



Pridružujuće kartiranje od Q do K: Studija slučaja hrvatskih endemičnih kadulja

Jerko Gunjača

Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet

e-mail: jgunjaca@agr.hr



HBoD, Zagreb, 27. studenog 2014.

**Pridružujuće kartiranje od Q do K:
Studija slučaja hrvatskih endemičnih kadulja**

(A) Oplemenjivanje bilja i QTL-i

(B) Pridružujuće kartiranje

(C) Studija slučaja: Ljekovita kadulja

(A) Oplemenjivanje bilja i QTL-i

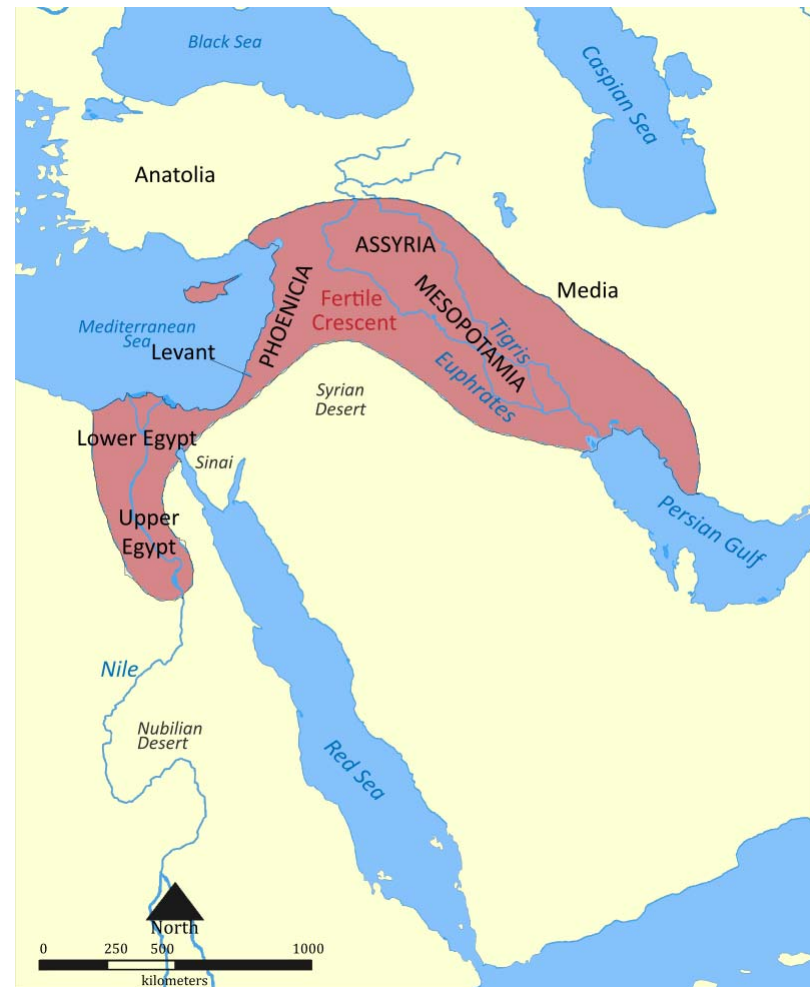
- **udomaćenje** – proces kultiviranja divljih biljnih vrsta odabirom na temelju svojstava koja ih čine pogodnima za uzgoj i iskorištavanje
 - **suvremeno oplemenjivanje** – (post) Mendelovo doba, primjena genetike i drugih znanstvenih disciplina
 - **lokusi za kvantitativna svojstva (QTL)** – većina svojstava čije se poboljšanje nastoji postići oplemenjivanjem karakterizira kontinuirana varijabilnost koja je posljedica poligenog nasljeđivanja
-

Udomaćenje

Proces koji je započeo prije 9.000 – 11.000 godina, i trajao nekoliko tisuća godina.

Usporedno s odabirom pogodnih biljnih vrsta, morali su se razviti i poljoprivredni alati.

Plodni polumjesec – udomaćenje žitarica iz porodice trava: pšenice, ječma



Ječam

**Prvobitni odabir tri svojstva
važna za udomaćenje:**

1. (ne)lomljivi klas (Bt1 i Bt2)

