

Mezei nyúl (*Lepus europaeus*) genetikai eredetvizsgálata (irodalmi áttekintés)

Kusza Szilvia

Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,
Állattudományi, Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézet, Debrecen
kusza@agr.unideb.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

A fosszilis adatok alapján a Lagomorpha-k Ázsiában a késő eocén korszakban jelentek meg, majd a Leporida-k elváltak az Ochtonidistól az oligocénban vagy az eocénban. A pleisztocén alatt a gyakori klímaváltozások jelentős változásokat idéztek elő a fajok elterjedésében és ún. menedékhelyekre (refugium) szorították őket. Európában a folyamatos oszcillációk nagyobb szubszeifikus és specifikus diverzitáshoz vezettek a déli félszigeteken, (Ibéria, Olaszország, Balkán) amelyek a legfőbb refúgiális területek voltak más fajok számára is. A Lagomorpha fajok filogenetikai fejlődése és populációgenetikája mindmáig nagyon kevésbé ismert, valamint néhány fajnál a taxonómiai besorolás sem tisztázott. A konzervációgenetika az a tudományág, amely genetikai módszereket és analíziseket használ a fajok megőrzése céljából és gyakran a populációgenetikával együtt használatos, mely eredetet, fenntartást, szerveződést és a genetikai variabilitás okait vizsgálja a természetes populációk között. Tanulmányomban összefoglalom azokat a kutatási eredményeket melyek a mezei nyulak eredetét, filogenetikai fejlődését mutatják be az elmúlt évtizedekben.

Kulcsszavak: mezei nyúl, eredet, genetika, irodalom

SUMMARY

Fossil datas showed that the lagomorphs appeared in Asia during the later Eocene and leporids separated from ochotonids during the Oligocene or Upper Eocene. During the Pleistocene, climatic changes induced major shifts in species distributions, forcing them to refugia. In Europe, the continuous oscillations led to the production of greater subspecific and specific diversity in the southern peninsulas (Iberia, Italy, Balkan) which were the main refugial areas for other species as well. Evolution, phylogeny and population genetics of the Lagomorpha species are still poorly known and the taxonomic distinction is still unclear for some species. Conservation genetics is the discipline which use genetic techniques and analysis methods to preserve species and dynamics. Usually it is working together with population genetics what role is to investigate the origin, the maintenance, the organization and the causes of genetic variation between natural populations. In the present study I reviewed the results of origin and phylogenetic studies of Brown hare populations from the last decades.

Keywords: brown hare, origin, genetics, literature

A JÉGKORSZAK HATÁSA

A ma élő fajok diverzitásának jelentős részét a pleisztocén jégkorszakok éghajlati ingadozásaival magyarázzák. A fokozatos, ám drámai éghajlati változásokat a populációk növekedése, csökkenése és elszigetelődése kísérte, ami elősegítette a genomban bekövetkező változások növekedését és a refúgiumok populációinak adaptációit, illetve számos taxonban allopatrikus fajképződést eredményezett.

Az elmúlt évtizedekben számos biogeográfiai kutatást végeztek azzal a céllal, hogy a negyedidőszak hideg periódusainak hatását vizsgálják az európai szárazföldi gerinces élővilág fajainak genetikai szerkezetére (Suchentrunk et al., 2000; Fedorov és Stenseth, 2001; Brito, 2005; Djan et al., 2006), mivel az ilyen jellegű kutatások egyre nagyobb jelentőséggel bírnak a fajmegőrzés tekintetében (Fickel et al., 2007). A fajok jelenlegi genetikai változatosságának kialakulására két fő elmélet létezik. (1) Az eljegesedett területek szélén található refúgiumokból indult ki a jégkorszak utáni rekolonizáció, illetve (2) a helyi, eljegesedett területeken található refúgiumokban a fajok túléltek, majd onnan szóródtak szét. Az első lehetőség esetében három fő európai refúgiumot határoznak meg: Ibériai-félsziget, Appennini-félsziget és a Balkán/Kis-Ázsia (Hewitt,

1996, 1999; Taberlet et al., 1998; Aksu et al., 1999; Branco et al., 2002). A második lehetőség esetében számos helyi refúgium is feltételezett. A kezdeti ellentmondások ellenére (Tzedakis et al., 2002, 2003; Stewart, 2003), egyre több bizonyíték szól amellett, hogy utóbbi történhetett nagyobb valószínűséggel, mivel ezt bizonyítja több kutatási eredmény az északi félteke mérsékelt éghajlatán élő fajok esetében, beleértve növényeket (Willis és Whittaker, 2000; Tzedakis et al., 2002) és kis emlősöket, mint például a makákó, a közönséges cickány, a vörös hátú erdei pocok, az északi pocok, a közönséges erdei egér, a közönséges erdei mókus és a szibériai örvös lemming (Bilton et al., 1998; Stewart és Lister, 2001; Brunhoff et al., 2003), valamint nagy emlősök közül például a gímszarvas (Lister, 1984) is. Azonban sok még a megválaszolatlan kérdés. Például azoknak a populációknak, amelyek az európai kontinenszenen ugyanazon refúgiumok forráspopulációiból rekolonizáltak, genetikailag hasonlóknak kellene, hogy legyenek mind egymáshoz, mind pedig azokhoz a populációkhoz, amelyek azokban a jeges területek szélén elhelyezkedő refúgiumokban maradtak, amelyekből elterjedtek. Ugyanakkor, mégis eltérőek azoknak a fajoknak a kisméretű populációi, amelyek a jégtakarók közötti védettebb helyi mikroklímákon éltek túl (Hewitt, 1996, 1999; Bilton et al., 1998; Stewart és Lister, 2001; Lister, 2004).

