan producerar ägg och sperma samtidigt. De egna gameterna kan sedan självbefrukta varandra inuti den gonadala lumen, den hålighet som finns inuti gonaden (Sakakura *et al.* 2006). När en individ är

resultatet av flera generationer av självbefruktning så är den i regel homozygot för alla loci eftersom allelfrekvensen fixeras genom självbefruktning. Det här betyder att populationer som självbefruktas primärt producerar avkomma som är genetiska kloner av dem själva (Turner *et al.* 1990). Detta exemplifieras i en populationsundersökning från Florida där 75 % av alla analyserade individer var homozygota (Tatarenkov *et al.*2012). Eftersom befruktningen sker i den gonadala lumen så försvåras möjligheterna för utkorsning, äggen har en chans att befruktas av sin egna sperma innan de har lämnat kroppen, vilket minskar antalet ägg som kan befruktas av en hane (Mackiewicz *et al.* 2006a). För att kunna förklara populationsstrukturen för *K. marmoratus* är det därför viktigt att förstå under vilka förhållanden som självbefruktning evolverar fram samt vilka potentiella för- och nackdelar som det medför.

Genom fylogenetiska studier kan man se att hermafroditism har evolverat från ett dioikt parningssystem i släktet *Kryptolebias.* Tre av arterna inom *Kryptolebias* har parningsssystem där hermafroditer förekommer och i två av dessa har hermafroditerna möjlighet att självbefrukta sig, de resterande arterna är dioika (Costa *et al.* 2010). I figur 1 så presenteras ett fylogenetiskt träd där ursprunget av hermafroditism inom *Kryptolebias* illustreras baserat på Costa *et al*. (2010) studie. *K. marmoratus* status som den enda androdioika vertebraten har dock ifrågasatts då en hane av arten *K. ocellatus* från en lokalitet i Brasilien har identifierats genom morfologiska studier, hanen hade en färgteckning som liknade hanar av *K. marmoratus* (Berbel-Filho *et al.* 2016). Det gjordes dock ingen genetisk analys för att fastställa att individen var av arten *K. ocellatus* vilket bör vara nödvändigt med tanke på att habitaten för *K. ocellatus* överlappar med de av *K. marmoratus* (Tatarenkov *et al.* 2011). Dessutom gjordes inga histologiska studier av individen gonader för att bekräfta att endast testikelvävnad var närvarande vilket gör att det inte kan beläggas fullt ut av detta fynd.



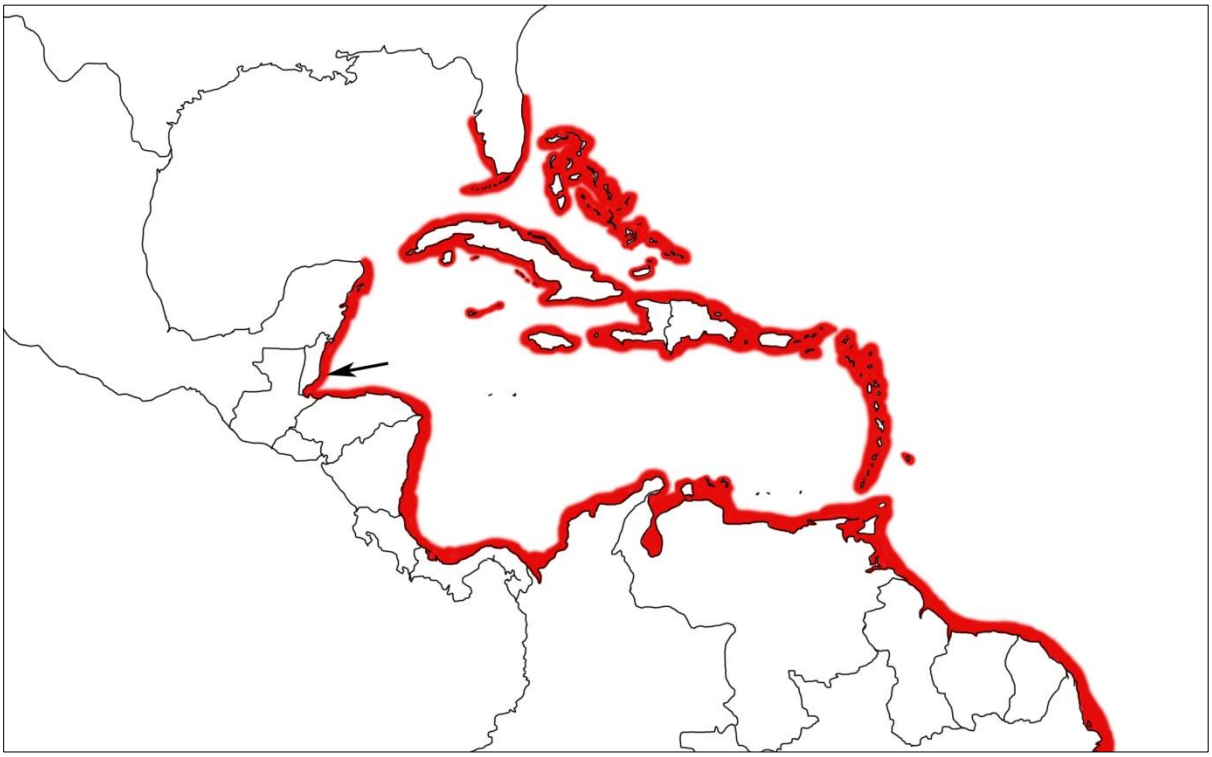
Figur 1: Fylogenetiskt träd som illustrerar ursprunget av hermafroditism från det annars dioika släktet *Kryptolebias.* Baserat på illustration från Costa *et al*. (2010).