**2. dva reda – šest redova
(vrs1)**

3. golo zrno



Suvremeno oplemenjivanje – II Zelena revolucija



**Norman Borlaug
(1914-2009)**

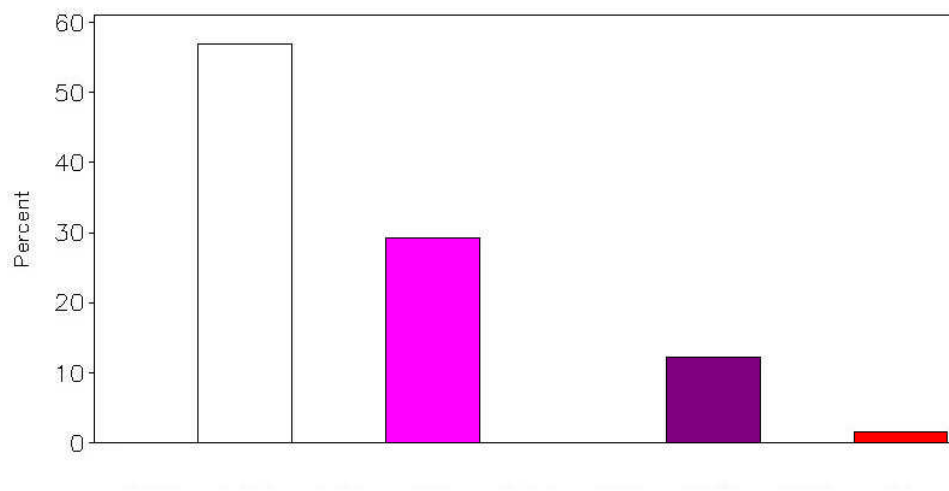
**Nobelova nagrada
za mir 1970. godine**

CIMMYT

Pšenica:

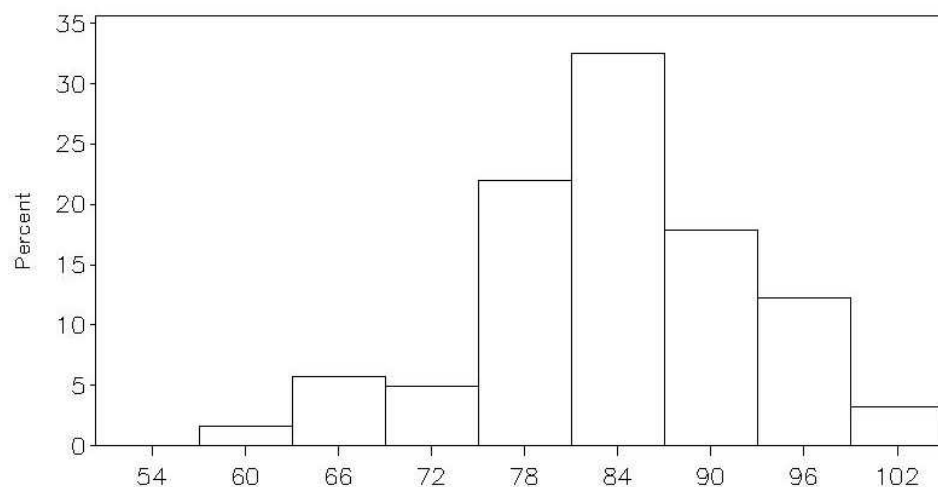
- dvije žetve – fotoperiodizam
 - patuljasti rast
 - višelinjska otpornost
-

