

# Populační studie

Tarayre M. (1997): The spatial genetic structure of cytoplasmic (cpDNA) and nuclear (allozyme) markers within and among populations of the gynodioecious *Thymus vulgaris* (Labiatae) in southern France. *American Journal of Botany* 84(12): 1675-1684



# Proč to studovali ?

- srovnání prostorového rozložení genetické variability mezi jaderným a chloroplastovým markerem
  - mezi populacemi
  - mezi ploškami v rámci jedné mladé populace
- porovnání podílu pylu a semen na genovém toku
- závislost genetické diferenciaci na podílu samičích rostlin u gynodioecického druhu

# Metodika

- RFLP
  - 12 populací, 5 rostlin / populace
  - 31 rostlin z mladé populace (CAB) – 3 plošky + souvislé okolí
  - 8 restričních enzymů testováno, 3 vybrány
  - hybridizace s cpDNA z *Beta vulgaris*
- allozomy
  - 30 rostlin z 10 populací
  - CAB – 10 rostlin na plošku + 20 z okolí
  - 4 polymorfní lokusy

# Analýza dat

- genetická diverzita (Nei 1987) –  $H_S$ ,  $H_T$ 
  - odhady v závislosti na typu přenosu markeru
- F-statistika (FSTAT)
- počet migrantů za generaci –  $M$
- *pollen/seed flow ratio* (Ennos 1994)

# Výsledky – variabilita cpDNA

- variabilita v RFLP – hlavně díky mutacím
- 8 chlorotypů – kombinací restričních pattern ze tří enzymů
  - I a II – více rozšířené než všechny ostatní (*Tab. 2*)
  - I – v 10 ze 13 studovaných populací (*Fig. 2, Tab. 3*)
  - VIII – specifický pro jednu populaci
- identické chlorotypy nalezeny ve vzdálených populacích

# Prostorová struktura markerů

## cpDNA

- velká část variability mezi populacemi (*Tab. 4*)
- $F_{ST} = 0.238$

## allozomy

- variabilita uvnitř populací (*Tab. 5*)
- $F_{ST} = 0.019$

→ genový tok pylem je větší než semeny (P/S=14)

*podobná pattern na úrovni populací i na malé škále*

# Diskuse

- přestože byl studován malý počet rostlin – nalezena velká prostorová struktura cpDNA
  - až 4 různé chlorotypy z 5 rostlin z jedné populace
- CG ploška nové populace (CAB) – specifický chlorotyp
  - nenalezen u okolních populací
  - asi díky malému počtu vzorků
- žádná závislost mezi frekvencí samičích rostlin a cpDNA diverzitou (*Tab. 6*)

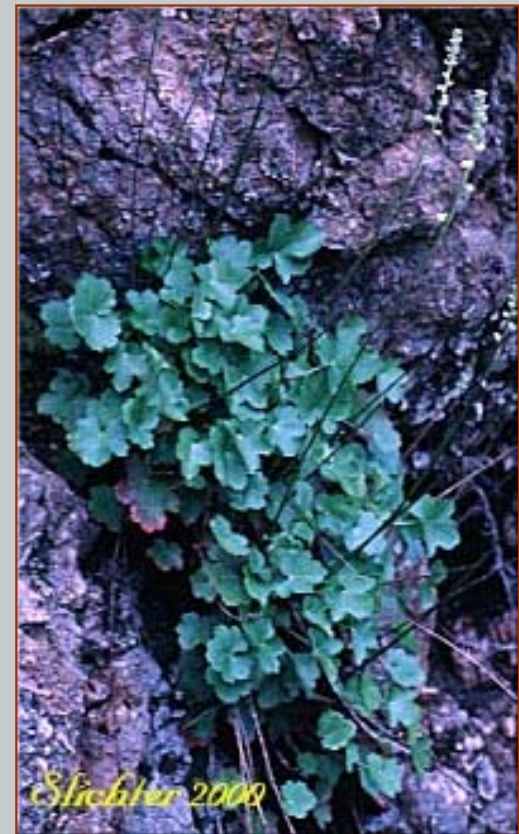
# Diskuse

- velká prostorová struktura díky
  - kolonizace na malé vzdálenosti – žádná přizpůsobení semen
  - mladé populace – více samičích rostlin, tj. více semen
- $F_{ST}$  pro cpDNA větší v mladé populaci
  - kolonizace (*founder effect*) zvyšuje populační diferenciaci
  - diferenciace může vytrvávat dlouho – omezené šíření



# Systematická studie

Segraves K.A. et al. (1999): Multiple origins of polyploidy and the geographic structure of *Heuchera grossulariifolia*. *Molecular Ecology* 8:253-262



# Proč to studovali ?

- mnohonásobný vznik polyploidů
- identifikace originálních diploidů
- prostorové rozložení diploidních a tetraploidních linií

# Metody

- 10 lokalit – 4 rostliny / lokalita a ploidie
- ploidie – průtoková cytometrie
- RFLP – 12 restričních enzymů
  - hybridizace s cpDNA z *Lactuca* a *Petunia*
- PCR-RFLP – *trnK1/2*, *rbcL T1/orf512*
  - restrikce vždy jednou z 10 endonukleáz
- sekvenování – *trnL/F*
  - uvažovány pouze substituce – indely nezahrnuty
- *outgroup* – polarizace mutací
- kombinace dat – *strict consensus* – 100 *bootstrap replicates*

# Výsledky

- RFLP – 4 mutace restrikčních míst, 2 délkové mutace (*Tab.2*)
- PCR-RFLP – 2 restrikčních místa v *trnK*
- sekvenování – 937 bp
- 13 cpDNA haplotypů – i 4 v jedné populaci
- 36 *most parsimonious trees* → *strict consensus tree* (*Fig. 2*)
  - na pěti větvích společně 2n i 4n ploidie
- skoro všechny 4n mají odpovídající 2n typy
- mnohé nesrovnalosti mezi fylogenezí a geografickou distribucí 4n a 2n se stejným cpDNA haplotypem

# Vznik tetraploidů

- Rapid River populace – velmi odlišné (4-7 mutací) od ostatních
  - nejméně 2 nezávislé polyploidní linie
- až 7 nezávislých vzniků
  - protože je 7 odlišených haplotypů  $4n$
- všechny tetraploidní populace – mix nejméně dvou haplotypů
- některé  $4n$  populace podobné  $2n$  populacím až 180 km vzdáleným

# Diskuse

- Rapid River – nenalezen odpovídající  $2n$  – mohl být přehlédnut nebo vyhynul
- současná diverzita a distribuce  $4n$  haplotypů může
  - odrážet genový tok v minulosti
  - být produktem dalších mutací, které dále odlišily polyploidy
- tyto 2 hypotézy nebylo možné odlišit

# Distribuce haplotypů a cytotypů

- neexistuje  $4n$  populace vzniklá z blízké  $2n$
- 4 vysvětlení
  - nebyly sebrány všechny haplotypy (vysoká diversita haplotypů)
  - rodičovské  $2n$  haplotypy mohly vymřít (a pak jsou jako nejpodobnější uvažováni jiní  $2n$ )
  - chloroplastová introgrese přes triploidy (...ale není evidence)
  - vysoký stupeň homoplasie ve spacerech (...ale aspoň v některých není)
- polyploidi nevznikly recentně – byl čas na migraci
  - zbytky větší populace v minulosti
  - genový tok v minulosti – jsou nějaké náznaky