

## ODBORNÉ PRÍSPEVKY

### Štúdium genetiky populácie druhu *Agabus guttatus* (Paykull, 1798) (Coleoptera: Dytiscidae) tatranských plies

Darina ŠIPOŠOVÁ<sup>1</sup>, Fedor ČIAMPOR<sup>2</sup> & Zuzana ČIAMPOROVÁ-ZAŤOVIČOVÁ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra ekológie, Mlynská Dolina, 824 15 Bratislava, Slovensko; siposova.darina@gmail.com

<sup>2</sup>Ústav zoológie, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 845 06 Bratislava; Slovensko; f.ciampor@savba.sk

#### Úvod

Vo vysokohorských oblastiach sú cenným pozostatkom posledného zaľadnenia vysokohorské jazerá, ktoré sú životným prostredím pre množstvo unikátnych druhov živočíchov. Európske ľadovcové jazerá predstavujú jedny z najmenej priamo antropogénne narušených vodných biotopov, avšak každá zmena prostredia môže mať veľký vplyv na ich biodiverzitu a ekosystémovú stabilitu (Skjelkvåle & Wright 1998). Na Slovenku je až 90 % jazier glaciálneho pôvodu a z nich väčšina leží práve vo Vysokých Tatrách (Hamerlík et al. 2006). Tatranské jazerá boli a sú objektom záujmu mnohých odborníkov z rôznych vedeckých oblastí. Existuje množstvo prác zameraných na spoločenstvá makrozoobentosu, či jednotlivé taxonomické skupiny vodnej fauny, pričom medzi najmenej preskúmané skupiny vodných bezstavovcov patrí tatranská koleopterocenóza. Aj preto v posledných rokoch začal prebiehať výskum diverzity, ekológie a populačnej genetiky zameraný na vodné chrobáky Tatier (Čiamporová-Zaťovičová & Čiampor 2011).

Štúdium genetickej štruktúry populácií druhov umožňuje získať detailné informácie o ich zložení, genetickej variabilite a vzťahoch jednotlivých subpopulácií. S využitím molekulárnych dát je možné odhadnúť zdroj, prípadne smer šírenia, ale aj identifikovať faktory, ktoré na genetickú štruktúru populácie vplyvajú. Molekulárne dáta boli doposiaľ analyzované hlavne u druhu *Agabus bipustulatus solieri* (Drotz 2003; Čiamporová-Zaťovičová & Čiampor 2011, 2012), pričom sa preukázala relatívne vysoká genetická variabilita na geograficky malom území Tatier (Čiamporová-Zaťovičová & Čiampor 2012). Pokračovaním výskumu populácií chrobákov tatranských plies je štúdium druhu *Agabus guttatus*, ktorý spolu s *A. bipustulatus solieri* patrí medzi charakteristické druhy tatranských plies. Na Slovenku sa nachádza v podhorskom, horskom a alpínskom stupni, pričom v Tatrách osídľuje studené oligotrofné jazerá s vysokým obsahom kyslíka. Na rozdiel od *A. bipustulatus*, môže *A. guttatus* obývať aj horské potoky a pramene (Kodada 1990).

Štúdium genetiky populácie *A. guttatus*, ktorého predbežné výsledky predkladáme, je zamerané na opis genetickej štruktúry tatranskej populácie tohto druhu, analýzu genetickej variability a identifikáciu hlavných faktorov prostredia (napr. bariéry), ktoré genetickú štruktúru ovplyvňujú. Dôležitým atribútom výskumu *A. guttatus* je možnosť porovnať výsledky s údajmi o ďalšom druhu tatranských potápnikov (*A. bipustulatus solieri*), resp. s údajmi

o ďalších modelových druhoch živočíchov, a tak lepšie pochopiť všeobecnejšie zákonitosti a faktory ovplyvňujúce evolúciu fauny alpských jazier.

### **Materiál a metódy**

Materiál bol zbieraný v rokoch 2009–2013 v plesách a menších plytkých jazierkach („pondoch“) Tatier. Vzorky boli odobraté pomocou hydrobiologickej sieťky s veľkosťou oka 300–500  $\mu\text{m}$  metódou „kick-sampling“ a priamo v teréne fixované denaturovaným liehom. V laboratóriu boli potápniky prefixované čistým etanolom.

Celková DNA bola izolovaná z hrudného svalstva a/alebo nôh imág alebo lariev pomocou štandardných extrakčných kitov. PCR reakciu bol amplifikovaný fragment mitochondriálneho génu pre cytochróm b s dĺžkou 343bp. Študovaný fragment bol amplifikovaný použitím primerov CB3 a CB4 (Barraclough et al. 1999). PCR produkty boli odoslané na purifikáciu a sekvenovanie do externého laboratória (Macrogen Europe Inc., Amsterdam, Holandsko). Získané sekvencie boli upravené v programe Sequencher 5.0.1. Výsledná haplotypová mapa bola vytvorená v programe Network 4.6., analýza molekulárnej variability (Excoffier et al. 1992) bola vypočítaná v programe Arlequin 3.5.

