

STRESZCZENIE

Ze względu na szczególną rolę izolacji rozrodczej w specjacji, kluczowe jest zrozumienie mechanizmów powstawania barier pomiędzy różnicującymi się gatunkami oraz ich akumulację w czasie. Badanie gatunków wykazujących niepełną izolację rozrodczą, zwłaszcza tworzących strefy mieszańcowe, daje cenny wgląd w procesy specjacji. Traszki *L. vulgaris* i *L. montandoni* to para gatunków, które krzyżują się w naturze tworząc strefy mieszańcowe. Historyczna demografia tych gatunków, hybrydyzacja i introgresja są obiektem intensywnych badań. To czyni tę parę gatunków dobrym kandydatem do dalszych badań nad mechanizmami powstawania barier reprodukcyjnych.

Aby poszerzyć wiedzę o izolacji reprodukcyjnej pomiędzy gatunkami, została skonstruowana mapa genetyczna na podstawie krzyżówki F2 *L. vulgaris vulgaris* × *L. montandoni*. Ten krok wymagał przygotowania w postaci wyboru optymalnych markerów molekularnych. Ponieważ w dalszych zastosowaniach mapy niezbędne było zlokalizowanie genów kandydackich, wybór metod został ograniczony do metod resekwencjonowania zdefiniowanych fragmentów. Wybrany typem markerów zostały Molecular Inversion Probes (MIP), używane dotychczas w badaniach biomedycznych. W pierwszej części pracy przydatność MIPów w badaniach ewolucyjnych i ekologicznych została przetestowana na organizmach niemodelowych, jakim są traszki z grupy *Lissotriton vulgaris*, jednocześnie charakteryzujące się złożonym, dużym genomem. Do zaprojektowania markerów niezbędna jest przynajmniej częściowa wiedza o genomie badanego taksonu – w tym przypadku były to sekwencje transkryptomowe. Genotypowanie markerów na genomowym DNA wymagało zidentyfikowania granic eksonów, do czego wykorzystano modele genów gatunku *Xenopus tropicalis*. Tylko dla 5% MIPów nie uzyskano odczytów w trakcie sekwencjonowania, ich specyficzność wyniosła 77% (podobnie do metod opartych na PCR u organizmów niemodelowych). Otrzymane genotypy były wysoce powtarzalne (ponad 99%). MIPy okazały się markerami właściwymi do celów badawczych wymagających użycia wielu (setek czy tysięcy) prób i wielu (od dziesiątek do tysięcy) krótkich regionów.

Po wybraniu i przetestowaniu markerów molekularnych, mapa genetyczna została skonstruowana na podstawie dwóch rodzin mieszańcowych tworzących krzyżówki F2. Aby uzyskać niezbędną liczbę potomstwa, rozmnażanie F2 odbywało się przez dwa kolejne

sezony rozrodcze. Utworzona mapa przedstawia położenie 1146 markerów reprezentujących geny kodujące białka, rozmieszczonych na 12 grupach sprzężeniowych, co odpowiada 12 chromosomom *Lissotriton*. Długość mapy wynosi 1484 cM, co zgadza się z liczbą obserwowanych chiasm w trakcie podziału mejozy. Porównanie map płazów ogoniastych wskazuje na szybką ewolucję tempa rekombinacji w tej grupy organizmów. Analiza loci wykazujących odstępstwa liczebności genotypów w potomstwie od oczekiwań z prawa Mendla (dystorcje segregacji) pozwoliła na wykrycie dwóch bloków dystorcji na dwóch różnych grupach sprzężeniowych. Do dystorcji doszło głównie u potomstwa jednej z rodzin mieszańcowych, w jednym sezonie rozrodczym, co sugeruje zależną od środowiska śmiertelność larw. Ponieważ loci wykazują niedobór alleli właściwych dla *L. montandoni*, najbardziej prawdopodobnymi przyczynami może być zależna od środowiska śmiertelność mieszańców lub niska przeżywalność larw cechujących się allelami właściwymi dla *L. montandoni*, ze względu na różniące oba gatunki traszek preferencje ekologiczne. Oba wyjaśnienia wskazują na istotną rolę zidentyfikowanych bloków sprzężeniowych w izolacji rozrodczej.

Ostatnia część pracy odnosi się do różnic morfologicznych pomiędzy gatunkami i mieszańcami, które również mogą wpływać na izolację rozrodczą. Istniejąca populacja eksperymentalna osobników F1 umożliwiła porównanie cech morfologicznych samców mieszańców i gatunków rodzicielskich (w tym dwóch podgatunków *L. vulgaris*: *L. v. vulgaris* i *L. v. ampelensis*) za pomocą opracowanego indeksu morfologicznego. Mieszańce F1 wykazują różnice morfologiczne istotne statystycznie od pozostałych grup, a ich wygląd jest pośredni pomiędzy gatunkami rodzicielskimi. Plamy występujące na stronie brzusznej traszek, ważna cecha identyfikacyjna gatunków, zostały po raz pierwszy opisane ilościowo. Zastosowanie indeksu morfologicznego w dwóch różnych transektach przez strefę mieszańcową wskazało, że mieszańce *L. v. ampelensis* × *L. montandoni* są nieodróżnialne od *L. v. ampelensis*, co może wpływać na siłę i kierunek doboru płciowego między mieszańcami a gatunkami rodzicielskimi. Dalszym obiecującym kierunkiem badań jest lokalizacja loci cech morfologicznych (przez analizę QTL) na mapie genetycznej i porównanie ich ze wzorem heterogenicznego przepływu genów, ponieważ cechy powiązane z regionami o zmniejszonym/zwiększonym przepływie genów mogą wpływać na izolację rozrodczą między gatunkami, szczególnie przez dobór płciowy.

