

Druhový koncept protist

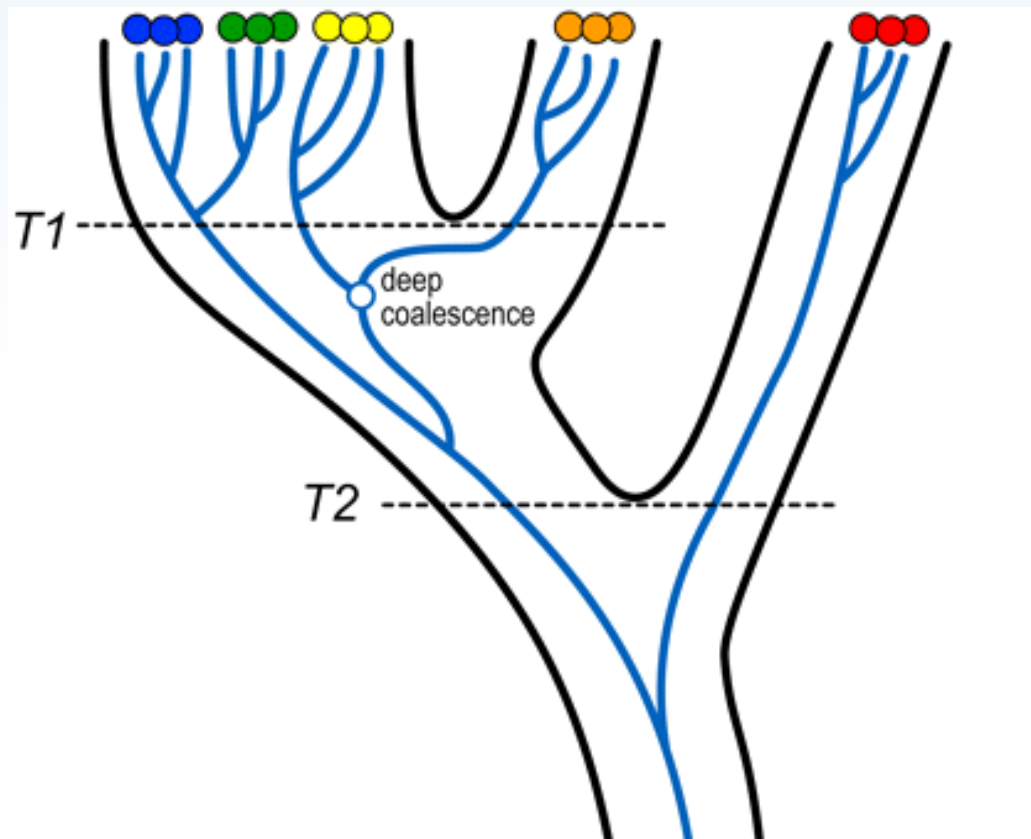


Pavel Škaloud, katedra botaniky PŘF UK

Protistologie (MB160P62)

Druhový koncept protist

- Význam druhového konceptu
- Koncepty druhů u protist
- Automatické odlišení druhů



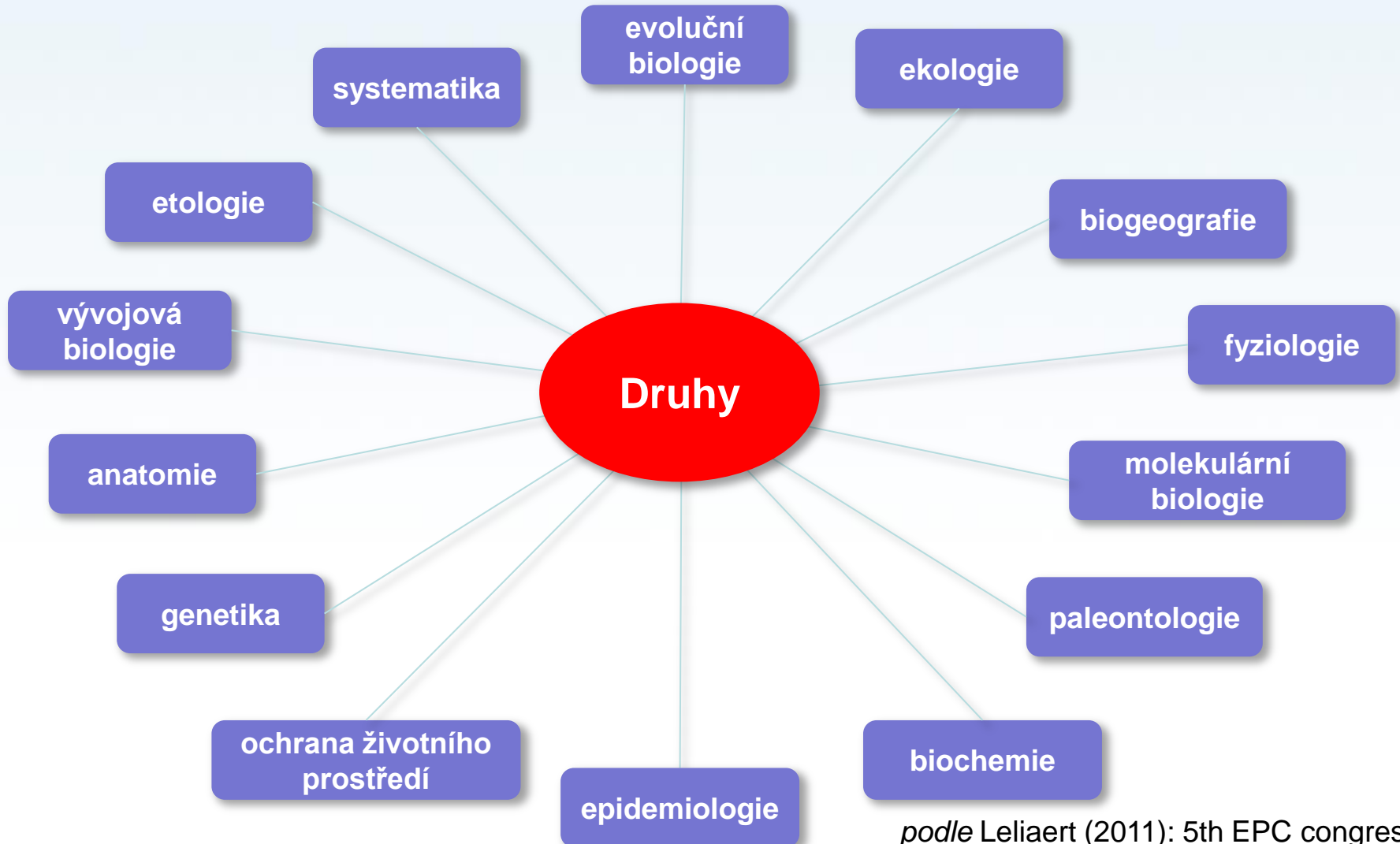
Druhy

- Základní jednotky systematiky
 - Organizace biodiverzity do přehledného systému



Druhy

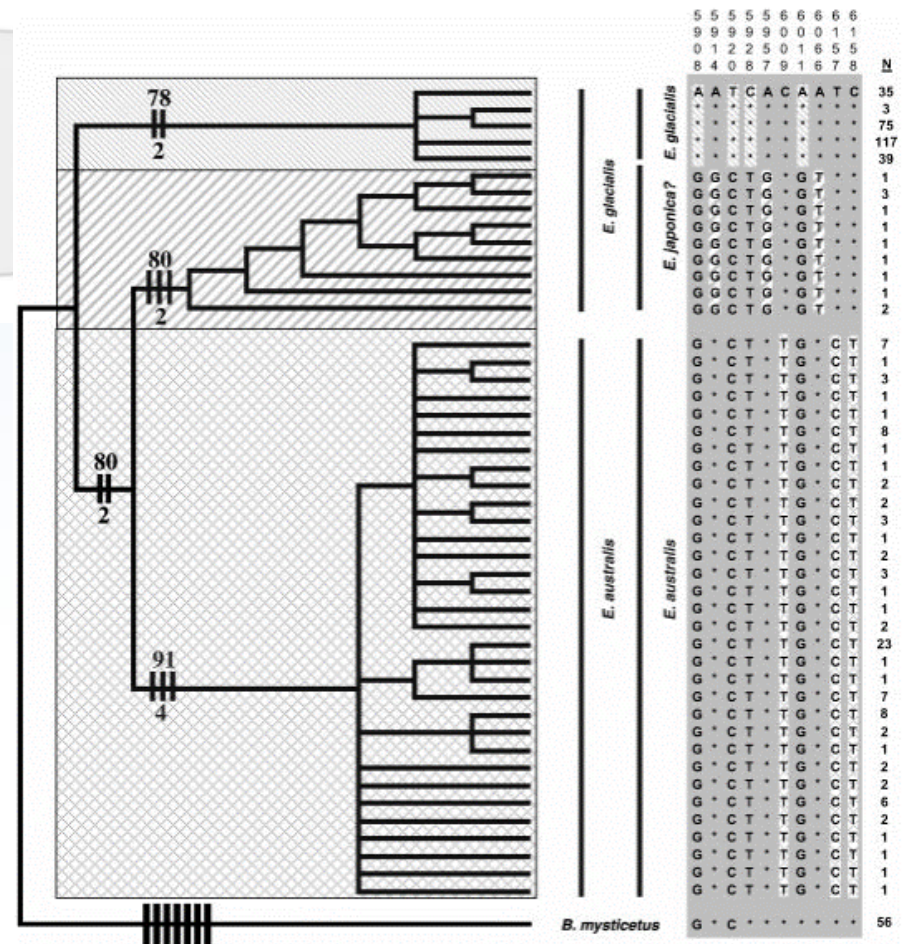
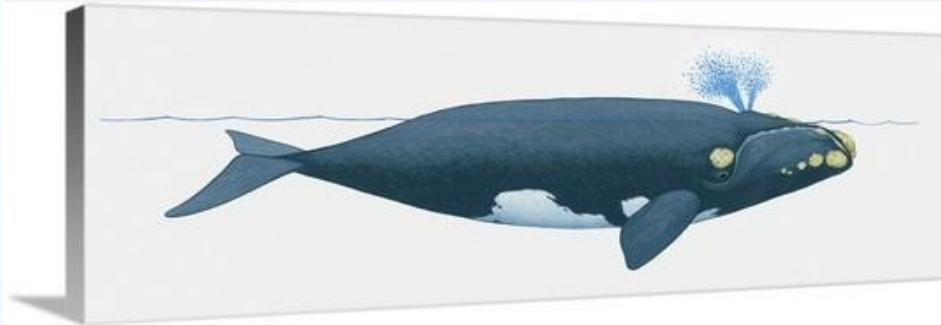
- Základní jednotky téměř ve všech biologických oborech
- Je důležité druhy správně definovat



Význam definice druhů

- Ochrana prostředí

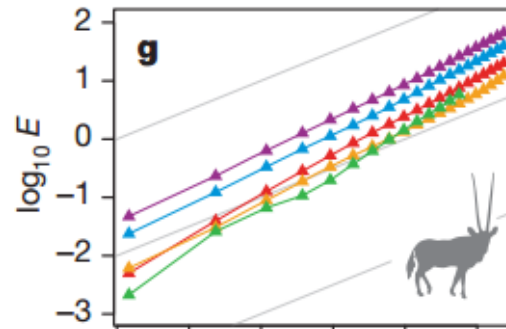
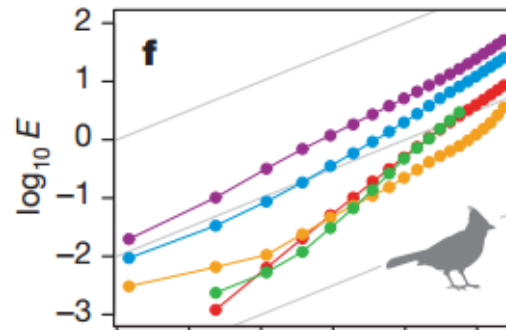
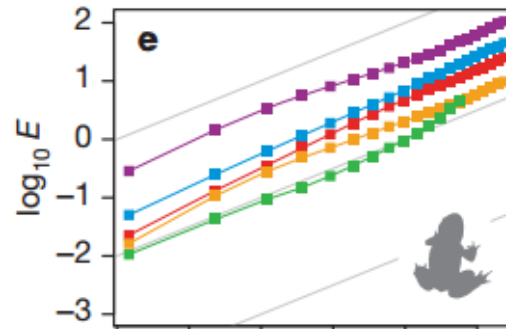
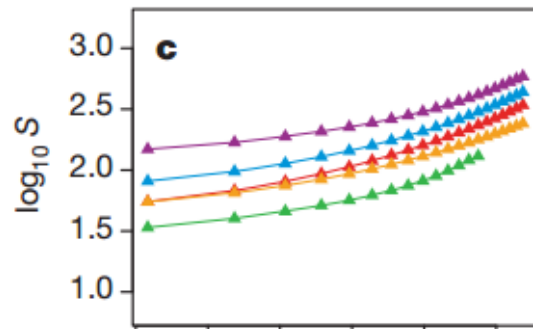
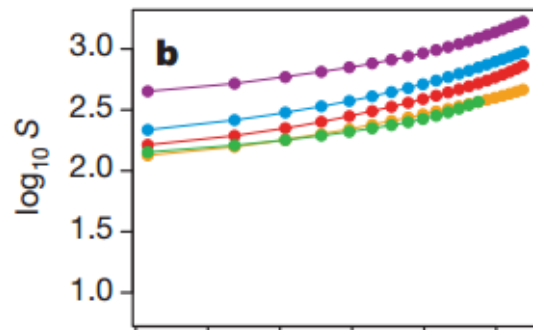
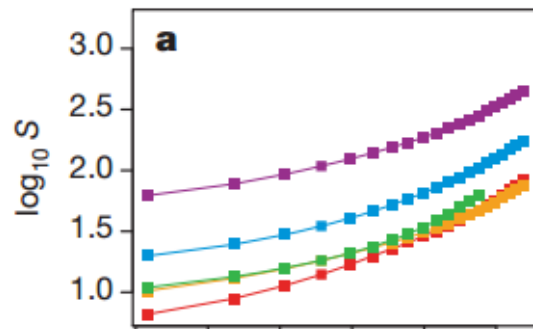
- Velryba japonská (*Eubalena japonica*): v roce 2000 popsána jako samostatný druh, od roku 2008 evidována jako ohrožený druh



Význam definice druhů

□ Amphibians, ○ Birds, △ Mammals

Africa, Eurasia, North America, South America, Australia



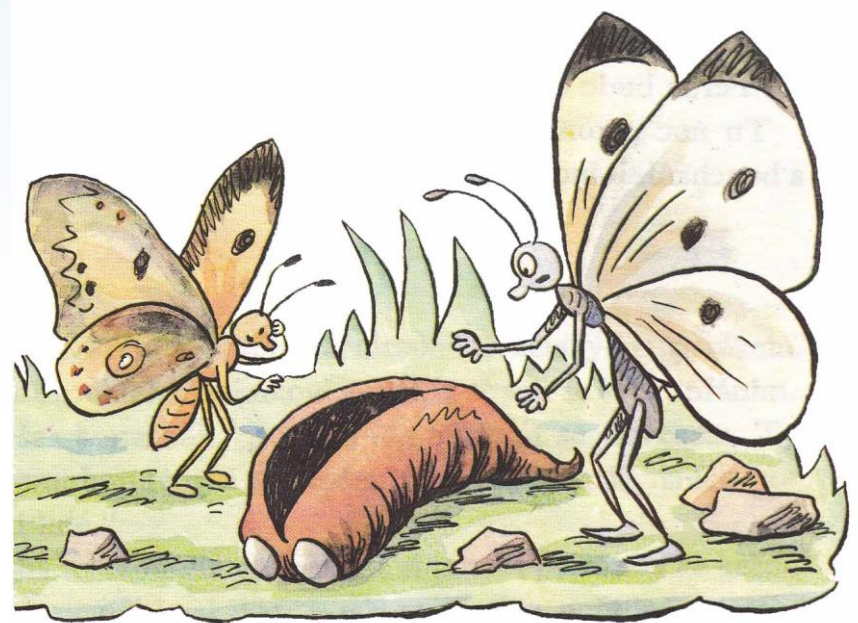
- Makroekologie
 - Druhy jako základní jednotky pro testování obecných ekologických hypotéz

Význam definice druhů

- Zkreslení počtu druhů použitými druhovými koncepty (taxonomic bias)

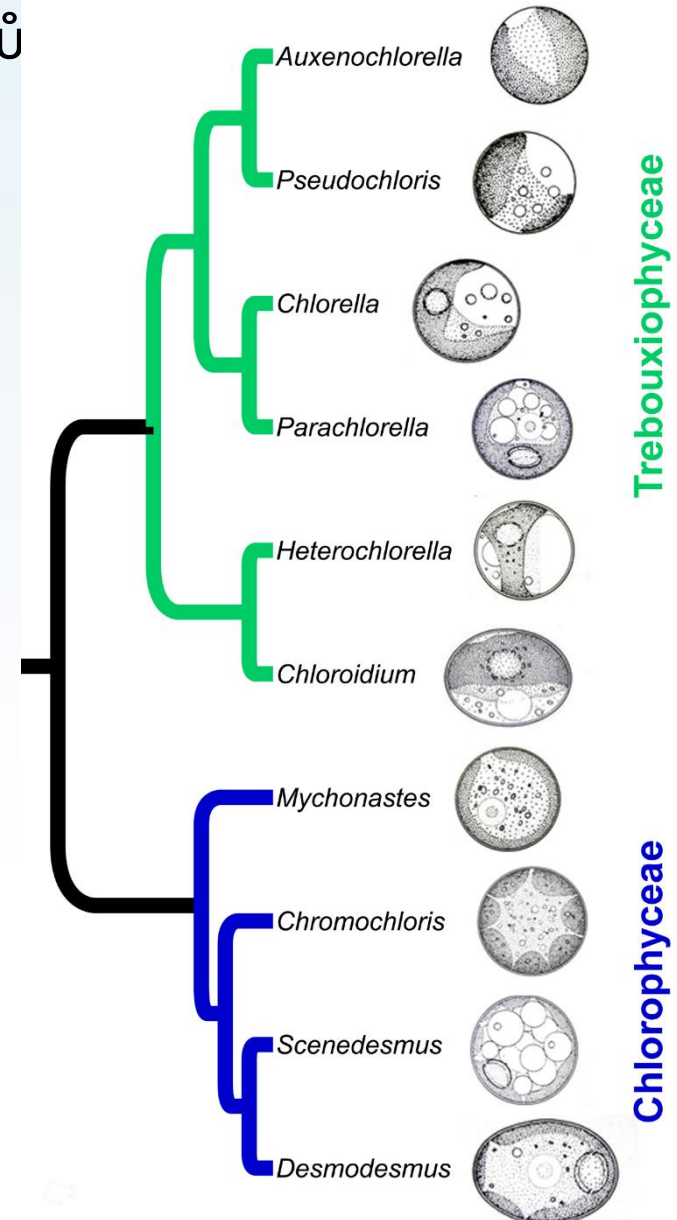
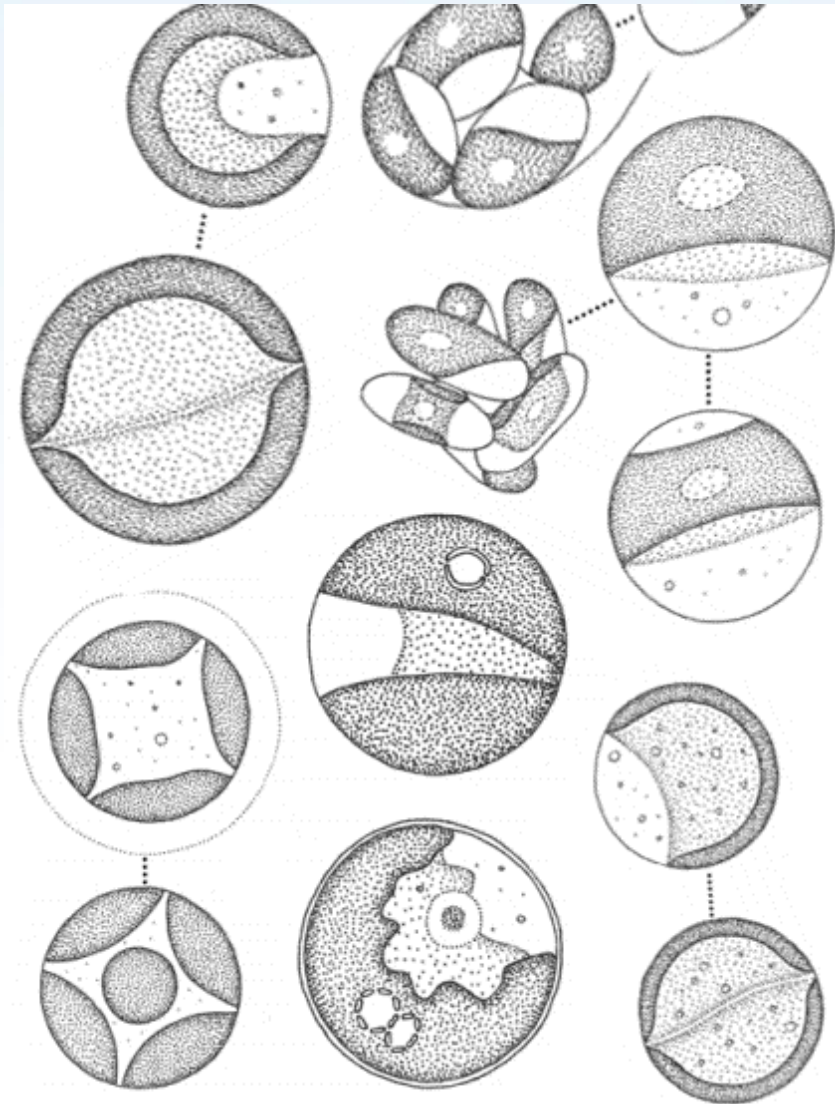