A pleisztocén éghajlati ingadozások nagyban befolyásolták az európai mezei nyúl (*Lepus europaeus*) demográfiáját is. Ez a közepes méretű emlős mérsékelt éghajlaton alakult ki. Természetes élőhelyeit azok visszaszorulása miatt inkább a mezőgazdasági területekre cserélte, melyekhez sikeresen adaptálódott. Az ember közvetítésével Ausztráliába, Új-Zélandra, Dél-Szibériába, a Távolsziget-Keletre, és Észak- és Dél-Amerikába is meghonosodott (Dietrich, 1984, 1985). Megtalálható az egész európai kontinensen (Lincoln, 1974) a Földközi-tenger északi partjaitól, a 60. északi szélességi fokig (Thulin et al., 1997).

A populációgenetika és a filogenetika történetüket tekintve egymástól viszonylag függetlenül kialakuló tudományágak, melyek különböző módszereket, modelleket használnak. A gének genealógiája és egy populáció vagy faj divergenciátörténete közötti kapcsolat megállapítása azonban szükségessé teszi mind a populációkon belüli keveredési folyamatok változatosságának, mind a populációk elválását követő másodlagos cserélődések lehetőségének együttes figyelembe vételét.

MEZEI NYÚL POPULÁCIÓK GENETIKAI SZERKEZETE

A *Lepus* nemzetségen belüli filogenetikai viszonyok pontos meghatározása komoly kihívást jelent a kutatóknak. A fenotipusos jellemzők taxonon belüli nagyfokú változatossága és a jellemzők számos taxon közötti széles átfedése, amelyek csak bizonyos körülmények között tudhatók be a fajok közötti konvergenciának, így akadályt gördítenek a tisztán morfológiai megközelítések alkalmazása elé (Flux és Angermann, 1990; Suchentrunk et al., 2008). Egyes fajok hibridizálódnak [pl. a *Lepus timidus*, *L. europaeus* vagy a *L. granatensis* (Thulin et al., 1997, 2006; Alves et al., 2003, 2008; Melo-Ferreira et al., 2005)], illetve a *Lepus* nemzetség relatíve rövid evolúciós története is hozzájárul a fajok közötti csekély génállomány-eltéréshez, ami az evolúció bonyolult folyamataira enged következtetni (Suchentrunk et al., 2008).

A kilencvenes évek végétől számos kutatást végeztek a mediterrán populációk közötti genetikai kapcsolatok tisztázásának céljából (Palacios, 1998; Kasapidis et al., 2005; Ben Slimen et al., 2006, 2007, 2008a,b; Scandura et al., 2007; Stamatis et al., 2008; Mamuris et al., 2010), azonban, ezek még mindig nem tisztázták teljes mértékben azokat a múltbéli történéseket, amelyekből a jelenlegi szerkezetek diverzitása fakad. Ez különösen igaz a földközi-tengeri szigetekre, ahol a helyi közösségek/populációk zártabban fejlődtek. Szemléletes példával szolgál Szardínia, ahol ezek az események gyökeresen átalakították a holocén eleji fauna összetételt. Mindazonáltal, azok az emlős populációk, amelyek feltehetőleg az ókor idején szóródtak szét, mint például a gímszarvas (*Cervus elaphus corsicanus*), a vaddisznó (*Sus scrofa meridionalis*) és a muflon (*Ovis aries musimon*), a szigeten független evolúción mentek keresztül, melynek eredményeképpen genetikai sajátosságok alakultak ki (Hiendleder et al., 2002; Hajji et al., 2008; Scandura et al., 2011). Kutatási eredmények alapján, úgy tűnik, hogy a szardíniai nyulak genetikai szerkezetének mai képéhez nagymértékben hozzájárult az emberi tevékenység (Suchentrunk et al., 2006;

Masseti és De Marinis, 2008). A jelenleg észak-afrikai partokon élő nyulakkal sorolják őket egy csoportba, melyekhez morfológiailag (Palacios, 1998) és genetikailag leginkább hasonlítanak (Pierpaoli et al., 1999, 2003; Alves et al., 2003; Scandura et al., 2007). Ezeket a populációkat számos szerző (Amori et al., 1996; Mitchell-Jones et al., 1999) a *L. capensis* (*L. c. mediterraneus*) névvel jelölt egyetlen alfajnak tekintette, habár számos más besorolást is javasoltak az elmúlt években, még faji szinten is (*L. mediterraneus*). Ha kizárjuk azt a feltételezést, hogy a szardíniai nyulak őshonosak Szardínián, arra alapozva, hogy a legrégebbi paleontológiai leletek egy késő bronzkori, illetve kora vaszkori lelőhelyről származnak, akkor a sziget populációja feltehetően néhány észak-afrikai őstől származik, akiket hajósok hozhattak magukkal (Suchentrunk et al., 2006). Ha a szardíniai nyulak populációja izolált maradt létrejötté óta, akkor lehetséges, hogy a forráspopulációtól függetlenül fejlődött. Kutatási eredmények alátámasztani látszanak ezt a feltételezést, és arra engednek következtetni, hogy a nyulak betelepülését egy demográfiai növekedés követte (Scandura et al., 2007). Azonban egy másik feltételezés szerint, a szardíniai nyulak nem maradtak teljesen izoláltak, hanem kapcsolatba kerültek a mezei nyúllal (*L. europaeus*), amelyet illegálisan telepítettek a szigetre vadászati céllal. Ezt feltételezik az olasz szárazföldön is, ahol egyes populációkat nem őshonos nyulakkal népesítettek újra, vagy cseréltek le teljes egészében (Pierpaoli et al., 1999; Kasapidis et al., 2005; Stamatis et al., 2008). Mivel a nyúl Szardínián az egyik legfontosabb vadászott apróvad faj, néhány tenyésztelepet is kialakítottak. Így különösen életszerű, hogy a múltban végbement a szardíniai és az európai nyulak keresztezése az előbbi szaporodási teljesítményének növelése érdekében. Érdekes módon Scandura et al. (2007) a szardíniai nyulak anyai vonalán ennek ellenére sem tudták kimutatni az idegen faj hatását. Perez-Suarez et al. (1994) eredményei azt mutatták, hogy az észak-spanyolországi mezei nyulak két különböző bevándorlási hullámban érkeztek az Ibériai-félszigetre. Egy másik kutatócsoport a mezei nyulak részleges mitokondriális DNS szekvenciáit elemezte, hogy megtudják, a faj jelenlegi genetikai szerkezete kizárólag Európa Kisázsiaiából (A klád) és a Balkánról (B klád) való jégkorszak utáni rekolonizációjának az eredménye-e, ahogy azt eddig feltételezték, vagy valószínűsíthetőek-e további refúgiumok. Ennek a vizsgálatnak az eredményei is arra utalnak, hogy több refúgium terület volt. Az olaszországi nyulak a várt genetikai szerkezetet mutatták, míg a közép-európai mezei nyúl haplotípusok egyértelműen olyan szerkezetet mutattak, ami akkor mutatkozik ha egy populáció palacknyak-hatást szenvedett és utána demográfiai növekedés következett be. Becsléseik szerint ez a populációnövekedés kb. 50–55 ezer évvel ezelőtt történt.

