

Populační studie

Fisher M. & al. (2000): RAPD variation among and within small and large populations of the rare clonal plant *Ranunculus reptans* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany* 87(8): 1128–1137.



Proč to studovali ?

- fragmentace prostředí
 - menší a více izolované populace
 - snížení genového toku
 - zvýšení genetického driftu
- změny v genetické variabilitě
 - mohou ovlivnit fitness
- klonální, cizosprašná bylina
 - jak to souvisí s genetickou variabilitou

Základní otázky

- vnitro- a mezipopulační genetická diverzita
- vztah mezi genetickou a geografickou vzdáleností mezi populacemi
- závislost genetické diverzity na velikosti populace

Studovaný druh

Ranunculus reptans

- štěrkové břehy horských jezer
- slabý kompetitor, přežívá zaplavení
- vegetativní šíření – kořenující horizontální stonky



Metody

- 2 jezera (Bodamské a Como) – 13 + 4 populace
- 8-10 jedinců/populace – 5 m vzdálené
- velké ($>100 \text{ m}^2$) a malé ($<100 \text{ m}^2$) populace

- RAPD – 10 primerů, 38 polymorfních fragmentů

- clusterová analýza (Wardova metoda)
- AMOVA, gene flow
- Mantel test – 1000 permutací
- homogenita molekulární variance – *Bartlett's test of homogeneity* (předpoklad analýzy variance)

Výsledky

- signifikantní rozdíl mezi oběma jezery – 5.89%
- signifikantní rozdíl mezi částmi jezera Lake Constance – 8.73%
- cca 20% variability mezi populacemi a 74% uvnitř populací
- diferenciaci na malém rozsahu – rozdíly mezi pravou a levou částí populace – 4%
- genetická vzdálenost nezávisí na geografické
- malé populace mají signifikantně o 24% nižší molekulární varianci

Diskuse

- nízký nebo žádný genový tok mezi populacemi
- podobné G_{ST} jako u jiných vytrvalých, cizosprašných a hmyzosnubných druhů
- genetická diferenciace na škále metrů – velmi omezené šíření semen a přenos pylu
- není vztah mezi genetickou a geografickou vzdáleností – silný efekt genetického driftu

Ochranářské závěry

- silná genetická diferenciace – chránit všechny (i malé) populace k zachování diverzity
- zvýšení počtu jedinců v malých populacích

(Bio)systematická studie

Sun M. & Wong K.C. (2001): Genetic structure of three orchid species with contrasting breeding systems using RAPD and allozyme markers. *American Journal of Botany* 88(12): 2180–2188.



Proč to studovali ?

- ovlivnění distribuce genetické variability
 - rozmnožovací systém
 - velikost populace, schopnost kolonizace
- rozdělení genetické variability u orchidejí
 - 2 cizosprašné, 1 apomiktická
 - 1 omezené rozšíření, 2 kolonisté
- žádná isozymová variabilita (předchozí studie)

Studované druhy

- *Zeuxine gracilis*
 - cizosprašný druh, omezená distribuce
 - 6 populací, 9-22 jedinců/populace
- *Zeuxine strateumatica* →
 - apomiktický, kolonizující druh
 - 10 populací, 5 jedinců/populace
- *Eulophia sinensis* →
 - cizosprašný, kolonizující druh
 - 7 populací, 2-10 jedinců/populace



Metody

- allozomy – jen *Z. gracilis*
 - 11 systémů – 18 lokusů, škrobový gel
- RAPD
 - testováno 100 primerů
 - 16 nebo 14 primerů vybráno – 71-97 markerů

Analýza dat

POPGENE

- P – procento polymorfních lokusů
- A – počet alel na lokus
- A_e – efektivní počet alel na lokus (kolik alel se stejnou frekvencí by ukázalo danou diverzitu)
- H_e – očekávaná heterozygosita
- H_o – pozorovaná heterozygosita
- f – fixační index
- S – Shannonův index ($\rightarrow G_{ST}$)
- Nei's H_T , G_{ST} , $I \rightarrow$ UPGMA dendrogram

Výsledky – *Zeuxine gracilis*

(cizosprašná, omezené rozšíření)

extrémně nízký *allozymový polymorfismus*

- negativní fixační indexy – více heterozygotů
- $G_{ST} = 0.333$
- vysoká genetická identita (Nei's *I*)
- podobnost populací souvisí s jejich geografickým rozšířením

vyšší *RAPD polymorfismus*

- $G_{ST} = 0.539$ – vysoký stupeň diferenciace
- nižší genetická identita (Nei's *I*)

Výsledky – *Zeuxine strateumatica*

(apomiktický, kolonizující druh)

allozomy – jeden multilokusový genotyp

RAPD

- 14 primerů – 71 markerů
- hlavní rozdíly mezi populacemi ($G_{ST} = 0.924$)
- v rámci populace nízká variabilita
- dendrogram – shlukování odráží geografickou polohu

Výsledky – *Eulophia sinensis*

(cizosprašný, kolonizující druh)

allozymy – téměř kompletní absence polymorfismu

RAPD

- 14 primerů – 97 markerů
- vysoká diferenciace populací ($G_{ST} = 0.653$)
- populace o různých velikostech – ovlivňuje míry heterogenity
- dendrogram – shlukování s výjimkami odráží geografickou polohu

Diskuse – *Z. gracilis* (cizosprašný druh)

- negativní fixační indexy (tj. více heterozygotů než za H-W rovnováhy) – možná ovlivněno selekcí ve prospěch heterozygotů
- extrémně nízká vnitropopulační variabilita (H) 0.076 vs. 0.26
- naopak G_{ST} je vyšší (0.539 vs. 0.23)
 - může být díky přítomnosti organelární DNA v RAPD profilu
- pattern dáno spolupůsobením genetického driftu a izolovaností relativně malých populací

Diskuse – *Z. strateumatica* (apomikt)

- celková diverzita nebyla o mnoho nižší než u cizosprašné *Z. gracilis* ($H_T = 0.144$ vs 0.165)
- působí *founder efekt* a rychlá fixace genotypu u apomikta
 - redukuje vnitropopulační variabilitu
 - zvyšuje mezipopulační variabilitu

Diskuse – *Eulophia sinensis*

(cizosprašný druh)

- vysoká genetická diferencovanost na populace ($G_{ST}=0.653$) – může být ovlivněno:
 - founder efekt a genetický drift v nově zakládaných populacích

Genetický drift – hlavní vliv na genetickou diverzitu v rámci a mezi populacemi

→ ochrana více populací pro zachování celkové diverzity

Srovnání allozymů a RAPD

- podobné pattern pro rozdělení diverzity asociované s životními charakteristikami
- intrapopulační (H_e) i mezipopulační (G_{ST}) odhady diverzity u RAPD vyšší
- absence isozymové variability – chybný předpoklad nízké genetické variability