- Makroekologie
 - Druhy jako základní jednotky pro testování obecných ekologických hypotéz



Význam definice druhů – protista

- *Chlorella* = morfologický koncept druhů



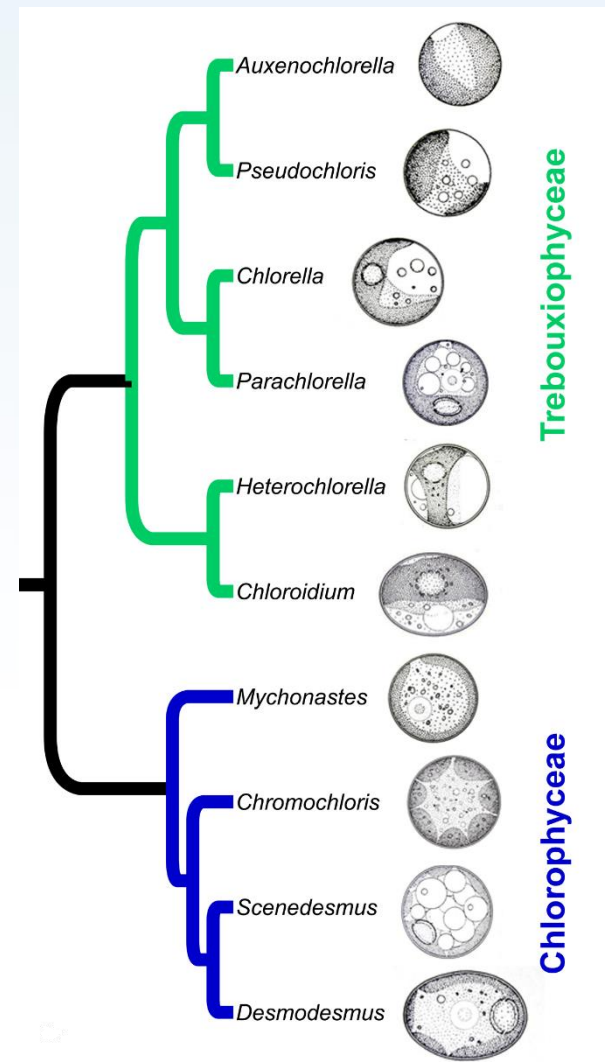
Význam definice druhů – protista

- *Chlorella* = široké průmyslové využití
 - celoroční obrat přesahuje 38 miliard USD
 - výběr kmenů s velkým obsahem lipidů

		EPA (omega-3)	18:1(9Z)	18:2(9Z,12Z)	18:3 (9Z,12Z, 15Z)	9-Octadecanamid
<i>Chlorella</i> sp.	SAG 1.80	0	6	18	16	14
<i>Chlorella</i> sp.	SAG 3.83	0	10	14	15	14
<i>Chlorella</i> sp.	SAG 9.95	0	2	20	9	19
<i>Chlorella</i> sp.	SAG 15.93	0	2	20	17	20
<i>Chlorella</i> sp.	SAG 211-18	0	1	16	17	21
<i>Chlorella</i> sp.	SAG 211-6	0	1	11	20	23
<i>Chlorella</i> sp.	SAG 211-80	0	19	41	7	9
<i>Chlorella</i> sp.	SAG 241-80	0	1	11	22	17
<i>Chlorella</i> sp.	SAG 242.80	24	7	10	3	9
<i>Chlorella</i> sp.	SAG 69.94	9	19	12	28	0

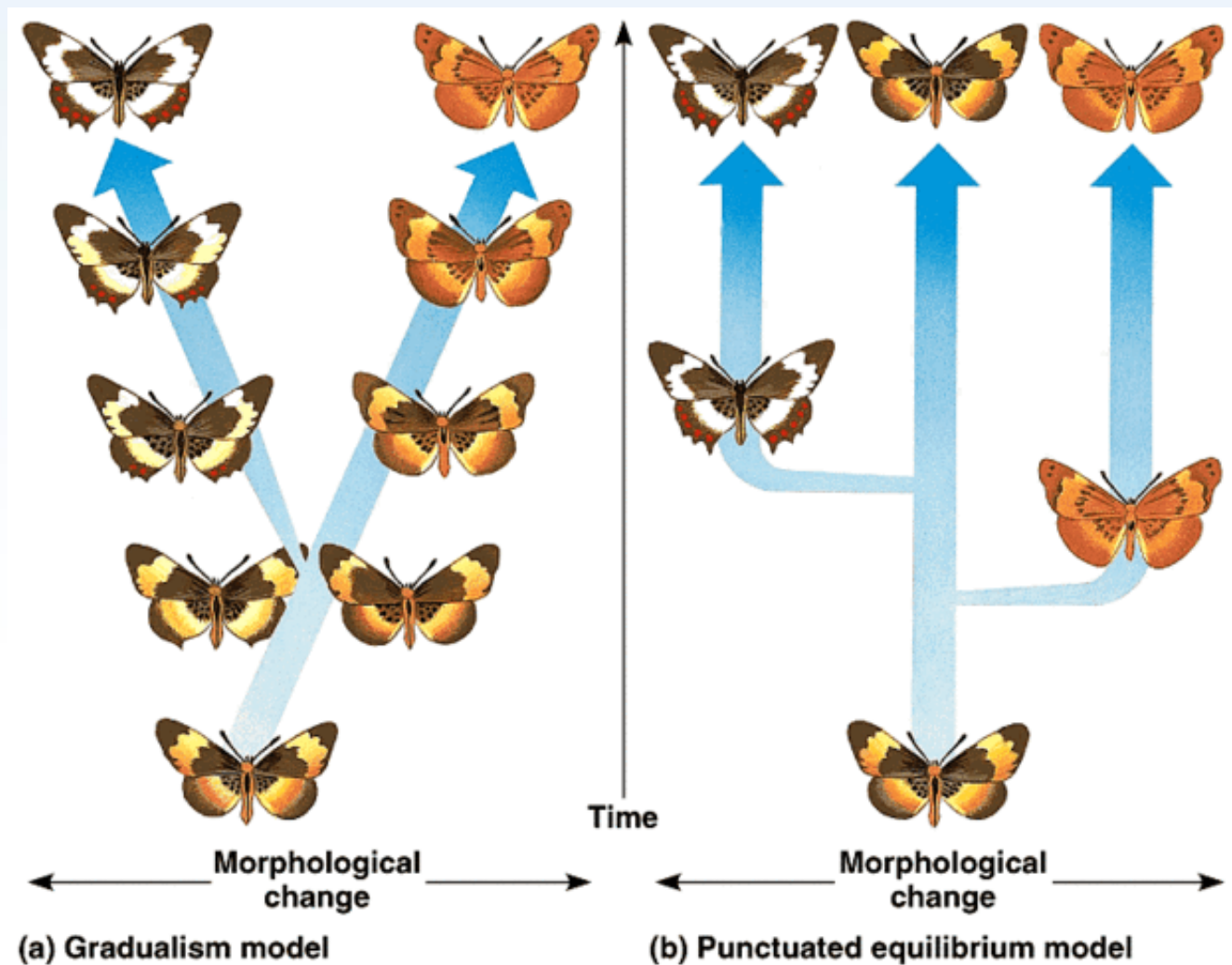
Význam definice druhů – protista

- *Chlorella* = registrace potravinových doplňků
 - seznam povolených organismů (*Chlorella vulgaris*, *Ch. pyrenoidosa*)



Definice druhů

- Obtížnost jednoduché definice druhů
 - Druhy nejsou stálé, ale vyvíjející se entity

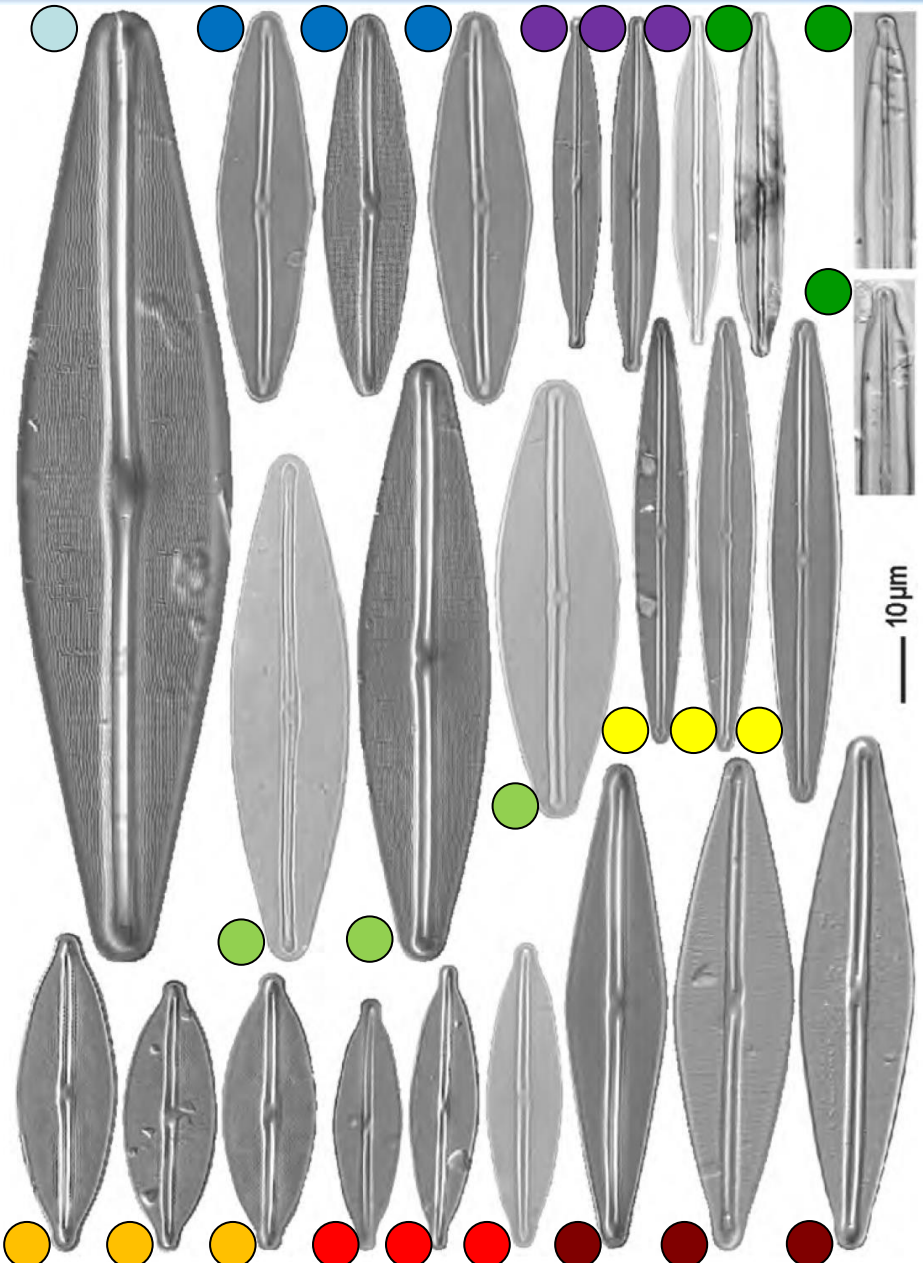
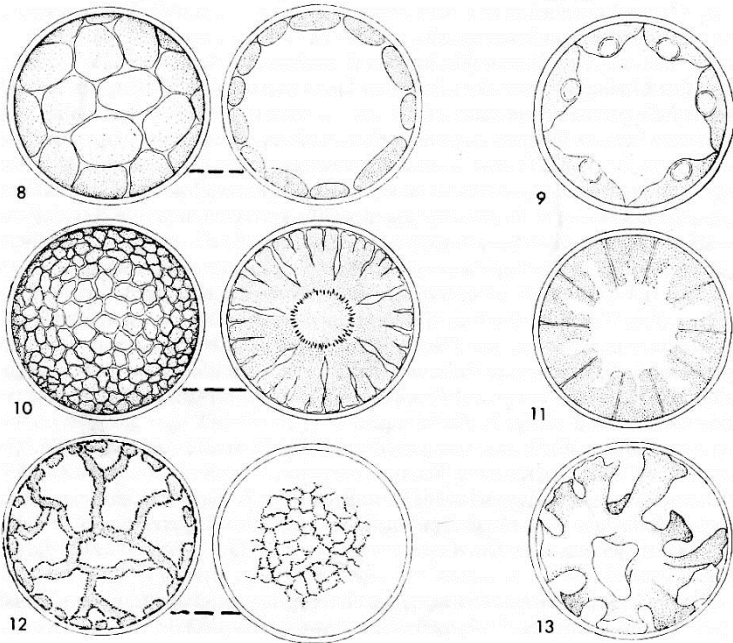


Druhové koncepty protist

Cohesion species concept	Biological species concept	Evolutionary significant unit
Cladistic species concept	Phylogenetic species concept	Polythetic species concept
Internodal species concept	Genealogical concordance concept	Recognition species concept
Composite species concepts	Hennigian Species concept	Reproductive competition concept
Ecological species concept	Evolutionary species concept	Genetic species concept
Non-dimensional species concept	Morphological species concept	Palaeospecies concept
Phenetic species concept	Linnean species concept	Successional species concept
	Agamospecies concept	Taxonomic species concept
		Genotypic cluster definition