K. marmoratus och K. ocellatus har historiskt beskrivits som samma art, då de liknar varandra morfologiskt samt lever i överlappande habitat (Costa *et al.* 2010). Det finns därför ingen konsensus över utbredning av *K. marmoratus*. Richards *et al*. (2011) anger utbredningen från Florida till Brasilien medan Tatarenkov *et al*. (2011) menar att artens utbredning inte sträcker sig så långt syd. Tararenkov *et al*. (2011) argumenterar för att utbredningen av *K. marmoratus* inte längre är trovärdig efter splittringen mellan *K.*

marmoratus och *K. ocellatus.* De flesta studier som gjorts på *K. marmoratus* använder individer från Florida, norra Karibien och delar av Centralamerika där individerna har bekräftats vara rätt art (Davis *et al.* 1990, Tatarenkov *et al.*2012, Turner *et al.* 2006, Tatarenkov *et al.* 2011). Utbredningen av *K. marmoratus* och *K. ocellatus* kan ses i figur 2.

Blande de 330 arter i familjen *Rivulidae* förekommer endast tre arter i bräcktvatten; *K. caudomarginatus, K. ocellatus* samt *K. marmoratus*. Dessa arter är även de enda arterna i *Rivulidae* som har populationssystem med hermafroditer (Costa *et al.* 2010). Murphy *et al.* (1999) argumenterat för att denna klad har sitt ursprung i sydöstra Brasilien då både *K. ocellatus* och *K. caudomarginatus* utbredning är centrade där, *K. marmoratus* ska sedan ha spridits norrut genom Karibien.

Genom att analysera mtDNA (mitokondriellt DNA) från *K. marmoratus* och *K. ocellatus* så har artbildningen kunnat estimeras med mtDNA klocka. Enligt den här metoden skedde artbildningen som senast för 200 000 år sedan, vilket betyder att självförökning har existerat länge i kladen (Tatarenkov *et al.* 2009).



Figur 2: Geografisk utbredning av *K. marmoratus* där infärgning indikerar närvaro av antigen *K. marmoratus* eller *K. ocellatus*. Pilen visar ön Twin Cays position utanför Belize kust. Figuren är gjord efter Tatarenkov *et al*. (2011) utbredningskarta.

De förhållandena som krävs för att självförökande hermafroditer ska uppkomma från ett dioikt system har modellerats av Pannell (2008). I sin modell menar Pannell att gener för hermafroditism sprids i ett dioikt system där parningstillfällena är begränsande, förutsatt att inavelsdepressionen inte resulterar i att hermafroditens avkommas fitness är sämre än fitnessen hos utkorsande honors avkomma. Om istället genen för självbefruktning uppkommer i ett dioikt system där parningstillfällena inte är begränsade måste antalet ägg som hermafroditen producerar vara fler än honans äggproduktion för att genen ska spriddas. Även här gäller det att inavelsdepressionen inte leder till en sämre fitness för hermafroditens avkomma än den av honorna. Frekvensen parningstillfällen och inavelsdepressionen är inte

bara de faktorer som driver evolutionen av hermafroditiska samt androdioika system utan är även de största för- och nackdelarna med självbefruktning.

Fördelar och begränsningar

En av de stora fördelarna med självbefruktning är att inte vara beroende av andra individer för att kunna producera avkomma. En självbefruktande hermafrodit kommer att kunna producera avkomma under perioder där utkorsningsmöjligheterna är låga eller obefintliga, medan en utkorsande individs fitness blir starkt begränsad under dessa förhållanden. Det betyder att en individ med förmågan till självbefruktning kan kolonisera nya platser utan att vara beroende av andra individer. Detta har troligtvis hänt frekvent för individer av *K. marmoratus* med tanke på dess spridning runt Amerikas kust. Dessutom har arten ett beteende som underlättar spridning, *K. marmoratus* har flera anpassningar till att överleva perioder på land så som hudandning och reducering av gällarean för att minska uttorkning (Ong *et al.* 2007, Cooper *et al.* 2012). Arten har dessutom ett beteende att gömma sig i håligheter i fallna träd, träden skulle sedan teoretisk kunna spridas med strömmar och leda till kolonisering av en ny plats (Taylor *et al.* 2008). På grund av dess förmåga till självbefruktning är detta ett teoretiskt möjligt sätt att spridas på. Det har dock sina begränsningar då en population som uppkommer på detta sätt kommer ha en väldigt begränsad genpool.