A közép-európai mezei nyulak genetikai szerkezetének vizsgálatára is vannak kutatások. Ezek szerint az emlősöknél megszokott mértéktől nagyobb a nyulak genetikai változatosságának szintje (Hartl et al., 1994). Ismereteink szerint Európa utolsó jégkorszak alatti éghajlata és vegetációja (Lang, 1994) olyan lehetett, ami a legtöbb területen kizárta a mezei nyulak előfordulását. Valószínűleg, az éghajlat enyhülése és a késő pleisztocén kori közép-európai tundra vegetáció tette

kedvező élőhelyé a mezei nyúl számára Közép-Európát. Ennek kolonizálása a keleti és délkeleti sztyeppékről, bokros területekről (valamint lehetséges, hogy Olaszországból és Délnyugat-Európából; Corbet, 1986) kiindulva történhetett meg. A faj Európába vezető útja során veszíthetett genetikai változatosságából is (Hoffmann és Parsons, 1997).

A mai Bulgária területe az utolsó jégkorszak idején a mezei nyúl fő dél- és dél-kelet-európai menedékhelyei közé tartozhatott. A késő pleisztocén korban ezt a régiót földnyelv kötötte össze Kis-Ázsiával (Lang, 1994); így az itt élő nyulak változatos géneket kaphattak a törökországi populációktól is, génáramlás történhetett és történik ma is Görögországból, a Fekete-tengertől északra és keletre fekvő területekről. Tulajdonképpen ezt a délkelet-európai területet egy zoológiai „útkereszteződésnek” is tekinthetjük (Cheylan, 1991). Bizonyítja ezt, számos szárazföldi emlősfaj jelenlegi földrajzi eloszlásának mintázata is (*Microtus guentheri*, *M. majori*, *Apodemus mystacinus*, *Myomimus roachi*, *Cricetulus migratorius*, *Vormella peregusna*, *Canis aureus*) (Niethammer és Krapp, 1978, 1982).

INTROGRESSZIÓ, HIBRIDIZÁCIÓ

A *Lepus* belüli taxonómiai bizonytalanságok oka lehet az alacsony génkészlet-divergencia vagy a nyúl-fajok közötti alkalmankénti hibridizációja. A vadon élő emlősfajok közötti hibridizáció a gének és genomok fajhatárokra átívelő introgresszióhoz vezethet. Így olyan evolúciós minták alakulhatnak ki, melyet különböző evolúciós vonalak közötti genetikai csere jellemz, ami pedig taxonómiai bizonytalanságokhoz vezet. Habár az introgresszió bármely genomrégiót érinthet, az introgresszió által előidézett diverzitást leginkább a mitokondriális DNS (mtDNS) vizsgálatokkal végzik (Ferris et al., 1983; Ruedi et al., 1997; Roca et al., 2005; Alves et al., 2006; Berthier et al., 2006). Megeshet olyan is, hogy egy-egy kutatási eredmény egymásnak erősen ellentmondó filogenetikai mintát ad, aszerint, hogy sejtmag vagy mtDNS markereket használnak (Bossu és Near, 2009; Spinks és Shaffer, 2009).

Az introgressziót vizsgáló kutatások legtöbb esetben a mtDNS módszert használják, ahogy történt ez a sarki nyúl (*Lepus timidus*) esetében is (Thulin et al., 1997, 2006; Alves et al., 2003; Melo-Ferreira et al., 2005, 2007; Suchentrunk et al., 2005; Fredsted et al., 2006). A mtDNS introgressziót nemcsak olyan területeken vizsgálják, ahol a sarki nyúl a befogadó fajokkal ma érintkezhet (*L. europaeus*-szal Svédországban és az Alpokban; Thulin et al., 1997, 2006; Suchentrunk et al., 2005), hanem olyan területeken is, ahol ma már nem él *L. timidus*, de korábban jelen volt, míg ki nem halt az utolsó jégkorszak végén (pl. a *L. granatensis*-szal és a *L. europaeus*-szal az Ibériai-félszigeten; Alves et al., 2003). Vannak olyan területek is, ahol a *L. timidus*-ból feltételezett mtDNS introgresszió olyan nagymértékű, hogy néhány populációban eléri a rögzülés szintjét is (Melo-Ferreira et al., 2005). A rendelkezésre álló adatok azt mutatják, hogy ezzel a közös „sarki” mtDNS vonallal legalább 10 másik faj is rendelkezik, melyek közül némelyik mérsékelt éghajlatú területeken él, mások pedig a sarkvidéken is előfordulnak, mind az Ó-, mind az Újvilágban (Alves et al., 2008). A fajok