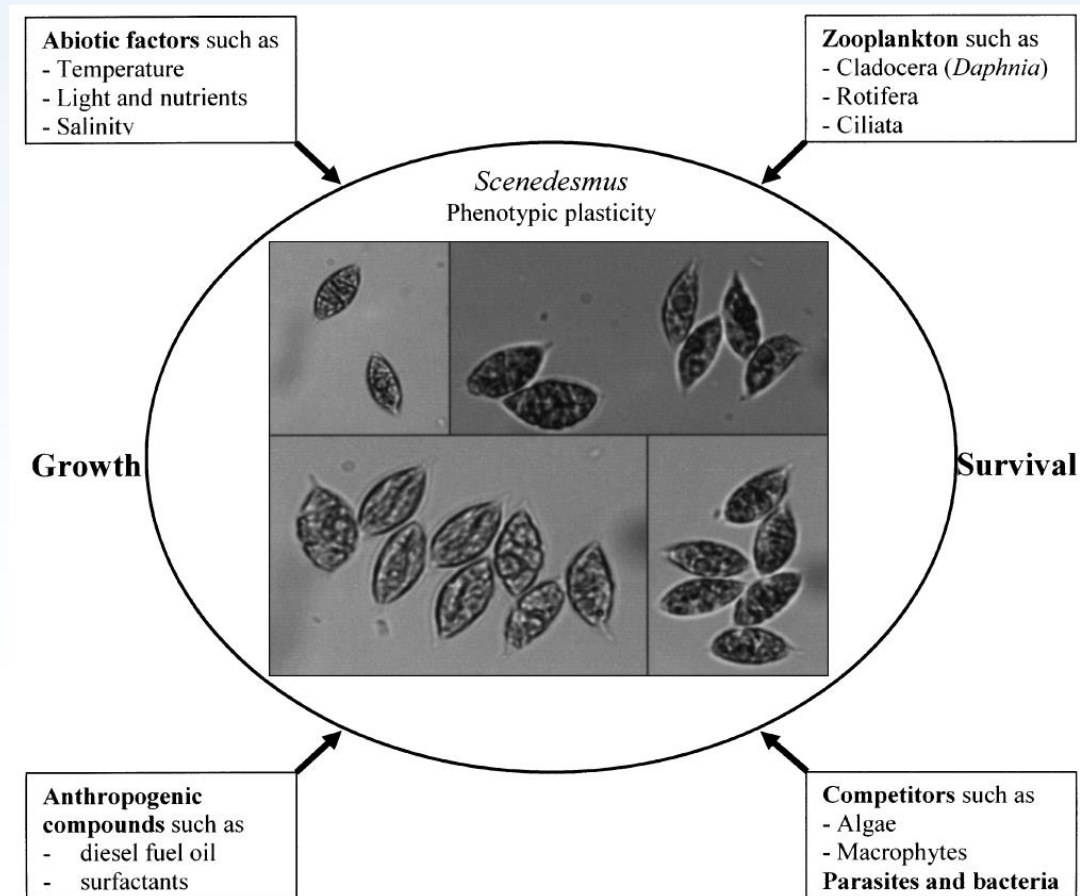
Morfologický koncept druhů

- Tradiční koncept
 - U některých skupin stále hojně využíván



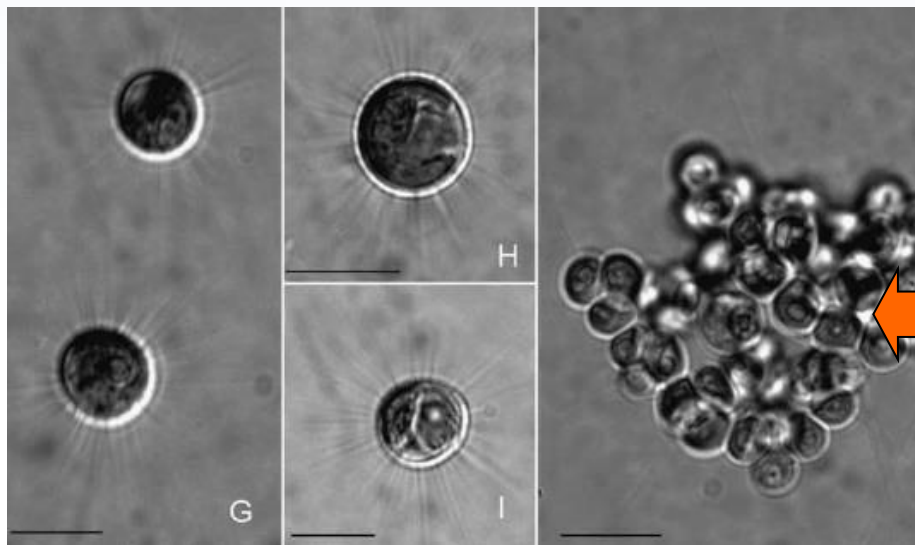
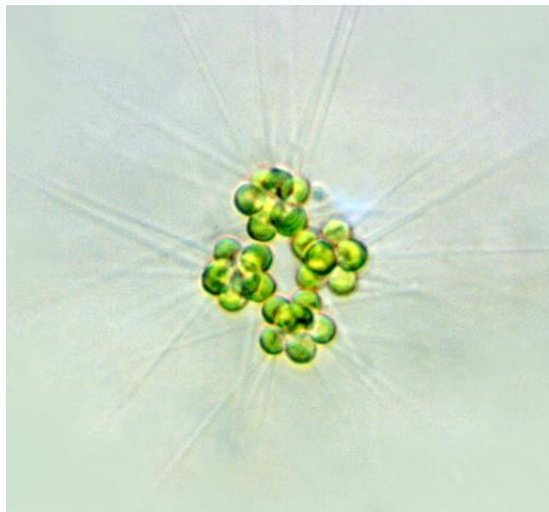
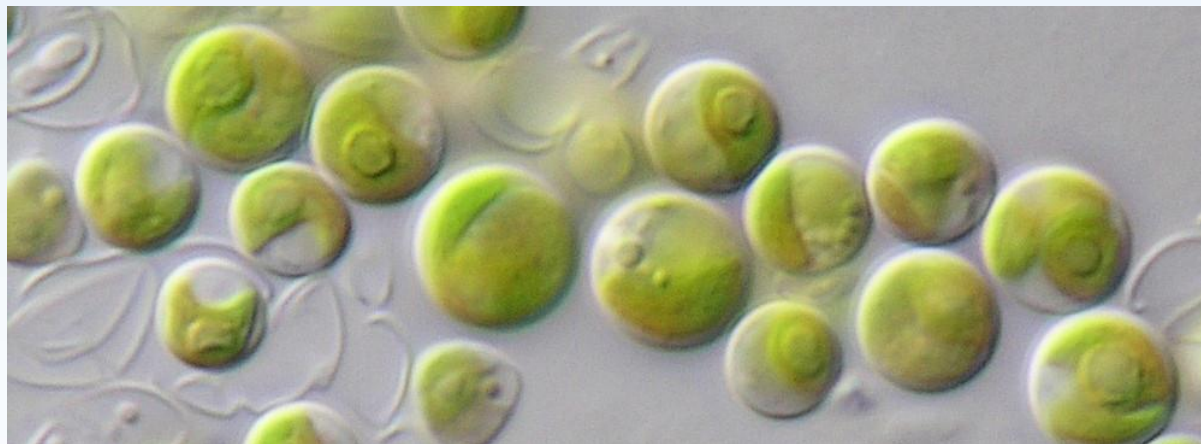
Morfologický koncept druhů

- Definice druhů na základě pozorování přírodních vzorků
 - Chybí znalost o míře fenotypické plasticity (*Scenedesmus*)



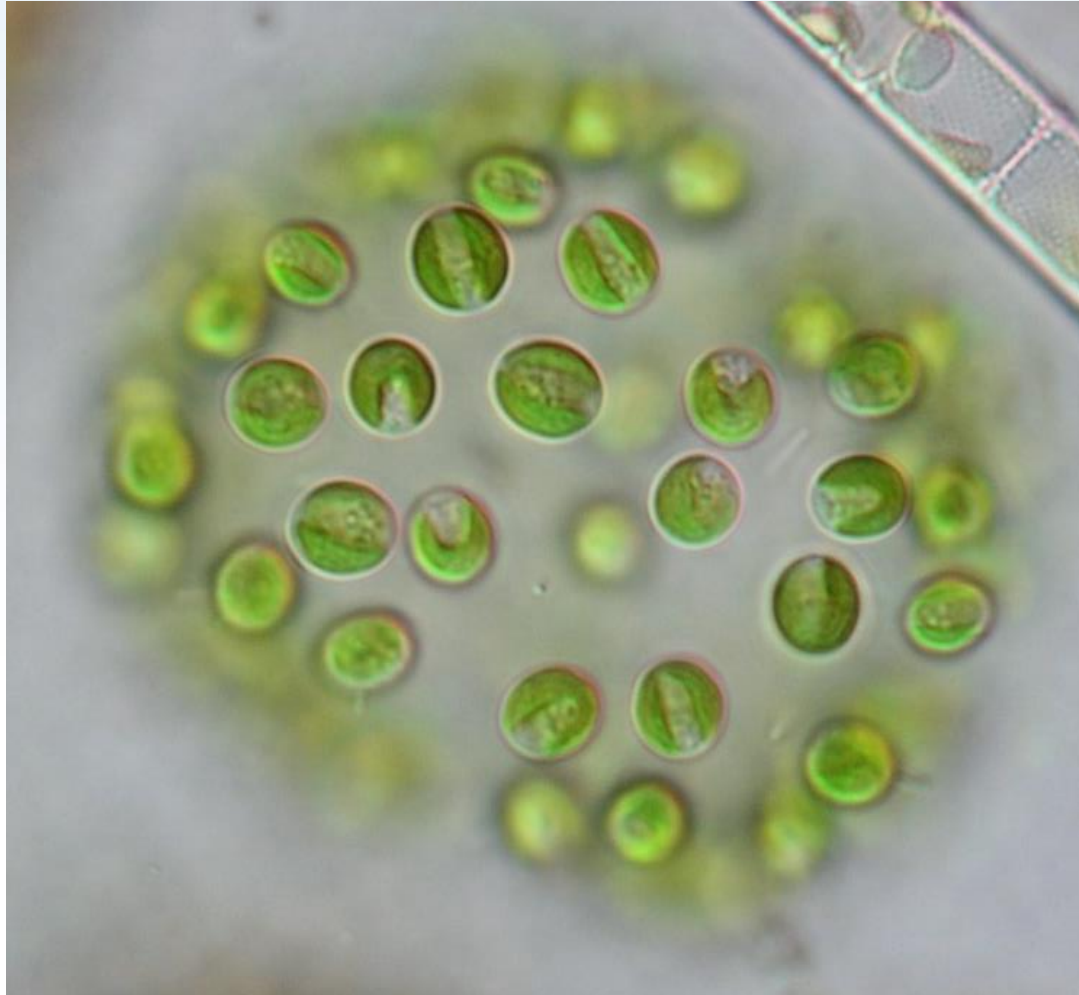
Morfologický koncept druhů

- Definice druhů na základě kultivovaných kmenů
 - Absence znaků důležitých pro determinaci druhů v přírodě (*Micractinium*)



Morfologický koncept druhů

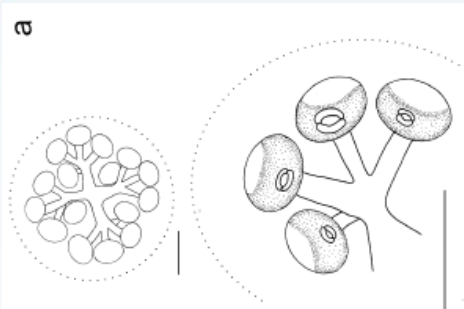
- Konvergentní morfologická evoluce
 - *Dictyosphaerium*



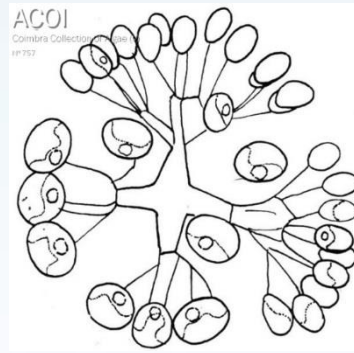
Morfologický koncept druhů

- Konvergentní morfologická evoluce
 - *Dictyosphaerium* (9 kryptických rodů)

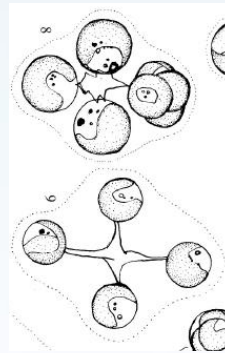
Dictyosphaerium



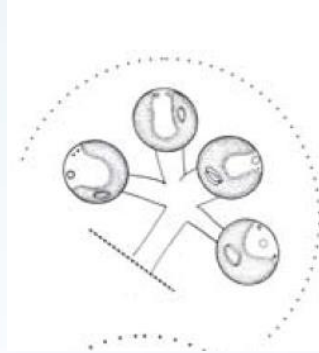
Hindakia



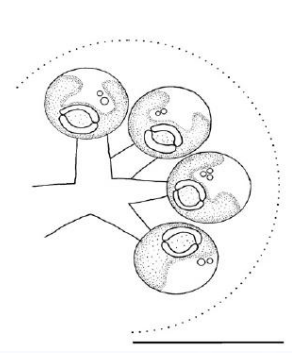
Mychonastes



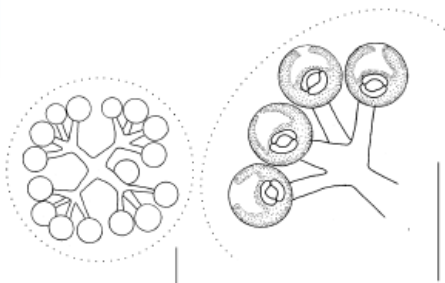
Chlorella



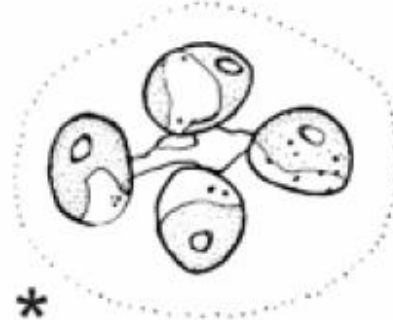
Heynigia



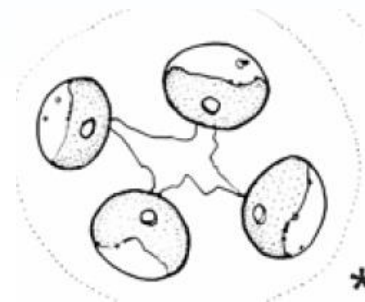
Mucidosphaerium



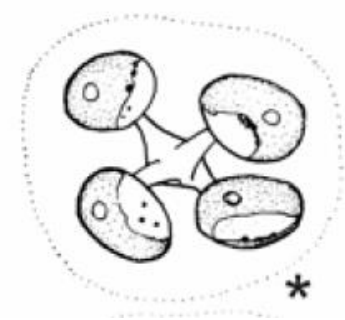
Compactochlorella



Kalenjinia

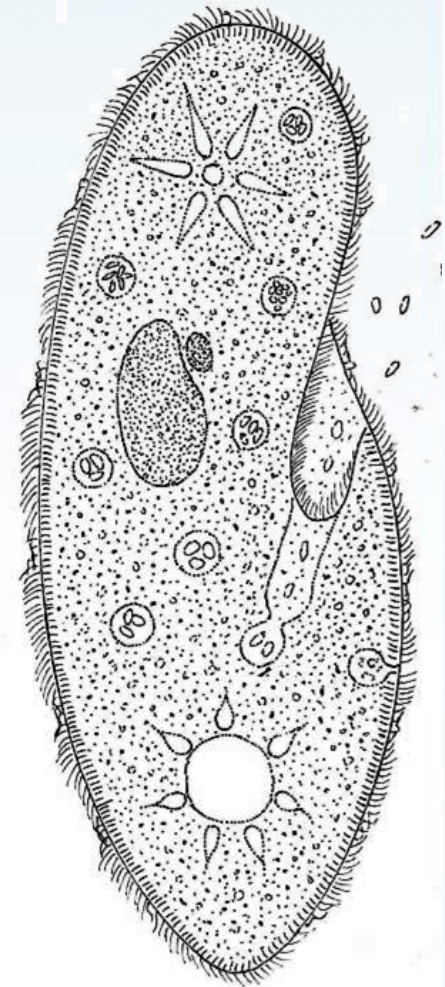
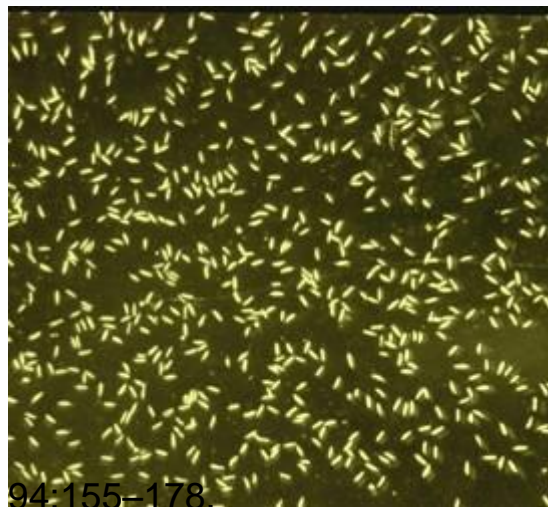
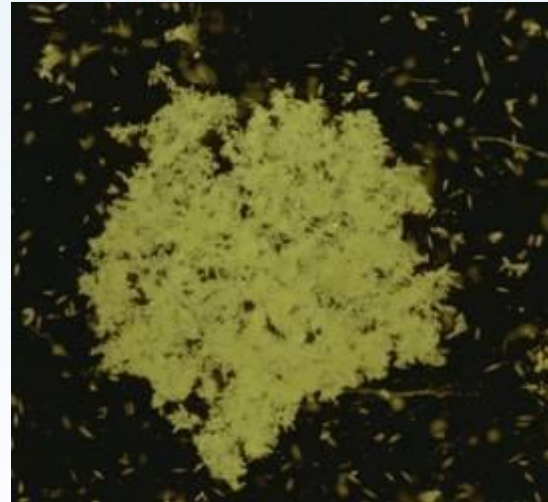
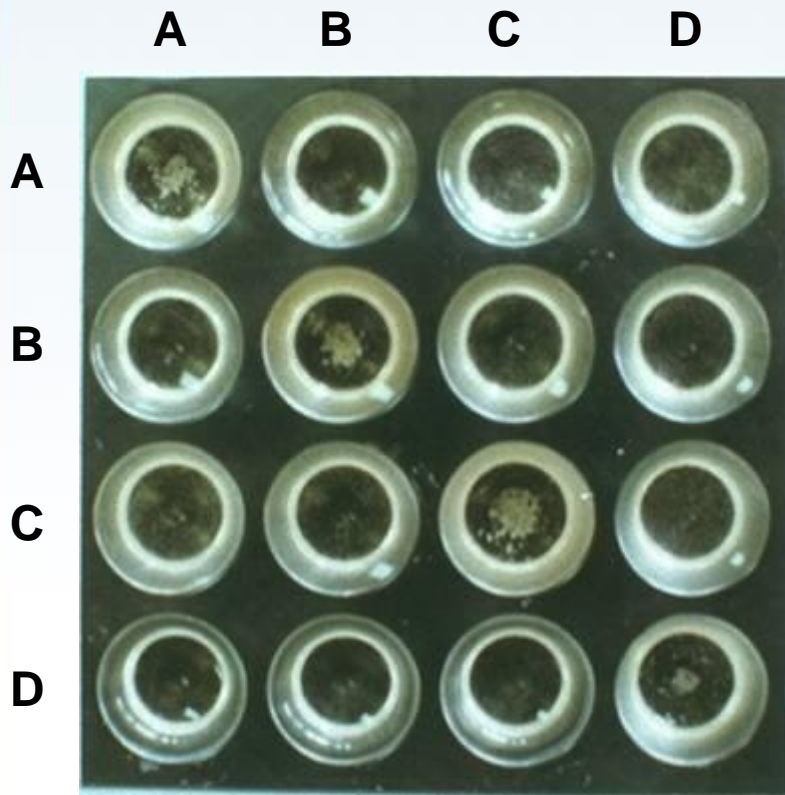


Masaia



Biologický koncept druhů

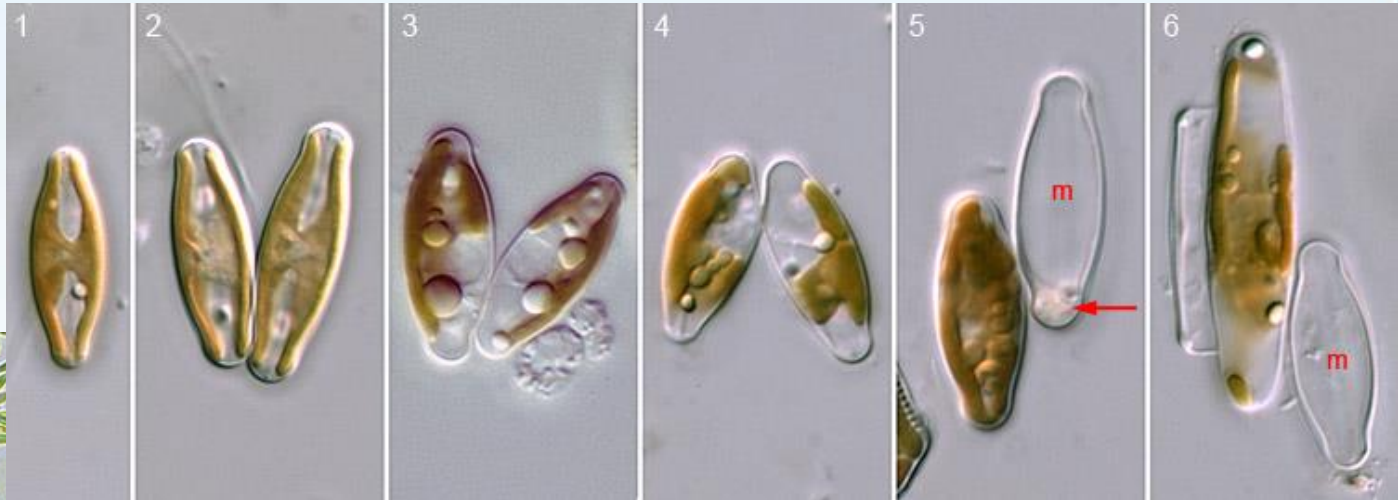
- Aplikovatelný pouze u sexuálně se rozmnožujících protistů
 - nálevníci (syngeny u *Paramecium aurelia*)



