

CAS D'ESTUDI. DIFERENCIACIÓ MORFOLÒGICA I GENÈTICA DEL TRITÓ DEL MONTSENY A LA CONCA DEL RIU TORDERA

SALVADOR CARRANZA* I FÈLIX AMAT**

Resum

El desembre de 2005 es va publicar a la revista *Zoological Journal of the Linnean Society* el descobriment d'una nova espècie d'amfibi, endèmica del massís del Montseny (Carranza i Amat, 2005), batejada amb el nom de *tritó del Montseny* (*Calotriton arnoldi*). El nou tàxon presenta tota una sèrie de característiques morfològiques, osteològiques i genètiques que el fan únic i marcadament diferenciable de la seva espècie germana, el tritó pirinenc (*Calotriton asper*). Tanmateix, les dades genètiques permeten estimar que ambdues espècies es van separar ara fa aproximadament 1,5 milions d'anys. El tritó del Montseny es l'únic exemple de vertebrat endèmic de Catalunya, l'únic urodel endèmic d'Espanya i l'amfibi amb l'àrea de distribució més petita de tot Europa. Després de més de quatre anys de prospecció per torrents del Montseny, *Calotriton arnoldi* podria estar restringit a uns pocs cursos d'aigua dins de la conca de la Tordera, d'on podria ser endèmic.

Estudis recents basats en seqüenciació d'ADN mitocondrial indiquen que els dos únics nuclis poblacionals coneguts de tritó del Montseny estan diferenciats genèticament. Aquestes poblacions, situades a ambdues bandes de la vall del riu Tordera i a menys de cinc quilòmetres de distància, també presenten diferències quant a coloració, cosa que indica que, tot i la seva petita àrea de distribució (40 km²), *Calotriton arnoldi* presenta un cert grau de diferenciació dins del massís, fet que té diverses implicacions quant a conservació. Així, la història evolutiva del tritó del Montseny té dos episodis clau: la diferenciació de l'espècie ancestral i la separació en dos nuclis poblacionals que són interpretats a partir d'hipòtesis biogeogràfiques, basant-se en l'origen de la Tordera i els fenòmens de periglacialisme.

* Departament de Biologia Animal, Universitat de Barcelona, av. Diagonal 645, 08028 Barcelona. (scarranza@ub.edu).

** Museu de Ciències Naturals de Granollers, Àrea d'Herpetologia, c/ Francesc Macià 51. 08400 Granollers. (amatevbi@tiscali.es).

1. INTRODUCCIÓ

La família *Salamandridae* comprèn 16 gèneres i 66 espècies en dos grups ben diferenciats filogenèticament: les salamandres terrestres, o salamandres veritables, i els tritons (Weisrock i col. 2006), amb una distribució molt àmplia que s'estén per Europa, el nord d'Àfrica, Àsia i Amèrica del Nord. Els tritons de muntanya dels gèneres *Euproctus* i *Calotriton* es caracteritzen per un comportament reproductor que es basa en una mena de còpula en què els mascles subjecten les femelles fortament amb la cua i/o amb les mandíbules mentre els transfereixen l'espermatòfor directament de cloaca a cloaca (Carranza i Amat, 2005; vegeu figura 1). Abans d'aquest treball, es considerava que els tritons de muntanya formaven part d'un únic gènere (*Euproctus*), però aquests autors van demostrar que en veritat els de Còrsega i Sardenya (*Euproctus montanus* i *E. platycephalus*) tenen un origen independent dels continentals, els quals es van classificar dins del nou gènere *Calotriton*, que inclou els tritons pirinenc (*C. asper*) i del Montseny (*C. arnoldi*). Segons Carranza i Amat (2005), aquest comportament de còpula que presenten els *Calotriton* és un exemple de convergència evolutiva. Així, *Euproctus* i *Calotriton* haurien desenvolupat un tipus de comportament i adquirit uns trets morfològics similars de forma independent com a millor solució per adaptar-se al mateix hàbitat.