### **Výsledky a diskusia**

Na analýzu genetickej štruktúry tatranskej populácie sa zatiaľ podarilo získať sekvencie zo 102 jedincov druhu *A. guttatus*. Analýza molekulárnych dát identifikovala prítomnosť 16 haplotypov (Obr. 1), z ktorých mali dva haplotypy (H1, H2) podstatne vyššiu frekvenciu ako zvyšných 14 haplotypov. Haplotyp H1 je zastúpený 52 vzorkami z 8 lokalít, ktoré boli lokalizované v štyroch tatranských dolinách. Haplotyp H2 je reprezentovaný 26 vzorkami z 12 lokalít v rámci siedmich dolín.

Predpokladá sa, že frekvencia a geografické rozšírenie jednotlivých haplotypov súvisí s ich vekom. Haplotypy s najvyššou frekvenciou a najväčším geografickým rozšírením by mali byť ancestrálnymi haplotypmi študovanej populácie (Posada & Crandall 2001). V prípade vzoriek *A. guttatus* mal najvyššiu frekvenciu haplotyp H1 (51 %). Haplotyp H2 mal síce nižšiu frekvenciu (26 %), ale stále dosť výraznú a mal širšie geografické zastúpenie v jednotlivých dolinách. Z tohto sa zdá pravdepodobné, že práve H2 môže byť v rámci Tatier ancestrálnym haplotypom. Ostatné haplotypy mali podstatne nižšie frekvencie a ich lúčovitý vzor, vzhľadom k dvom centrálnym haplotypom, naznačuje recentnú expanziu (Obr. 1) (Matthews a kol. 2007).

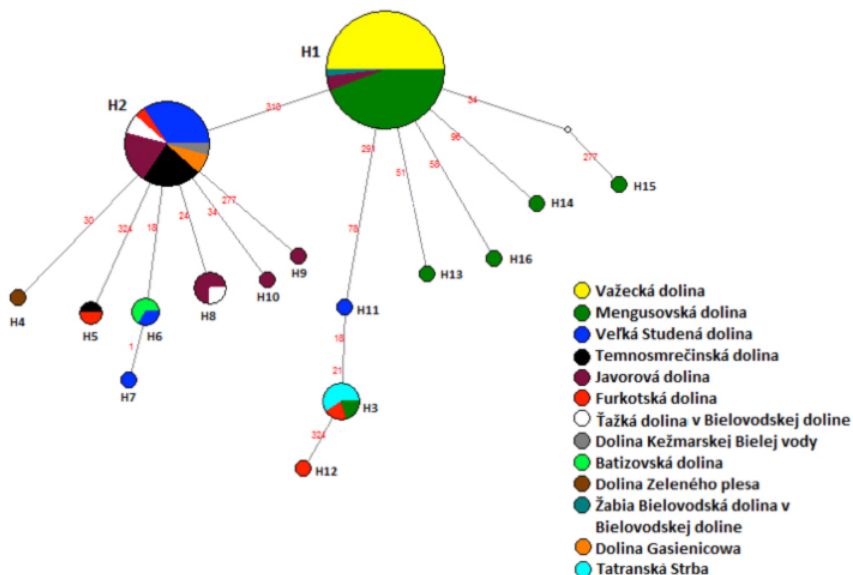
Dôležitým komponentom prostredia, v ktorom sa tatranské plesá nachádzajú, sú štíty a horské hrebene, ktoré oddeľujú jednotlivé doliny a môžu pôsobiť ako prirodzené bariéry v šírení vodných bezstavovcov. Aby sme zistili, či sú medzi dolinami, v ktorých sú plesá situované, významné rozdiely, boli vzorky rozdelené do 12 skupín podľa jednotlivých dolín. Následná analýza molekulárnej variability (AMOVA) naznačila významné rozdiely medzi dolinami ( $F_{ct} = 0,44$ ;  $p = 0,003$ ), zatiaľ čo v rámci dolín neboli zistené významné rozdiely ( $F_{sc} = 0,44$ ;  $p > 0,05$ ). Preukazné boli aj rozdiely haplotypov v rámci celej tatranskej populácie ( $F_{st} = 0,69$ ;  $p < 0,001$ ), čo

taktiež podporuje hypotézu limitovaného šírenia jedincov v rámci celého študovaného územia.