Biologický koncept druhů

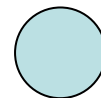
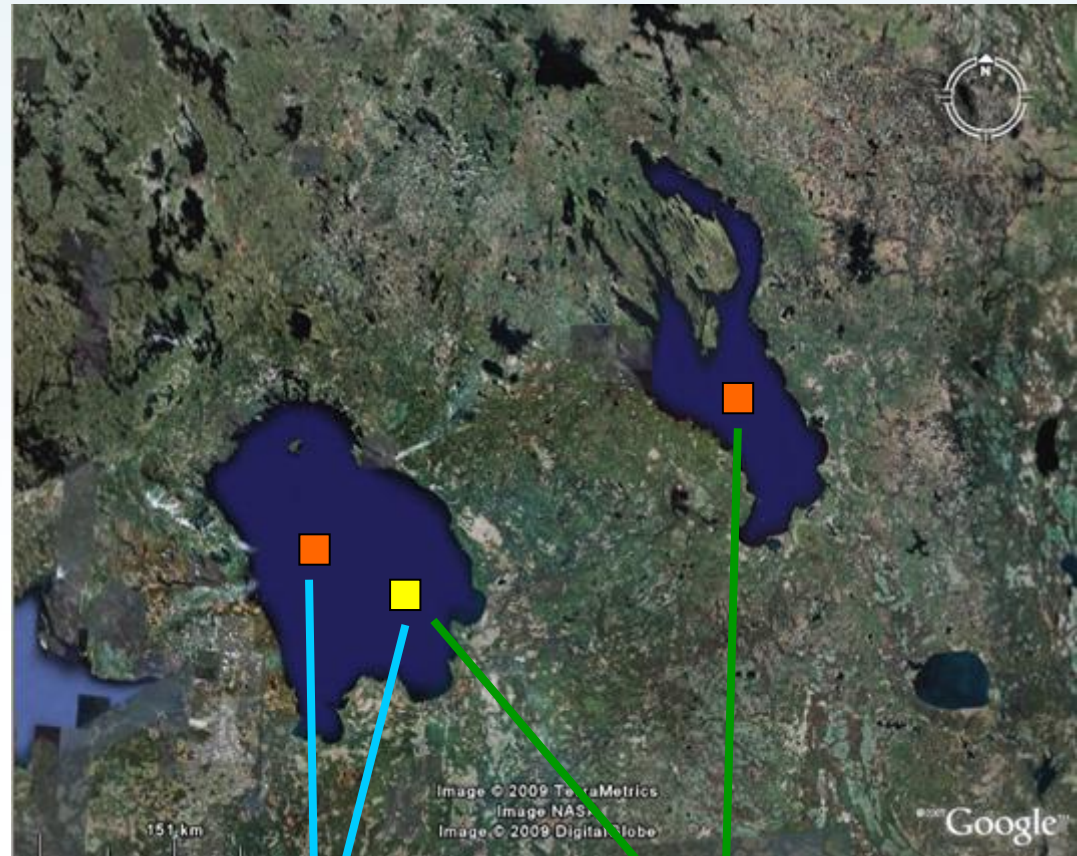
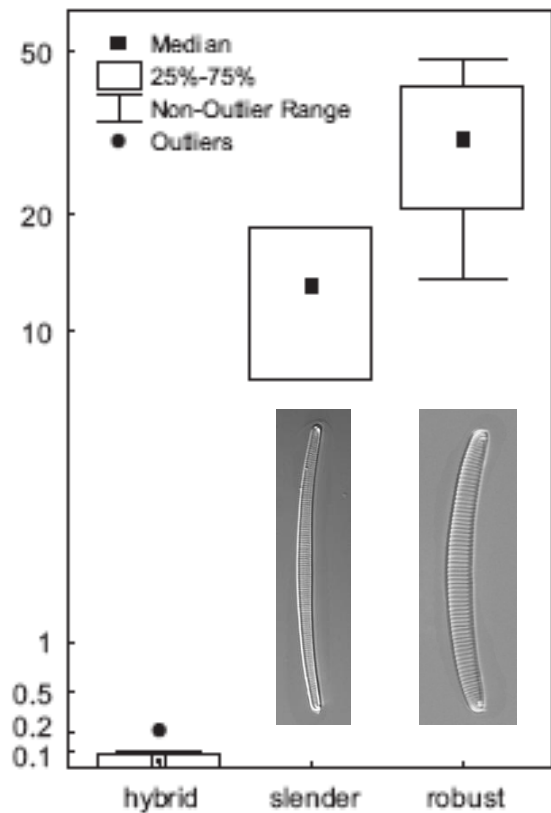
- Aplikovatelný pouze u sexuálně se rozmnožujících protist

➤ rozsivky



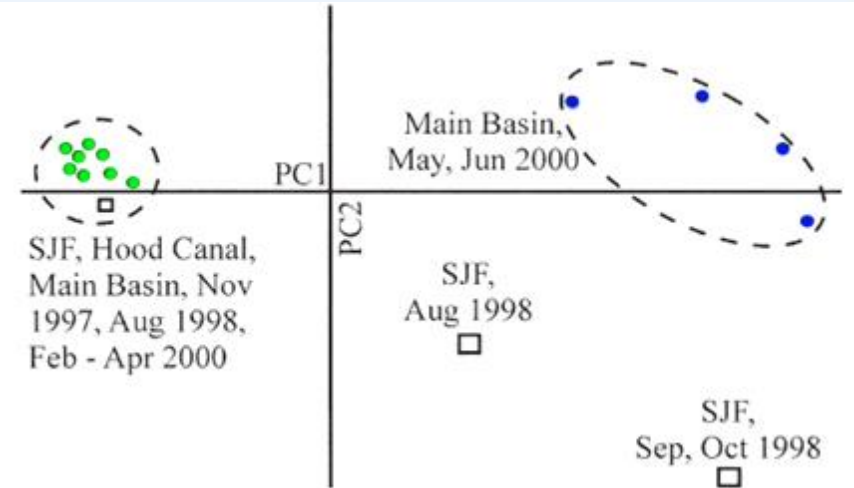
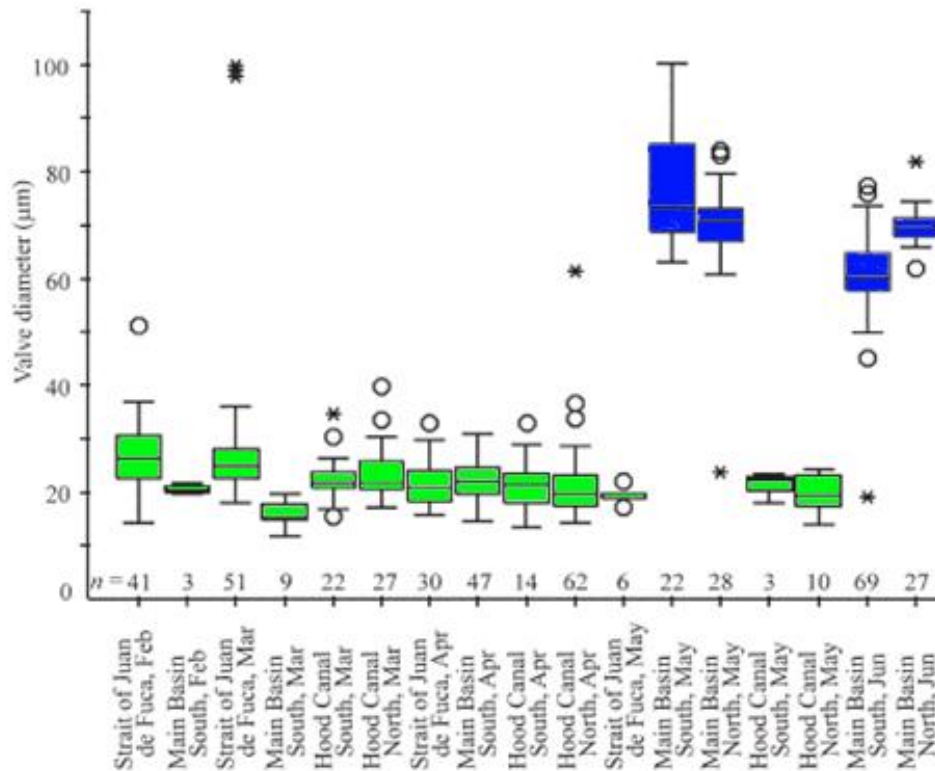
Biologický koncept druhů

- Často nekompletní reprodukční bariéry
 - problém alopatických populací (*Eunotia*)



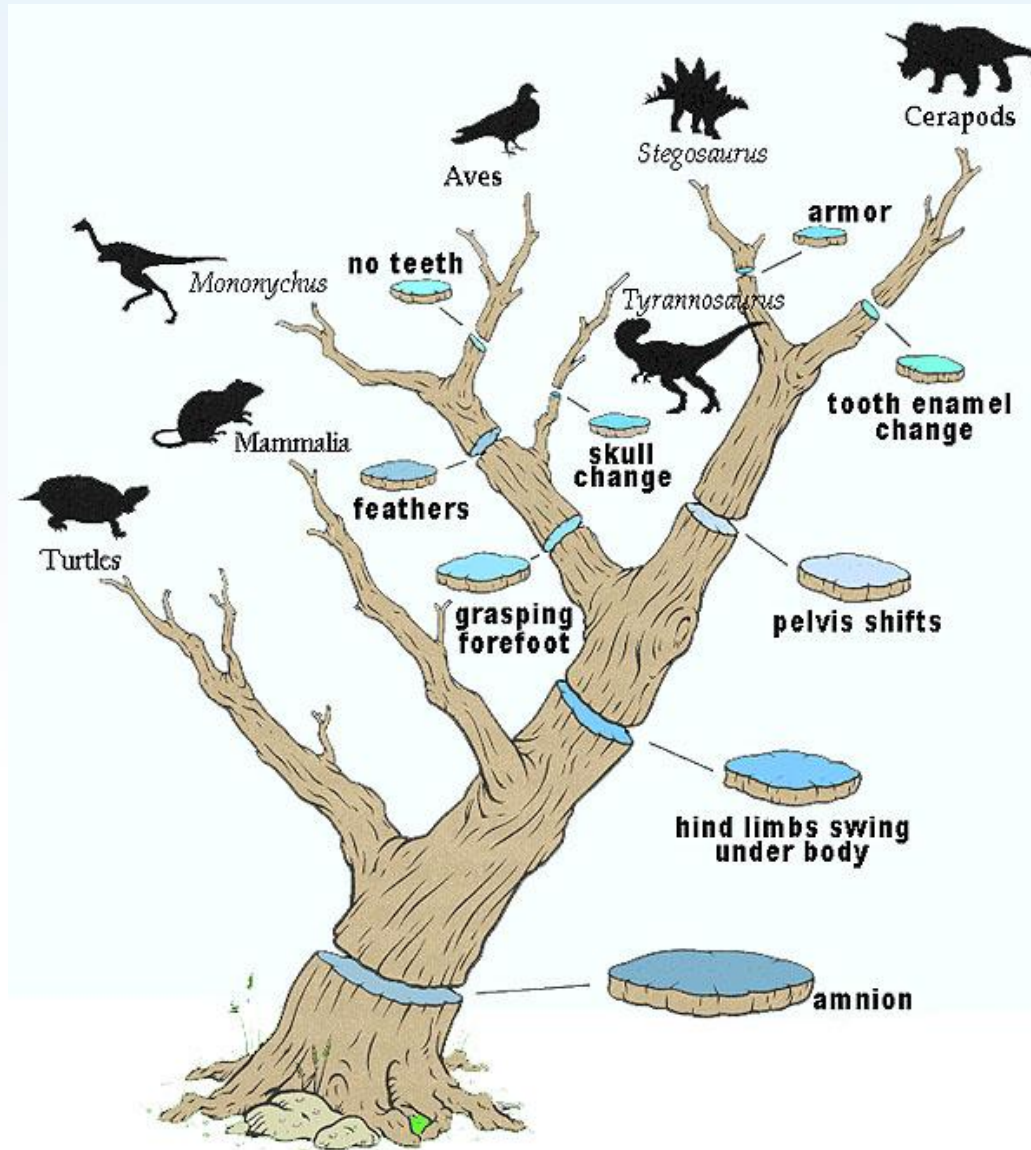
Biologický koncept druhů

- Laboratorní křížení bere v potaz pouze vnitřní bariéry
 - problém časově oddělené reprodukce (*Ditylum*)



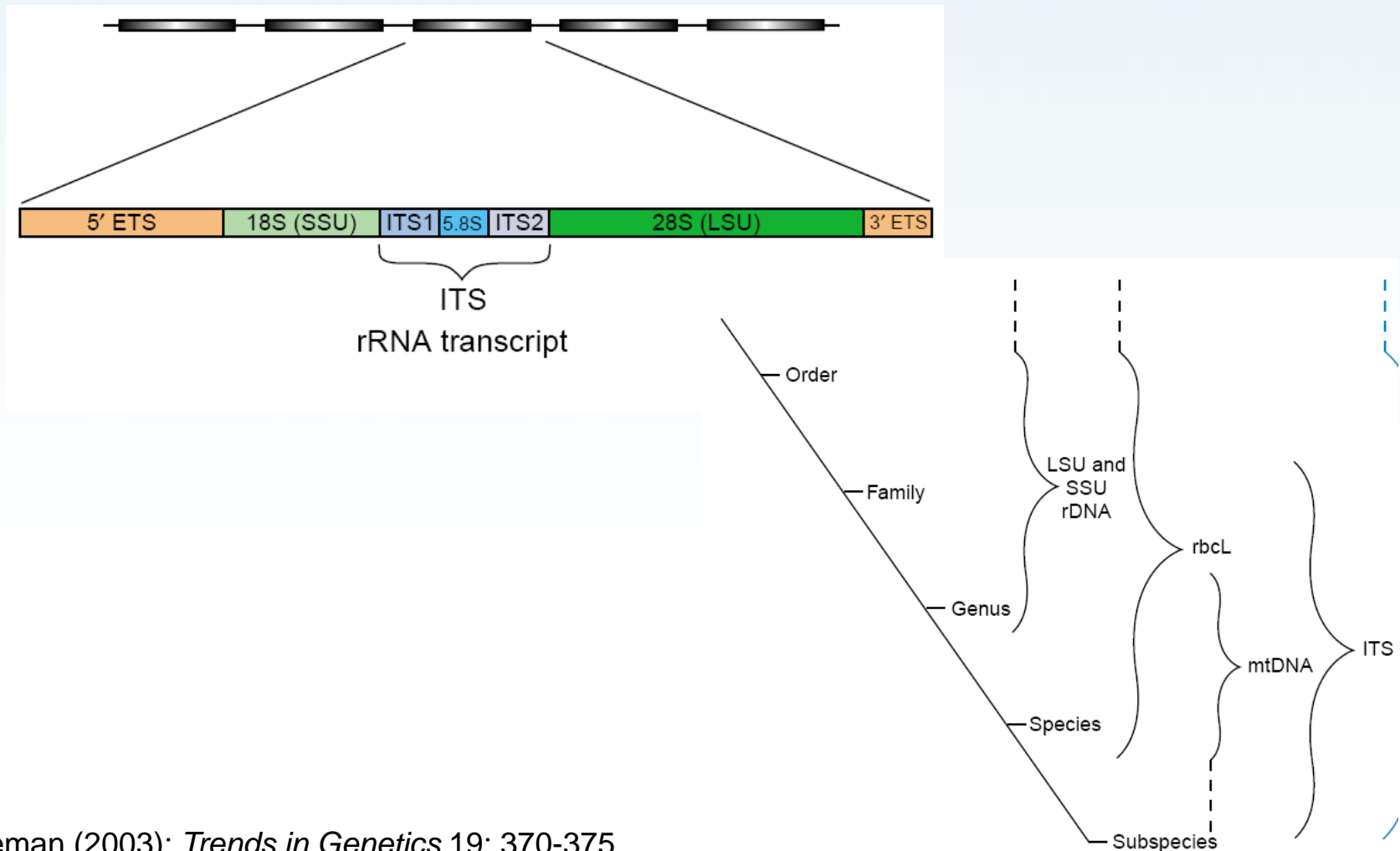
Fylogenetický koncept druhů

- Založen na topologii stromu (monofylie, délky větví, podpora)



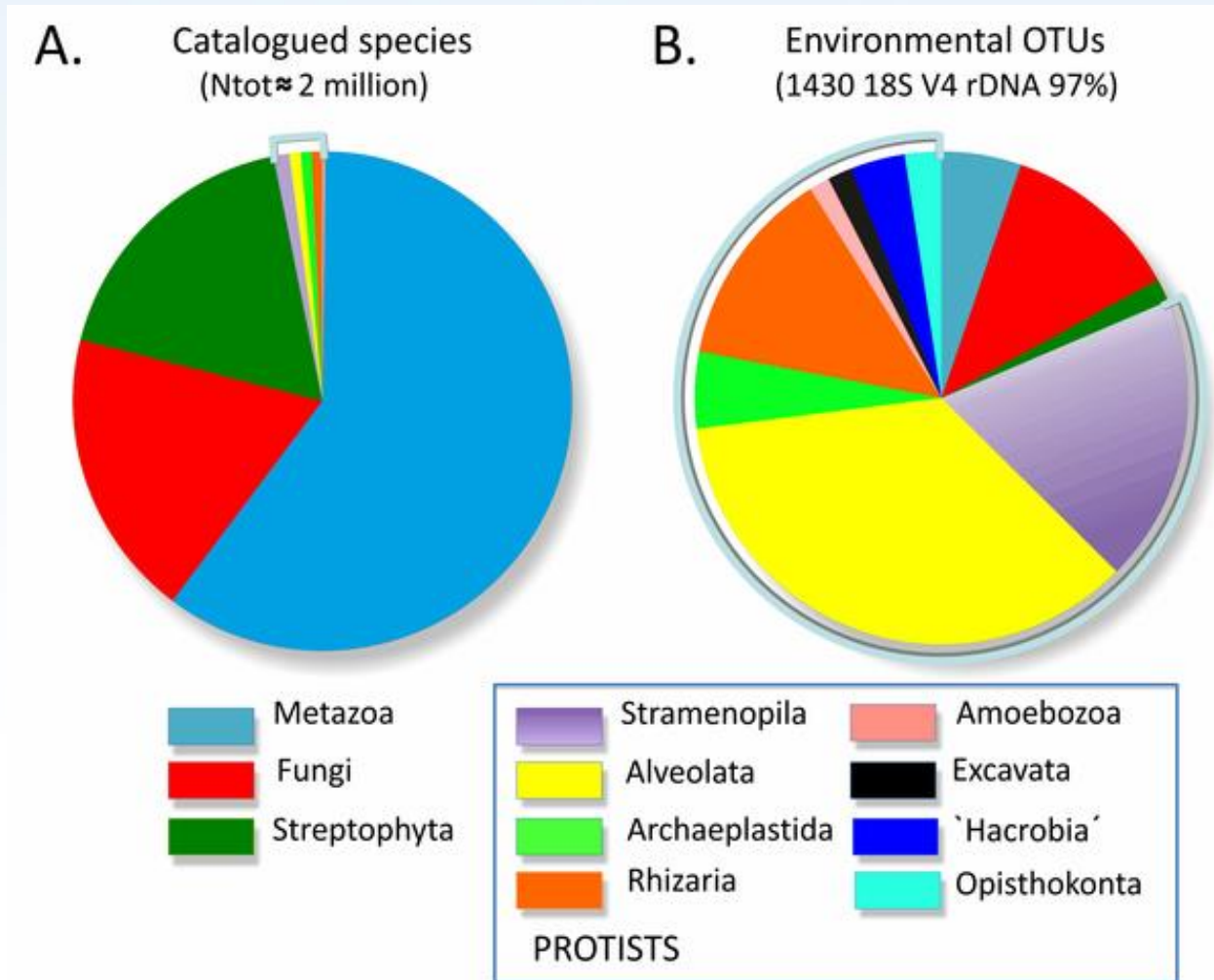
Fylogenetický koncept druhů

- Ribosomální operon jako nejpoužívanější marker
 - selekčně neutrální, žádná evidence laterálního transferu