Els dos representants de *Calotriton* (tritó del Montseny i tritó pirinenc) es caracteritzen per una sèrie d'adaptacions molt particulars per a viure en torrents d'aigües fredes i amb força corrent. A més de la còpula anteriorment esmentada, es mouen sota pedres o dins d'esquerdes gràcies al seu cos deprimat, l'absència de crestes dorsals o la pell gra-



FIGURA 1. Mascle (a sota i de cara) i femella (a sobre i d'esquena) realitzant la còpula que caracteritza els tritons de muntanya.

nulada, que els permet subjectar-se per contacte amb el substrat. Les ungles negres dels dits els faciliten també arrapar-se a la superfície quan es desplacen pel fons del torrent, com també la reducció pulmonar, que evita la flotació. Tot i aquestes semblances, la separació de les dues espècies és prou antiga (Carranza i Amat, 2005) com per haver desenvolupat tota una sèrie de característiques morfològiques, osteològiques i genètiques que els diferencien. El tritó del Montseny es diferencia per la seva pell amb menys grànuls i d'aspecte més llisa. Tanmateix, la seva pigmentació dorsal té tons xocolata uniforme, acompanyada en alguns casos de taques de color groc verdós, mentre que hi ha una taca de color marfil a l'extrem anterior del ventre i crema a la resta, prou translúcida per veure els ovòcits en el cas de les femelles. Aquestes, a més, tenen la protuberància cloacal completament tubular des de la base i de color vermellós a la punta. Destacablement les primeres 3-4 vèrtebres caudosacral s tenen petites projeccions inclinades cap al darrere, que són més llargues i transversals a l'eix vertebral en el tritó pirinenc.

Les anàlisis preliminars presentades per Carranza i Amat (2005) indiquen que pot ser que existeixin diferències morfològiques i genètiques entre poblacions de tritó del Montseny tot i la seva àrea de distribució tan restringida. L'article que aquí es presenta analitza en profunditat aquestes diferències utilitzant informació morfològica i molecular d'un elevat nombre d'individus de tritó del Montseny, i intenta esbrinar el grau d'aïllament de les diferents poblacions dins del massís.

2. MATERIAL I MÈTODES

El treball de camp es va realitzar a la primavera i a la tardor els anys 2003-2006, prospectant sempre de nit durant un període mínim de 20 minuts i en alguns casos visitant un mateix torrent en més d'una ocasió. En tots els casos, es van prendre les coordenades GPS del torrent i es van registrar diverses variables biòtiques i fisiogràfiques per tal de definir les característiques generals de l'hàbitat. Per a l'estudi del nivell de variabilitat del tritó del Montseny es van analitzar diverses poblacions dins de cadascun dels dos nuclis poblacionals existents. Un dels nuclis poblacionals, que anomenarem A, està

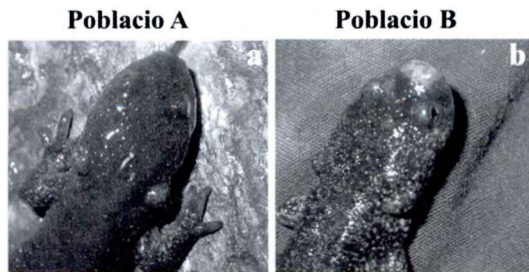


FIGURA 2. Detall del cap d'un mascle de la població A (a) i d'un mascle de la població B (b) on es pot observar clarament la manca de pigmentació d'aquest últim en el musell, així com les iridiscències de color daurat i platejat als costats del coll i del cos.

situat a la banda dreta de la vall del riu Tordera i està format per tres poblacions (A1-A3). L'altre nucli poblacional, el B, està situat a la banda esquerra de la vall del riu Tordera i està format per quatre poblacions (B1-B4). Per raons òbvies de conservació, en aquest treball no es donaran dades precises sobre la seva localització. Les observacions de tritons es van realitzar sobre individus vius a la natura, que van ser alliberats al mateix lloc després de prendre les dades i les fotos pertinents. Per a l'estudi molecular es van estudiar individus dels dos nuclis poblacionals, seqüenciant 378 parells de bases del gen mitocondrial codificant citocrom b de 17 individus pertanyents al nucli poblacional A (subpoblació A2) i 10 individus del nucli poblacional B (subpoblació B1). La metodologia utilitzada per a obtenir les seqüències de DNA ha estat la mateixa utilitzada per Carranza i Amat (2005).

