



FOTO: JAN-MICHAEL BREIDER



FOTO: HANS BISTER

Bild 1a. Azurmesindivider (Sörnoret till vänster och Öland till höger) som underkändes som sannolika hybrider av Raritetskommittén 2019.

Azurmes, surmes eller mitt emellan

– VI HAR ETT RESULTAT

Äntligen är den här. Genomgången av azurliknande mesar med förmodade blåmesinslag är klar. Kan vetenskapen hjälpa till att få tillbaka Sörnoret och Grönhögen? Bör alla godkända azurmesar i Europa strykas? Måste vi ändra vår syn på vad en hybrid är? Följ med i labyrinten av kryss och genetik.

TEXT: MARTIN IRESTEDT, FRANK JOHANSSON, LIP THÖRN OCH JOHAN NYLANDER

FÖR OSS KRYSSARE är det centralt att identifiera fåglar till den taxonomiska kategorin art, så att de kan räknas och adderas till krysslister. Den nuvarande taxonomiska trenden, där taxa som tidigare betraktats som underarter uppraderas till artnivå, har direkt påverkan på denna aktivitet.

De ”nya” arterna är ofta närbesläktade och vi kommer därför att få många nya utmaningar när det gäller artbestämning i fält – i vissa fall kan detta enbart göras baserat på DNA. Dessutom kommer vi att i högre grad behöva ta ställning till individer som har uppkommit genom korsning mellan arter, s.k. hybrider, eftersom hybridisering är vanligare mellan närbesläktade arter.

En ökad medvetenhet om att fåglar

hybridiserar har redan fått konsekvenser för svenska skådares krysslister. Fynden av azurmes är ett exempel, där två av totalt fyra svenska fynd underkändes som sannolika hybrider år 2019 av Raritetskommittén baserat på att dessa individer uppvisade mindre avvikelser i fjäderdräkten (Corell mfl., 2019).

Eftersom dessa två individer (bild 1a), Sörnoret 1996 och Öland 2016, hade kryssats av mängder av fågelskådare (bild 1b), och utseendemässigt inte avvek nämnvärt från azurmes vållade beslutet en hel del diskussion i skådarleden. Frågor som ställdes var tex. om avvikelserna möjligen kunde vara naturlig variation, om det går att utesluta att även de accepterade fynden kan vara hybrider, och hur många procent

hybridinslag som behövs för att klassa en individ som hybrid (vi människor har ju trots allt ett mindre hybridinslag från neandertalare).

Detta väckte idén att genetiskt undersöka hybridinslaget hos förmodade hybrider

Bild 1c. Ett av uppropen i Roadrunner för att finansiera denna studie.



Bild 1b. Skådare som kryssar den sedemera underkända fågeln från Grönhögen, Öland 2016.

FOTO: HANS BISTER



mellan azurmes och blåmes. För att finansiera kostnaderna för genomsekvensering annonserade vi projektet under parollen ”Rädda ditt X på azurmes” (bild 1c) i Roadrunner, och bad om finansiellt stöd från kryssare i Sverige. I denna artikel redovisar vi resultaten från detta projekt och diskuterar om och hur resultaten kan tillämpas i klassificeringen av hybrider generellt, och de svenska fynden av azurmes i synnerhet (en mer utförlig artikel kommer att publiceras i lämplig vetenskaplig tidskrift).

Den genetiska studien

Inom azur/blåmeskomplexet erkänns idag ett antal arter, men det är enbart den europeiska blåmesen som har en utbredning som gränsar till och delvis överlappar azurmesens utbredning. Det gemensamma utbredningsområdet för dessa två arter sträcker sig över hela Palearktis, där blå-



Bild 1d. Fågelskinn av azurmes förvarade i Naturhistoriska riksmuseets samlingar av vilka några genom sekvenserats för denna studie.