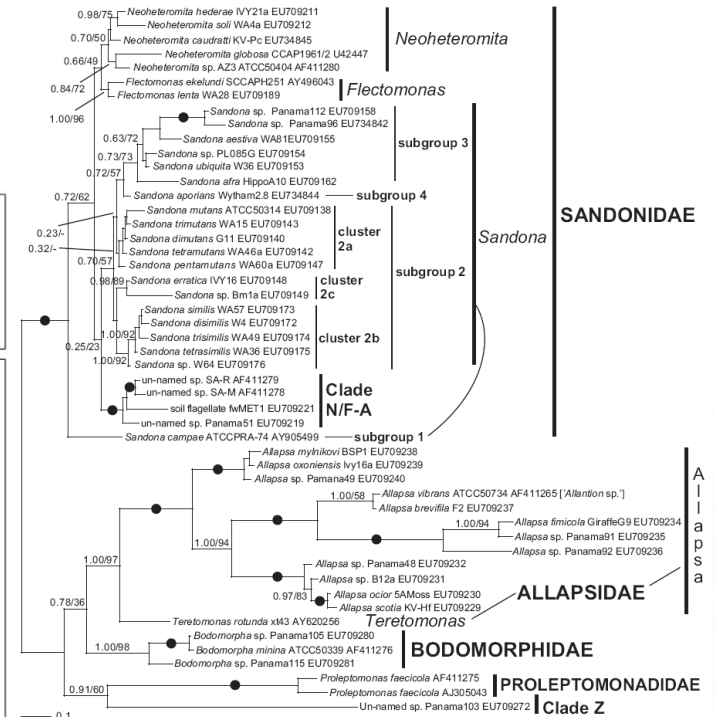
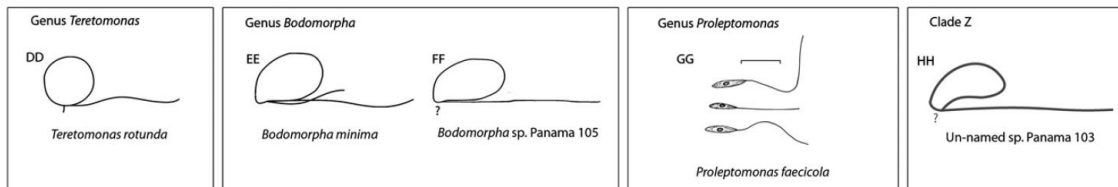
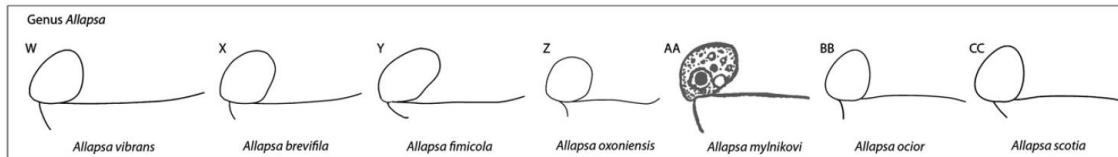
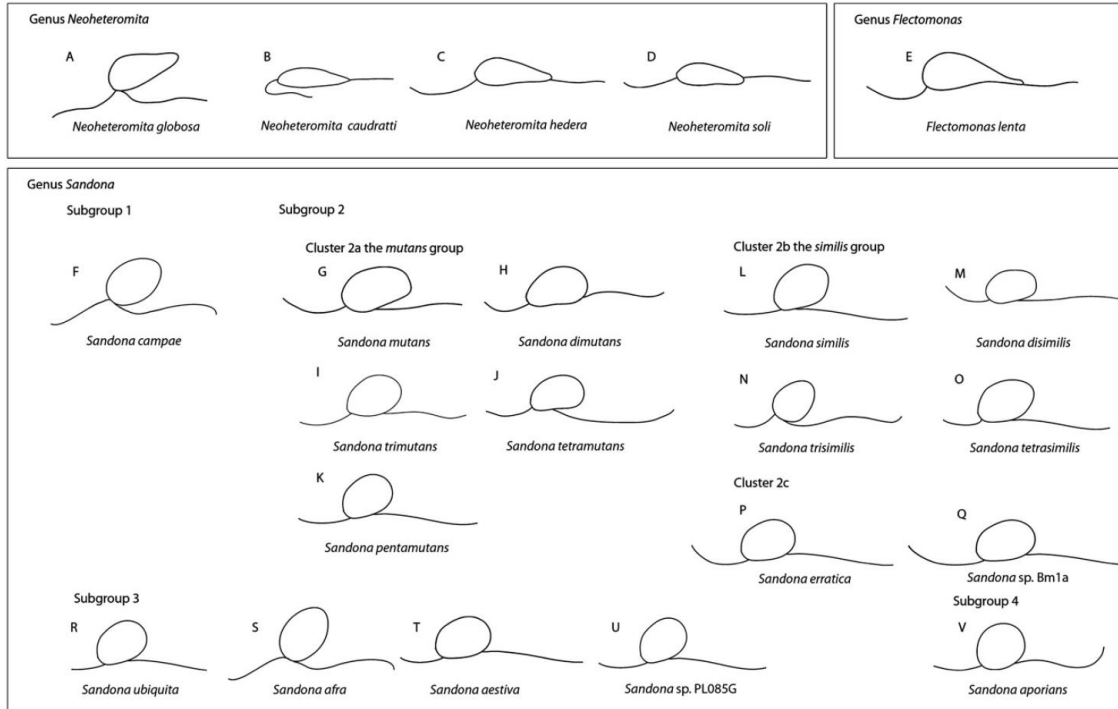
Fylogenetický koncept druhů

- Kryptická diverzita protist



Fylogenetický koncept druhů

- Kryptická diverzita protist
 - glissomonády



Fylogenetický koncept druhů

- Kryptická diverzita protist
 - pouhé hromadění neutrálních mutací?
 - míra genetického polymorfismu v populaci závisí na mutační rychlosti (μ) a efektivní velikosti populace (N_e)

➔ $\theta = 4 N_e \mu$

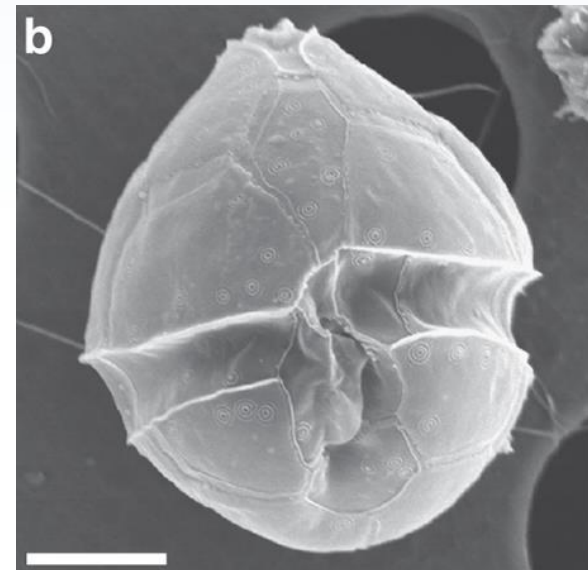
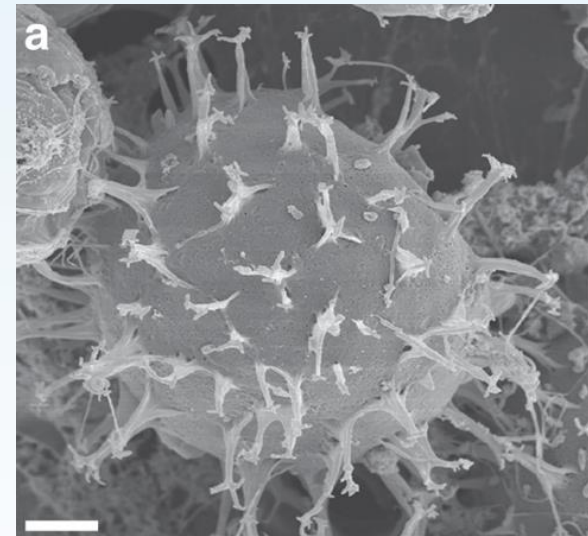
Mořský fytoplankton – 10^{25} buněk

Fylogenetický koncept druhů

- Kryptická diverzita protist (*Pentapharsodinium*)
 - velikost populace: $\approx 2.9 \times 10^{14}$
 - $N_e \approx 178-1183$

Table 1. Estimates of contemporary effective population size (N_e) for samples of the marine dinoflagellate *P. dalei* revived from sediment cores (dated to 1922, 1960, 1985 and 2006) from Koljö Fjord, Sweden. Mean N_e ($\pm 95\%$ confidence intervals) was estimated for pairs of samples using ML [8] and moment estimators [6].

sample comparison	contemporary effective population size (N_e)	
	ML (95% CI)	moment (95% CI)
2006–1985	270 (161–544)	178 (98–343)
2006–1960	439 (252–924)	375 (195–793)
2006–1922	815 (401–2489)	1183 (476–5545)
1985–1960	264 (148–592)	342 (166–905)
1985–1922	305 (187–538)	652 (325–1528)
1960–1922	179 (109–320)	266 (134–570)



Fylogenetický koncept druhů

- Založen na topologii stromu (monofylie, délky větví, podpora)
 - kde leží hranice druhu?
 - **automatické odlišení druhů?**

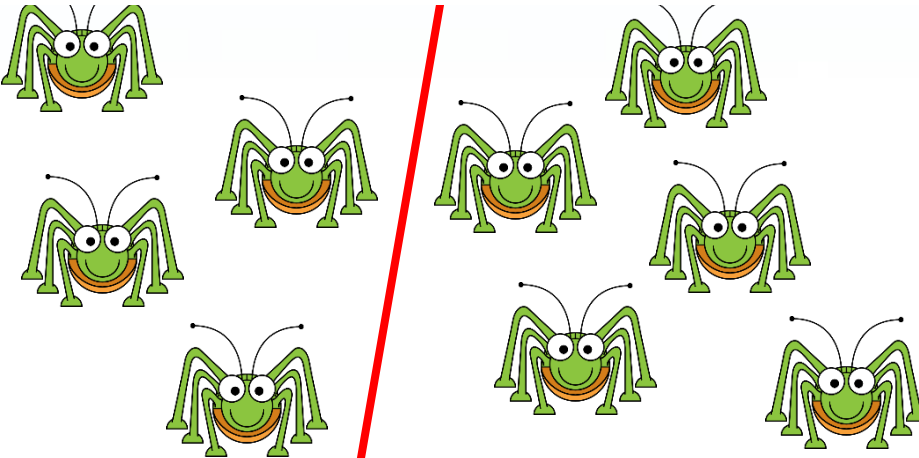
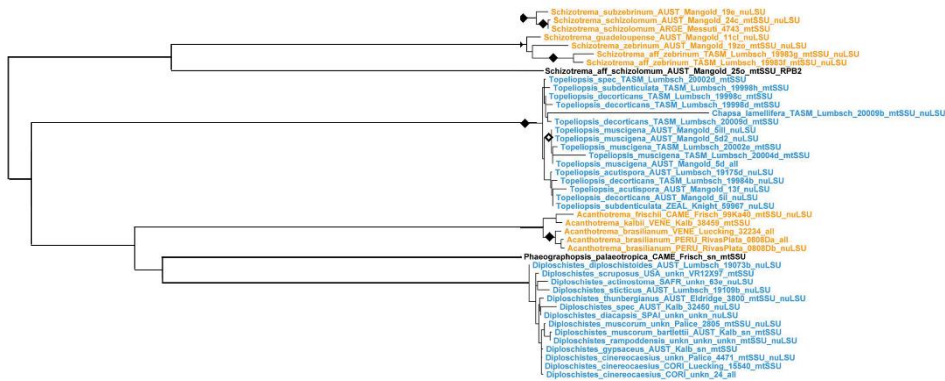
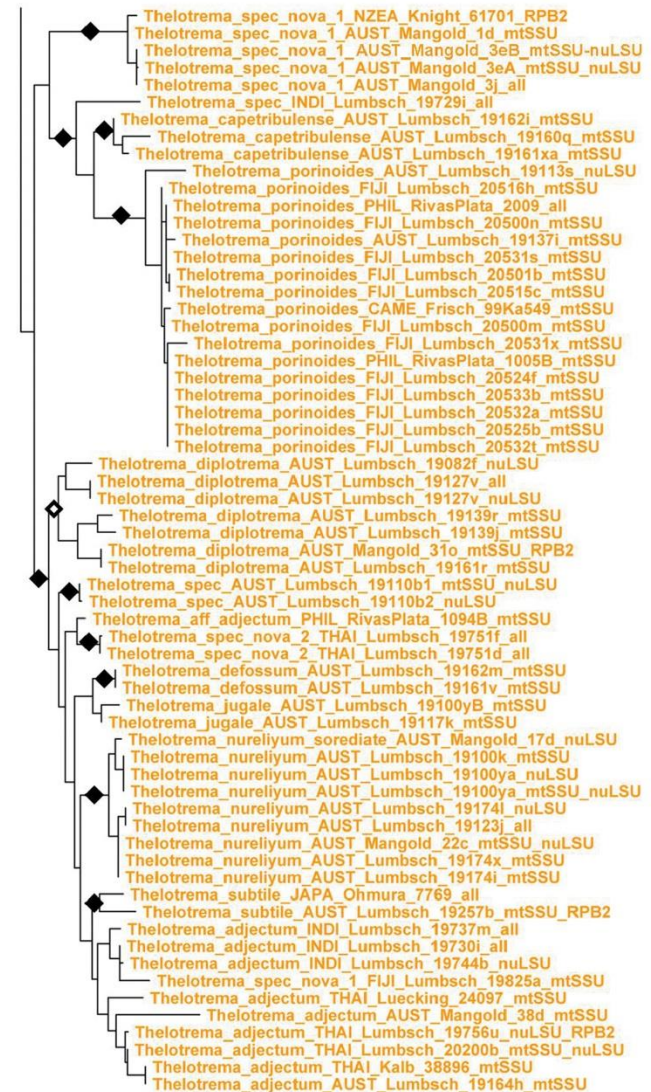
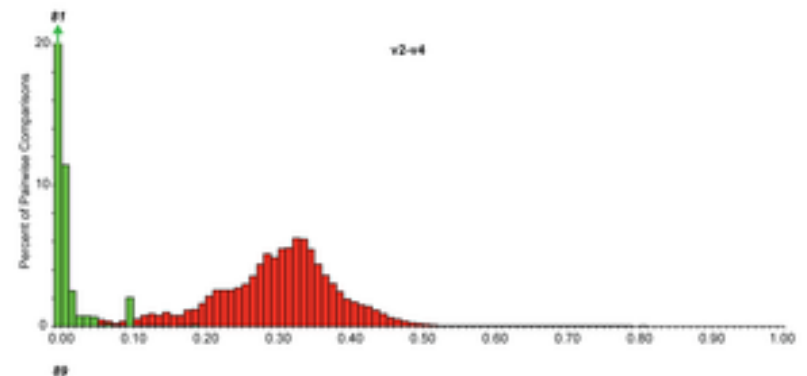
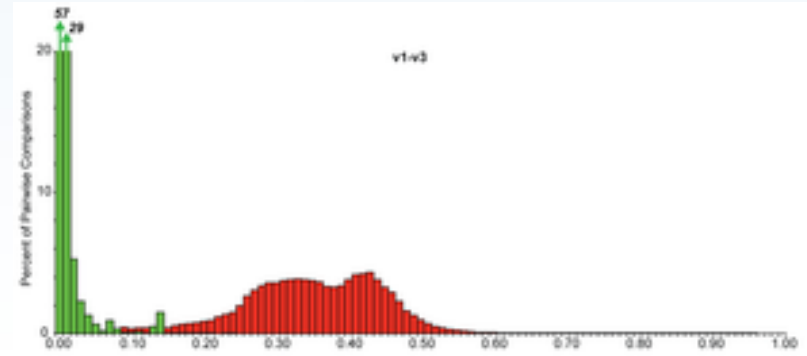
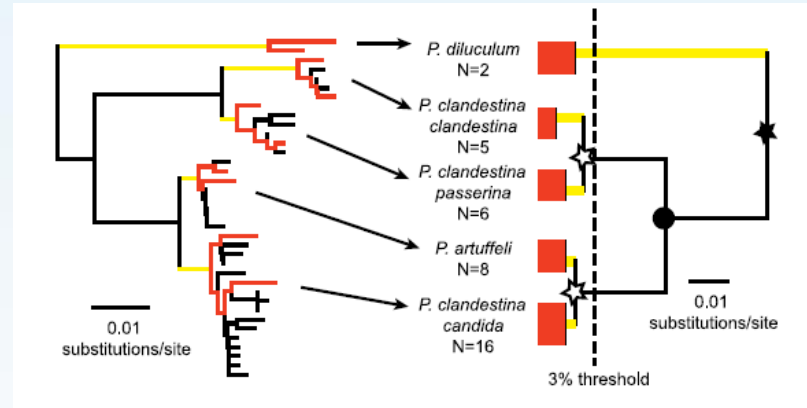
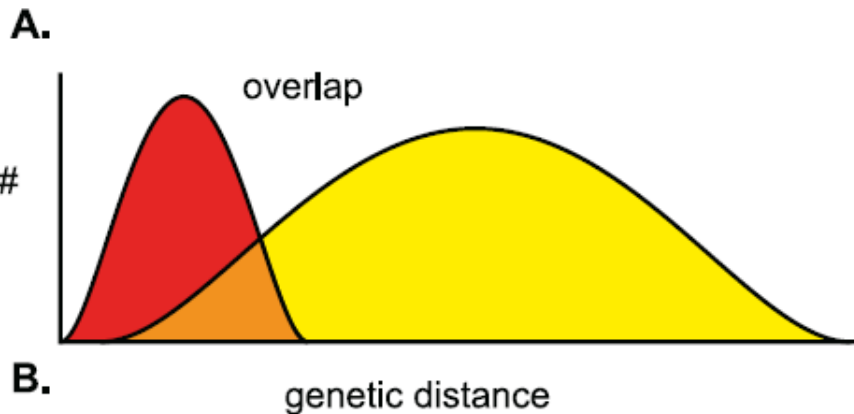
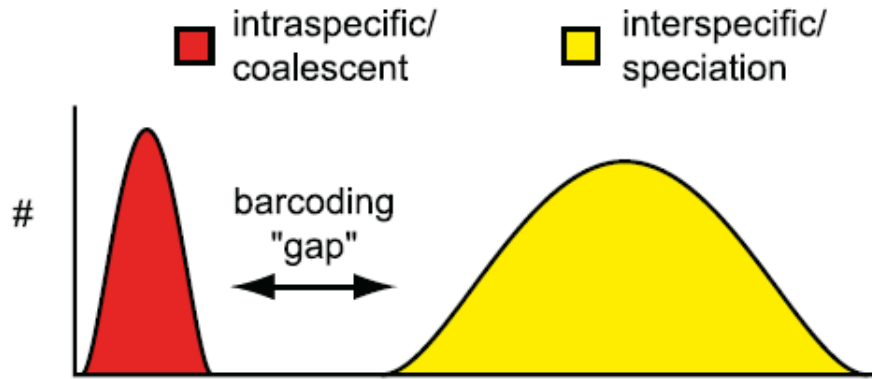