Inavelsdepression

Populationer med begränsad genetisk variation påverkas i regel av inavelsdepression. Den nedsatta fitnessen för inavlad avkomma jämfört med utkorsad avkomma kan uppkomma på grund av att uttrycket av recessiva skadliga alleler förstärks. Det sker när variation i genomet minskar och individer blir homozygota för recessiva skadliga alleler (Muirhead & Lande 1997). Om inavelsdepressionen blir så stor att ingen fertil avkomma kan produceras kommer den inavlade genotypen utrotas från populationen (Wright *et al.* 2008). Variationen av alleler sker genom utkorsning och rekombination, självbefruktning agerar därför som en barriär emot genetisk variation. När individer självbefruktar under flera generationer så minskar allelfrekvensen i avkomman vilket resulterar i fixering av gener och helt homozygota individer tillslut. Dessa individer kommer endast kunna få genetisk skild avkomma genom *de novo* mutationer (Turner *et al.* 1990). Hermafroditer av *K. marmoratus* har inte förmågan att utkorsas med varandra, den genetiska variationen i populationer av *K. marmoratus* är därför beroende utav utkorsningstillfällena mellan hanar och hermafroditer (Furness *et al.* 2015). Utkorsning kan ge fitnessfördelar, då det har visats att heterozygota individer av *K. marmoratus* är mindre påverkade av parasiter än homozygota individer. Ellison *et al.* (2011) undersökte skillnader i parasitangrepp på individer från två olika populationer från Belize. Alla individer i experimentet var angripna av åtminstone en av de tre testade parasiterna men de heterozygota individerna var signifikant mindre angripna än de homozygota. Det tolkades som att de heterozygota individerna hade en fitnessfördel över de homozygota. Eftersom självbefruktning leder till produktionen av mer homozygota individer så kan man antyda att utkorsning leder till högre fitness. Men genom att självbefrukta sig har *K. marmoratus* en 50 % chans att rekombinera bort en skadlig allel i ett heterozygot loci och därmed utrota den allelen från sin avkommas genom, detta fenomen kallas purging (Lande &Schemske 1985). Purging kan därför, genom slumpen, resultera i individer som har högre fitness. Pågrund av den ojämna fördelningen mellan hermafroditer och hanar i de flesta populationer är det intressant att veta vad som reglerar produktionen av hanar samt hur interaktionen mellan individer fungerar.

Könsutveckling och parningsbeteende

Som nämnts tidigare är frekvensen hanar inom de flesta av populationerna väldigt låg, med undantaget av en population i Twin Cays, Belize (Davis *et al.* 1990, Tatarenkov *et al.* 2012). Den parningsstruktur som kan ses på platser med låga frekvenser hanar är en blandning med höga frekvenser självbefruktning och låga frekvenser utkorsning (Tatarenkov *et al.* 2012). Det är inte helt klart hur könsutvecklingen sker då Twin Cays populationen producerar mer hanar än andra populationer (Grageda *et al.* 2005, Turner *et al.* 2006). Men befruktade ägg har en miljöberoende könsbestämning där primära hanar, individer som varit hanar sedan födsel, utvecklas under låga temperaturer, 18 °C. Det temperaturberoendet är en egenskap som används av laboratorier för att skapa genetisk lika hermafroditer och hanar (Ellison *et al.* 2015). Vidare så har *K. marmoratus* en plastisk förmåga att efter födsel byta kön från hermafrodit till sekundär hane, detta har spekulerats vara på grund av att hanar har lägre metabolism än hermafroditer och könsbyte sker när en hermafrodit inte längre kan konkurrera om mat med andra hermafroditer (Garcia *et al.* 2016). Detta kan ske antingen innan hermafroditen blir könsmogen eller mot slutet av hermafroditens livscykel. Efter könsbytet ändras de sekundära könskaraktärerna samt deras beteende till en mer hanliga karaktär (Harrington 1971). Hittills har ingen hane visats kunna byta kön till sekundär hermafrodit.

Beteendeskillnader

Beteendet skiljer sig mellan hanar och hermafroditer. Hermafroditer har visats vara mer riskbenägna, aggressivare och ha en högre metabolism än hanarna inom *K. marmoratus* (Garcia *et al.* 2016). Eftersom det är mycket mer energikrävande att producera både ägg och spermier anses detta beteende vara nödvändigt för att kunna få tillräckligt med näring samtidigt som individen upprätthåller gametproduktion (Bergeron *et al.* 2011, Garcia *et al.* 2016). En hermafrodit som inte längre kan konkurrera om resurser byter troligtvis kön då den har en högre fitness som sekundär hane (Garcia *et al.* 2016).

Hermafroditer av *K. marmoratus* föredrar sällskapet av hanar och uppvisar aggressivt beteende mot andra hermafroditer i närheten av en hane. *K. marmoratus* hanar kan skilja på olika hermafroditers släktskap till sig själv, det kan göras efter lukt eller syn. Hanen väljer sedan aktivt att vistas i närheten av de hermafroditer som skiljer sig mest genetiskt från honom (Ellison *et al.* 2013). Detta beteende borde betyda att det föredragna sättet för reproduktion är utkorsning eftersom hermafroditer föredrar att vistas runt hanar vilket måste leda till mer utkorsningstillfällen. Men som tidigare visats är det svårt att få en hermafrodit och hane att para sig på grund av chansen att äggen redan blivit självbefruktade.

Genflöde

Oavsett föredraget parningsbeteende ser könsfördelningen ut som den gör för *K. marmoratus*, med låga frekvenser hanar, vilket betyder få möjligheter för utkorsning för de flesta populationerna. De begränsade utkorsningsmöjligheterna minskar den genetiska variationen i *K. marmoratus* populationer. Genflöde in i en population kan öka genetisk variation i en population. Genflöde är när en populations allelfrekvens ändras genom migration eller immigration av individer från annars skilda populationer. Kontinuerlig migration av enstaka individer i en inavlad population av vanlig hjortråtta, *Peromyscus maniculatus*, har visats öka den inavlade populationens fitness (Schwartz & Mills 2005). Den här typen av migration tycks vara möjlig och bör kunna öka den genetiska variationen för populationer av *K. marmoratus*.