közötti közös génvonal arra enged következtetni, hogy ősi polimorfizmus maradt fent predominánsan a nyulak elválása során (Alves et al., 2008). Egyes tanulmányok arra jutottak, hogy az introgresszív hibridizáció gyakran a mtDNS teljes lecserélődéséhez vezet helyi viszonylatban (Melo-Ferreira et al., 2005; Nyingi and Agnese, 2007; Good et al., 2008; Chen et al., 2009; Koblmüller et al., 2009; Runck et al., 2009), sőt a faj teljes eloszlásában is (Nevado et al., 2009). Úgy tűnik, az ilyen lecserélődések gyakoribbak, mint azt korábban gondolták, sőt befolyásolhatják a fajok eredetét és adaptációját is (Arnold et al., 2009).

Ha a hibridizáció újabb elváló fajok között történik, akkor a fajok között morfológiai átmenetek jöhetnek létre, ezzel is hozzájárulva a taxonómiai bizonytalanságokhoz. Úgy tűnik ilyen jellegű jelenség áll fenn a *Lepus* nemzetségben. Számos korábbi tanulmány bizonyította, hogy az introgresszív hibridizáció történt néhány *Lepus* nemzetségen belüli faj között. A *L. timidus* tényleges introgresszióját a *L. europaeus*-szal a 19. század során Svédországban mutatták ki (Thulin et al., 1997). Mivel a mezei nyulak közötti introgresszióknak nem volt nyoma az európai kontinensen (Hartl és Clark, 1993; Pierpaoli et al., 1999), Thulin (2000) szerint valószínűtlen, hogy az introgresszió időben megelőzte volna a mezei nyúl Svédországba való ember általi behozatalát. Kicsi a valószínűsége annak, hogy introgresszió által eredményezett mtDNS haplotípusokat találjanak a két faj mai érintkezési területein kívül. Azt a tényt, hogy olyan havasi nyúl haplotípusokat találtak a „svéd” mezei nyulakban, melyek közeli rokonságban álltak a finn és orosz havasi nyulak haplotípusaival, a két faj szabadon eresztés előtti fogságban történt hibridizációjával magyarázták a kutatók (Thulin et al., 1997; Thulin, 2000). A két faj közötti hibridnek tartott morfológiai átmeneteket szintén a *L. europaeus* behozatala óta figyeltek meg (Lönnberg, 1905). Ráadásul *L. timidus* nőstények és *L. europaeus* hímek hibridjeit könnyen létre lehet hozni fogságban is (Gustavsson és Sundt, 1965), és az F1 hibridek átmeneti jellegzetességeket mutatnak. Alves et al. (2003) és Melo-Ferreira et al. (2005, 2007) leírták az *L. timidus* egy ősi mtDNS introgresszióját a *L. granatensis*-szal és *L. europaeus*-szal az Ibériai-félszigeten, mely mára már eltűnt a félszigetről. A *L. europaeus*-ból a *L. timidus*-ba történő fordított irányú mtDNS introgressziót is leírták az Alpokban (Zachos et al., 2010) és Oroszországban (Thulin et al., 2006). Ezeknek az eredményeknek a fényében lehetséges, hogy introgresszív hibridizációs események történhetnek a kínai *Lepus* fajok között is, melyeknek legtöbbje földrajzilag átfedésben van a nemzetség más fajával (Luo, 1988; Hoffman és Smith, 2005; Pan et al., 2007). Ha valóban történik introgresszió a *Lepus* fajok között, akkor ez hozzájárulhat a kínai nyulakat érintő jelenlegi taxonómiai bizonytalanságokhoz (Koblmüller et al., 2009).

A fajhatárokon átívelő gén- és genomtranszfer új genetikai anyaggal szolgálhat a természetes kiválasztódás számára, melyen az kifejtheti hatását, és így megváltoztathatja a keveredésben résztvevő egyik, vagy mindkét taxon evolúciós irányát (Martin et al., 2006; Teeter et al., 2008; Arnold and Martin, 2009; Fitzpatrick et al., 2009). Ugyanakkor korábbi tanulmányok arra vetettek fényt, hogy az ibériai és svédországi nyulak

esetében nincsen nukleáris DNS introgresszió. Alves (2002) 14 autoszomális protein lokuszt használt ibériai *L. granatensis* populációk genetikai változatosságának vizsgálatára, és nem talált szignifikáns különbséget a *L. timidus* mtDNS introgresszió átment és az introgressziómentes populációk között. Hasonló eredményre jutottak egy mikroszatellit vizsgálat révén is (Estonba et al., 2006; Freitas, 2006). Melo-Ferreira et al. (2009) 10 autoszomális, két X-kötött és egy Y-kötött lokusz SNP vizsgálata arra jutott, hogy az autoszomális introgresszió általában szórványosan és kimutathatatlanul jelent meg, és a nemi kromoszóma introgresszió egyáltalán nem volt jelen az Ibériai-félsziget nyúlfajaiban. Roca et al. (2005) és Alves et al. (2008) szerint a sejtmag introgresszió hiánya a hibrid nőstények és a behatoló faj hímjeinek ismételt keresztezésével magyarázható, együttesen a hím hibridek sterilizálásával vagy életképtelenségével. Ez a keresztezési minta tulajdonképpen az egyik sejtmag genom lecserélődéséhez vezethetett néhány generáción belül. Ezt a következtetést megerősítették Thulin et al. (2006) eredményei is. Mikroszatellit vizsgálatokkal néhány olyan egyedet találtak, melyek genotípusai összhangban voltak a svédországi F1 hibridek genotípusaival. Ennek a megfigyelésnek az alap-