Fig. 8



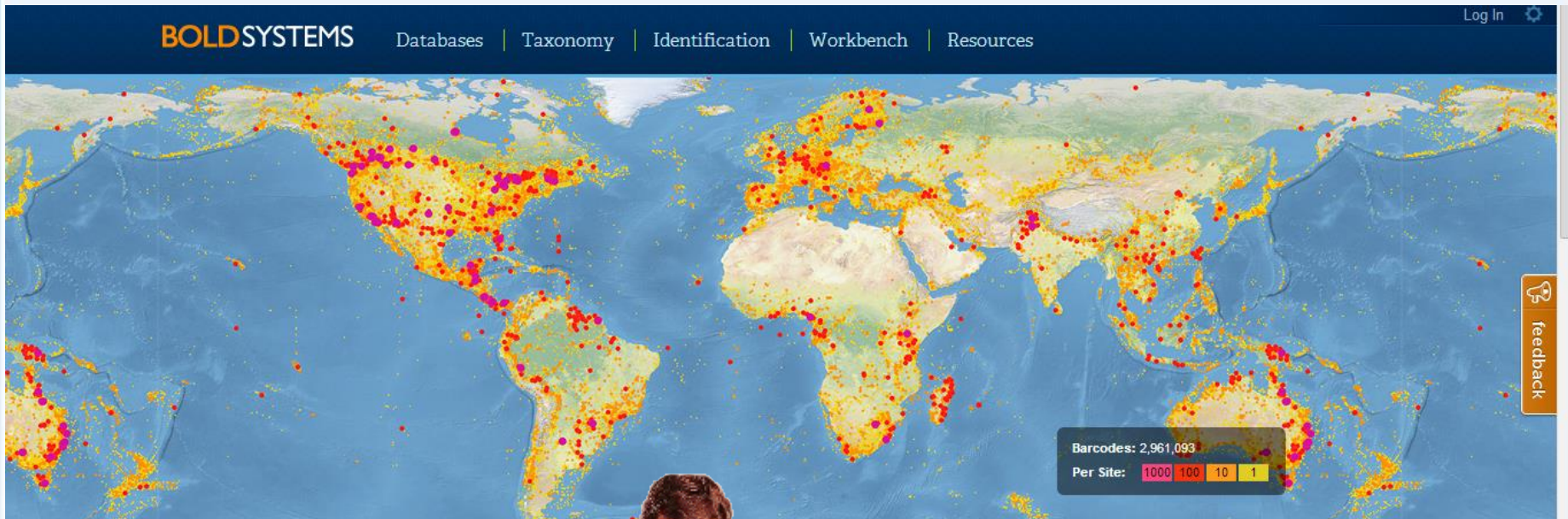
DNA barcoding

- Určení druhových hranic na základě tzv. „barcoding gap“



DNA barcoding

- Barcode by měl být krátký a dostatečně variabilní
 - cytochrom-c-oxidáza – COI, u rostlin *rbcL*, *matK*



Sample specimen in field with handheld DNA analyzer

Analyzer generates code and transmits to barcode library

Library compares to database and returns ID and photo



BARCODER

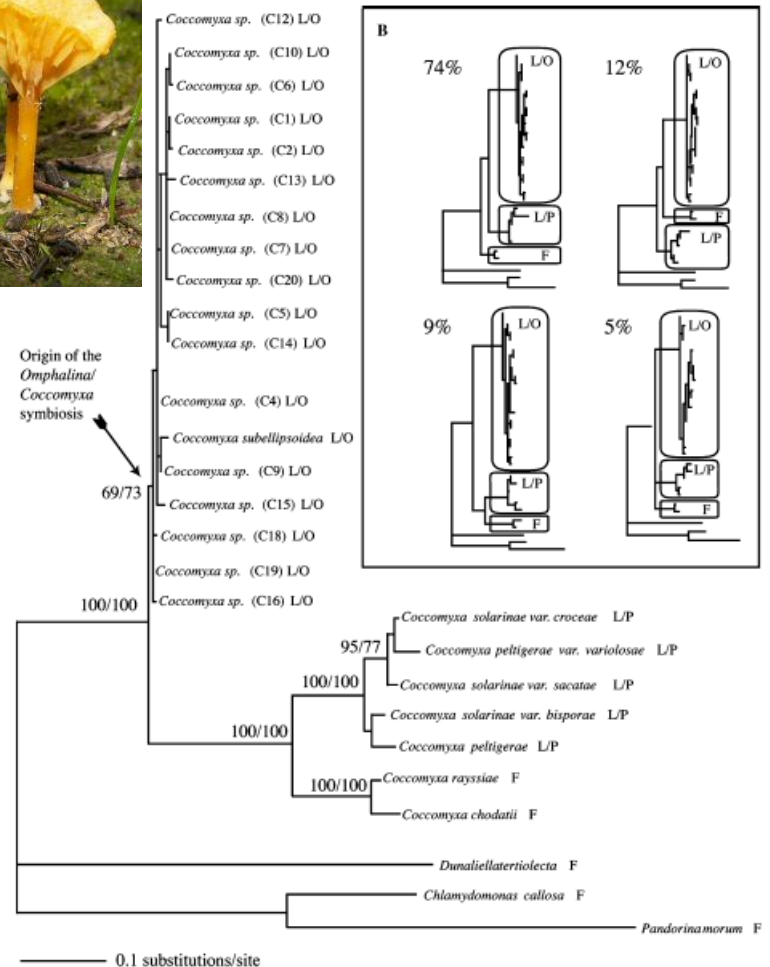
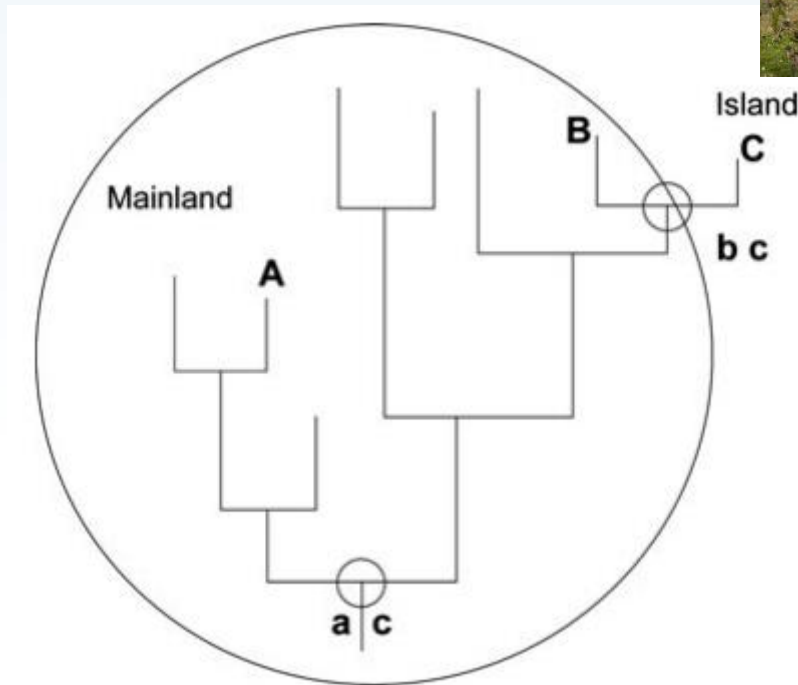


ID ENGINE



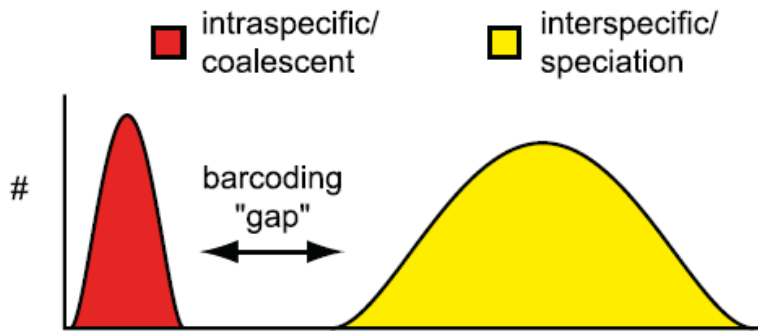
DNA barcoding

- Nestejnoměrné mutační rychlosti
 - tropy vs mírné pásmo
 - ostrovy vs kontinenty
 - volně žijící vs symbionti

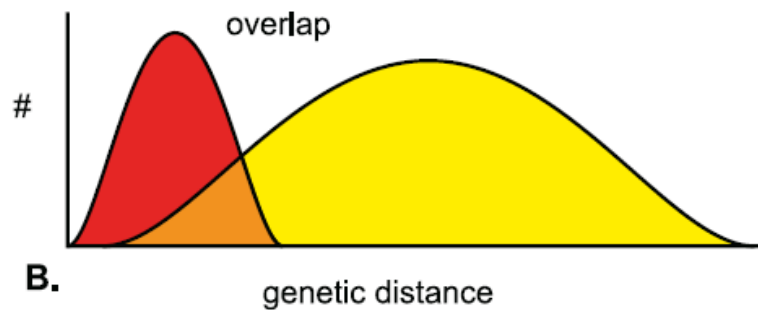


DNA barcoding

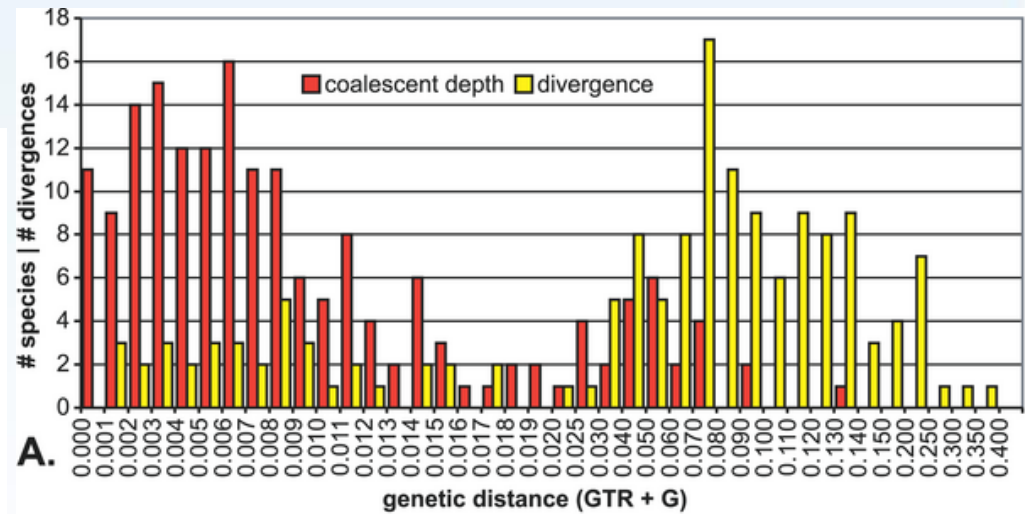
- Při vzrůstajícím geografickém samplingu se barcoding gap často ztrácí



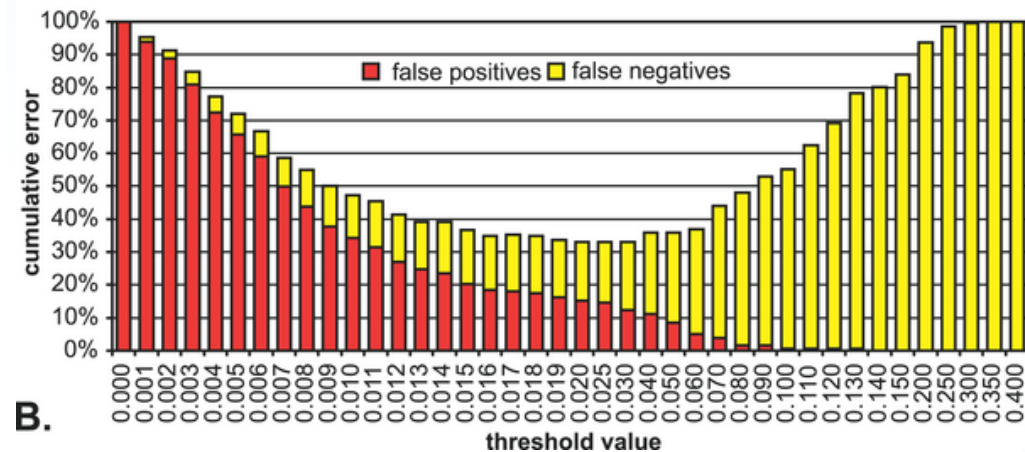
A.



B.



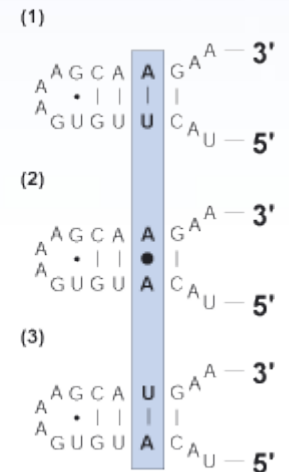
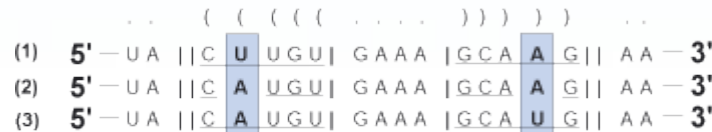
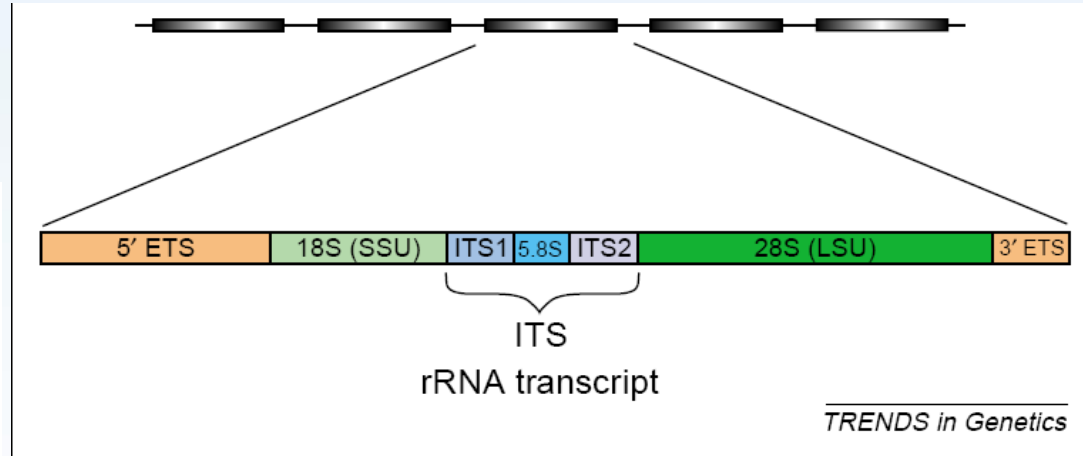
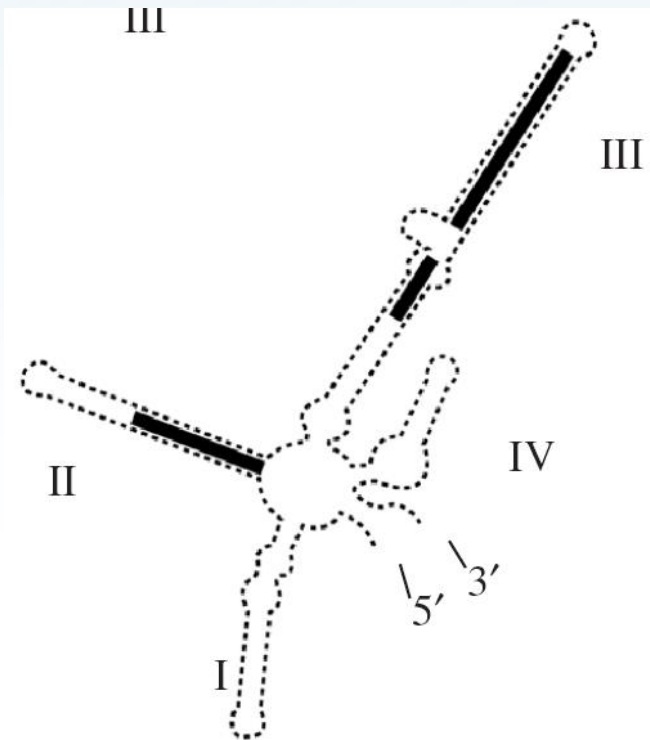
A.



B.

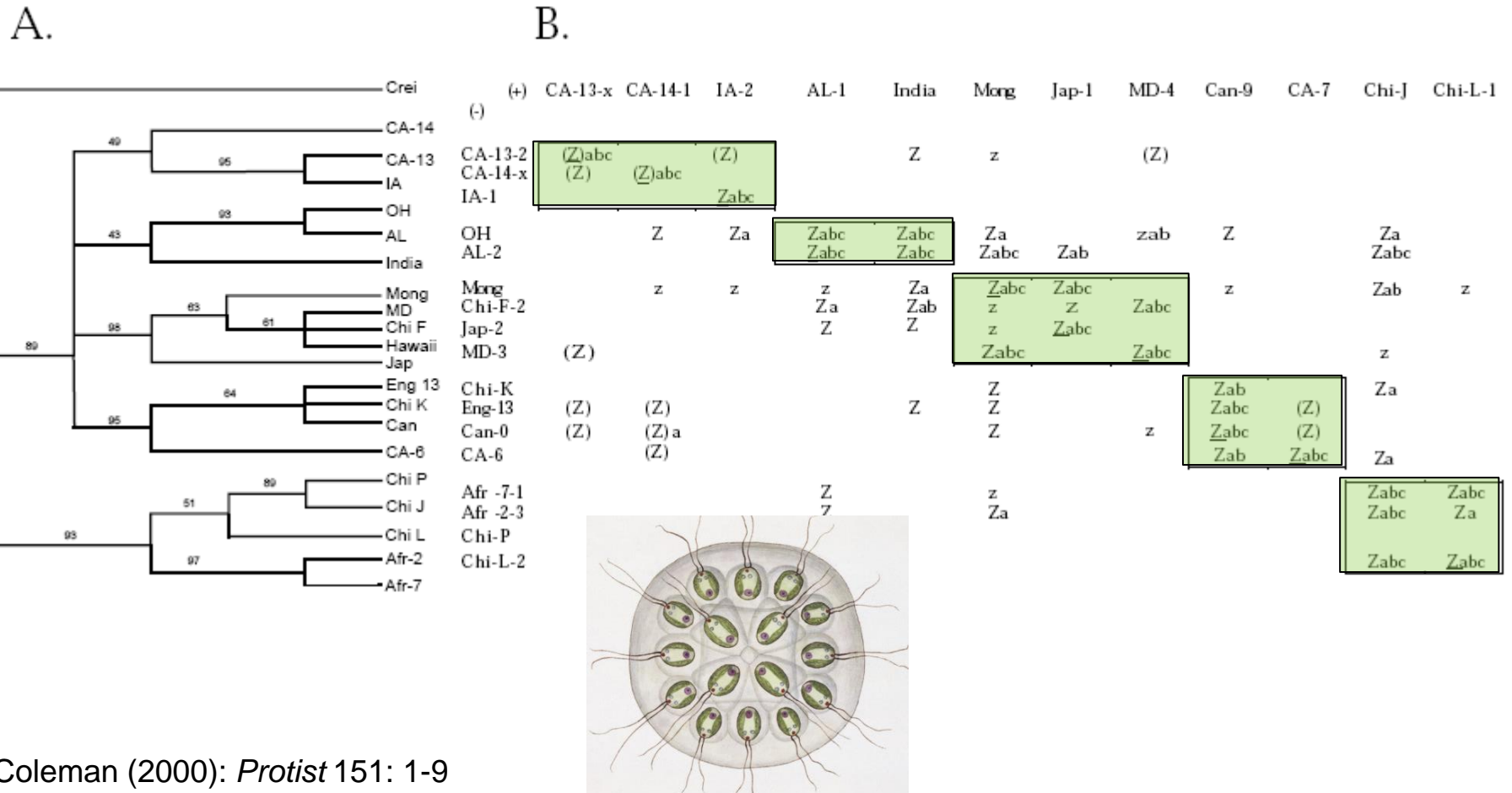
CBC koncept

- Druhy definovány na základě rozdílů v konzervovaných oblastech molekuly ITS2



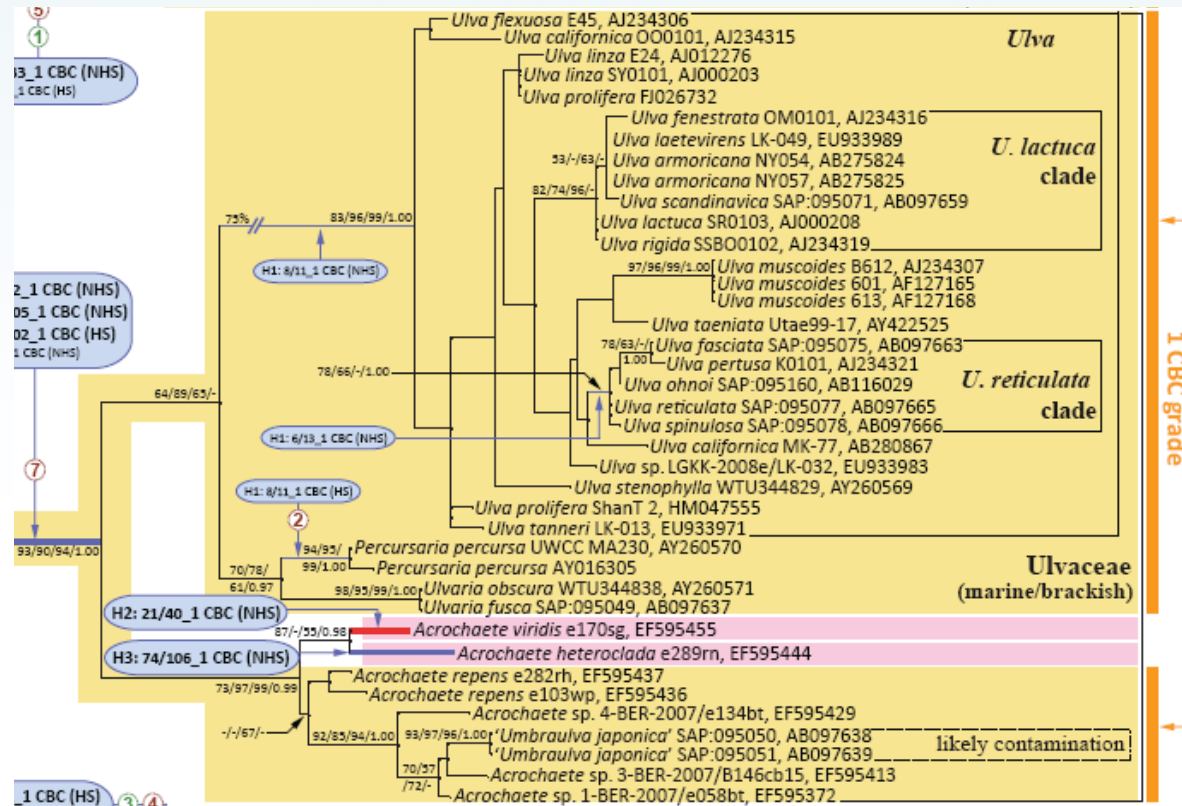
CBC koncept

- Druhy definovány na základě rozdílů v konzervovaných oblastech molekuly ITS2
 - korelace mezi CBC a sexuální kompatibilitou (*Gonium*)