Populationsstruktur i Florida

Med tanke på *K. marmoratus* spridning runt Amerika så kan man tänka sig att genflödet mellan närliggande populationer bör vara stort. Detta är dock inte fallet, Tatarenkov *et al.* (2012) visade genom analys av mikrosatiliter att diversiteten av genotyper mellan populationer i Florida är hög. Den höga diversiteten betyder konsekvent att genflödet mellan populationer i Florida är lågt, migration mellan populationer sker med andra ord ganska sällan. I Florida så är frekvensen hanar väldigt låg, 1 %, och utkorsningsfrekvensen är genomsnittligt 3,5 %. Den resulterande höga frekvensen självbefruktning har lett till att majoriteten av populationerna i Florida har blivit homozygota, alltså fixerade för en allel. En population med dessa egenskaper borde vara näst intill homogen för en genotyp, det finnas troligtvis en genotyp i populationen som är bättre anpassad till den lokala miljön än de andra och genom självförökning kan den individen med den genotypen konkurrera ut andra genotyper. Men istället så uppmätts hög diversitet av olika genotyper inom populationerna. Det sker alltså inget speciellt frekvent genflöde mellan populationer men ändå har populationer hög diversitet inom sig, vilket tyder på att bottlenecks som reducerar allelfrekvensen sällan sker och anpassningen till olika lokaler kan tänkas vara plastisk (Tatarenkov *et al.* 2012).

Plasticitet

Lin & Dunson (1995) har testat hur fitness förändras för olika genotyper av *K. marmoratus* beroende på miljöfaktorer, alltså om det finns tendenser för fenotypisk plasticitet eller inte. Deras data visade att olika genotyper får olika många avkommor beroende på mattillgång och/eller salthalt. Alltså är vissa genotyper mer anpassad till vissa habitat, och dessutom förändras deras livshistoria beroende på vilket habitat de lever i. Det betyder att individer med skilda genotyper har skillnader i reproduktionsframgång vilket är märkligt med tanke på den höga diversiteten inom populationer som har påträffats i Tatarenkov *et al.* (2012). Men i sin studie upptäckte Lin & Dunson att reproduktionsframgången för avkomman påverkas av mattillgången hos dess förälder, genom transgenerationell plasticitet (maternell/ paternell effekt). Detta kan vara en orsak till varför populationsdynamiken kan se ut som den gör i Florida. En individ som är en produkt av en undernärd förälder når reproduktionsålder snabbare än en individ från en välnärd förälder. En individ som når reproduktionsålder snabbare har ett fitness övertag över individer som tillväxer långsammare och skulle därför kunna konkurrera om föräldern migrerat till ett habitat där en bättre anpassad lokal genotyp finns. Det skulle kunna förklara varför populationer i Florida inte är dominerade av en genotyp, om migranters avkomma har möjlighet till ökad fitness genom en transgenerationell plasticitet.

En annan observation som Lin & Dunson (1995) gjorde var att alla genotyper producerade i genomsnitt lika många hermafroditer, förutom en genotyp från Belize. Den här genotypen producerade hanar i mycket större utsträckning än de andra. Twin Cays populationen från Belize har en märkbar skillnad i frekvensen hanar gentemot övriga populationer av *K. marmoratus*, den här skillnaden har uppmärksammats av flera fältstudier (Davis *et al.* 1990). I Lin & Dunson (1995) experiment så nämns inte vart ifrån Belize genotypen är hämtad, men med skillnaden i hermafroditproduktion som visades skulle det vara möjligt att den kommer från Twin Cays, Belize.

Twin Cays, Belize

Twin Cays är en liten mangrove-ö utanför Belize kust med en population av *K. marmoratus* som skiljer sig från andra populationer (den geografiska positionen för ön kan ses i figur 2). Twin Cays populationen har en mycket högre frekvens hanar, 10-25 %, än vad som uppmätts för andra populationer, där frekvensen hanar normalt ligger närmare 1 % (Davis *et al.* 1990). Utkorsning sker dessutom i mycket större utsträckning än i andra populationer. Genom analys av mikrosatelliter har 55- 58 % av undersökta individer uppskattats vara en produkt av utkorsning (Mackiewicz *et al.* 2006b). Det har också lett till att heterozygota individer är mycket vanligare på Twin Cays, i Mackiewicz *et al.* (2006b) studie var frekvensen heterozygota individer 59 %. Detta kan sättas i perspektiv mot heterozygositetfrekvensen i Florida där Tatarenkov *et al.* (2012) uppmätte en frekvens på 25,4 % fullt heterozygota individer (och endast 17 % om man räknar individer som endast var heterozygota för ett loci). Med dessa stora skillnader i populationsdynamik är det intressant att utredda varför de här skillnaderna observeras.

Skillnaden i frekvensen hanar i Twin Cays har undersökts med ett *common garden* experiment där produktionen hanar jämfördes mellan en Twin Cays population och en fastlandspopulation från Belize. Common garden experiment används som ett sätt att se om skillnaden inom en art som finns på olika platser är på grund av plasticitet för miljön eller beror av genetiska orsaker. Individer från olika lokaliteter fångas och testas sedan i samma miljö för att se om de beter sig på samma sätt. Om det inte är någon skillnad i den testade faktorn så är skillnaden inom arten på grund av plasticitet för miljön. Om det är skillnad så är faktorn som testats på grund av genetiska skillnader mellan populationerna (eller på grund av transgenerationell plasticitet). Common garden experimentet visade att Twin Cays populationen producerar hanar i mycket större utsträckning än fastlandspopulationen under samma förhållanden. Det betyder att skillnaden i frekvensen hanar i Twin Cays inte är på grund av plasticitet till miljön utan troligen har en genetisk grund (Turner *et al.* 2006). Experimentet gjordes dock endast för två generationer så det går inte att utesluta att en transgenerationell effekt kan förklara resultatet.