ján azt feltételezték, hogy a *L. timidusból* átvitt gének a behozatal és a kezdeti hibridizáció óta eltelt 50 generáció alatt eltűntek a *L. europaeus* populációkból. Ezen eredmények fényében felmerül a kérdés, hogy, ha a kínai *Lepus* fajok közötti introgresszió valóban fennáll, akkor mi az introgresszióból származó gének és genomok hagyatéka? Az egyik esetben a következő generációk során eltűnhetnek, vagy a másik lehetőség, hogy néhány hibrid genotípus valóban jobb alkalmassággal rendelkezhet a kínai populációkban, ami így további introgresszióhoz és az introgresszióból származó DNS rögzülésének lehetőségéhez, végső soron pedig új hibrid génvonalak (azaz hibrid fajok) kialakulásához vezet.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kutatás a TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

IRODALOM

- Aksu, A. E.–Hiscott, R. N.–Yasar, D. (1999): Oscillating Quaternary water levels of the Marmara Sea and vigorous outflow into the Aegean Sea from the Marmara Sea-Black Sea drainage corridor. *Mar. Geol.* 153: 275–302.
- Alves, P. C. (2002): Caracterização genética e biologia reprodutiva da lebre Ibérica, *Lepus granatensis*. Análise filogenética, diferenciação populacional e ciclo anual de reprodução. PhD thesis. University of Porto.
- Alves, P. C.–Ferrand, N.–Suchentrunk, F.–Harris, D. J. (2003): Ancient introgression of *Lepus timidus* mtDNA into *L. granatensis* and *L. europaeus* in the Iberian Peninsula. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 27: 70–80.
- Alves, P. C.–Harris, D. J.–Melo-Ferreira, J.–Branco, M.–Ferrand, N.–Suchentrunk, F.–Boursot, P. (2006): Hares on thin ice: introgression of mitochondrial DNA in hares and its implications for recent phylogenetic analyses. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 40: 640–641.
- Alves, P. C.–Melo-Ferreira, J.–Branco, M.–Suchentrunk, F.–Ferrand, N.–Harris, D. J. (2008): Evidence for genetic similarity of two allopatric European hares (*Lepus corsicanus* and *L. castroviejoii*) inferred from nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 46: 1191–1197.
- Amori, G.–Angelici, F. M.–Prigioni, C.–Vigna Taglianti, A. (1996): The mammal fauna of Italy: a review. *Hystrix.* 8: 3–7.
- Arnold, M. L.–Fogarty, N. D. (2009): Reticulate evolution and marine organisms: the final frontier? *Int. J. Mol. Sciences.* 10: 3836–3860.
- Arnold, M. L.–Martin, N. H. (2009): Adaptation by introgression. *J. Biol.* 8: 82.
- Ben Slimen, H.–Suchentrunk, F.–Memmi, A.–Sert, H.–Kryger, U.–Alves, P. C.–Elgaaied, A. B. A. (2006): Evolutionary relationships among hares from North Africa (*Lepus sp.* or *Lepus spp.*), Cape hares (*L. capensis*) from South Africa, and brown hares (*L. europaeus*), as inferred from mtDNA PCR-RFLP and allozyme data. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research.* 44: 88–99.
- Ben Slimen, H.–Suchentrunk, F.–Shahin, A. B.–Ben Ammar Elgaaied, A. (2007): Phylogenetic analysis of mtCR-1 sequences of Tunisian and Egyptian hares (*Lepus sp.* or *spp.*, *Lagomorpha*) with different coat colours. *Mammalian Biol Zeitschrift fur Säugetierkunde.* 72: 224–239.
- Ben Slimen, H.–Suchentrunk, F.–Ben Ammar Elgaaied, A. (2008a): On shortcomings of using mtDNA sequence divergence for the systematics of hares (genus *Lepus*): An example from cape hares. *Mammalian Biology.* 72: 25–32.
- Ben Slimen, H.–Suchentrunk, F.–Stamatis, C.–Mamuris, Z.–Sert, H.–Alves, P. C.–Kryger, U.–Shahin, A. B.–Ben Ammar Elgaaied, A. (2008b): Population genetics of cape and brown hares (*Lepus capensis* and *L. europaeus*): A test of Petter's hypothesis of conspecificity. *Biochemical Systematics and Ecology.* 36: 22–39.
- Berthier, P.–Excoffier, L.–Ruedi, M. (2006): Recurrent replacement of mtDNA and cryptic hybridization between two sibling bat species *Myotis myotis* and *Myotis blythii*. *Proc. R. Soc. London. B.* 273: 3101–3109.
- Bilton, D.–Miroslav, P. M.–Mascheretti, S.–Fredga, K.–Zima, J.–Searle, J. B. (1998): Mediterranean Europe as an area of endemism for small mammals rather than a source for northwards postglacial colonization. *Proceedings of the Royal Society. Biological Sciences.* 265: 1219–1226.
- Bossu, C. M.–Near, T. J. (2009): Gene trees reveal repeated instances of mitochondrial DNA introgression in Orangethroat Darters (Percidae: *Etheostoma*). *Systematic Biology.* 58: 114–129.
- Branco, M.–Monnerot, M.–Ferrand, N.–Templeton, A. R. (2002): Postglacial dispersal of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) on the Iberian Peninsula reconstructed from the nested glade and mismatch analyses. *Evolution.* 56: 792–803.
- Brito, P. H. (2005): Phylogeography of the Tawny Owl in Western Europe, Gene Flow and Species Limits. Doctoral Thesis. City University of New York. USA.