Aj keď je zatiaľ výskum genetiky vodných chrobákov tatranských plies na začiatku, boli už získané viaceré zaujímavé poznatky. Genetická variabilita študovaných druhov na takom geograficky malom území, ako sú Tatry, je porovnateľná so štúdiami vykonanými napríklad na území celých Karpát. Zistilo sa, že jednotlivé doliny sa môžu značne líšiť z hľadiska diverzity haplotypov. Naznačený bol aj limitovaný kontakt jednotlivých dolín. S pribúdaním vzoriek a perspektívne aj ďalších molekulárnych markerov, bude možné lepšie odhadnúť stav, ale hlavne evolučné trendy v populácii tatranských vodných chrobákov. Výskum populačnej genetiky makrozoobentosu plies bude pokračovať hlavne ďalším, podrobnejším testovaním vplyvu bariér (tatranské štíty, vzdialenosť, atď.) na tok génov, šírenie jednotlivých haplotypov, prípadne komunikáciu jednotlivých subpopulácií. V kombinácii s údajmi o ďalších druhoch chrobákov, respektíve iných zástupcoch makrozoobentosu plies, sa snáď podarí lepšie pochopiť vývoj fauny týchto unikátnych a citlivých biotopov, ako aj predpovedať zmeny spôsobené prípadnou zmenou klímy či negatívnym zásahom ľudskej činnosti.

#### PodĎakovanie

Táto práca vznikla vďaka podpore projektu VEGA 2/0081/13.



Obr. 1. Haplotypová mapa tatranskej populácie *A. guttatus*. Veľkosť kruhov predstavuje frekvenciu jednotlivých haplotypov, farebná výplň reprezentuje príslušnosť vzoriek k jednotlivým dolinám (postavenie vzoriek z Tatranskej Strby bolo v analýzach ekvivalentné dolinám vzhľadom ku geografickej polohe lokality).

## Literatúra

- BARRACLOUGH, T.G., HOGAN, J.E. & VOGLER, A.P. 1999. Testing whether ecological factors promote cladogenesis in a group of tiger beetles (Coleoptera: Cicindelidae). *Proceedings of the Royal Society London (B)* 266: 1061-1067.
- DROTZ, M.K. 2003. Speciation and mitochondrial DNA diversification of the diving beetles *Agabus bipustulatus* and *A. wollastoni* (Coleoptera, Dytiscidae) within Macaronesia, *Biological Journal of the Linnean Society* 79: 653-666.
- ČIAMPOROVÁ-ZAŤOVIČOVÁ, Z. & ČIAMPOR JR., F. 2011. Aquatic beetles of the alpine lakes: diversity, ecology and small-scale population genetics. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 402: 10p1-10p20.
- ČIAMPOROVÁ-ZAŤOVIČOVÁ, Z. & ČIAMPOR JR., F. 2012. Populačná genetika vodného hmyzu v tatranských plesách: „prípád *Agabus*“, p. 22-25. In: Čiamporová-Zaťovičová, Z. (ed.), XVI. konferencia SLS a ČLS – Zborník príspevkov, 25.-29. jún 2012, Jasná.
- EXCOFFIER, L., SMOUSE, P.E. & QUATTRO, J.M. 1992. Analysis of molecular variance from metric distance among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- HAMERLÍK, L., ŠPORKA, F. & ZAŤOVIČOVÁ, Z. 2006. Macroinvertebrates of inlets and outlets of the Tatra Mountain lakes (Slovakia). *Biologia, Bratislava*, 61/Suppl. 18: 167-179.
- KODADA, J. 1990. K poznaniu spoločenskí vodných chrobákov (Coleoptera aquaticola) troch vybraných plies Vysokých Tatier. *Entomological Problems* 20: 95-104.
- POSADA, D. & CRANDALL, K.A. 2001. Intraspecific gene genealogies: tree grafting into networks. *Trends in Ecology & Evolution* 16: 37-45.
- SKJELKVÅLE, B.L. & WRIGHT, R.F. 1998. Mountain lakes: sensitivity to acid deposition and global climate change. *Ambio* 27: 280-286.

## Nové nálezy vzácnej oscilatoriálnej sinice *Katagnymene accurata* Geitler v TANAP-e

New findings of a rare oscillatorian cyanophyte *Katagnymene accurata* Geitler in the Tatra National Park, Slovakia

František HINDÁK & Alica HINDÁKOVÁ

*Botanický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 845 23 Bratislava*  
*e-mail: frantisek.hindak@savba.sk; alica.hindakova@savba.sk*

### Abstract

The oscillatorian species *Katagnymene accurata* was described from dystrophic littoral parts of the mountain lake Obersee near Lunz, Austria, by Geitler in 1982. Filaments are characteristic by bipartition as a certain length had been reached. The species was observed also in *Sphagnum* littoral part of Lake Zollersee, Carinthia, S Austria (Hindák 1988) and in Switzerland (Hindák 2001, 2008). In Slovakia this species was firstly found in the peat-bog Klin, Orava (Hindák 2012, Hindák & Hindáková 2012). Nowadays, this species has been recorded in several localities in the Tatra National Park.

**Keywords:** Oscillatoriales, Cyanobacteria, peat-bogs, Tatra National Park, Slovakia