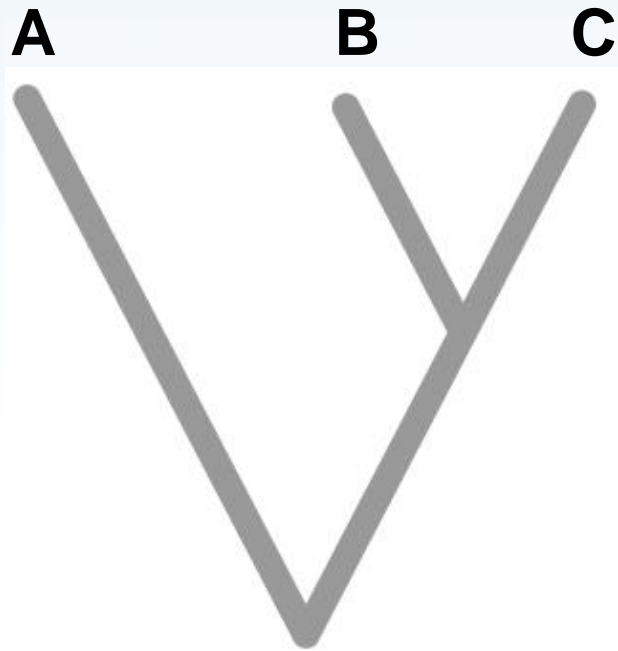
CBC koncept

- Druhy definovány na základě rozdílů v konzervovaných oblastech molekuly ITS2
 - ITS2 není gen zodpovědný za křížení
 - koncept neplatí univerzálně

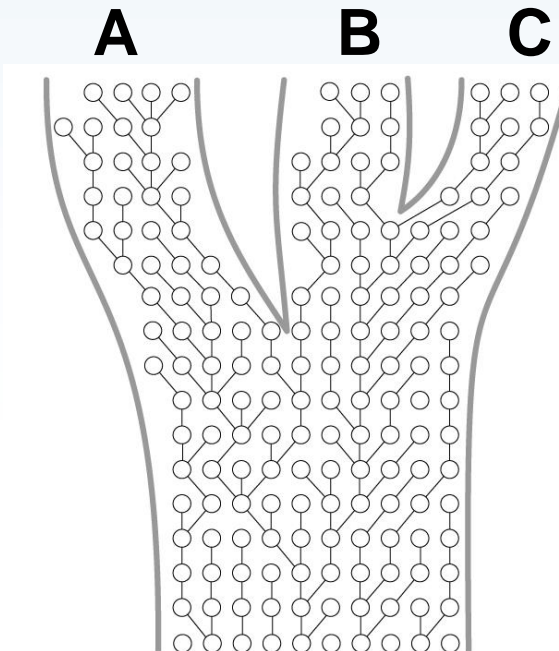


Definice druhů pomocí koalescenční teorie

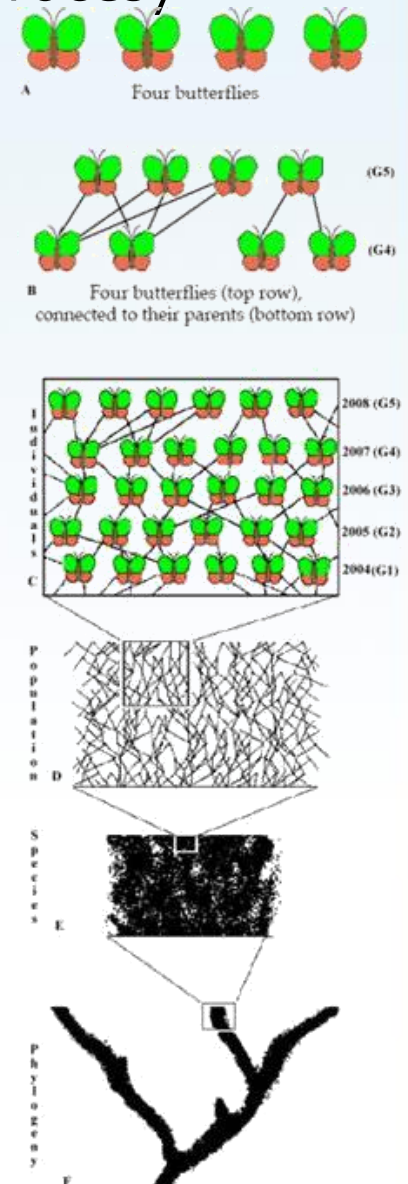
- Propojení fylogenetiky s populačně genetickými procesy
 - za evolucí každé linie se skrývají procesy populační genetiky (koalescenční modely)
 - identifikace nezávisle se vyvíjejících linií



Fylogeneze druhů

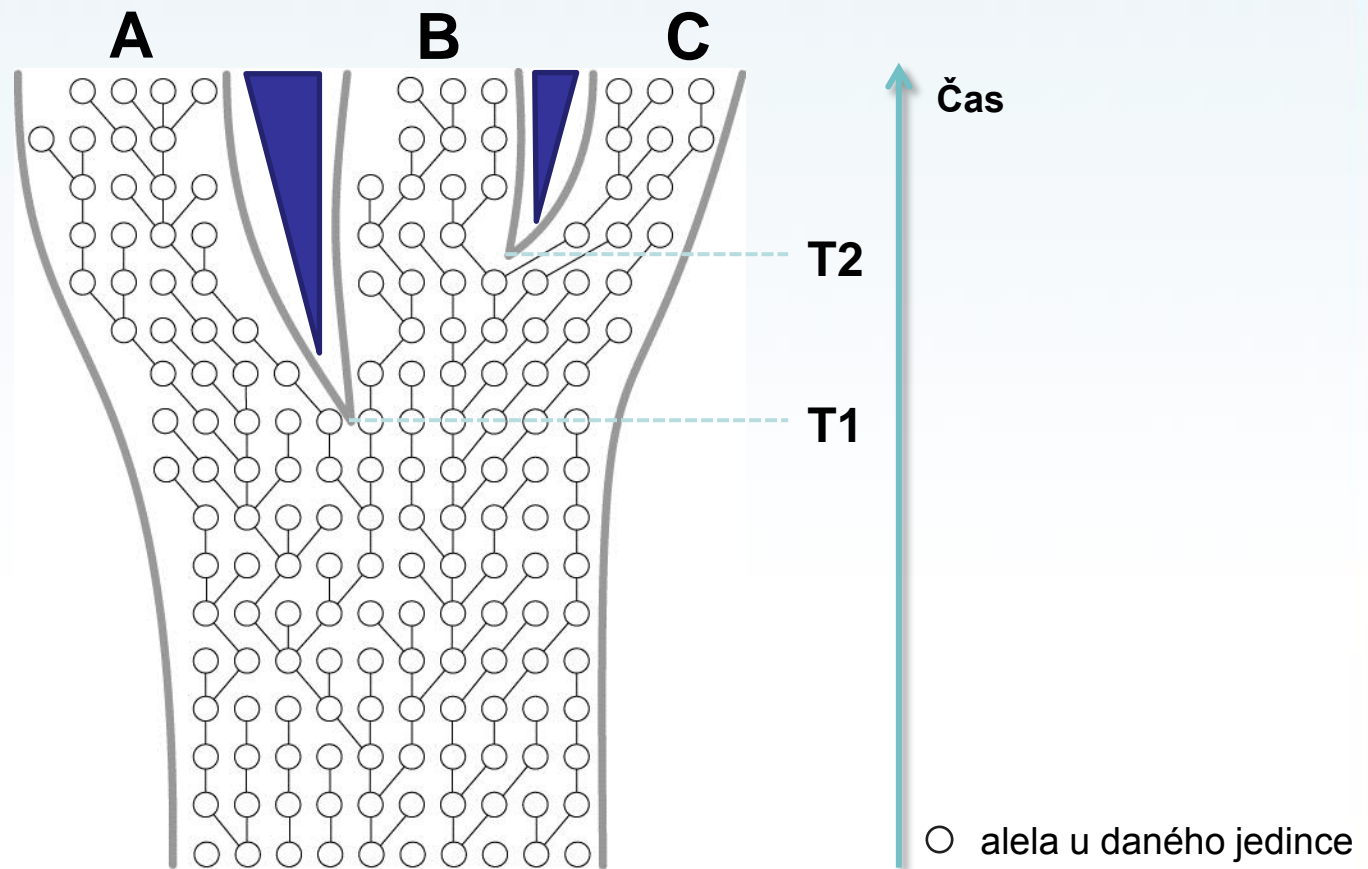


Populační genetiky



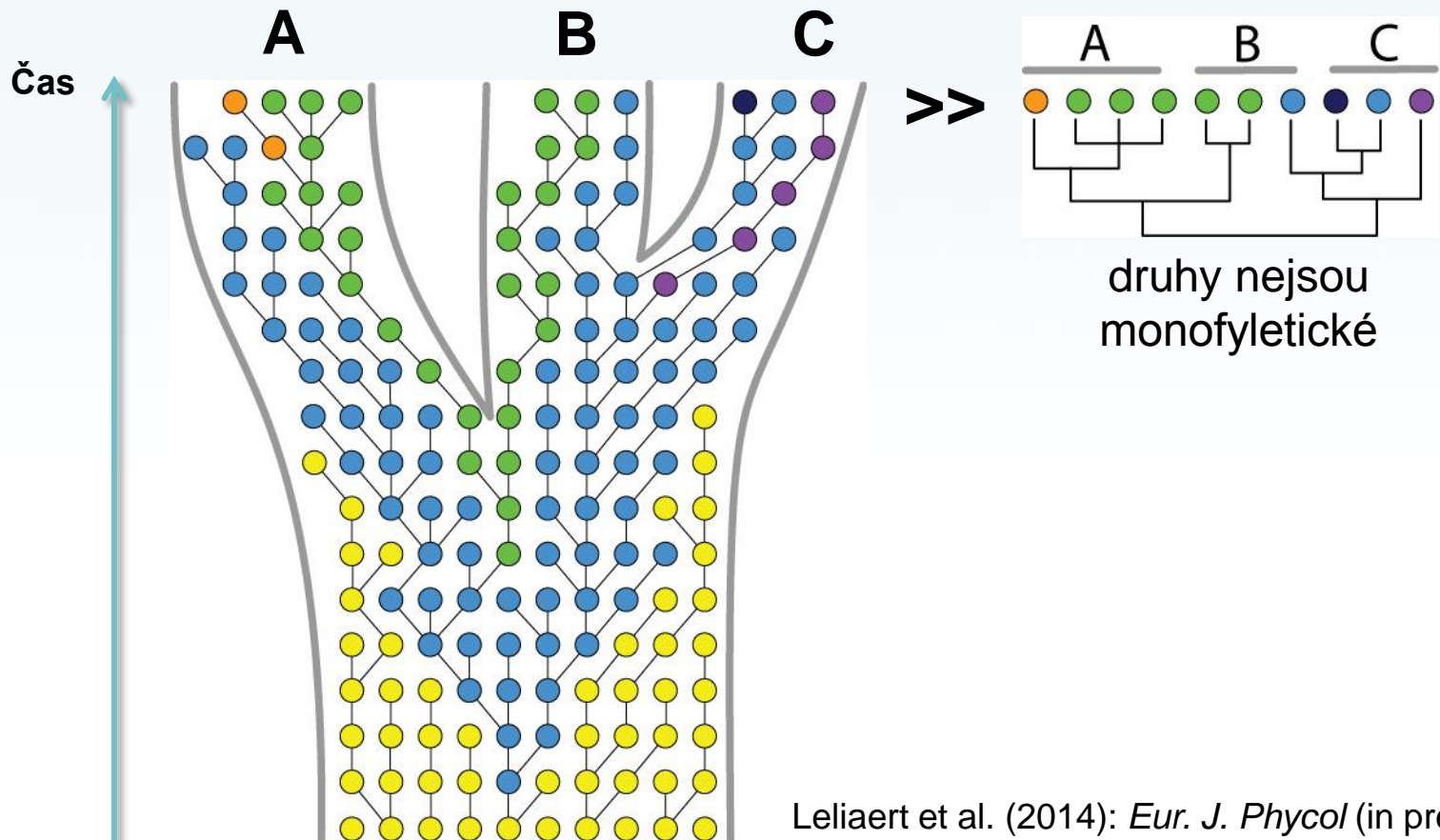
Definice druhů pomocí koalescenční teorie

- Koalescenční procesy (Wright-Fisher)
 - přenos alel z generace na generaci
 - zastoupení alel se v každé generaci mění



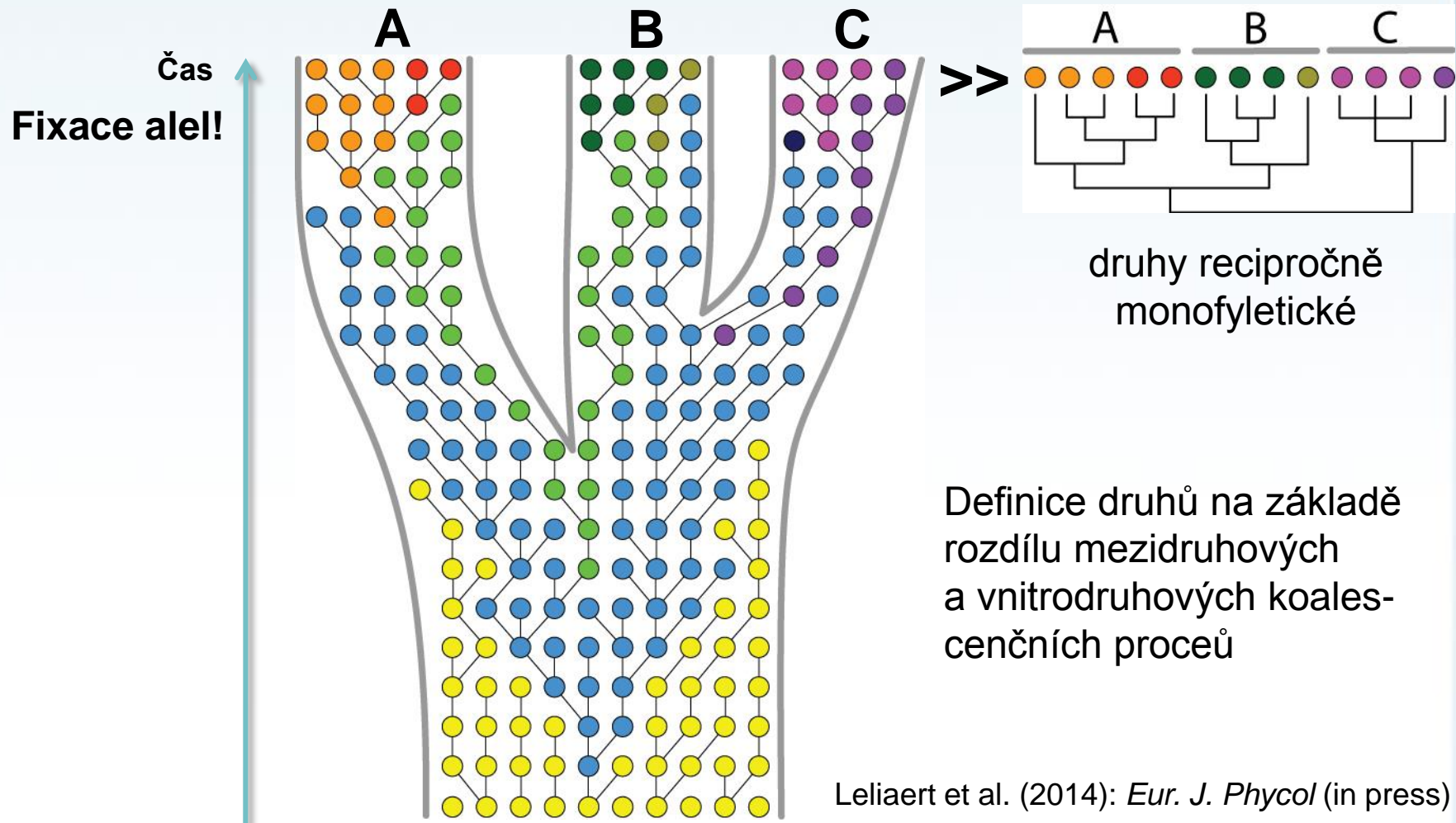
Definice druhů pomocí koalescenční teorie

- Koalescenční procesy (Wright-Fisher)
 - topologie jednotlivých genů prochází během koalescence stádií polyfylie, parafylie a reciproční monofylie