- Brunhoff, C.–Galbreath, K. E.–Fedorov, V. B.–Cook, J. A.–Jaarola, M. (2003): Holarctic phylogeography of the root vole (*Microtus oeconomus*): implications for Late Quaternary biogeography of high latitudes. *Molecular Ecology*. 12: 957–968.
- Chen, W.–Bi, K.–Fu, J. Z. (2009): Frequent mitochondrial gene introgression among high elevation Tibetan megophryid frogs revealed by conflicting gene genealogies. *Molecular Ecology*. 18: 2856–2876.
- Cheylan, G. (1991): Patterns of Pleistocene turnover, current distribution and speciation among Mediterranean mammals. [In: Groves, R. H.–Di Castri, F. (eds.) *Biogeography of Mediterranean Invasions*.] Cambridge University Press. Cambridge.
- Corbet, G. B. (1986): Relationships and origins of the European lagomorphs. *Mammalian Review*. 16: 105–110.
- Dietrich, U. (1984): Beitrag zum Status des europäischen Feldhasen (*Lepus europaeus* Pallas 1778) im südlichen Chile. *Z. Jagdwiss.* 30: 256–259. (in German)
- Dietrich, U. (1985): Populationsökologie des in Argentinien eingebürgerten europäischen Feldhasen (*Lepus europaeus*). *Z. Jagdwiss.* 31: 92–102. (in German)
- Djan, M.–Obrecht, D.–Vapa, L. (2006): Polymorphism of mtDNA regions in brown hare (*Lepus europaeus*) populations from Vojvodina (Serbia and Montenegro). *European Journal of Wildlife Research*. 52: 288–291.
- Estonba, A.–Solis, A.–Iriondo, M.–Sanz-Martin, M. J.–Perez-Suarez, G.–Markov, G.–Palacios, F. (2006): The genetic distinctiveness of the three Iberian hare species: *Lepus europaeus*, *L. granatensis* and *L. castroviejoi*. *Mammalian Biology*. 71: 52–59.
- Fedorov, V. B.–Stenseth, N. C. (2001): Glacial survival of the Norwegian lemming (*Lemmus lemmus*) in Scandinavia: inference from mitochondrial DNA variation. *Proc. Royal Soc.* 268: 809–814.
- Ferris, S. D.–Sage, R. D.–Huangj, C. M.–Nielsen, J. T.–Ritte, U.–Wilson, A. C. (1983): Flow of mitochondrial DNA across species boundary. *PNAS*. 80: 2290–2294.
- Fickel, J.–Wagener, A.–Ludwig, A. (2007): Semen cryopreservation and the conservation of endangered species. *European Journal of Wildlife Research*. 53: 81–89.
- Fitzpatrick, B. M.–Johnson, J. R.–Kump, D. K.–Shaffer, H. B.–Smith, J. J.–Voss, S. R. (2009): Rapid fixation of non-native alleles revealed by genome-wide SNP analysis of hybrid Tiger Salamanders. *BMC Evol. Biol.* 9: 176.
- Flux, J. E. C.–Angermann, R. (1990): The hares and jackrabbits. [In: Chapman, J. A.–Flux, J. E. C. (eds.) *Rabbits, hares and pikas*. Status survey and conservation action plan.] IUCN. Gland. Switzerland.
- Fredsted, T.–Wincentz, T.–Villesen, P. (2006): Introgression of mountain hare (*Lepus timidus*) mitochondrial DNA into wild brown hares (*Lepus europaeus*) in Denmark. *BMC Ecology*. 6: 17.
- Freitas, H. (2006): Natural hybridization between the Iberian hare (*Lepus granatensis*) and the brown hare (*L. europaeus*) in northern Iberian Peninsula. MSc thesis. Faculdade de Ciências do Porto. Porto. Portugal.
- Good, J. M.–Hird, S.–Reid, N.–Demboski, J. R.–Steppan, S. J.–Martin-Nims, T. R.–Sullivan, J. (2008): Ancient hybridization and mitochondrial capture between two species of chipmunks. *Molecular Ecology*. 17: 1313–1327.
- Gustavsson, I.–Sundt, C. O. (1965): Anwendung von künstlicher befruchtung bei der hybridisierung von zwei Hasenarten. *Z. Jagdwiss.* 11: 155–158.
- Hajji, G. M.–Charfi-Cheikrouha, F.–Lorenzini, R.–Vigne, J. D.–Hartl, G. B.–Zachos, F. E. (2008): Phylogeography and founder effect of the endangered Corsican red deer (*Cervus elaphus corsicanus*). *Biodiversity and Conservation*. 17: 659–673.