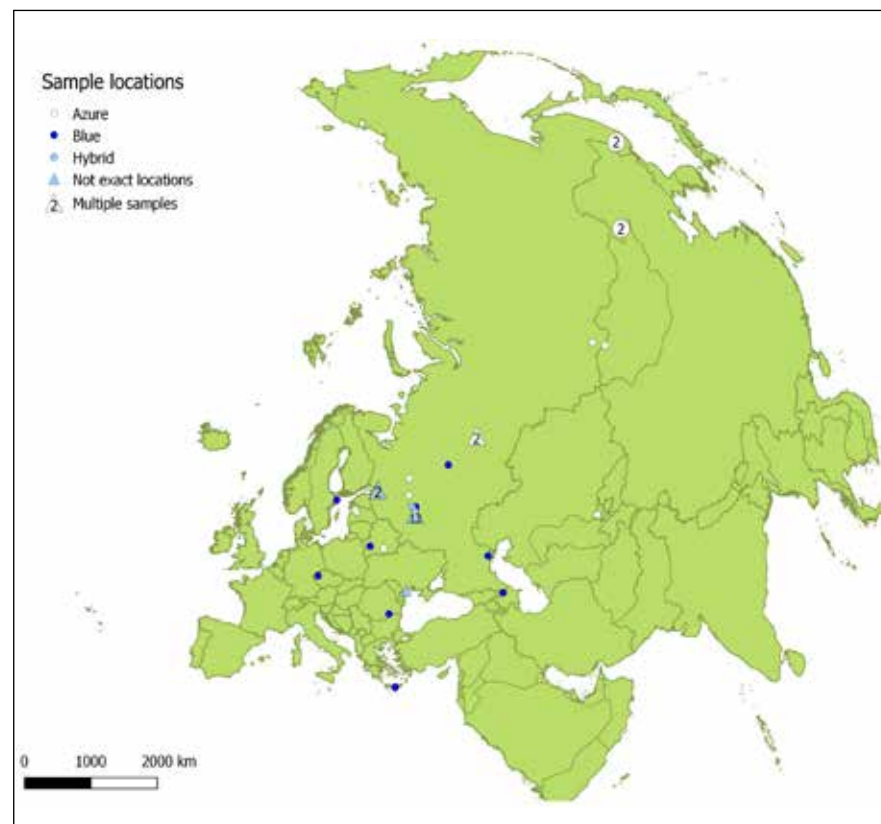


Bild 2. Karta över insamlingslokaler för proverna som ingår i denna studie. Färgerna på ringarna och trianglarna symboliserar hur individerna klassats morfologiskt, där mörkblå motsvarar blåmes, ljusblå hybrid och vit azurmes. Ringar symboliserar prover med tillförlitliga lokaldata, medan trianglar symboliserar prover som har mer osäkra lokaldata.

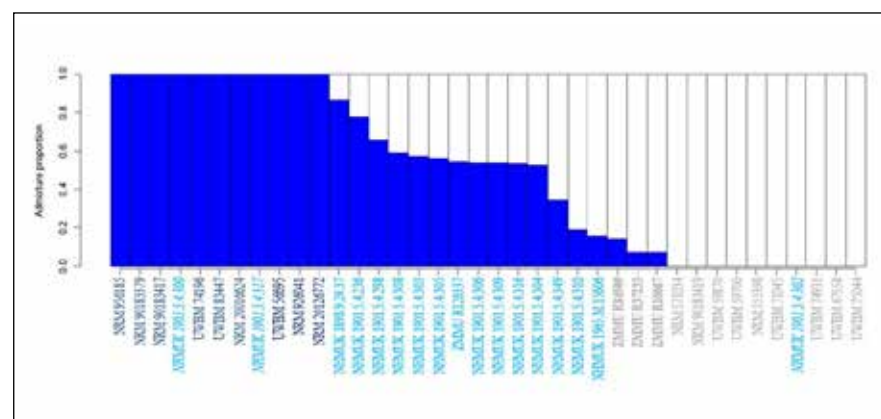


Bild 3. Resultaten från analys av genetisk blandning (genetic admixture). Färgen på individens vouchernummer indikerar om den morfologiskt bedöms som blåmes (mörkblå), hybrid (ljusblå) eller azurmes (grå). Staplarna visar i vilka proportioner undersökta fåglar har uppskattats vara blåmes (blå) respektive azurmes (vit). Alla individer som utseendemässigt hade bedömts vara blåmesar bedöms också genetiskt som rena blåmesar, medan tre azurmesar (markerade i fet text) som utseendemässigt bedömts som rena azurmesar (R-84509, R37233 och R-10667) genetiskt uppvisar hybridinslag av blåmes. Av tre individer som utseendemässigt bedömts som hybrider (markerade i kursivt) är två genetiskt rena blåmesar (BMNH_1901.5.4.300 och BMNH_1901.5.4.317) medan en individ bedömd som azurmeslik hybrid (BMNH_1901.5.4.302) är genetiskt en ren azurmes. Den senare är dock även ren utifrån de morfologiska kriterier som Raritetskommittén har använt.

mesen huvudsakligen påträffas i Europa och azurmesen i Asien.