3. RESULTATS

3.1. HÀBITAT DE *CALOTRITON ARNOLDI* AL MONTSENY

Entre les característiques del seu hàbitat destaquen la baixa temperatura de l'aigua, que oscil·la entre 1,5 °C al desembre i 20 °C a l'agost. La màxima activitat dels tritons es desenvolupa a temperatures d'entre 7 i 16 °C, i això fa que fins ara no se n'hagi trobat cap per sota d'una alçada inferior a 600 metres, on la temperatura de l'aigua és més elevada que a alçades superiors. Tots els torrents on ha estat trobat tenen un substrat fissurat, i no substrat granític. A més, els torrents es caracteritzen perquè són estrets, de poc cabal, un pendent força elevat i una cobertura vegetal, tant de bosc com de sotabosc, que fa un efecte de pantalla, de manera que proporciona un ambient fresc i humit fins i tot en els dies més calorosos. El tipus de bosc on es troben els tritons és força variat i inclou bosc de ribera, castanyeda, fageda i alzinar.

3.2. ANÀLISI DE LA VARIABILITAT DE *CALOTRITON ARNOLDI*

Els resultats de les primeres anàlisis morfològiques preliminars indiquen que existeix certa diferenciació morfològica entre els tritons dels dos nuclis poblacionals (A i B). En concret, els més de 150 tritons adults, 12 juvenils i 7 larves observats en el nucli poblacional B sempre presenten una coloració xocolata uniforme. Mai s'han trobat individus amb taques irregulars verdgrogues típiques dels individus de les poblacions A1-A3. De la mateixa manera, els mascles adults del nucli poblacional B presenten una taca blanca a la part anterior del musell, deguda a una manca de pigmentació, i els flancs esquitxats d'una pigmentació platejada i daurada (figura 2b). Dels aproximadament 90 individus adults, 5 juvenils i 3 larves observats en el nucli A, un 70 % presenten, en major o menor grau, taques irregulars de color groc verdós, tant al cos com a la cua (vegeu figura 1). Els individus tacats són mascles i femelles, però les taques són molt més nombroses i conspicues en larves i individus juvenils. A part de la presència de taques en aproxima-

dament el 70% dels individus adults i el 100 % de les larves i individus juvenils, els mascles de les poblacions A1-A3 no presenten mai una taca blanca al musell, com els mascles de les poblacions B1-B4 (figura 2a, b).

Els resultats de les anàlisis moleculars indiquen que dels 378 parells de bases seqüenciats dels 27 tritons del Montseny, existeixen dues posicions en què tots els individus de la població A2 són diferents de tots els individus de la població B1 (posicions 53 i 182 de l'alineament) i una altra en què quatre individus de la població A2 són diferents de tota la resta de tritons seqüenciats (posició 39). En el cas de les posicions 53 i 182, el canvi nucleotídic és una transversió en la qual els individus de la població A2 tenen una citosina (C) i els individus de la població B2 una timidina (T). En el cas del canvi detectat en només 4 individus de la població A2, el canvi nucleotídic que s'ha produït és d'adenina a guanidina i per tant es tracta d'una transició.

4. DISCUSSIÓ

Els resultats dels mostreigs realitzats dins de les zones a priori més favorables del Montseny, indiquen que *Calotriton arnoldi* molt probablement està restringit únicament a set torrents, tots afluents de la Tordera. Així doncs, sorprenentment, el tritó del Montseny podria ser veritablement un vertebrat endèmic d'aquesta conca hidrogràfica. Com és possible que aquesta espècie relict a s'hagi mantingut des de fa més d'un milió d'anys dins d'aquesta àrea geogràfica tan reduïda? La conca hidrogràfica de la Tordera es va originar en algun moment durant el període miocènic (Llobet, 1947) a partir de l'aparició de la fossa del Vallès, va adoptar i conservar ràpidament la seva orientació S SO i es va excavar sobre un substrat pissarrós. Aquest autor no detecta captura fluvial de la Tordera amb les altres conques veïnes com la del Congost. Per tant, des de fa com a mínim 5,3 milions d'anys (o potser més), molt abans de l'aparició de *Calotriton arnoldi* durant els primers períodes glacials, la Tordera es troba on és ara sense haver canviat pràcticament gaire la seva posició i sense estar connectada a altres cursos fluvials. A partir d'aquí, ens podem interrogar sobre com aquesta espècie va aparèixer precisament en aquesta conca. En aquest sentit, la biologia de les espècies de tritó de muntanya (*Calotriton*) ofereix una perspectiva interessant. El tritó pirinenc (*Calotriton asper*) presenta una fase dispersiva terrestre. Un cop finalitzada la metamorfosi, els individus juvenils abandonen els torrents i habiten el medi terrestre. Alguns individus resten a la rogalia dels torrents, mentre que d'altres es mouen més lluny i colonitzen altres torrents (Montori, 1988). Aquest tret biològic és molt important perquè permet mantenir el flux genètic entre les poblacions. En canvi, el tritó del Montseny (*Calotriton arnoldi*) sembla exclusivament aquàtic. La qüestió clau aquí és si l'ancestre de les dues espècies era semiaquàtic o exclusivament aquàtic. Donada la distribució pirinenca de *Calotriton asper*, on cap de les poblacions meridionals supera la depressió de l'Ebre o assoleix una latitud inferior al Montseny, es pot suposar que l'ancestre comú devia ser una espècie septentrional. En el primer cas l'ancestre hauria colonitzat el Montseny per terra des del nord durant algun màxim glacial. Posteriorment, l'endemisme del Montseny hauria evolucionat vers uns costums totalment aquàtics per adaptar-se a algun tipus de pressió se-