- Hartl, D. L.–Clark, A. G. (eds.) (1993): *Principles of Population Genetics (Genetica di popolazione)*. Zanichelli. Bologna.
- Hartl, D. L.–Moriyama, E. N.–Sawyer, S. A. (1994): Selection intensity for codon bias. *Genetics*. 138: 227–234.
- Hiendleder, S.–Kaupe, B.–Wassmuth, R.–Janke, A. (2002): Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proc. R. Soc. London. Biol. Sci.* 269: 893–904.
- Hewitt, G. M. (1996): Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of Linnean Society*. 58: 247–279.
- Hewitt, G. M. (1999): Post-glacial recolonization of European biota. *Biological Journal of Linnean Society*. 68: 1–2.
- Hoffmann, A. A.–Parsons, P. A. (1997): *Extreme environmental change and evolution*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Hoffmann, R. S.–Smith, A. T. (2005): Order Lagomorpha. [In: Wilson, D. E.–Reeder, D. M. (eds.) *Mammal Species of the World*. 3rd edition.] Baltimore. Johns Hopkins University Press. 198–205.
- Kasapidis, P.–Suchentrunk, F.–Magoulas, A.–Kotoulas, G. (2005): The shaping of mitochondrial DNA phylogeographic patterns of the brown hare (*Lepus europaeus*) under the combined influence of Late Pleistocene climatic fluctuations and anthropogenic translocations. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 34: 55–66.
- Koblmüller, S.–Nord, M.–Wayne, R. K.–Leonard, J. A. (2009): Origin and status of the Great Lakes wolf. *Molecular Ecology*. 18: 2313–2316.
- Lang, G. (1994): *Quartäre vegetations Geschichte Europas*. Methoden und ergebnisse. G. Fischer. Jena. 62.
- Lincoln, G. A. (1974): Reproduction and March madness in the Brown hare, *Lepus europaeus*. *J. Zool. Lond.* 174: 1–14.
- Lister, A. M. (1984): Evolutionary and ecological origins of British deer. *Proc. Royal Soc. Edinburgh*. 82: 205–229.
- Lister, A. M. (2004): The impact of Quaternary Ice Ages on mammalian evolution. *Phil Trans R. Soc. Lond. B*. 359: 221–241.
- Lönberg, E. (1905): On hybrids between *Lepus timidus* L. and *Lepus europeus* Pall. from southern Sweden. *Proc. Zool. Soc. London*. 1: 278–287.
- Luo, Z. X. (1988): *The Chinese hare*. Beijing. China Forestry Publishing House.
- Mamuris, Z.–Moutou, K. A.–Stamatis, C.–Sarafidou, T.–Suchentrunk, F. (2010): Y DNA and mitochondrial lineages in European and Asian populations of the brown hare (*Lepus europaeus*). *Mammalian Biology*. 75: 233–242.
- Martin, N. H.–Boucek, A. C.–Arnold, M. L. (2006): Detecting adaptive trait introgression between *Iris fulva* and *I. brevicaulis* in highly selective field conditions. *Genetics*. 172: 2481–2489.
- Masetti, M.–De Marinis, A. M. (2008): Prehistoric and historic artificial dispersal of Lagomorphs on the Mediterranean islands. [In: Alves P. C. et al. (eds.) *Lagomorph biology*. Evolution, ecology, and conservation.] Springer. Berlin–Heidelberg–New York. 13–25.
- Melo-Ferreira, J.–Boursot, P.–Suchentrunk, F.–Ferrand, N.–Alves, P. C. (2005): Invasion from the cold past: extensive introgression of mountain hare (*Lepus timidus*) mitochondrial DNA into three other hare species in northern Iberia. *Molecular Ecology*. 14: 2459–2464.
- Melo-Ferreira, J.–Boursot, P.–Randi, E.–Kryukov, A.–Suchentrunk, F.–Ferrand, N.–Alves, P. C. (2007): The rise and fall of the mountain hare (*Lepus timidus*) during Pleistocene glaciations: expansion and retreat with hybridization in the Iberian Peninsula. *Molecular Ecology*. 16: 605–618.
- Melo-Ferreira, J.–Alves, P. C.–Freitas, H.–Ferrand, N.–Boursot, P. (2009): The genomic legacy from the extinct *Lepus timidus* to the three hare species of Iberia: contrast between mtDNA, sex chromosomes and autosomes. *Molecular Ecology*. 18: 2643–2658.