Att dessa två arter ibland hybridiserar och att hybrider kan variera i fjäderdräkt från att framstå som nästan rena azurmesar till nästan rena blåmesar har varit känt sedan i början av 1900-talet. Variation i utseende hos hybrider tyder på att första generationens hybrider (sk. F1-hybrider) kan återkorsa sig med både blåmes och azurmes.

Sekvensering av 17 individer

För att undersöka hybridinslaget hos förmodade hybrider mellan azurmes och blåmes sekvenserade vi genomen från 17 individer som utseendemässigt klassats som hybrider. Dessa individer varierade i utseende från att mer eller mindre se ut som en blåmes, till de som istället var extremt lika en azurmes. Materialet inkluderar även individer som påminner om de två underkända svenska fynden (från vilka DNA-prover saknas).

Som referenser sekvenserade vi också genomen från 9 blåmesar och 12 azurmesar utspridda över deras respektive utbredningsområde (se karta bild 2). Det flesta DNA-prover i studien kom från äldre museiematerial (bild 1d), och för att kartlägga de miljontals korta DNA-fragment som man får fram från sådana prover använde vi ett genom från talgoxe som mall. På så sätt kunde vi utforska hundratals variabla positioner utspridda över genomen och jämföra den genetiska variationen hos azurmesar och blåmesar samt bedöma hybridinslag hos förmodade hybrider.

Att bedöma hybridinslag utifrån fjäderdräkt kan vara missvisande

Våra resultat bekräftar att hybridisering förekommer mellan blåmes och azurmes. Artgränsen är alltså delvis genomtränglig, eftersom vi genetiskt kan bekräfta återkorsningar i båda riktningarna (bild 3). Hybridanalysen visar dessutom ett hybridinslag i västliga azurmesar som morfologiskt bedömts som rena, men att inget hybridinslag finns i någon av de undersökta blåmesarna. En populationsstrukturanalys (bild 4) visar ett likartat mönster då azurmesarna är mer spridda längs den axel (PC 1) som skiljer de två arterna åt, medan blåmesarna grupperar sig närmare varandra utmed denna axel. Detta tyder på att genflödet övervägande är från blåmes