lectiva i hauria estat incapaç de recontactar amb la resta de poblacions ancestrals. Val a dir que els parents més propers dels *Calotriton*, els tritons del gènere *Triturus*, són semiaquàtics, fet que dona peu a pensar que l'ancestre dels dos *Calotriton* també ho devia ser. La segona opció implica una colonització des del sud, penetrant Tordera amunt, en la qual l'ancestre seria una espècie no tan estrictament torrentícola, sinó més aviat un habitant de rieres amb aigües no tan fredes i més entollades. Aquest és el cas d'algunes poblacions de *Calotriton asper* o dels tritons asiàtics del gènere *Neurergus*, tot i que aquests sí que tenen una fase terrestre.

Tanmateix, les dades morfològiques i moleculars permeten afirmar que existeixen dos nuclis poblacionals relativament ben diferenciats situats a les dues bandes de la Tordera, tot i que és necessari l'ús de marcadors nuclears per tal de quantificar el seu flux genètic. Aquests resultats són de gran rellevància per a la conservació de l'espècie, que haurà d'assegurar la preservació de la variabilitat genètica i morfològica observada en els dos nuclis. Aquest relativament elevat nivell de diferenciació entre els dos nuclis poblacionals del tritó del Montseny, separats menys de cinc quilòmetres, és sorprenent perquè és més elevat que el que existeix entre poblacions de tritó pirinenc de Catalunya i de Navarra (Carranza i Amat, 2005), que estan separades més de 400 km. La diferenciació genètica entre poblacions o espècies estretament emparentades però geogràficament molt properes no és estranya en les salamandres (Wake, 2006) i respon al fet que aquests organismes són molt sensibles a canvis ambientals, que poden transformar un hàbitat en una barrera. Observacions preliminars indiquen que *Calotriton arnoldi* és totalment aquàtic i que fins i tot dins d'un torrent els diferents individus adults es desplacen molt poc (Amat i Carranza, en preparació). Això explicaria l'aïllament actual entre poblacions a ambdues bandes del riu Tordera, atès que les condicions d'hàbitat, temperatura de l'aigua o presència d'ictiofauna no compleixen molts dels requisits ambientals de l'espècie. No obstant això, sí que és possible que dins de cadascun dels nuclis poblacionals el grau d'homogenització sigui més elevat, ja que els torrents estan un al costat de l'altre i en períodes de grans riuades podrien permetre el pas d'individus d'un nucli a l'altre. L'origen d'aquesta diferenciació genètica i morfològica es pot datar molt aproximadament al voltant de 250.000 anys, una datació que cal prendre amb molta cautela atès que en divergències recents una part de divergència entre les poblacions pot ser deguda a polimorfismes ancestrals (Eduards i Beerli, 2000). Aquest segon episodi de la història evolutiva del tritó del Montseny coincideix amb la darrera fase dels períodes glacials. És interessant, doncs, interrogar-se sobre l'efecte de les glaciacions sobre l'espècie, sobretot considerant els estudis sobre el periglacialisme al Montseny (Llobet, 1947). Segons aquest autor, els fenòmens periglacials haurien tingut lloc durant el Riss i molt probablement també durant el Würm per sobre de 500 m d'altitud. Es tractaria d'un cicle anual de sòl glaçat durant tot l'hivern, part de la tardor i primavera, desglaç intermitent durant el final de la primavera i sòl lliure de glaç a l'estiu. L'autor assenyala també que les àrees periglacials devien ser molt pobres en vegetació, fins i tot a baixa altitud, sense determinar quina devia ser la seva tipologia. És raonable suposar, però, que el bosc es trobava limitat a les cotes més baixes al voltant del riu Tordera i que més amunt hi devia haver prats amb alguns matolls, talment com l'estatge alpi pirinenc actual. Hi ha certes discrepàncies sobre l'inici de la glaciació del Riss, que es situa, segons els autors o els indrets, fa entre 300.000 i 200.000 anys i finalitza entre 110.000 i 80.000 anys enrere. No és descartable, però, que la diferenciació entre els dos nuclis poblacionals del tritó del Montseny pugui estar relacionada amb aquest episodi glacial,