Egenskapen att producera fler hannar är inte en mer primitivt egenskap för Twin Cays populationen. Analys av mtDNA av *K. marmoratus* individer från Bahamas, Belize, Brasilien och Florida har visat att populationer från Belize är närmast släkt med populationer från Florida. Analysen av mtDNAt inkluderade både populationer från Belize fastland och Twin Cays och ingen skillnad sågs mellan dem som skulle indikera att de hade olika ursprung. Eftersom frekvensen hanar i populationer från Bahamas och Brasilien är låg och liknar det som uppmätts i Florida så är det troligt att den skillnad som ses i Twin Cays har uppkommit från en population som liknar den i Florida (Weibel *et al.* 1999). Detta betyder att Twin Cays populationen har selekterats från en primärt självbefruktande population till en som reproducerar mest genom utkorsning.

Diskussion

Den här artikeln har behandlat arten *K. marmoratus* för att kunna besvara om androdioika system utsätts för *disruptiv selektion* för höga frekvenser självförökning eller höga frekvenser utkorsning så som beskrivits i Escobar *et al.* (2011). Escobar *et al*. (2011) undersöker fenomenet med Basommatophora, Söttvattenslungsnäckor, som exempel och

visade att deras självbefruktningsfrekvens följde bimodal fördelning vilket indikerar *disruptiv selektion* för antingen självbefruktning eller utkorsning beroende på inavelsdepression. Denna artikel har behandla *disruptiv selektion* inom Vertebrata med den enda kända androdioika arten *K. marmoratus* som exempel. Jag har använt teori från Pannell (2008) för vilka förhållanden som krävs för att självbefruktning ska evolvera ur ett dioikt system. I sin modell menar Pannell att gener för hermafroditism sprids i ett dioikt system där parningstillfällena är begränsande, förutsatt att inavelsdepressionen inte resulterar i att hermafroditens avkommas fitness är sämre än fitnessen hos utkorsande honors avkomma. Jag har även undersökt faktorer så som faktorer har varit könsutveckling, parningsbeteende, genflöde samt plasticitet då de bör vara viktiga för selektionstrycket för självbefruktningsfrekvenser. Dessutom så har skillnader i populationsdynamik för en speciell population från Twin Cays, Belize berörts och jämförts med övriga mönster för arten *K. marmoratus*. Den skillnad som man kan se mellan Twin Cays populationen och övriga populationer stödjer teorin om *disruptiv selektion* för höga självbefruktningsfrekvenser eller höga utkorsningsfrekvenser. Det verkar inte ske någon selektion för endast hermafroditer. De fitness fördelar som kommer från utkorssning, t ex mindre parasitangrepp, samt det beteende som hermafroditerna uppvisat där de föredragit närvaron av hanar talar för en nödvändighet av hanar i systemet. Twin Cays populationen tycks dessutom producerar hanar i stor utsträckning samt är utkorsningsfrekvenserna mycket högre där än i övriga populationer vilket gör det svårt att argumentera för en selektion av endast hermafroditer inom *K. marmoratus*.

Ellison *et al.* (2011) presenterar data som visar att heterozygota individer är mindre attackerade av parasiter än homozygota, individerna de använde sig av i experimentet var från en population med en något högre andel hanar än genomsnittet, ca 2%. Den här andelen hanar genererade uppenbarligen tillräckligt med variation i genomet för att kunna förbättra fitnessen för heterozygota individer. Det är också ett tecken på att selektion för endast hermafroditer troligtvis inte sker, eftersom hanarna förbättrar fitnessen inom en population så som Agrawal & Lively (2001) beskrev det. Men om den fitness förbättringen som det här medför är väldigt liten kan hermafroditer möjligtvis helt utkonkurrera hanar. Dessutom så måste hanar konkurrera med hermafroditerna om utkorsningstillfällen på grund av chansen att hermafroditens ägg självbefruktas. Konkurrensen om parningstillfällen nämner Pannell (2008) som något som potentiellt kan utesluta hanar från en population. Det skulle därför vara intressant att undersöka om chansen att en hermafrodit självbefruktar sina ägg skiljer sig mellan Twin Cays och övriga populationer.

Det androdioika parningssystemet för *K. marmoratus* bör ses som relativt stabilt då det existerat i minst 200 000 år som Tatarenkov *et al.* (2009) kom fram till i sin mtDNA analys. Eftersom *K. ocellatus* lever i liknande miljöer som *K. marmoratus* men är en strikt hermafroditisk art bör det vara någon skillnad i levnadsmiljö mellan dem som lett till att *K. marmoratus* har behövt utkorsningsmöjligheter som hanarna medför.