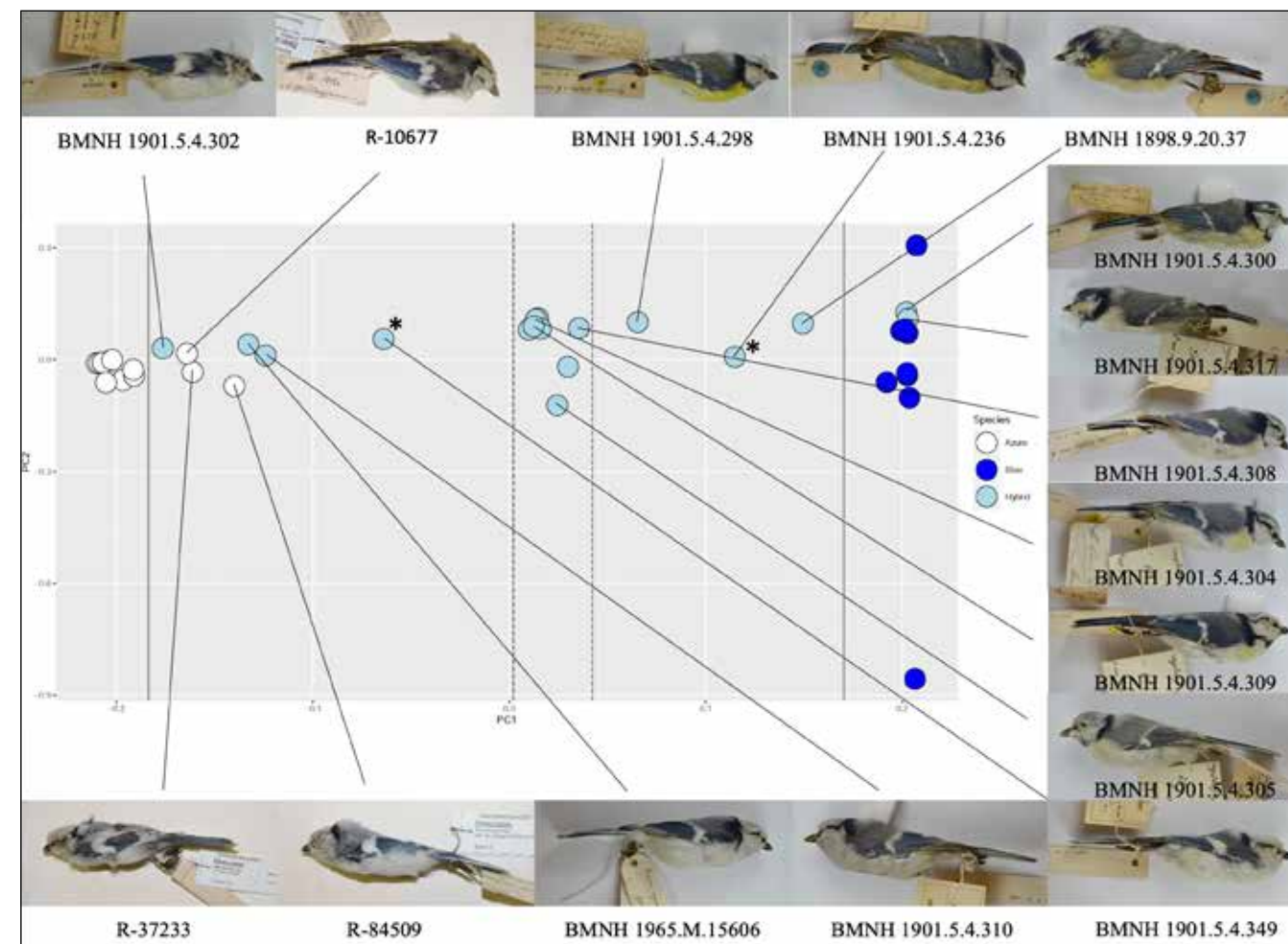


Bild 4. Principalkomponentanalys (PCA) på den genetiska variationen hos azurmesar och blåmesar samt foton på ett urval av de fåglar som ingår i analysen. PCA₁ är den axel som främst separerar azurmesar från blåmesar. Noterbart är att azurmesar (vita prickar) har en större spridning utmed denna axel än blåmesar (mörkblåa prickar). Alla F1-hybrider (innanför de streckade linjerna) är utseendemässigt tämligen homogena och har ett intermediärt utseende mellan azurmes och blåmes ("Pleskes mes"), medan återkorsningar av F1-hybrider med azurmes eller blåmes (individer mellan de streckade och heldragna linjerna) blir morfologiskt lika den art som de har återkorsats med. En individ (BMNH-1901.5.4.298) avviker något från detta mönster men hybridanalysen indikerar att det är en tillbakakorsning som har återkorsats med en F1-hybrid. Individerna markerade med asterisk bedöms vara återkorsningar mellan en F1 hybrid och en ren azurmes respektive ren blåmes.

till azurmes, en så kallad asymmetrisk hybridisering. Hybridanalysen (bild 3) visar dessutom att genomen hos alla individer som bedömts som F1-hybrider har ett blåmesinnehåll som är något högre än 50% (mellan 52 och 59%). Detta indikerar att F1-hybridisering sker mellan "rena" blåmesar och populationer av azurmes som i sig själva har ett visst hybridinslag.

Det är intressant att notera att alla indi-

vider som bedömts som F1-hybrider (och återkorsningar med azurmesar) har mitokondriella genom av azurmesstyp. Eftersom mitokondrien ärvs av modern tyder detta på att blåmesanar hybridiserar med azurmesar av honkön oftare än vice versa.

Retroproduktiva barriärer

Med tanke på att hybrider är sällsynta utanför regionen där de två arterna överlappar varandra, och att hybridzonen är relativt smal, råder det däremot ingen tvekan om att det finns reproduktiva barriärer som förhindrar fritt genflöde och total sammanmältning av dessa två arter.

Fjäderdräkten hos F1-hybrider mellan azurmes och blåmes (individer som genetiskt är ca 50% azurmes och 50% blåmes), så kallade Pleskes mes, har antagits vara kännetecknad av intermediära karaktärer. Jämfört med azurmes har sådana hybrider mörkare hjässa, blekare gråaktiga överdelar, mindre vitt i stjärt och större täckare, samt en undersida med spår av mörk krage och/eller gulaktiga inslag.