- Mitchell-Jones, A. J.–Amori, G.–Bogdanowicz, W.–Krytufek, B.–Reijnders, P. J. H.–Spitzenberger, F.–Stubbe, M.–Thissen, J. B. M.–Vohralik, V.–Zima, J. (1999): The atlas of European Mammals. T and AD Poyser. London. 484.
- Niethammer, J.–Krapp, E. (1978): Handbuch der Säugetiere Europas. Band 111: Rodentia I. Akademische Verlagsgesellschaft. Wiesbaden.
- Niethammer, J.–Krapp, E. (1982): Handbuch der Säugetiere Europas. Band 2/1: Rodentia II. Akademische Verlagsgesellschaft. Wiesbaden.
- Nevado, B.–Kobl Müller, S.–Sturmbauer, C.–Snoeks, J.–Usnao-Aleman, J.–Verheyen, E. (2009): Complete mitochondrial DNA replacement in a Lake Tanganyika cichlid fish. *Molecular Ecology*. 18: 4240–4255.
- Nyingi, D.–Agné, J. J. (2007): Recent introgressive hybridization revealed by exclusive mtDNA transfer from *Oreochromis leucostictus* (Trewavas, 1933) to *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) in Lake Baringo, Kenya. *J. Fish. Biol.* 70: 148–154.
- Palacios, F. (1998): Diversity of hares in Europe. Abstracts of Euro American Mammal Congress. Santiago de Compostella. Universidad de Santiago de Compostella. Spain. 85.
- Pan, Q. H.–Wang, Y. X.–Yan, K. (2007): A Field Guide to the Mammals of China. Beijing. China Forestry Publishing House.
- Pierpaoli, M.–Riga, F.–Trocchi, V.–Randi, E. (1999): Species distinction and evolutionary relationships of the Italian hare (*Lepus corsicanus*) as described by mitochondrial DNA sequencing. *Molecular Ecology*. 8: 1805–1817.
- Pierpaoli, M.–Riga, F.–Trocchi, V.–Randi, E. (2003): Hare populations in Europe: intra and interspecific analysis of mtDNA variation. *C. R. Biology*. 326: 80–84.
- Perez-Suarez, G.–Palacios, F.–Boursot, P. (1994): Speciation and paraphyly in western Mediterranean hares (*Lepus castroviejoi*, *L. europaeus*, *L. granatensis* and *L. capensis*) revealed by mitochondrial DNA phylogeny. *Biochemical Genetics*. 32: 423–437.
- Roca, A. L.–Georgiadis, N.–O'Brien, S. J. (2005): Cytonuclear genomic dissociation in African elephant species. *Nat. Genetics*. 37: 96–100.
- Ruedi, M.–Smith, M. F.–Patton, J. L. (1997): Phylogenetic evidence of mitochondrial DNA introgression among pocket gophers in New Mexico (family Geomyidae). *Molecular Ecology*. 6: 453–462.
- Runk, A. M.–Matocq, M. D.–Cook, J. A. (2009): Historic hybridization and persistence of a novel mito-nuclear combination in red-backed voles (genus *Myodes*). *BMC Evol. Biol.* 9: 114.
- Scandura, M.–Iacolina, L.–Ben Slimen, H.–Suchentrunk, F.–Apollonio, M. (2007): Mitochondrial CR-1 variation in Sardinian hares and its relationships with other old world hares (genus *Lepus*). *Biochemical Genetics*. 45: 305–323.
- Scandura, M.–Iacolina, L.–Apollonio, M. (2011): Genetic diversity in the European wild boar *Sus scrofa*: phylogeography, population structure and wild x domestic hybridization. *Mammal Review*. 41: 125–137.
- Spinks, P. Q.–Shaffer, H. B. (2009): Conflicting mitochondrial and nuclear gene phylogenies for the widely disjunct *Emys* (Testudines: *Emydidae*) species complex, and what they tell us about biogeography and hybridisation. *Systematic Biology*. 58: 1–20.
- Stamatis, C.–Giannouli, S.–Suchentrunk, F.–Sert, H.–Stathopoulos, C.–Mamuris, Z. (2008): Recruitment of mitochondrial tRNA genes as auxiliary variability markers for both intra- and interspecies analysis: the paradigm of brown hare (*Lepus europaeus*). *Gene*. 410: 154–164.
- Stewart, J. R. (2003): Comment on “Buffered tree population changes in a Quaternary refugium: evolutionary implications”. *Science*. 299: 825.
- Stewart, J. R.–Lister, A. M. (2001): Cryptic northern refugia and the origins of the modern biota. *Tree*. 11: 608–613.
- Suchentrunk, F.–Michailov, C.–Markov, G.–Haiden, A. (2000): Population genetics of Bulgarian brown hares *Lepus europaeus*: allozymic diversity at zoogeographical crossroads. *Acta Theriologica* (Warszawa). 45: 1–12.
- Suchentrunk, F.–Mamuris, Z.–Stamatis, C.–Ben Slimen, H.–Hacklander, K.–Haerer, G.–Giacometti, M. (2005): Introgressive hybridization in wild living mountain hares (*L. timidus varronis*) and brown hares (*L. europaeus*) and morphological consequences. *Mammalian Biology*. 70: 39–40.
- Suchentrunk, F.–Ben Slimen, H.–Stamatis, C.–Sert, H.–Scandura, M.–Apollonio, M.–Mamuris, Z. (2006): Molecular approaches revealing prehistoric, historic, or recent translocations and introductions of hares (genus *Lepus*) by humans. *Human Evolution*. 21: 151–165.
- Suchentrunk, F.–Ben Slimen, H.–Sert, H. (2008): Phylogenetic aspects of nuclear and mitochondrial gene-pool characteristics of South and North African Cape hares (*Lepus capensis*) and European hares (*L. europaeus*). [In: Alves, P. C. et al. (eds.) *Lagomorph Biology: Evolution, Ecology and Conservation*.] Springer. Berlin–Heidelberg–New York. 65–88.
- Taberlet, P.–Fumagalli, L.–Wust-Saucy, A. G.–Cosson, J. F. (1998): Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology*. 7: 453–464.
- Teeter, K. C.–Payseur, B. A.–Harris, L. W.–Bakewell, M. A.–Thibodeau, L. M.–O'Brien, J. E.–Krenz, J. G.–Sans-Fuentes, M. A.–Nachman, M. W.–Tucker, P. K. (2008): Genome-wide patterns of gene flow across a house mouse hybrid zone. *Genome Research*. 18: 67–76.
- Thulin, C. G. (2000): Hybridization between introduced Brown hares and native mountain hares in Sweden. PhD Thesis. Uppsala University.
- Thulin, C. G.–Jaarola, M.–Tegelstrom, H. (1997): The occurrence of mountain hare mitochondrial DNA in wild brown hares. *Molecular Ecology*. 6: 463–467.
- Thulin, C. G.–Fang, M.–Averianov, A. O. (2006): Introgression from *Lepus europaeus* to *L. timidus* in Russia revealed by mitochondrial single nucleotide polymorphisms and nuclear microsatellites. *Hereditas*. 143: 68–76.
- Thulin, C. G.–Stone, J.–Tegelström, H.–Walker, C. W. (2006): Species assignment and hybrid identification among Scandinavian hares *Lepus europaeus* and *L. timidus*. *Wildlife Biology*. 12: 29–38.
- Tzedakis, P. C.–Lawson, I. T.–Frogle, M. R.–Hewitt, G. M.–Preece, R. C. (2002): Buffered tree population changes in a Quaternary refugium: evolutionary implications. *Science*. 297: 2044–2047.
- Tzedakis, P. C.–Lawson, I. T.–Frogle, M. R.–Hewitt, G. M.–Preece, R. C. (2003): Reply to comment on “Buffered vegetation changes in a Quaternary refugium: evolutionary implications”. *Science*. 299: 825.
- Willis, K. J.–Whittaker, R. J. (2000): The refugial debate. *Science*. 287: 1406–1407.
- Zachos, F. E.–Ben Slimen, H.–Hackländer, K.–Giacometti, M.–Suchentrunk, F. (2010): Regional genetic in situ differentiation despite phylogenetic heterogeneity in Alpine mountain hares. *Journal of Zoology*. 282: 47–53.