

## STRESZCZENIE

Status taksonomiczny i przebieg strefy hybrydyzacji padalca zwyczajnego *Anguis fragilis* L. i kolchidzkiego *A. colchica incerta* (Nordmann, 1840) (Anguidae; Squamata) na terenie Polski.

Anguidae to rodzina jaszczurek, w skład której wchodzi ok. 70 gatunków, reprezentowana w Europie przez przedstawicieli rodzaju *Pseudopus* oraz *Anguis*.

Celem badań była weryfikacja wartości taksonomicznej wybranych cech morfologicznych, względem uznanych markerów molekularnych (DNA mitochondrialnego - ND2 oraz jądrowego - RAG1), wykorzystywanych w badaniach nad taksonomią rodzaju *Anguis*. Rozwinięciem tych badań było uszczegółowienie lokalizacji strefy kontaktu i hybrydyzacji między *A. fragilis* i *A. colchica* na terenie Polski, opis morfologii hybryd i pogłębiona analiza morfometryczna obu taksonów z wykorzystaniem metod wielowymiarowych (PCA, DFA), a także analizy częstości występowania układów barwnych i wybranych cech merystycznych. W tym celu badaniom genetycznym poddano 90 próbek pochodzących od padalców z 36 polskich populacji, 251 osobników padalców pochodzących z kolekcji muzealnych (krajowych oraz zagranicznych,  $n = 135$ ) i pozyskane ze środowiska ( $n = 116$ ) w analizach morfologicznych (oraz analizie składu diety).

Potwierdzono zgodność wyników w cechach morfologicznych (liczba łusek wokół centralnej części ciała, widoczność otworu słuchowego) z identyfikacją gatunkową na podstawie mitochondrialnego markeru molekularnego ND2. Wykazano istotne statystycznie zróżnicowanie w częstości występowania poszczególnych typów kontaktu tarcz przedczołowych u obu gatunków. Otrzymane wyniki potwierdzają diagnostyczną wartość wymienionych wyżej cech morfologicznych.

Uzyskane wyniki analiz genetycznych wskazują, że większość obszaru Polski jest zasiedlona przez *A. fragilis*, natomiast *A. colchica* jest obecny we wschodniej i południowej części kraju. W analizowanym materiale stwierdzono 16 dotąd nieopisanych haplotypów ND2 oraz 7 haplotypów RAG1. Wyniki analiz filogenetycznych wykazują zgodność z wcześniej przedstawionymi filogenezami dla ND2, natomiast w przypadku RAG1 dostarczają nowych informacji odnośnie zmienności tego genu w obrębie obu gatunków padalców.

Na obszarze Śląska (Kędzierzyn-Koźle oraz Tarnowskie Góry) oraz Mazowsza (Celestynów) stwierdzono obecność osobników o hybrydowym genomie – posiadały one haplotypy ND2 typowe dla *A. colchica* natomiast sekwencje RAG1 zaklasyfikowane zostały do *A. fragilis*. Ponadto stwierdzono u nich homozygotyczny układ alleli, co pozwala uważać, że nie są one mieszańcami z pokolenia F1. Sugeruje to zdolność do wydawania płodnego potomstwa przez hybrydy obu gatunków padalców.

Wyniki wielowymiarowych analiz morfologicznych wskazały na różnice w rozmiarach i kształtach głów oraz rozmiarów ciała obu gatunków jaszczurek: *A. colchica* osiągają większe rozmiary niż *A. fragilis* (obie płcie). Stwierdzono różnice w allometrii wzrostu poszczególnych dystansów głowy u obu gatunków. Morfologia hybryd wskazuje na ich bliższe podobieństwo do *A. colchica* w cechach merystycznych, a do *A. fragilis* w kształcie i rozmiarach głowy. Analiza diety obu gatunków wskazała na wysokie podobieństwo w składzie pokarmu i wysoki współczynnik nakładania się niszy pokarmowej. Uzyskane wyniki potwierdzają wysoką wartość diagnostyczną tradycyjnie

## SUMMARY

Taxonomic status and the hybridization zone of Slowworm *Anguis fragilis* L. and Eastern Slowworm *A. colchica incerta* (Nordmann, 1840) (Anguidae; Squamata) in Poland.

Anguidae is a family of lizards which includes about 70 species, represented in Europe by two genera *Pseudopus* and *Anguis*.

The aim of the research was to verify the taxonomic power of selected morphological features in relation to recognized molecular markers (mitochondrial DNA - ND2 and nuclear - RAG1) used in taxonomy of the genus *Anguis*. Further aims were precise geographical frames of the hybridization zone between *A. fragilis* and *A. colchica* in Poland, description of the hybrid morphology, and in-depth morphometric analysis of both taxa using multivariate methods (PCA, DFA), as well as the analysis of the frequency of specific colour patterns and selected meristic features. For this purpose, 90 samples of Slowworms from 36 Polish populations, 135 individuals from museum collections (Polish and foreign) and 116 obtained from the field dedicated to morphological analyzes (and analysis of diet composition) were subjected to genetic testing.

The results in the morphological features, ie. the number of scales around the mid-body, the visibility of the ear opening were consistent with molecular species identification based on the mitochondrial marker (ND2). Moreover, significant differences in the frequency of different types of contact of prefrontal discs in both species were found. The obtained results confirm the diagnostic power in taxonomy of the above-mentioned morphological features.

The results of genetic analyzes show that most of Poland is inhabited by *A. fragilis*, while *A. colchica* is present in the eastern and southern parts of the country. Sixteen haplotypes ND2 and seven RAG1 have not been described so far. The obtained results of phylogenetic analyzes show compliance with the previously presented phylogenesis for ND2, while in the case of RAG1 they provide new information regarding the variability of this gene within both species of Slowworms.

In the area of Silesia (Kędzierzyn-Koźle and Tarnowskie Góry) and Mazovia (Celestynów), individuals of a hybrid genome structure was found - of the ND2 haplotypes typical for *A. colchica*, and the RAG1 sequences classified as *A. fragilis*. Importantly, a homozygous allele was found in them, which suggest that they are not hybrids of the F1 generation. This implies the ability of the two Slowworms species to produce fertile hybrid offspring. The results of multivariate morphological analyzes showed differences in size and shape of the head and body size of both lizard species: *A. colchica* are larger than *A. fragilis* (both sexes). Differences in the allometry in growth of several head distances were found in both species. The morphology of hybrids indicates their closer affinity to *A. colchica* in meristic features, but to *A. fragilis* in the shape and size of the head. The analysis of the diet of both species showed a high similarity in the composition of the food items and a high coefficient of overlapping of the food niche. The obtained results confirm the high diagnostic value of the traits traditionally used in the taxonomy of the genus *Anguis*, which allow to recognize *A. fragilis* and *A. colchica* during field work. Depicting the reproductive contact and production of putative fertile hybrids raises doubts about their current taxonomic status, and suggests reducing it to subspecies rank.

10-05-2021  
Healeny<sup>1</sup>