De individer som genetiskt bedöms som F1-hybrider i denna studie uppvisar alla sådana intermediära drag (bild 4). Individer som genetiskt bedömts som återkorsningar liknar däremot överlag den art som de har återkorsats med (bild 4). Hos återkorsningar finns det en viss korrelation mellan

»En ökad medvetenhet om att fåglar hybridiserar har redan fått konsekvenser för svenska skådares krysslister«

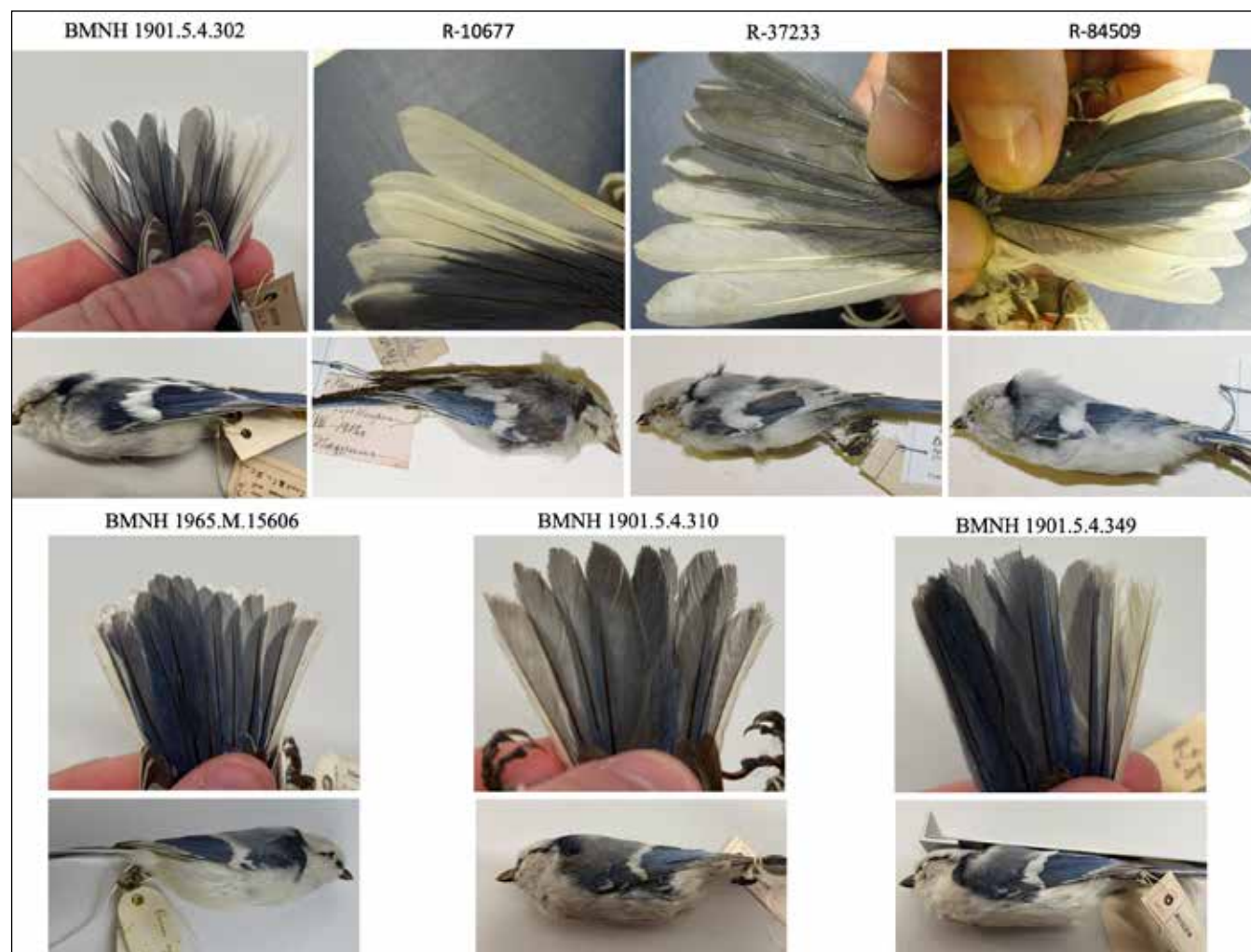


Bild 5. Variation i stjärt och vingteckning hos azurmesar med hybridinslag samt individen (BMNH 1901.5.4.302) som klassificerats som hybrid men som genetiskt är en "ren" azurmes. Det är noterbart hur mycket stjärtteckningen kan skilja sig mellan individer med likartat hybridinslag (R84509, BMNH 1965.M.15606 och BMNH 1901.5.4.310).

graden av hybridinslag och hur lik man är den art som är genetiskt dominerande. Som exempel har azurmes-lik hybridiser med förhållandevis mindre hybridinslag generellt mer vitt i handtäckare och stjärt (bild 5).

