

# Populační studie

Chiang T.Y. & Schaal B.A. (1999): Phylogeography of North American populations of the moss species *Hylocomium splendens* based on the nucleotide sequence of internal transcribed spacer 2 of nuclear ribosomal DNA. *Molecular Ecology* 8:1037-1042



# Proč to studovali ?

- rekonstruovat fylogenezi severoamerických populací
- otestovat hypotézu molekulárních hodin
- zjistit, zda v rámci druhu mohou existovat kryptické druhy

# Studovaný druh

- veľmi starý druh – nalezene i fosilie
- žiadna intraspecifická morfológická variabilita
- Appalachian Mountaines – 4 populace
- Pacific Northwest – 3 populace
- Pennsylvánie, Michigan, Newfoundland
- *Hylocomiastrum pyrenaicum*, *Neodolichomitra yunnanensis* - outgroup

# Metodika

- PCR amplifikace ITS2 (ITS2-3, ITS2-4)
- sekvenování z obou stran – překryv cca 50 bp
- *alignment* – CLUSTAL V
- maximální parsimonie – PAUP
- distanční analýza (NJ) – MEGA
  - Kimura's 2-parameter distance
- *minimum spanning network* – MINSNET
- *relative rate test* – rozdíly v substituci nukleotidů mezi sekvencemi

# Výsledky

- délka ITS2 – 382-386 bp
  - 384 – *Neodolichomitra yunnanensis*
  - 392 – *Hylocomiastrum pyrenaicum*
- především variabilita v substitucích
- délková variabilita – 4 baze delece, 3 baze inserce
- 841 substitučních událostí – 434 transzicí, 407 transverzí
- 18.7% variabilních pozic
- 3.6% pozic fylogeneticky informativních (ostatní jen v jedné populaci – autapomorfie)

# Fylogenetická rekonstrukce

- 13 stejně dlouhých maximálně parsimonických stromů
- monofylie *H. splendens* – bootstrap 91%
- identická topologie NJ jako parsimonie
- není jasné biogeografické pattern
- *unrooted network* – hierarchické vztahy

# Diskuse

- rozdíly mezi jednotlivými populacemi mnohem větší než u jiných druhů – díky dlouhé evoluční historii
- ale žádná signifikantní podpora speciace
- vyšší genetická diferenciace na subpopulace ( $F_{ST}=0.197-0.390$ ) – omezený genový tok
- rychlost evoluce sekvencí – heterogenita mezi skupinami – není konzistentní s hypotézou molekulárních hodin

# Systematická studie

Martins L., Oberprieler C. & Hellwig F.H. (2003): A phylogenetic analysis of *Primulaceae* s.l. based on internal transcribed spacer (ITS) DNA sequence data. *Plant Systematics and Evolution* 237: 75-85





# Proč to studovali ?

- objasnit fylogenezi hlavních skupin v rámci *Primulaceae* v tradičním pojetí
- zhodnotit monofylii velkých rodů – *Androsace*, *Lysimachia*, *Primula*
- ...k řešení použít sekvenci ITS

# Studované druhy

- nejméně jeden druh z každého rodu
- 6 ze 7 podrodů *Primula*
- outgroup – Theophrastaceae (*sister family*)

# Metody

- amplifikace – buď kompletní region ITS, nebo ITS1 a ITS2 zvlášť
- cyklické sekvenování –IRD-labelling (LI-COR)
- alignment – ClustalW
- analýza – 1.kompletní sekvence, 2. vyřazení vysoce variabilních oblastí – víceznačný alignment?
- gaps – missing data, indely – binární kodování
- NJ (TreeCon) – Kimura's distance
- parsimonie (PAUP), bootstrap

# Výsledky

- ITS1 – 208-256, ITS2 – 198-223
- celkem 564 pozic
  - 369 parsimonicky informativních
  - 107 konstantních
- 6 maximálně parsimonických stromů
- *bootstrap tree* (Fig.2)
  - 6 bazálních *clades*
  - další skupina bootstrap pouze 62% – v rámci ní další podporované skupiny

# Diskuse

- hlavní oddělení *Myrsinaceae* a *Lysimachieae* od ostatních *Primulaceae* s.l.
- příbuznost *Myrsinaceae* a *Lysimachieae* podpořena i morfologickými daty
- pozice r. *Ardisiandra* nejasná
- malé rozlišení v rámci *Lysimachieae*
- r. *Lysimachia* není monofyletický – *L. azorica* je zvlášť – 20 bp synapomorfická delece (spolu s *Anagallis* ad.)
- pochybné infragenerické členění v r. *Lysimachia* – vyčlenění subgen. *Naumburgia* je neopodstatněné
- *Centunculus* a *Anagallis* – nesouvisí spolu

# Diskuse II.

- *Androsace*
  - monofylie na základě NJ, cpDNA a morfologie
  - není podpořena parsimonickou analýzou
  - *A. lanuginosa* – nemá 21 bp delecii v ITS1
- příbuznost *Samolus* a *Cyclamen* je sporná
  - slabý *bootstrap support*
  - konfliktní s cpDNA daty

# Závěr

- udělána první analýza jaderné DNA
- částečně konfliktní fylogenie v porovnání s cpDNA
- ...nový vhled do fylogeneze čeledi
- ale ... neúplné vysvětlení mezirodových vztahů v rámci *Primulaceae*