Beteendet som visats där hermafroditer föredrar närheten av hanar över andra hermafroditer samt visar ett aggressivt beteende emot andra hermafroditer kan användas som ett argument för att utkorsning är det föredragna sättet för reproduktion av *K. marmoratus* (Ellison *et al.* 2013). Eftersom ett sådant beteende har utvecklads så bör det finnas en fitnessfördel för en hermafrodit som har tillgång till en hane. Det skulle betyda att en selektion för endast hermafroditer känns mer osäker, då hermafroditer spenderar energi på att säkra parningsmöjligheter. Men det finns några saker som bör undersökas innan Ellison *et al.* (2013) experiment används för att dra slutsatser kring utkorsning som det föredragna

reproduktionssättet för hela arten. Under experimentet så användes individer från Belize, genotyp *R* och *Dan*. Genotyp *Dan* har använts i andra experiment som i Turner *et al.* (2006) common garden expriment och är insamlad från en fastlandspopulation. Men genotyp *R* har jag inte stött på i annan litteratur och det nämns inte var i Belize den är insamlad. Med tanke på skillnaderna i populationsdynamiken för Twin Cays i Belize så är det viktigt att veta om genotyp *R* från Ellison *et al.* (2013) delar de egenskaper som har visats i Twin Cays populationen. Det känns rimligt att tänka sig att det finns en beteendeskillnad mellan populationer med ett genuttryck som producerar 1 % hanar respektive 10-25 %. Därför kan det finnas problem med att tillämpa denna studie för hela arten. Ett bättre sätt att ta reda på det föredragna parningssättet skulle vara att göra Tsitrone *et al.* (2003) experiment med väntetid innan självbefruktning. Tsitrone *et al.* (2003) visade att arter som har egenskapen att självbefruktas kommer vänta en period innan de självbefruktar sig ifall deras avkomma har en högre fitness genom utkorsning. Om arten är primärt en självbefruktare är det ingen skillnad i tid för befruktning mellan isolerade hermafroditer och hermafroditer som försökts paras med hanar. Denna studie skulle kunna göras om för *K. marmoratus* för att ta reda på artens föredragna parningsbeteende. Om arten är primärt en självbefruktare är det ingen skillnad i tid för befruktning mellan isolerade hermafroditer och hermafroditer som försökts paras med hanar.

Diversiteten av genotyper inom och mellan populationer från Florida kan bero på att ett begränsat genflöde sker mellan populationer i området. Om det hade varit ett mer frekvent genflöde mellan populationerna i Florida hade Tatarenkov *et al.* (2012) troligtvis hittat närliggande populationer med samma genotyper inom dem. Anledningar till varför det inte hänt kan vara att den ursprungliga populationen som den migrerande individen kom från har inte samplats eller har dött ut när undersökningen gjorts. Tatarenkov *et al.* (2012) nämner sin studie att en genotyp finns kvar på samma lokalitet i genomsnitt fyra år, det känns som för länge för att migranternas ursprungspopulationer skulle dött ut. Det kan också vara så att frekvent genflöde sker mellan populationerna men att avkomman från den migrerande individen och en lokal individ har rekombinerats så att det är omöjligt att bestämma genotypen av de ursprungliga föräldrarna och där med migrantens ursprung. Då hermafroditer som migrerar kan självföröka sig håller inte detta argument heller. Det är mer troligt att genflöde sker sällan mellan populationer och att den transgenerationella plasticiteten som Lin & Dunson (1995) visade gör så att avkomman kan konkurrera och etablera sig. Större fiskyngel har observerats äta fiskyngel av mindre storlek i laboratoriemiljö. Det bör därför vara lättare att konkurrera för en migrerande individs avkomma om den kommer från dåliga förhållanden då sådana individerna har visat en transgenerationell plasticitet för snabbare tillväxt. Det känns rimligt att om migranten skulle föras med strömmar inuti en trädstam som beskrivs av Taylor *et al.* (2008) att mattillgången skulle vara låg så att det transgenerationella plasticiteten skulle uttryckas.

Vidare så kan man spekulera om skillnaden i produktionen hanar på Twin Cays kommer leda till en splittring och en ny art. Om Common garden experimentet som genomfördes av Turner *et al.* (2006) har beskrivit verkligheten korrekt och det finns en genotypisk skillnad till varför hanar produceras i större utsträckning på Twin Cays så kan det finnas en korsningsbarriär mellan Twin Cays och övriga populationer som begränsar genutbytet. Vid sådana förhållanden kan artbildning ske. Pannell (2008) har modellerat vad som krävs för att honor ska kunna uppkomma i ett androdioikt system och menar att det kan hända om honorna har mycket högre fitness än hermafroditerna, inavelsdepressionen för hermafroditerna är mycket stor samt att det finns alltid hanar för utkorsningstillfällen. Återintroduktionen av honor känns därmed inte speciellt trolig men heller inte omöjlig. Det

skulle därför vara intressant om forskning gjordes på om det sker genutbyte mellan Twin Cays populationen och vad för effekt det skulle ha på populationen.

Slutsats

För *K. marmoratus* som art sker det inte en selektion för endast hermafroditer. Twin Cays population visar anpassningar som betyder att hanar är en viktig del för populationsdynamiken där. För övriga populationer är det svårare att dra slutsatser vart arten är på väg. Hanarna fyller helt klart en funktion för arten men om den funktionen är nödvändig går inte att svara på utan att ha undersökt inavelsdepressionen i mer detalj, men eftersom det androdioika parningssystemet har existerat i minst 200 000 år är det rimligt att anta att systemet är stabilt. Det finns dock vissa teoretiska egenskaper som skulle kunna leda till att hanar försvinner helt, t ex att hanarna måste konkurrera med hermafroditerna om utkorsningsmöjligheter.

Tack

Jag vill tacka Martin Lind för god handledning, Martin Svenda för föreläsningar och ansvar för kursen, mina återkopplare; Emil A, Emil V, Johan och Veronica, Biologibiblotekets personal; Lena P, Moa H och Erik B samt Katarina A, Ingrid A och Kristina A för föreläsningar om skrivprocessen. Jag tackar Jesper Boman för hjälp med bristande kunskap om genetik samt Uppsala universitet för min utbildning. Slutligen vill jag tacka Mamma och Pappa för allmänt stöd.