Detta bekräftar att de fjäderdräktskarakterer som används för att bedöma hybridinnehåll hos azurmesar har en viss relevans för att detektera hybridinslag. Hos flera hybridiserande artpar av skogssångare har man visat att det är relativt få regioner i genomen styr uttrycken av fjäderdräkt (färger osv.).

Dessa studier visar också att fjäderdräkten hos återkorsningar inte är direkt korrelerade med det procentuella hybridinnehållet, utan med vilka genvarianter som har nedärvt (tex. Toews mfl., 2016). Detta kan förklaras av rekombination under meiosen

(när könscellerna smälter samman under befruktningen). Hos F1 hybridiser kommer varje kromosompar tillsammans innehålla lika mycket arvs massa från båda föräldrarna, medan de enskilda kromosomerna i kromosomparen kan ha ett varierande innehåll. Detta innebär i sin tur att återkorsningar kommer få mosaikgenom som varierar individuellt, där de avsnitt på kromosomerna som är "rena" och respektive "hybrid" varierar individuellt (bild 6). Man kan därför förvänta sig att fjäderdräkten kommer vara tämligen konstant hos F1 hybridiser men variera hos tillbakakorsningar (dvs korrelerat till hur många, och vilka av de genvarianter som styr fjäderdräkten som har nedärvt, snarare än till ett genomsnittligt hybrid-

»Det finns ingen fix procentgräns som avgör hur hybridiser ska klassificeras utan det är helt godtyckligt«

innehåll). Det är alltså inte förvånande att några individer som är morfologiskt bestämda som rena azurmesar i denna studie uppvisar liknande hybridnivåer som morfologiskt bedömda hybridiser (bild 3).

Är alla azurmesar i Europa hybridiser?

Sammantaget visar resultatet att ett mindre hybridinslag är utbrett hos azurmesar i den västra delen av utbredningsområdet. Det är därför sannolikt många av de "rena" azurmesar som observerats utanför dess naturliga utbredning i Europa också har

ett visst hybridinslag. Dräktkarakterer som används för att bedöma hybridinslag kan vara användbara i viss grad, men eftersom återkorsningar kommer att ha mosaikgenom som varierar individuellt kommer bedömningar utifrån fjäderdräkt med största sannolikhet resultera i att individer med likartade hybridinslag ibland kommer att klassas som "rena" och ibland som hybridiser.

En naturlig inomartsvariation innehåller även gener från andra arter

Allt mer forskning visar att hybridisering förekommer frekvent i naturen och spelar en viktig roll i många biologiska processer. Till exempel har man visat att det förekommer arter som är resultatet av hybridisering (t.ex. italiensk sparv) och att överföring av genetiskt material genom hybridisering kan ha en viktig evolutionär betydelse (t.ex. under evolutionen av olika näbbtyper hos darwinfinkar). Eftersom hybridisering följaktligen är en naturlig del i många evolutionära processer kan vi förvänta oss att närstående arter kommer att hybridisera mer eller mindre frekvent. Den äldre uppfattningen att hybridiser enbart är evolutionära återvändsgränder och att artgränser är absoluta har för länge sedan avfärdats. Detta ställer förstås till problem för kryssare som vill sortera individer i olika "fack", (dvs kryssbara arter), då det naturligt förekommer individer med alla möjliga nivåer av hybridinslag hos artpar där genutbyte förekommer. Det finns därför inget facit eller en fix procentgräns som avgör hur hybridiser bör klassificeras utan det är helt godtyckligt.

Hur kan man "greppa hybridiser"?

I sin genomgång av fynden av azurmes skriver Raritetskommittén att de "eftersträvar att konsekvent publicera fåglar som hybridiser om dokumentationen visar att de faller utanför ramen för rena fåglar" (Corell mfl., 2019). Med termen "ramen för rena fåglar" syftar Raritetskommittén på den inomartsvariation vi känner till för stunden. Det faller sig naturligt att även inkludera genetiska data i denna inomartsvariation.

