

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Genetyka populacji i filogeografia Europejskich ropuch zielonych (*Bufo viridis* subgroup).**

2. Czas trwania projektu . 25.04.2017 - . 30.07.2018.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): Genetyka populacji, płazy, ropucha zielona, *Bufo viridis* subgroup

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) .C.....

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

## 5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Wykorzystanie badań molekularnych, szczególnie markerów genetycznych często zmienia aktualny obraz przynależności taksonomicznej poszczególnych gatunków płazów. W wyniku takich badań można wykazać istnienie dwóch lub więcej gatunków, które dotychczas były traktowane jako jeden z powodu podobieństwa morfologicznego. W podobny sposób, czyli w oparciu o badania sekwencji jądrowego i mitochondrialnego DNA wykazano występowanie i opisano rozmieszczenie dwóch gatunków *Hyla arborea* i *Hyla orientalis*, występujących odpowiednio na zachodzie i wschodzie Polski (Stöck i inni 2012, Dufresnes i inni 2016). Tworzą one strefę mieszańcową przebiegającą południkowo, mniej więcej przez środkową część kraju. Wstępne badania nad ropuchami zielonymi *Bufo viridis* na terenie centralnej Polski wykazały występowanie dodatkowego gatunku *Bufo variabilis*, który morfologicznie nie wykazuje dużych różnic z *Bufo viridis* (M. Pabijan i P. Iwko - dane niepublikowane). Podobnie w innych częściach Europy (Grecja, Ukraina, Dania, Niemcy) zaobserwowano występowanie obok siebie tych dwóch gatunków ropuch zielonych i powstawanie stref hybrydyzacji międzygatunkowej (Stöck i inni 2006)

Celem badań jest stwierdzenie występowania na terenie Polski drugiego gatunku ropuchy zielonej. Dodatkowym celem badań jest: przedstawienie zasięgu występowania obu taksonów (analiza filogeograficzna) i ich

wzajemnego stopnia pokrewieństwa (analiza filogenetyczna) oraz sprawdzenie czy przez Polskę prowadzi granica zasięgów dla obu gatunków i czy występują strefy hybrydyzacji. Dorosłe osobniki ropuchy zielonej odławiane będą nocą ze zbiorników wodnych i pobierany będzie od nich wymaz z jamy gębowej. Czynność ta dla zwierząt jest krótkotrwała i bezbolesna. By sprawdzić czy powstaje potomstwo mieszańcowe z obu gatunków, konieczne będzie również odłowienie kijanek i pobranie od nich końcowego fragmentu płetwy ogonowej. Pobrany fragment jest na tyle mały, że nie wpływa na motorykę zwierzęcia, a w trakcie metamorfozy i tak dochodzi do resorpcji ogona. Jest to jedyny bezpieczny sposób pobrania próby DNA od kijanek. Po pobraniu prób DNA osobniki dorosłe jak i larwy zostaną wypuszczane w miejscu odłowu.

Założone cele będą możliwe do zrealizowania po przebadaniu markerów genetycznych (introny, mitochondrialne DNA, jądrowe mikrosatelitarne DNA) w 900 próbach DNA pobranych od dorosłych i larwalnych osobników ropuch zielonych (*Bufotes viridis*/*Bufotes variabilis*) z 30 izolowanych populacji.

Uzyskane dane wzbogacą wiedzę na temat batrachofauny Polski, jak również umożliwią tworzenia bardziej precyzyjnych planów ochrony gatunkowej dla ropuch zielonych.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Wymazy od dojrzałych osobników ropuchy zielonej (grupa <i>Bufotes viridis</i> ) – 600
Fragment płetwy ogonowej od larwalnych osobników ropuchy zielonej (grupa <i>Bufotes viridis</i> ) – 300

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam że: zastosowane metody są standardowymi metodami wykorzystywanymi w badaniach filogenetycznych płazów i innych kręgowców. Nie powodują dodatkowego dyskomfortu ani dystresu. W literaturze nie ma podanych alternatywnych metod do uzyskania założonego celu badawczego. Wszystkie wykorzystywane procedury wykonywane są z należytą dokładnością i poszanowaniem dobrostanu badanych zwierząt. Jedynie badania naturalnych populacji pozwolą otrzymać wyniki potwierdzające występowanie na terenie Polski dwóch gatunków ropuch zielonych (*Bufotes viridis* i *Bufotes variabilis*) i umożliwią przedstawienie ich zasięgu występowania oraz wykazanie stref styku i hybrydyzacji obu taksonów. Znajomość prawidłowej taksonomii i rozmieszczenia gatunków pozwoli stworzyć odpowiednie plany ochrony, które będą zachowywać izolację obu form, tym samym umożliwiając ich dalszą ewolucję.

### Uwzględnienie zasady zastąpienia:

W badaniach filogenetycznych nie ma możliwości wykorzystania zwierząt laboratoryjnych. Stąd ważnym jest, by pobieranie próbek genetycznych było jak najmniej inwazyjne, a tym samym możliwe do wykonania na jak największej liczbie zwierząt.

### Uwzględnienie zasady ograniczenia:

---

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Liczba zwierząt wykorzystywanych w doświadczeniu została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia celów projektu i uzyskania powtarzalnych danych wiarygodnych statystycznie. Jeśli w trakcie realizacji projektu będzie możliwe jeszcze ograniczenie liczby pobranych prób. Zostanie to niezwłocznie uczynione.

**Uwzględnienie zasady udoskonalenia:**

Zwierzęta natychmiast po pobraniu próbki DNA zostaną wypuszczone do naturalnego środowiska. Wszystkie przeprowadzane procedury będą przeprowadzane z maksymalnym ograniczeniem bólu, strachu i dystresu. Warto tutaj wspomnieć, że pobranie wymazów jest całkowicie bezbolesne, natomiast pobrany fragment płetwy ogonowej u larw kijanek jest na tyle mały, że nie wpływa na motorykę zwierzęcia. W trakcie metamorfozy płazów bezogoniastych i tak dochodzi do resorpcji ogona. Jest to jedyny bezpieczny dla kijanek sposób pobrania próby DNA.

