

Zmienność genetyczna i struktura populacji salamandry plamistej

***Salamandra salamandra* (Linnaeus, 1758) na północnej granicy zasięgu w Karpatach**

Streszczenie

Salamandra plamista *Salamandra salamandra* (Linnaeus, 1758) należy do gatunków politypowych i stanowi kompleks kilkunastu podgatunków szeroko rozpowszechnionych na kontynencie europejskim. Polskie populacje reprezentują podgatunek nominatywny *S. s. salamandra*. Ich występowanie zasadniczo ogranicza się do terenów wyżynnych i pasm górskich Sudetów i Karpat, które jednocześnie stanowią północno-wschodnią granicę zwartego zasięgu gatunku. Salamandry plamiste charakteryzuje niezdolność do dalekich migracji, przywiązanie do miejsc rozrodu i niska płodność, co w połączeniu z niekorzystną działalnością człowieka, w tym głównie z fragmentacją lub izolacją siedlisk, może prowadzić do zmniejszenia efektywnej wielkości populacji i przyspieszenia procesów takich jak dryf genetyczny, chów wsobny, czy wąskie gardło, lokalnie prowadzących nawet do zaniku całych populacji. Głównym celem pracy doktorskiej było zbadanie zmienności genetycznej i fenotypowej populacji salamander plamistych w polskiej części Karpat.

Zmienność genetyczna. Łącznie zanalizowano 382 osobniki pochodzące z 13 stanowisk, znajdujących się na terenie Pogórza Karpackiego, Beskidów i Bieszczadów. Dodatkowo do analiz wytypowano populację zasiedlającą Góry Opawskie (wschodnie Sudety). W badaniach wykorzystano 10 loci mikrosatelitarnych jądrowego DNA: *Sal3*, *Sal23*, *Sal29*, *SalE5*, *SalE6*, *SalE7*, *SalE8*, *SalE11*, *SalE12* i *SalE14*. W celu określenia geograficznego rozmieszczenia linii rodowych i źródeł postglacjalnej kolonizacji zsekwencjonowano fragment o długości 758 pz regionu kontrolnego mitochondrialnego DNA. Karpackie populacje *S. salamandra* stanowią jednorodną grupę genetyczną bez ewidentnych barier dla przepływu genów. Wyjątek stanowiły dwa marginalne stanowiska: 1/ populacja zasiedlająca Pogórze Strzyżowskie, która charakteryzowała się wyraźną odrębnością i znacznym obniżeniem zmienności genetycznej wynikającej z izolacji, małej liczebności i silnego działania dryfu genetycznego (oprócz wyraźnego wyodrębnienia w analizie Bayesowskiej, populację tę charakteryzuje niższa heterozygotyczność oczekiwana i obserwowana, niskie średnie bogactwo alleli i brak alleli prywatnych), 2/ izolowana populacja zasiedlająca Górę Kamińską

na Pogórzu Ciężkowickim, wskazująca na rozpoczęcie procesów jej genetycznego różnicowania (spadek średniej heterozygotyczności oczekiwanej i niższe średnie bogactwo alleli w badanych loci). Ponadto dystans genetyczny (F_{ST}) wskazywał na największe różnice pomiędzy wyżej wymienionymi populacjami, a także między populacją zasiedlającą wschodnie Sudety, co może świadczyć o genetycznym zróżnicowaniu pomiędzy pasmami górskimi. Analiza sekwencji regionu kontrolnego (*D-loop*) mtDNA potwierdziła jednorodność haplotypową osobników reprezentujących zarówno karpackie, jak i sudeckie stanowiska, które są reprezentowane przez pojedynczy haplotyp, należący do wschodniej linii ewolucyjnej (balkańskiej, typ IIb). Polskie salamandry plamiste należą do jednego kladu C, który po ostatnim zlodowaceniu skolonizował wschodnią Europę z refugium zlokalizowanym na Półwyspie Bałkańskim.

Zmienność fenotypowa i struktura populacji. W drugiej części pracy opisano i porównano strukturę wiekową w oparciu o metodę skeletochronologiczną oraz określono różnice fenotypowe (całkowitą długość ciała, masę i zmienność wzorów barwnych) salamander z wybranych populacji karpackich. Uzyskane wyniki zostały porównane z wcześniej zbadanymi populacjami z Sudetów. Wiek samic i samców wahał się od 2 do 16 lat. Analizy porównawcze wykazały, że salamandry zasiedlające Karpaty są nie tylko większe, ale i starsze niż te z Sudetów. Istotne różnice morfometryczne i dymorfizm płciowy przejawiający się w długości ciała zauważono jedynie w Karpatach, gdzie samice były większe i cięższe od samców. Tempo wzrostu (dopasowane do modelu Bertalanffy'ego) wskazało na asymptotyczny trend w całym okresie życia salamander. Nie potwierdzono natomiast wpływu położenia populacji n. p. m. Przypuszczać można, że zróżnicowanie pomiędzy karpackimi i sudeckimi populacjami wynika zarówno z jakości zasiedlanych przez nie siedlisk (lepsze w Karpatach), jak i niekorzystnego wpływu zmian antropogenicznych (wyższy w Sudetach).