I ljuset av vår nuvarande kunskap om genflöden mellan närbesläktade arter måste vi då även acceptera – och förhålla oss till – en varierande grad av hybridinslag. Baserat på resultaten från denna studie bör alla svenska fynd av azurmes (och

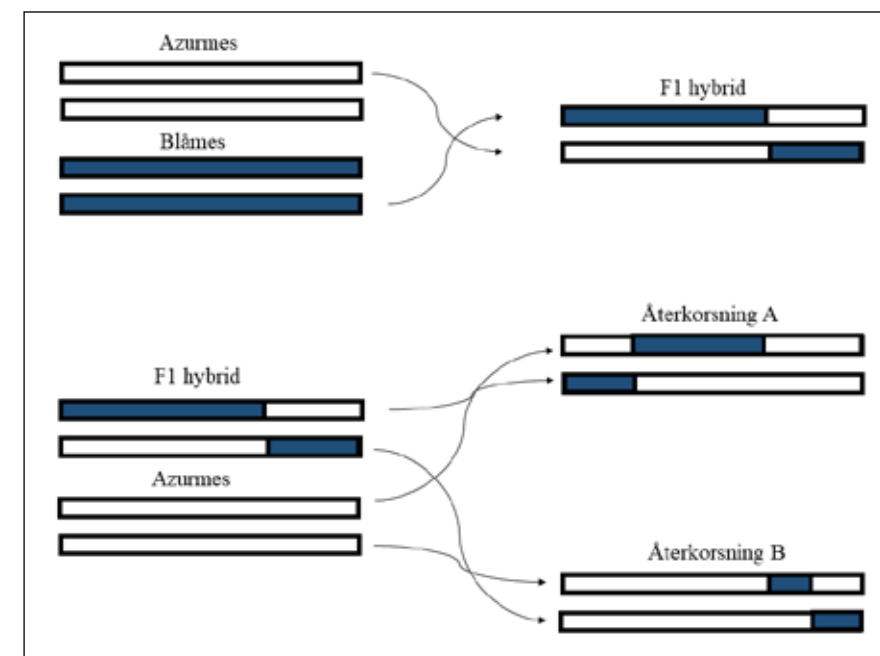


Bild 6. En förenklad illustration av hur rekombination under meios omfördelar genetiska informationen mellan kromosomer i ett kromosompar. Den övre raden exemplifierar hybridisering mellan en azurmes och en blåmes och hur rekombinationen omfördelat arvs massan mellan de två kromosomerna i ett kromosompar hos F1 hybrid. Den nedre raden illustrerar hur den genetiska informationen omfördelas när en F1 hybrid återkorsar sig med en azurmes och hur olika den genetiska informationen kan vara fördelad över en kromosom hos återkorsningar beroende på vilken av F1 hybridens kromosompar som har nedärvt.

»En möjlighet skulle kunna vara en klassificering i tre kategorier«

sannolikt de flesta andra fynd i Europa) strykas om man bestämmer sig för att hålla Raritetskommitténs linje. Väljer man däremot att acceptera mindre hybridinslag och gör bedömningen utifrån fjäderdräktskriterier finns det en uppenbar risk att individer med likartad hybridgrad ibland accepteras och ibland inte.

Klassificering i tre kategorier

Eftersom det sällan eller aldrig helt går att utesluta hybridinnehåll utifrån fjäderdräkten kan man fundera på om det finns en mer pragmatisk lösning. En möjlighet skulle kunna vara en klassificering i tre kategorier, individer som potentiellt saknar hybridinslag (dvs vars fjäderdräkt inte avviker från det som är normalt för arten i fråga), F1-hybridiser, och återkorsningar (genetiskt ca 75% eller mer av en art). Med en sådan klassificering bör tex.

azurmes hybridiser i Falsterbo 1986 och på Landsort 1991 (bild 7) hamna i den första kategorin (F1-hybridiser) medan alla övriga svenska fynd sannolikt riskerar att hamna i den andra kategorin (återkorsningar). Eftersom F1-hybridiser generellt inte bör variera särskilt mycket morfologiskt och återkorsningar överlag kan vara lika den art som de återkorsats med, bör en sådan klassificering gå att tillämpa relativt väl med hjälp av morfologiska kännetecken för de allra flesta hybridkomplex. Även med en sådan klassificering kommer det förstås förekomma individer som blir svåra att klassificera (tex. om en F2-individ återkorsar sig med en F1-hybrid, individen BMNH 1901.5.4.300 i bild 4 är sannolikt en sådan variant). Sådana exempel är dock sannolikt sällsynta, och att hitta andra säkra morfologiska kriterier för olika generationer av återkorsningar eller procentsatser lär vara svårt om inte omöjligt.

