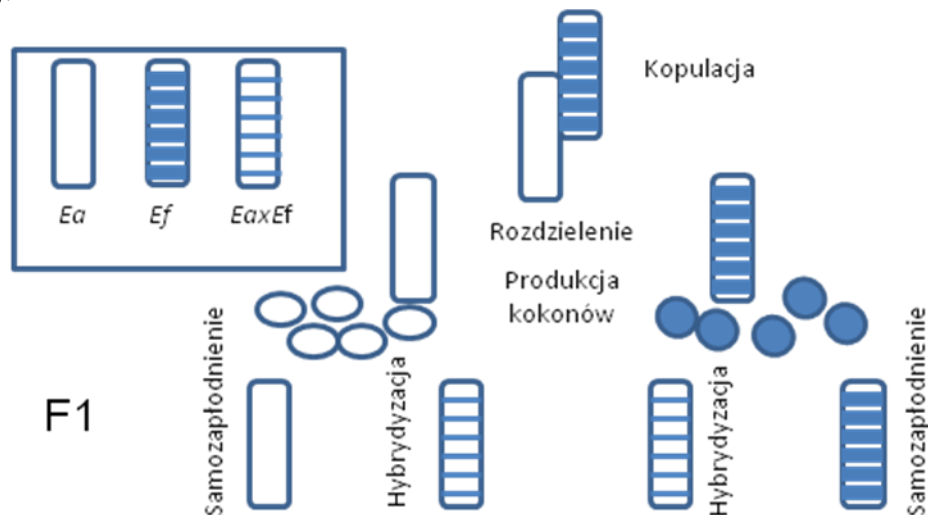


„Rozróżnienie pomiędzy współistniejącymi zjawiskami hybrydyzacji i ułatwionego samozapłodnienia u blisko spokrewnionych modelowych gatunków dżdżownic, *Eisenia andrei* i *E. fetida*, szeroko stosowanych w biomedycynie i ekotoksykologii

Dżdżownice *Eisenia andrei* (*Ea*) znane jako ‘czerwone robaki’ oraz prądkowane ‘tygrysie’ *E. fetida* (*Ef*) należą do uznanych w świecie nauki ‘królików doświadczalnych’ ze względu na ich wyszukany system odpornościowy, nerwowy i układ krążenia, a także dostępną bazę sekwencji DNA. Wyniki badań z użyciem czułych narzędzi biomedycznych mogą być zaburzone przez obecność niewykrytych mieszańców tych blisko spokrewnionych gatunków – toteż ważne jest dogłębne poznanie ich skomplikowanego systemu rozrodczego. Kompostowe dżdżownice z rodzaju *Eisenia* są głównie obojnaki o zapłodnieniu krzyżowym, czyli kopulujące okazy wymieniają spermę i każdy z nich deponuje ją w specjalnych pojemnikach zwanych spermatekami. Po kopulacji dżdżownice rozdzielają się i po pewnym czasie każda z nich produkuje osłonki (kokony) zawierające jej własne komórki jajowe zapładniane spermą partnera. U *Eisenia* sp. udokumentowano też przypadki samozapłodnienia, gdy jaja są zapładniane przez własne plemniki osobnika produkującego komórki jajowe. Natomiast nadal wzbudza kontrowersje możliwość międzygatunkowego kojarzenia się okazów *Ea* i *Ef*, czyli ich hybrydyzacji. Nasze wstępne wyniki dowodzą, że pary dżdżownic (*Ea*+*Ef*) produkują liczne kokony, w większości sterylne, jednak z niektórych kokonów produkowanych przez pary mieszane wylęgają się okazy będące rezultatem hybrydyzacji tworząc pierwszą generację (F1) mieszańców *EaxEf*, oraz okazy powstałe w wyniku samozapłodnienia, gdy potomstwo ma taką samą konstytucję genetyczną jak jeden z rodziców (Ryc. 1). Jeśli niektóre mieszańce są płodne – może pojawić się druga generacja potomstwa (F2) o zróżnicowanym składzie, z mieszańcami *EaxEf* oraz okazami *Ea* i *Ef*.



Ryc. 1. Schemat eksperymentów i oczekiwane główne wyniki

Głównym celem proponowanych badań jest wypracowanie dogodnych biomarkerów do wiarygodnego stwierdzenia, czy okazy z mieszanej hodowli morfologicznie podobnych dżdżownic kompostowych są potomstwem krzyżujących się dżdżownic tego samego gatunku, potomkami samozapłodnionych okazów jednego z tych gatunków, czy hybrydami międzygatunkowymi. Zaadoptujemy do tego mało inwazyjne podejścia: (1) ocenę wzoru pigmentacji (czerwone, tygrysie, mieszane) w oparciu o dokumentację fotograficzną; (2) analizę fluoroforów obecnych w płynie celomatycznym, w szczególności tzw. fluoroforu MUG charakterystycznego dla *Ea*; (3) sekwencjonowanie gatunkowo-specyficznych haploidalnych genów mitochondrialnych, które wskazują dawcę komórek jajowych lecz nie wykrywają mieszańców; (4) sekwencjonowanie diploidalnych genów jądrowych, które ujawniają, czy poszczególne okazy są potomstwem rodziców tego samego gatunku (*Ea* lub *Ef*) czy są hybrydami międzygatunkowymi *EaxEf*; (5) analizę ‘mikrosatelitarnego’ DNA w celu wykrycia samozapłodnienia w obrębie gatunku.

Powyższe narzędzia eksperymentalne zostaną użyte do przetestowania hipotezy, że **przypadki hybrydyzacji, ‘normalnego’ samozapłodnienia lub samozapłodnienia ułatwionego przez obecność partnera innego gatunku dżdżownic zależą od pochodzenia lub wieku okazów rodzicielskich oraz od niektórych czynników środowiskowych, takich jak stres termiczny, głodzenie, skażenie gleby.**

Czułe narzędzia badawcze opracowane w ramach planowanego projektu będą przydatne do precyzyjnego rozróżniania czystych gatunków od ich mieszańców wśród okazów stosowanych w laboratoriach naukowych, lecz także w badaniach terenowych przypuszczalnych stref mieszańcowych *Ea* i *Ef*, które mogą posłużyć za ‘naturalne laboratoria’ do monitorowania procesów mikroewolucyjnych.