Na podstawie kształtu i sposobu rozmieszczenia żółtych plam grzbietowych zaproponowano scalenie dwóch bardzo podobnych i często z sobą mylonych form (paskowano-plamistą i plamisto-paskowaną) w jedną; wyróżniono zatem cztery formy fenotypowe: plamistą, plamistą-i-paskowaną, paskowaną i zygzakowatą. Wyniki analiz 2077 osobników reprezentujących 23 populacje potwierdziły, że w Polsce dominuje forma plamista (46,4% w Sudetach, 69,2% w Karpatach), natomiast najrzadsza jest forma paskowana (1%). Wykluczono związek pomiędzy formami barwnymi a genotypami 557 salamander plamistych określonych na podstawie zmienności 10 loci mikrosatelitarnych. Ponadto nie znaleziono dowodów na istnienie dymorficznych różnic fenotypowych pomiędzy samicami i samcami. Wzór barwny

nie stanowił także unikalnej cechy odróżniającej salamandry zamieszkujące określone populacje.

Anna Nęłof
23.01.2020

Anna Magdalena Najbar

Zmienność genetyczna i struktura populacji salamandry plamistej

***Salamandra salamandra* (Linnaeus, 1758) na północnej granicy zasięgu w Karpatach**

Summary

The fire salamander *Salamandra salamandra* (Linnaeus, 1758) is a polytypic species and constitutes a complex of several subspecies widely distributed in Europe, excluding the Scandinavian Peninsula and British Islands. Polish populations represent the nominative subspecies *S. s. salamandra*. Its occurrence is limited to the Sudetes and the Carpathian Mountains including their foothills, which constitute the north-eastern margin of the species range. Such peripheral populations are often exposed to adverse genetic processes expressed by reduced variation and higher genetic diversity. Inability for long migrations, breeding site fidelity, environmental preferences, together with anthropogenic activities and habitat changes, may cause the reduction of effective population size and accelerate processes leading to local extinction: genetic drift, inbreeding or bottleneck effect.

Genetic variation. The main aim of the study was to determine genetic variation and structure of *S. salamandra* populations located in Polish part of the Outer Western and Outer Eastern Carpathian Mountains. To assess genetic variation, 10 microsatellite loci of nuclear DNA were genotyped: *Sal3*, *Sal23*, *Sal29*, *SalE5*, *SalE6*, *SalE7*, *SalE8*, *SalE11*, *SalE12* and *SalE14*. Moreover, 758 bp fragment of mitochondrial DNA control region was sequenced to determine the affiliation of the species comparing to the European evolutionary lineages. As it was presumed, *S. salamandra* colonized Eastern Poland from the Balkans. Genetic analyses showed that the Carpathian populations constitute a homogeneous genetic group and exhibit relatively high level of genetic variation without evidence of strong barriers to gene flow. Two extremely marginal populations from the Strzyżów and Ciężkowice Piedmonts, highly isolated or localized outside the continuous range, revealed significantly reduced genetic variation, thus placed under the strong influence of genetic drift. Apart from clear separation in the Bayesian analysis, these populations were characterized by lower expected and observed heterozygosity, low average allele richness, lack of private alleles). In addition, genetic distance (F_{ST}) between populations indicated the largest genetic differences between above-mentioned populations and between population inhabiting the Eastern Sudetes, which may indicate genetic diversity

between mountain ranges. Analysis of mtDNA control region (*D-loop*) sequences revealed haplotype homogeneity of individuals representing both the Sudetes and the Carpathians, both represented by single haplotype IIb. Individuals representing Polish populations belong to the eastern evolutionary lineage and suggest the species' post-Pleistocene migration from glacial refugium located in the Balkan Peninsula.

Life history traits and phenotypic variation. The second part of the work describes and compares age structure based on the skeletochronological method and identifies phenotypic differences (total body length, mass and variability of color patterns) of the fire salamanders from the species' entire range in Poland. The age of females and males ranged from 2 to 16 years, both in male and females. Significant morphometric differences and sexual size dimorphism were found in the Carpathians, where females were significantly longer and heavier than males. Comparative analyzes between the two mountain ranges showed that salamanders inhabiting the Carpathians were on average larger and older than those from the Sudetes. Growth fitted by Bertalanffy's model showed differences between both sexes and mountain ranges, and suggested asymptotic trend throughout salamanders' lifespan. The impact of altitude was not confirmed in studied populations. It is presumed that diversity of salamanders inhabiting the Carpathians and the Sudetes may be maintained by variation in habitat quality and disturbed gene flow, which confirms the existence of a geographic barrier (the Moravian Gate).

Four types of dorsal yellow patterns were distinguished: spotted, spotted-and-striped, striped and zig-zag. The results based on analysis of 2077 individuals representing 23 populations from Poland revealed that spotted form was dominant (46,4% in the Sudetes, 69,2% in the Carpathians), while striped form was the rarest (1%). There was no relationship between color pattern forms and genotypes of salamanders from Poland based on the variation of 10 microsatellite loci. In addition, there was no evidence of significant phenotypic differences between females and males. Finally, color pattern did not constitute a unique feature that distinguishes individuals inhabiting local populations.

Anne Najbor

23. 01. 2020