Referenser

Agrawal, Lively CM. 2001. Parasites and the evolution of self-fertilization. Evolution 55: 869–879.

Bergeron, Careau V, Humphries MM, Reale D, Speakman JR, Garant D. 2011. The energetic and oxidative costs of reproduction in a free-ranging rodent. Functional Ecology 25: 1063–1071.

Berbel-Filho, Espírito-Santo HMV, Lima SMQ, Berbel-Filho WM, Espírito-Santo HMV, Lima SMQ. 2016. First record of a male of *Kryptolebias hermaphroditus* Costa, 2011 (*Cyprinodontiformes: Cynolebiidae*). Neotropical Ichthyology, doi10.1590/1982-0224-20160024.

Cooper, Litwiller SL, Murrant CL, Wright PA. 2012. Cutaneous vasoregulation during short- and long-term aerial acclimation in the amphibious mangrove rivulus, *Kryptolebias marmoratus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry & Molecular Biology 161: 268–274.

Costa, Lima SM, Bartolette R. 2010. Androdioecy in *Kryptolebias* killifish and the evolution of self-fertilizing hermaphroditism. Biological Journal of the Linnean Society 99: 344–349.

Davis, Taylor DS, Turner BJ. 1990. Field observations of the ecology and habits of mangrove rivulus (*Rivulus marmoratus*) in Belize and Florida (*Teleostei: Cyprinodontiformes: Rivulidae*). Ichthyological Exploration of Freshwaters 1: 123–134.

Ellison, Cable J, Consuegra S. 2011. Best of both worlds? Association between outcrossing and parasite loads in a selfing fish. Evolution 65: 3021–3026.

Ellison, Jones J, Inchley C, Consuegra S. 2013. Choosy males could help explain androdioecy in a selfing fish. American Naturalist 181: 855–862.

Ellison, Rodriguez Lopez CM, Moran P, Breen J, Swain M, Megias M, Hegarty M, Wilkinson M, Pawluk R, Consuegra S. 2015. Epigenetic regulation of sex ratios may explain natural variation in self-fertilization rates. Proceedings of the Royal Society Biological Sciences Series B 282: 20151900.

Escobar, Auld JR, Correa AC, Alonso JM, Bony YK, Coutellec M-A, Koene JM, Pointier J-P, Jarne P, David P. 2011. Patterns of mating-system evolution in hermaphroditic animals: correlations among selfing rate, inbreeding depression, and the timing of reproduction. Evolution 65: 1233–1253.

Furness, Tatarenkov A, Avise JC. 2015. A genetic test for whether pairs of hermaphrodites can cross-fertilize in a selfing killifish. Journal of Heredity 106: 749–752.

Garcia, Ferro JM, Mattox T, Kopelic S, Marson K, Jones R, Svendsen JC, Earley RL. 2016. Phenotypic differences between the sexes in the sexually plastic mangrove rivulus fish (*Kryptolebias marmoratus*). The Journal of Experimental Biology 219: 988–997.

Grageda, Sakakura Y, Minamimoto M, Hagiwara A. 2005. Differences in life-history traits in two clonal strains of the self-fertilizing fish, *Rivulus marmoratus*. Environmental Biology of Fishes 73: 427–436.

Harrington. 1961. Oviparous hermaphroditic fish with internal self-fertilization. Science (New York, NY) 134: 1749–1750.

Harrington. 1971. How ecological and genetic factors interact to determine when self-fertilizing hermaphrodites of *Rivulus marmoratus* change into functional secondary males, with a reappraisal of the modes of intersexuality among fishes. Copeia 1971: 389–432.

Jarne, Auld JR. 2006. Animals mix it up too: The distribution of self-fertilization among hermaphroditic animals. Evolution 60: 1816–1824.

Lande, Schemske DW. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic models. Evolution 39: 24.

Lin, Dunson WA. 1995. An explanation of the high strain diversity of a self-fertilizing hermaphroditic fish. Ecology 76: 593–605.

Mackiewicz, Tatarenkov A, Perry A, Martin JR, Elder JF, Bechler DL, Avise JC. 2006a. Microsatellite documentation of male-mediated outcrossing between inbred laboratory strains of the self-fertilizing mangrove killifish (*Kryptolebias Marmoratus*). Journal of Heredity 97: 508–513.

Mackiewicz, Tatarenkov A, Taylor DS, Turner BJ, Avise JC. 2006b. Extensive outcrossing and androdioecy in a vertebrate species that otherwise reproduces as a self-fertilizing hermaphrodite. Proceedings of the National Academy of Sciences 103: 9924–9928.

Muirhead, Lande R. 1997. Inbreeding depression under joint selfing, outcrossing, and asexuality. Evolution 51: 1409–1415.

Murphy, Thomerson JE, Collier GE. 1999. Phylogeny of the neotropical killifish family *Rivulidae* (*Cyprinodontiformes, Aplocheiloidei*) inferred from mitochondrial DNA sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution 13: 289–301.

Ong, Stevens ED, Wright PA. 2007. Gill morphology of the mangrove killifish (*Kryptolebias marmoratus*) is plastic and changes in response to terrestrial air exposure. Journal of Experimental Biology 210: 1109–1115.

Pannell. 2008. Consequences of inbreeding depression due to sex-linked loci for the maintenance of males and outcrossing in *Branchiopod* crustaceans. Genetics Research 90: 73–84.