que, a més d'una baixada de les temperatures, també va comportar un clima més sec. Potser aquesta sequera podria haver disminuït notablement el cabal de la Tordera fins a provocar l'extinció de poblacions intermèdies.

Tanmateix, el periglacialisme al Montseny sembla exclusiu de la conca alta de la Tordera i no afecta altres vessants del massís. Aquest fenomen geològic ha estat el responsable de l'aparició de tarteres sense matriu terrosa, rentades de detritus per efecte de la pluja i la neu, i creades per l'arrossegament de materials lítics (Llobet, 1947). Alhora, també el periglacialisme ha estat el causant dels vessants força verticalitzats i esquerps que baixen d'alguns pics que dibuixen la conca de la Tordera. És necessari destacar això, perquè l'hàbitat actual de *Calotriton arnoldi* són sots molt verticalitzats que baixen d'aquests vessants i estan omplerts per una tartera caòtica però exclusivament rocosa, on el curs d'aigua és principalment subterrani. Per tant, el periglacialisme sembla haver modelat l'hàbitat actual del tritó del Montseny i no és impossible postular que els seus hàbits fissurícoles podrien ser deguts a la necessitat de refugiar-se sota aquestes tarteres inundades durant períodes de fred o sequera extrems durant les dues darreres glaciacions.

Finalment, escau una consideració sobre aquesta espècie que habita una àrea de menys de 40 km², amb una població estimada entre 1.000 i 1.500 adults. A més, dades històriques donen fe de regressió poblacional en algun dels torrents (Carranza i Amat, 2005). Tot plegat mostra clarament que el tritó del Montseny és una espècie en perill d'extinció, que requereix una actuació imminent.

BIBLIOGRAFIA

- CARRANZA, S., AMAT, F., (2005). «Taxonomy, biogeography and evolution of *Euproctus* (Amphibia: Salamandridae), with the resurrection of the genus *Calotriton* and the description of a new endemic species from the Iberian Peninsula». *Zoological Journal of the Linnean Society* 145, p. 555–582.
- EDWARDS, S. V., I BEERLI, P.(2000). «Perspective: Gene divergence, Population divergence, and the variance in coalescence time in phylogeographic studies». *Evolution*, 54(6), p. 1839-1854.
- LLOBET, S. (1947). *El medi i la vida al Montseny*, CSIC. Barcelona (reedició 1990).
- MONTORI, A. (1988). *Estudio sobre la biología y ecología del tritón pirenaico *Euproctus asper* (Dugès, 1852) en la Cerdanya*. Tesi doctoral, Universitat de Barcelona.
- WAKE, D. B.(2006). «Problems with species patterns and processes of species formation in salamanders». *Annals of Missouri Botanical Garden*, 93, p. 8-23.
- WEISROCK, D. W., PAPPENFUSS, T. J., MACEY, J.R.,LITVINCHUK, S. N., POLYMENI, R., UGURTAS, I. H., ZHAO, E., JOWKAR, H. & LARSON, A. (2006). «A molecular assessment of phylogenetic relationships and lineage accumulation rates within the family Salamandridae (Amphibia, Caudata) ». *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 41, p. 368-383.