Frågan som måste ställas är om det är rimligt att bara kryssa individer som helt "rena" eller också fåglar med hybridinslag? Det finns förstås inget entydigt svar då det går att argumentera för båda alternativen. I slutändan handlar det om vilka gemen-



FOTO: KARIN PERSSON



FOTO: PATRIK ENGSTRÖM

Bild 7. Bilder på "surmesar". Till vänster fågeln från Falsterbo 1986 och till höger fågeln från Landsort 1991. Båda fåglarna har klassiska Pleskes mesutseenden och är därför med största sannolikhet F1 hybrider.

samma spelregler kryssare bestämmer sig för att följa. Vår uppfattning är dock att återkorsningar bör kunna kryssas eftersom; 1) artgränser hos närbesläktade arter ofta inte är absoluta utan delvis genomträngliga, 2) återkorsningar består genetiskt sett mest av en art, 3) återkorsningar är inte enbart evolutionära återvändsgränder utan en del av pågående naturliga processer, och 4) dräktkaraktärer är inte tillförlitliga för att avgöra graden av hybridinslag och kommer dessutom bara kunna tillämpas hos artpar där fjäderdräkterna skiljer sig markant.

Mer finansiering för att underlätta kryssande

Oss veterligen är greppet att finansiera en genomisk studie på fåglar med hjälp från skådersamhället nytt. Sannolikt fanns det därför en hel del skepsis kring om detta projekt skulle vara genomförbart, vilka resultat som skulle komma ut, och om det var möjligt att få in tillräckligt med finansiering för att projektet skulle kunna genomföras. Trots detta lyckades vi finansiera denna studie till närmare 75% med medel från Club300s medlemmar eller andra intresserade.

För kryssare är det utan tvekan mest intressant att förbättra kunskapen om

artidentifiering inom svåra artkomplex, och att identifiera morfologiska kriterier för att bedöma hybrider. Studier av andra hybridkomplex är därför exempel på möjliga skådarfinansierade projekt för framtiden.

Det vore även intressant att studera svåra artkomplex där olika ledtrådar (t.ex. DNA, morfologi, biogeografi och vokalisering) inte är samstämmiga. Genetiska data för sådana komplex är idag oftast begränsat till några enstaka mitokondriella gener, samtidigt som vi vet att mitokondriedata inte alltid speglar artråd korrekt (mitokondrien kan överföras mellan olika evolutionär linjer enbart genom ganska marginell hybridisering) och att stora delar av kärngenomet kan behöva undersökas för att hitta regioner som är under differentiering hos närstående arter.

Det är därför inte osannolikt att flera sentida taxonomiska förändringar hos fåglar i vår region kan komma att omprövas när genomdata blir tillgängliga.

Minskade kostnader

Minskade sekvenseringskostnader och förbättrade verktyg för att analysera genomiska data gör projekt som detta varken särskilt dyra eller analytiskt komplexa. För drygt 100 000 kr kan vi idag sekvensera genomen för 50-60 individer vilket skulle vara tillräckligt för att slutgiltigt reda ut släktskapen i vissa knepiga artkomplex (t.ex. rödstrupiga sångare eller svarthakade- och vitgumpade

buskskvättor). Eftersom finansiering för ren taxonomisk forskning är begränsad finns det således potential för ytterligare kryssar-finansierade projekt baserade på museiprover. Det är bara fantasin som sätter gränser för vilka projekt som går att genomföras, så vad sägs om dessa upprop: "Mer slit, mindre skit – bringa ordning bland vitgumpade buskskvättor" eller varför inte "Lumpa trutarna maximalt – de är ändå omöjliga att bestämma i fält"?

Tack

Vi vill tacka alla medlemmar som har bidragit till att finansiera denna studie. Ett extra stort tack går till Sören Sahlin vars mycket generösa bidrag var helt avgörande för projektet. Martin Stervander och Alexander Hellquist tackas för att ha tagit foton och bedömt dräktkaraktärer på de hybrider som har ingått i studien. Vi vill också tacka styrelsen i Club300 och redaktionen för Roadrunner som på olika sätt har hjälpt till med annonsering och insamling. X

REFERENSER

Corell, M., A. Edman, A. Eriksson, A. Hellquist, H. Larsson, B. Malmhagen, M. Waern. 2019. Så greppar RK hybriderna. *Vår fågelvärld* 1:34-41. Toews, D. P. L., Taylor, S. A., Vallender, R., Brelsford, A., Butcher, B. G., Messer, P. W., Lovette, I. J., 2016. Plumage Genes and Little Else Distinguish the Genomes of Hybridizing Warblers. *Curr. Biol.* 26:2313-2318.

»För drygt 100 000 kr kan vi i dag sekvensera genomen för 50-60 individer«