Renner, Ricklefs RE. 1995. Dioecy and its correlates in the flowering plants. American Journal of Botany 82: 596–606.

Richards, Krebs JM, McIvor CC. 2011. Microhabitat associations of a semi-terrestrial fish, *Kryptolebias marmoratus* (Poey 1880) in a mosquito-ditched mangrove forest, west-central Florida. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 401: 48–56.

Sakakura, Soyano K, Noakes DLG, Hagiwara A. 2006. Gonadal morphology in the self-fertilizing mangrove killifish, *Kryptolebias marmoratus*. Ichthyological Research 53: 427–430.

Schwartz, Mills LS. 2005. Gene flow after inbreeding leads to higher survival in deermice. Biological Conservation 123: 413–420.

Tatarenkov, Lima SMQ, Taylor DS, Avise JC. 2009. Long-term retention of self-fertilization in a fish clade. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 106: 14456–14459.

Tatarenkov, Earley RL, Taylor DS, Avise JC. 2012. Microevolutionary distribution of isogenicity in a self-fertilizing fish (*Kryptolebias marmoratus*) in the Florida Keys. Integrative and Comparative Biology 52: 743–752.

Tatarenkov, Lima SMQ, Avise JC. 2011. Extreme homogeneity and low genetic diversity in *Kryptolebias ocellatus* from south-eastern Brazil suggest a recent foundation for this androdioecious fish population. Journal of Fish Biology 79: 2095–2105.

Taylor, Turner BJ, Davis WP, Chapman BB. 2008. A novel terrestrial fish habitat inside emergent logs. The American Naturalist 171: 263–266.

Tsitrone, Jarne P, David P. 2003. Delayed selfing and resource reallocations in relation to mate availability in the freshwater snail *Physa acuta*. American Naturalist 162: 474–488.

Turner, Elder J. F. J, Laughlin T. F, P P. 1990. Genetic variation in clonal vertebrates detected by simple-sequence DNA fingerprinting. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 87: 5653–5657.

Turner, Fisher MT, Taylor DS, Davis WP, Jarrett BL. 2006. Evolution of 'maleness' and outcrossing in a population of the self-fertilizing killifish, *Kryptolebias marmoratus*. Evolutionary Ecology Research 8: 1475–1486.

Weibel, Dowling TE, Turner BJ. 1999. Evidence that an outcrossing population is a derived lineage in a hermaphroditic fish (*Rivulus marmoratus*). Evolution 53: 1217–1225.

Wells. 1979. Self fertilization advantageous or deleterious? Evolution 33: 252–255.

Wright, Tregenza T, Hosken DJ. 2008. Inbreeding, inbreeding depression and extinction. Conservation Genetics 9: 833–843.

Etikbilaga

Min artikel behandlar stabiliteten i ett androdioikt parningssystem med fisken *Kryptolebias marmoratus* som exempel. Ett androdioikt parningssystem består av både hanar och självförökande hermafroditer. *Distruptiv selektion* är ett sätt att beskriva en förändring av individer över tid som följer en bimodalfördelning för ett trait, individer som uttrycker mycket eller lite av traitet kommer att öka i antal medan individer som utrycker något mittemellan kommer minska. *K. marmoratus* tycks selekteras efter *disruptiv selektion* där alla utom en population selekteras för höga självförökningsfrekvenser. Forskning som denna har inte någon direkt tillämpning för att öka livskvalitet för människor och kan därav ses som onödig. Bör resurser tillägnas forskning som inte har något direkt tillämpningsområde som förbättrar människors liv?

Det huvudsakliga argumentet för att resurser ska användas för att bedriva forskning utan något direkt tillämpningsområde som gynnar människan är att denna typ av forskning måste bedrivas för att få ökad kunskap inom alla områden. Denna kunskap kan sedan leda till tillämpningsområden som var tidigare okända. Forskning har dessutom ett egenvärde och kan bedrivas av intresse, även forskning utan något tillämpningsområde kan berika en individs liv och på så sätt göra nytta. Det huvudsakliga argumentet som talar emot denna typ av forskning är att dessa resurser skulle istället kunna användas inom områden som har en direkt koppling till människans välmående. Genom att lägga resurser på forskning utan någon tydlig tillämpning så finns färre resurser till forskning som behandlar sjukdomar och teknologi mm. Om man istället skulle fokusera på denna typ av forskning så kommer framsteg i dessa ämnen att gå mycket snabbare.

All forskning kanske inte har någon tydlig tillämpning just nu men den kan bli relevant för senare studier. Ett exempel som kan användas är att de modellorganismer som används inom biologin har ansetts lämpliga att använda efter hur deras beteende eller struktur ser ut. Denna kunskap har upptäckts genom forskning som inte haft någon ursprunglig tillämpning. Dessa modellorganismer har möjliggjort alla typer av forskning som har gynnat människan. Forskning utan direkta tillämpningsområden för människan nödvändig för vidare utveckling inom forskning. Allt som forskas på producerar inte resultat och allt som producerar resultat går inte att applicera men detta kan bara man bara veta med facit i hand och bör inte styra hur resurser tilldelas.

Jag anser därför att all forskning bör bedrivas oavsett självklara tillämpningsområden för människan då det kan visa sig relevant efter andra upptäcker har gjorts.

Forskningsetik

I min artikel har jag hållit mig opartisk med vilka källor jag använt samt hur jag har presenterat dem i texten. Jag har endast använt källor som har blivit granskade genom peer review samt själv kritiskt granskat dem.