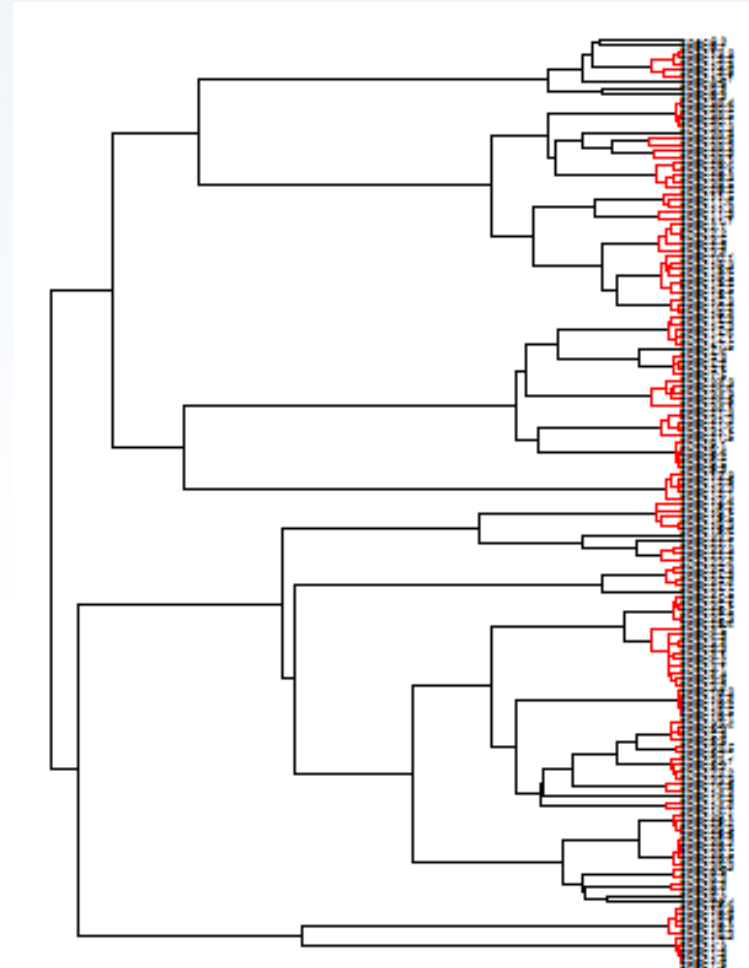
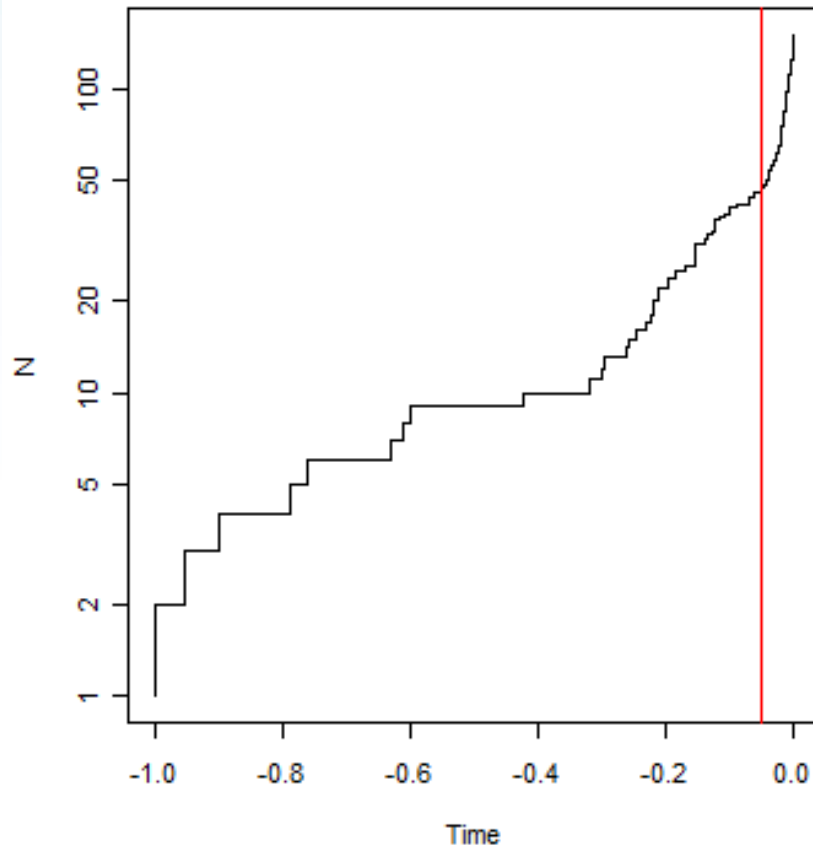
Definice druhů pomocí koalescenční teorie

- Koalescenční procesy (Wright-Fisher)
 - topologie jednotlivých genů prochází během koalescence stádií polyfylie, parafylie a reciproční monofylie



GMYC metoda

- Rozdílné rychlosti větvení na populační a mezidruhové úrovni
 - kombinace modelů mezidruhové diverzifikace druhů (Yule model) a vnitrodruhové koalescence



GMYC metoda

- Rozdílné rychlosti větvení na populační a mezidruhové úrovni
 - statistický test, interval spolehlivosti

```
>summary(result)
```

```
Result of GMYC species delimitation
```

```
method: single
```

```
likelihood of null model: 858.9326
```

```
maximum likelihood of GMYC model: 872.3755
```

```
likelihood ratio: 26.88581
```

```
result of LR test: 6.220952e-06***
```

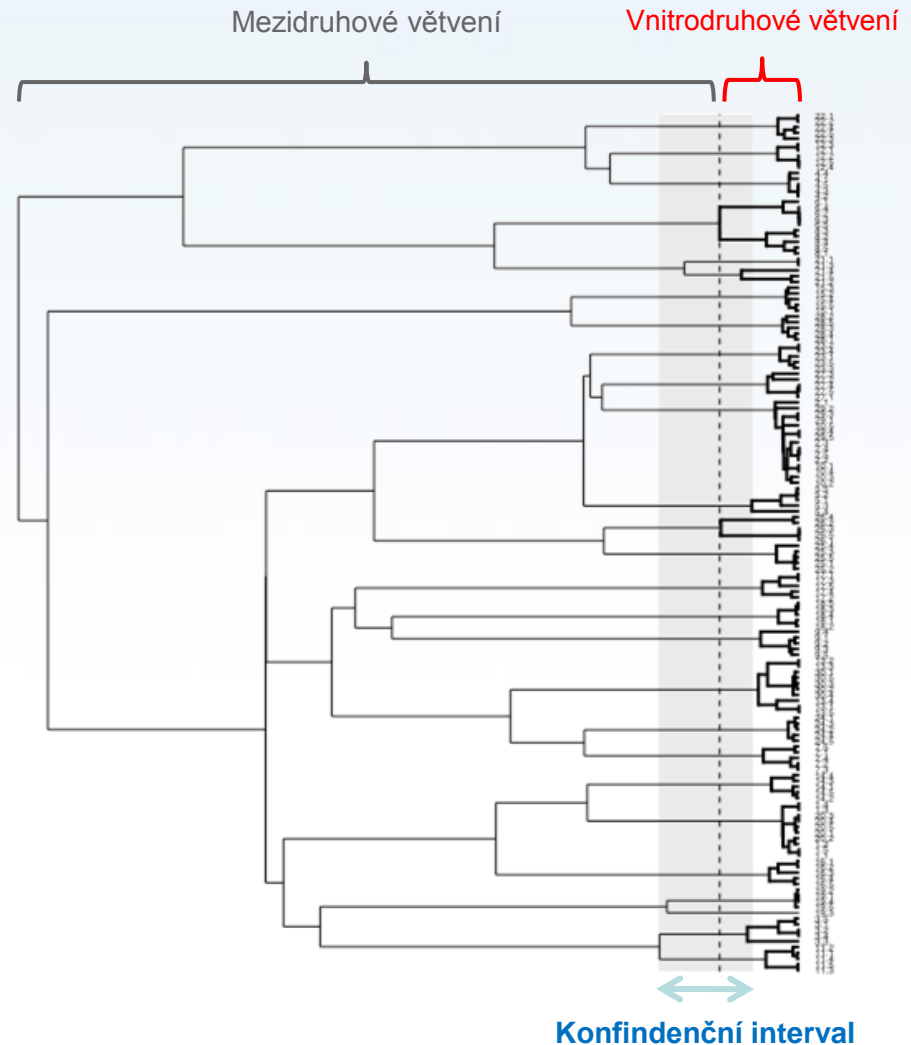
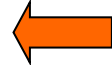
```
number of ML clusters: 33
```

```
confidence interval: 31-34
```

```
number of ML entities: 46
```

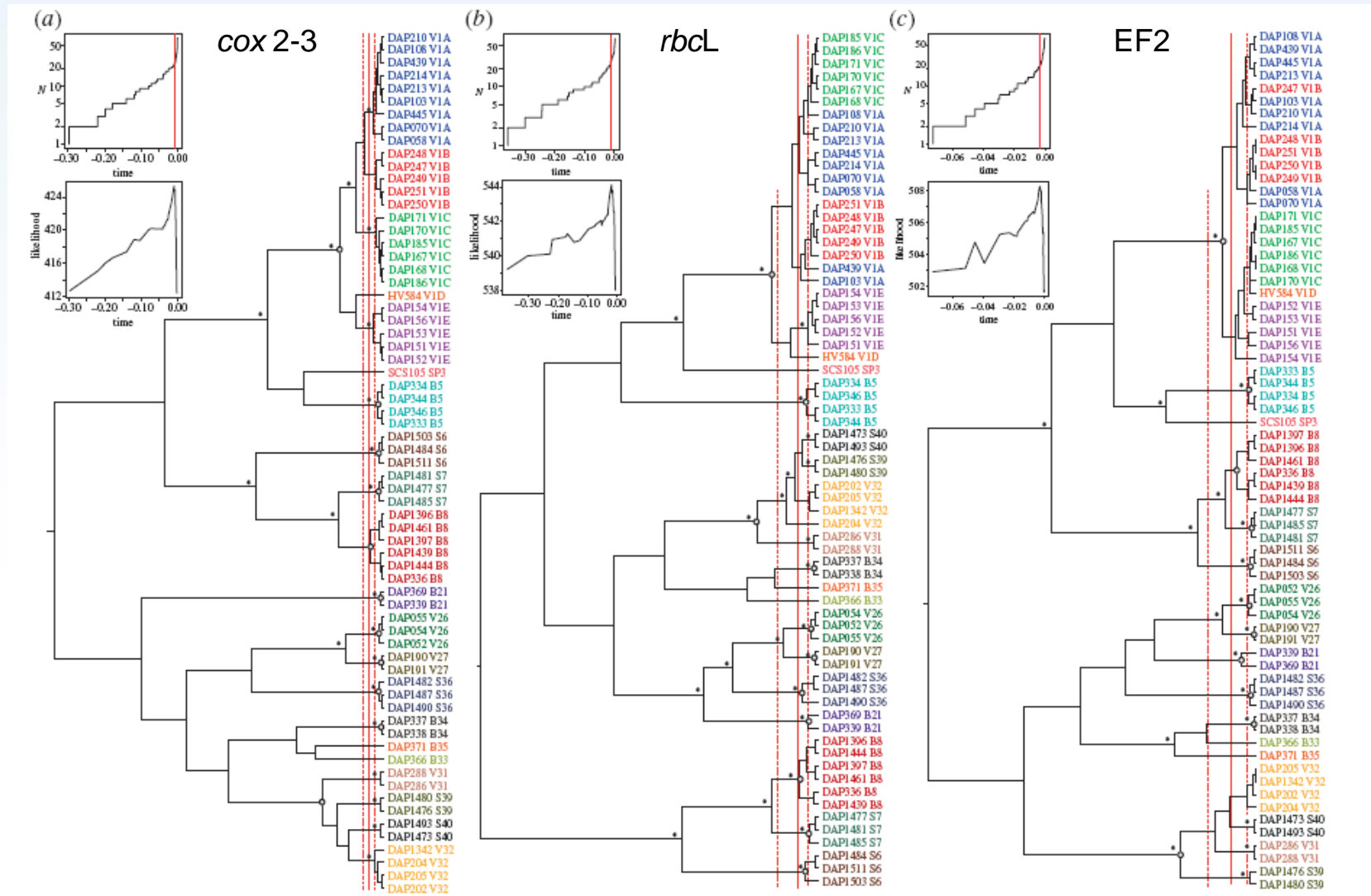
```
confidence interval: 42-56
```

```
threshold time: -0.05174417
```



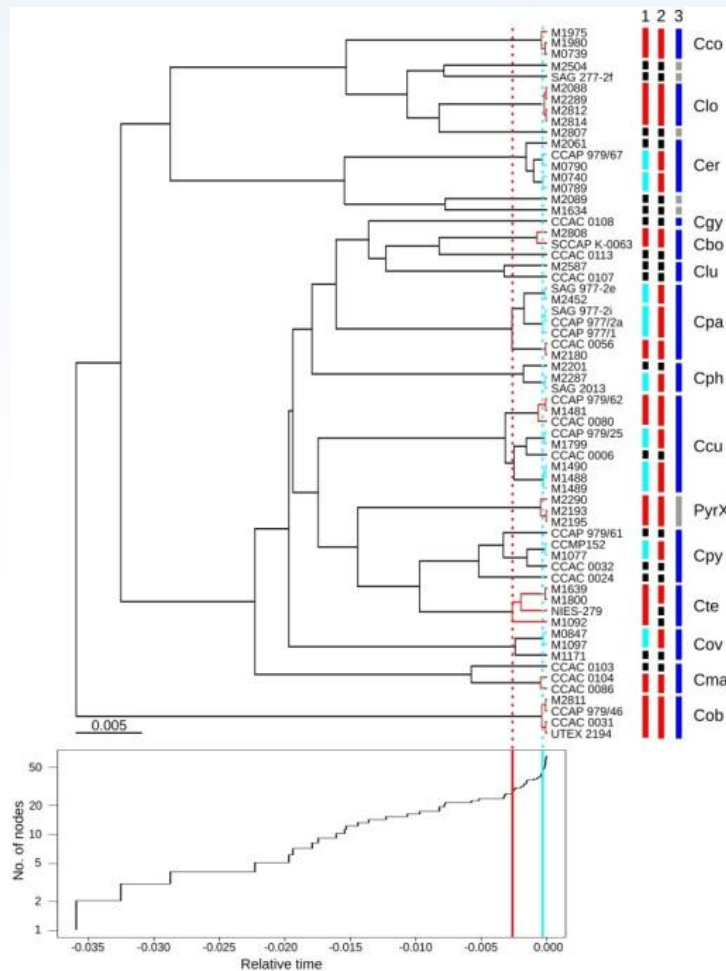
GMYC metoda (BP&P)

- Definice druhů na základě několika molekulárních markerů
 - reciproční monofylie není podmínkou pro vymezení druhů



Definice druhů pomocí koalescenční teorie

- Je nutné velmi dobře definovat pomocný strom (guide tree)
- Problematické při použití velkého množství identických sekvencí
- Problém při analýze genů, které nejsou neutrální (pozitivní selekce)



Univerzální koncept druhů?

- Druhy jsou nezávisle se vyvíjející linie (soubory populací), mezi kterými nedochází k toku genů
- Druhy je tudíž vhodné definovat na základě genetických znaků

loss of mucilaginous stalks. Cells single or connected by fine stalks to 4- to 64-celled colonies, which are covered by mucilaginous envelopes. Genus differs from other genera of the family by the order of the nucleotides in the 18S rRNA and ITS rRNA sequences.

Asexual reproduction by sporulation producing two or four zoospores; cell division with or without rotation of protoplast by 90°.

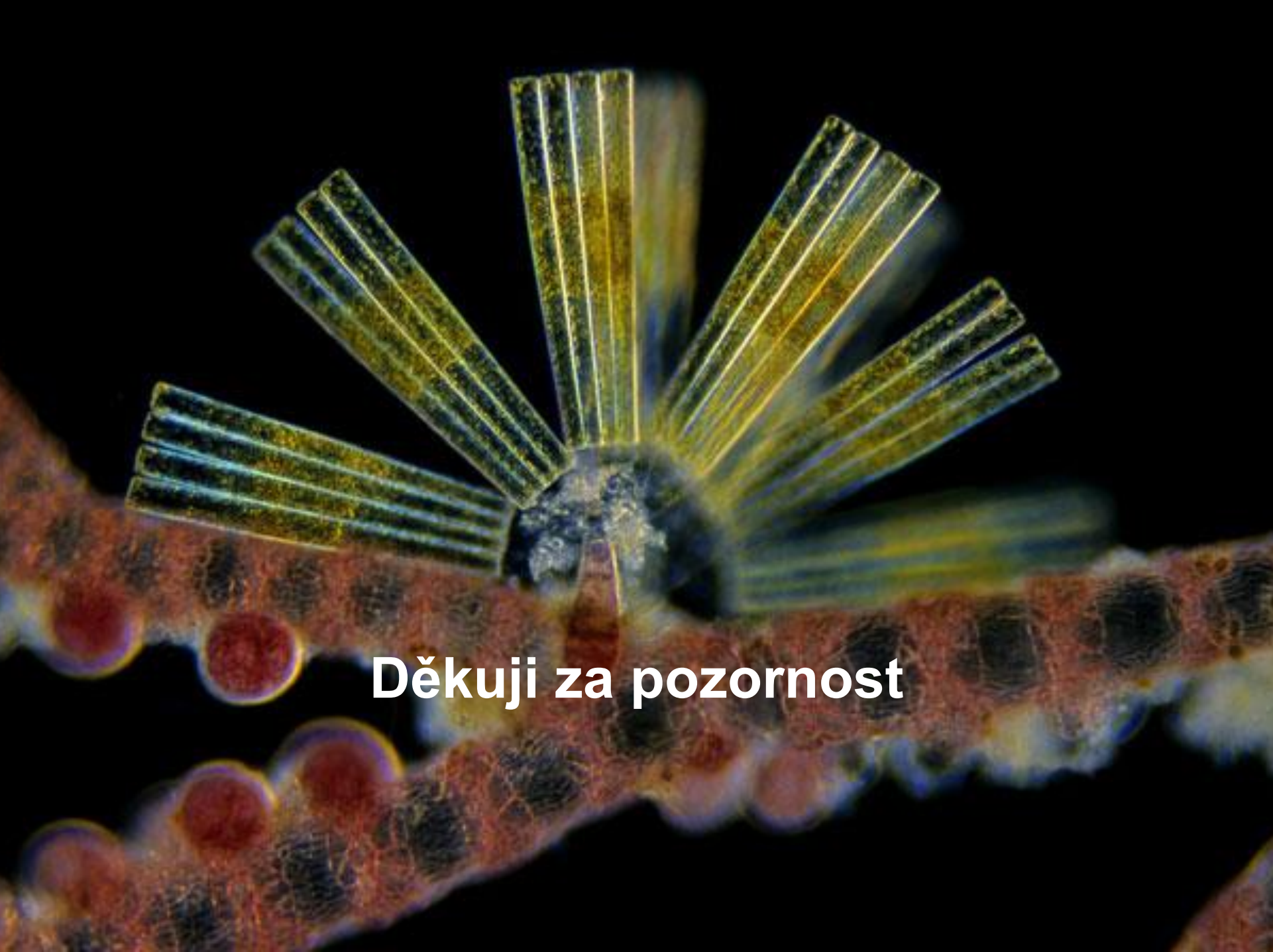
Sexual reproduction not observed.

ITS-2 DNA BARCODE: Barcode H in Fig. 3.

Cells single, planktonic, adult cells spherical, 1.5–3.5 μm, without mucilaginous envelope. Chloroplast single, parietal, cup-shaped, without pyrenoid. Propagation by two or four or seldom eight autospores. Species differs from other species of the genus by the order of the nucleotides in ITS rRNA gene sequences.

absent but starch grains present. Cell wall thin and smooth. Oil droplets and pigments accumulating in aging cells. Old cultures orange-brown. Asexual reproduction via autospores or naked biflagellate zoospores; sexual reproduction not observed. Genus differentiated from other taxa in Sphaeropleales by 18S rRNA and *rbcL* gene sequences.

single, parietal, cup- or saucer-shaped with ellipsoid to spherical pyrenoid, covered by two starch grains. Reproduction by 2–4 autospores. Release of autospores after rupture of mother cell wall horizontally or slightly obliquely. Differs from other species of this genus by the order of nucleotides in ITS-1 and ITS-2 and the barcoding signatures.



Děkuji za pozornost