Kvalitativna i kvantitativna svojstva



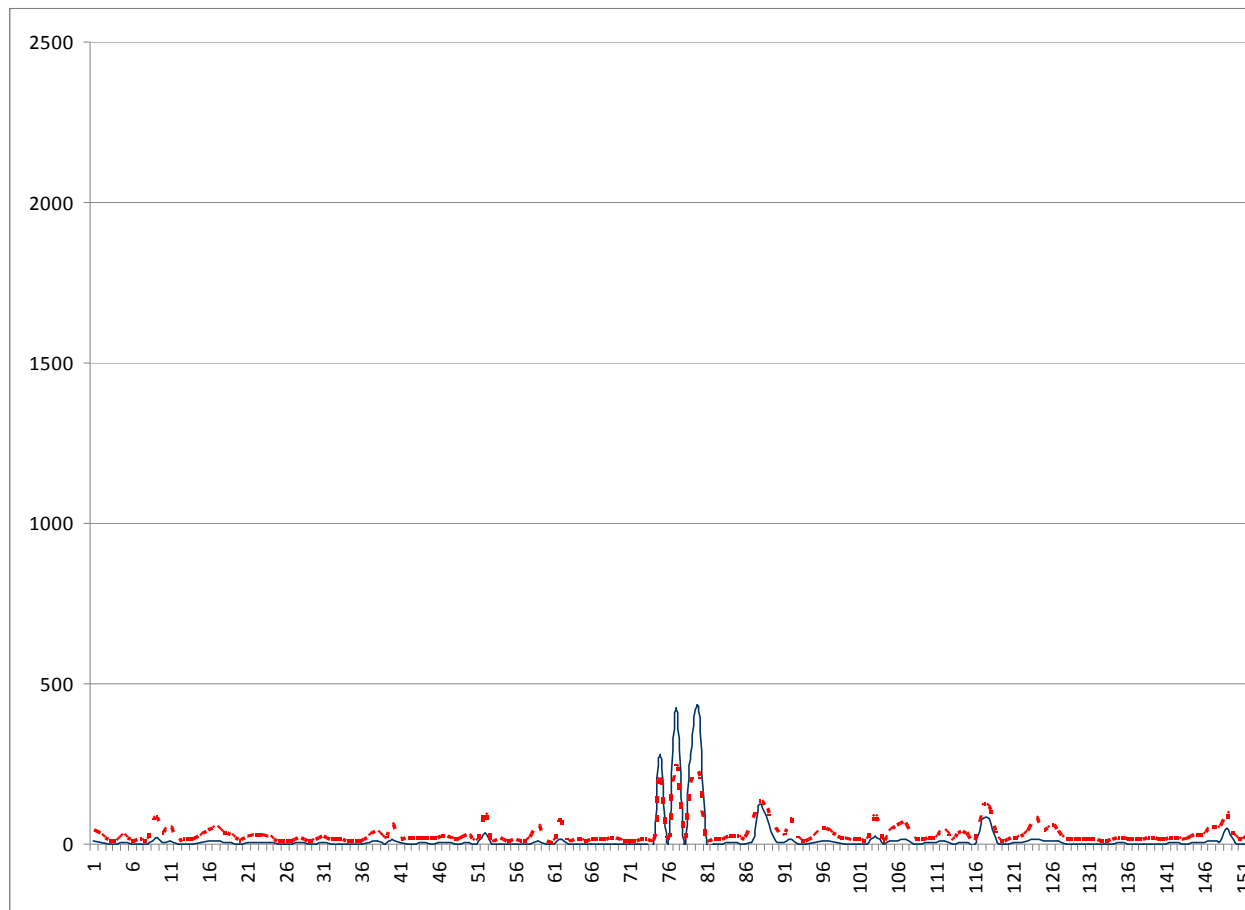
boja cvijeta

širina liske



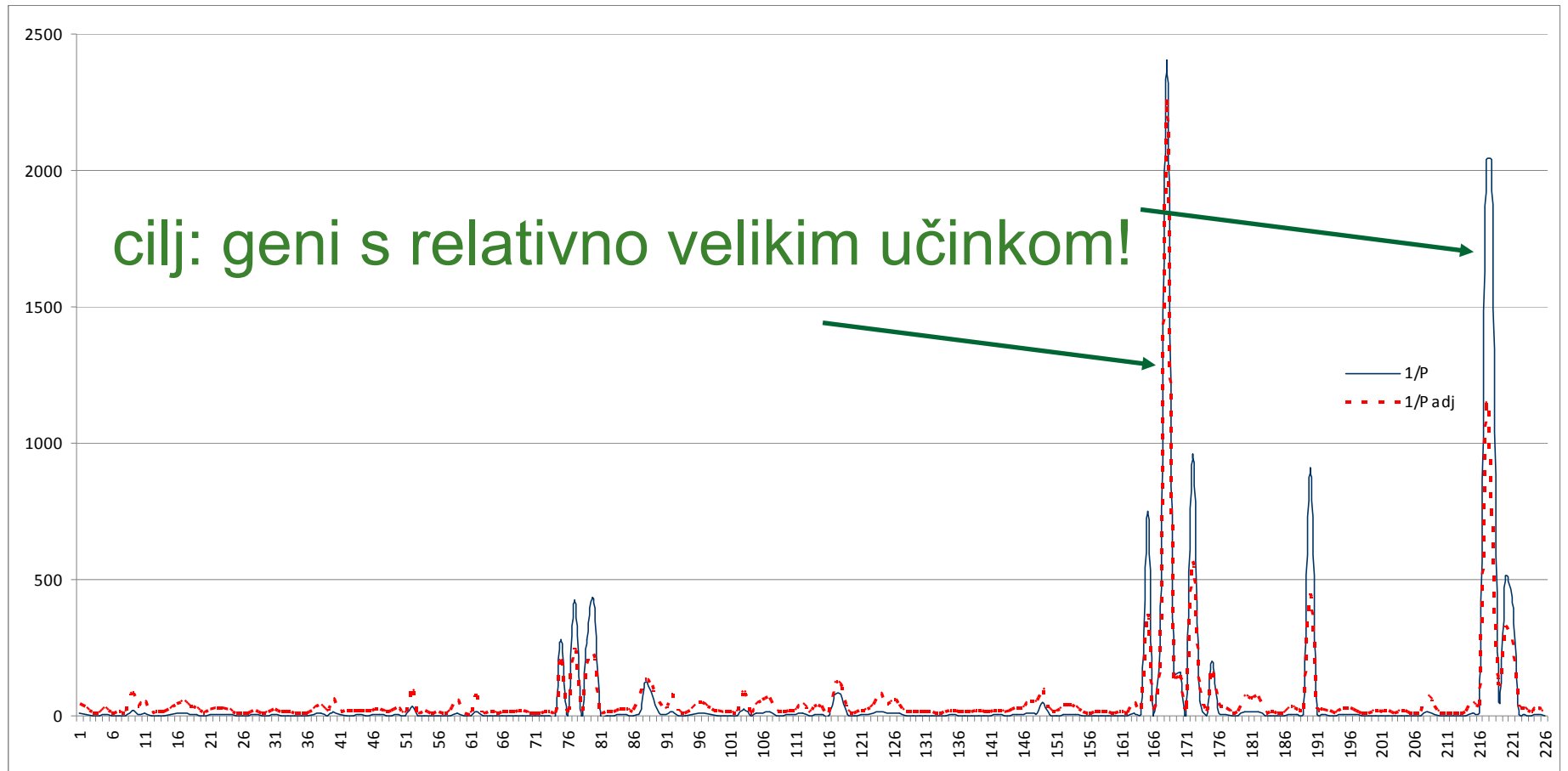
grah – 131 primka iz HBBG

Potraga za QTL-ima...(1)



- veliki broj gena relativno malog učinka
- kartiranje lokusa uz pomoć molekularnih biljega i genskih karata
- za izradu karata nužan razvoj specifičnih populacija (biparentalna križanja)

Potruga za QTL-ima...(2)



Potraga za QTL-ima...(3)

- glavni nedostatak analize QTL-a na temelju populacija za kartiranje je slaba razlučivost uslijed premalog broja rekombinacijskih događaja tijekom razvoja populacija
 - zbog toga čak i dijelovi kromosoma koji su međusobno vrlo udaljeni ostaju povezani, tj. nasljeđuju se zajedno
 - povećanje preciznosti može se postići pridružujućim kartiranjem
-

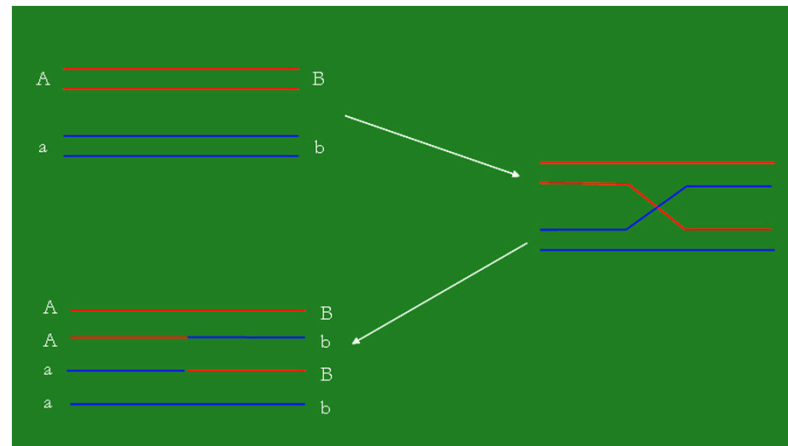
(B) Pridružujuće kartiranje

- **ne zahtjeva razvoj posebnih populacija za kartiranje**
 - **nužna visoka razina zasićenosti genoma molekularnim biljezima, odnosno gustoće njihovog smještaja unutar genoma**
 - **potrebni intenzitet gustoće može se procijeniti prema stupnju opadanja neravnoteže vezanosti**
-

Neravnoteža vezanosti (LD)

- nasljeđivanje alela sa različitih lokusa koje nije nezavisno

Lokus B	Lokus A	
	$P(A)=p_A$	$P(a)=q_A$
$P(B)=p_B$	$P(AB)=p_A p_B + D$	$P(aB)=q_A p_B - D$
$P(b)=q_B$	$P(Ab)=p_A q_B - D$	$P(ab)=q_A q_B + D$



Statistički model

- krajnje pojednostavnjeno, fenotip je zbroj djelovanja genotipa i okoline:

$$P = G + E$$

- kod kvantitativnih svojstava, genotipski učinak je zbroj djelovanja velikog broja gena malog pojedinačnog učinka (QTL-a)
 - stoga se ukupni genotipski učinak može rastaviti na niz učinaka pojedinačnih gena
-

Model jednog biljega

- ...je mješoviti model oblika:

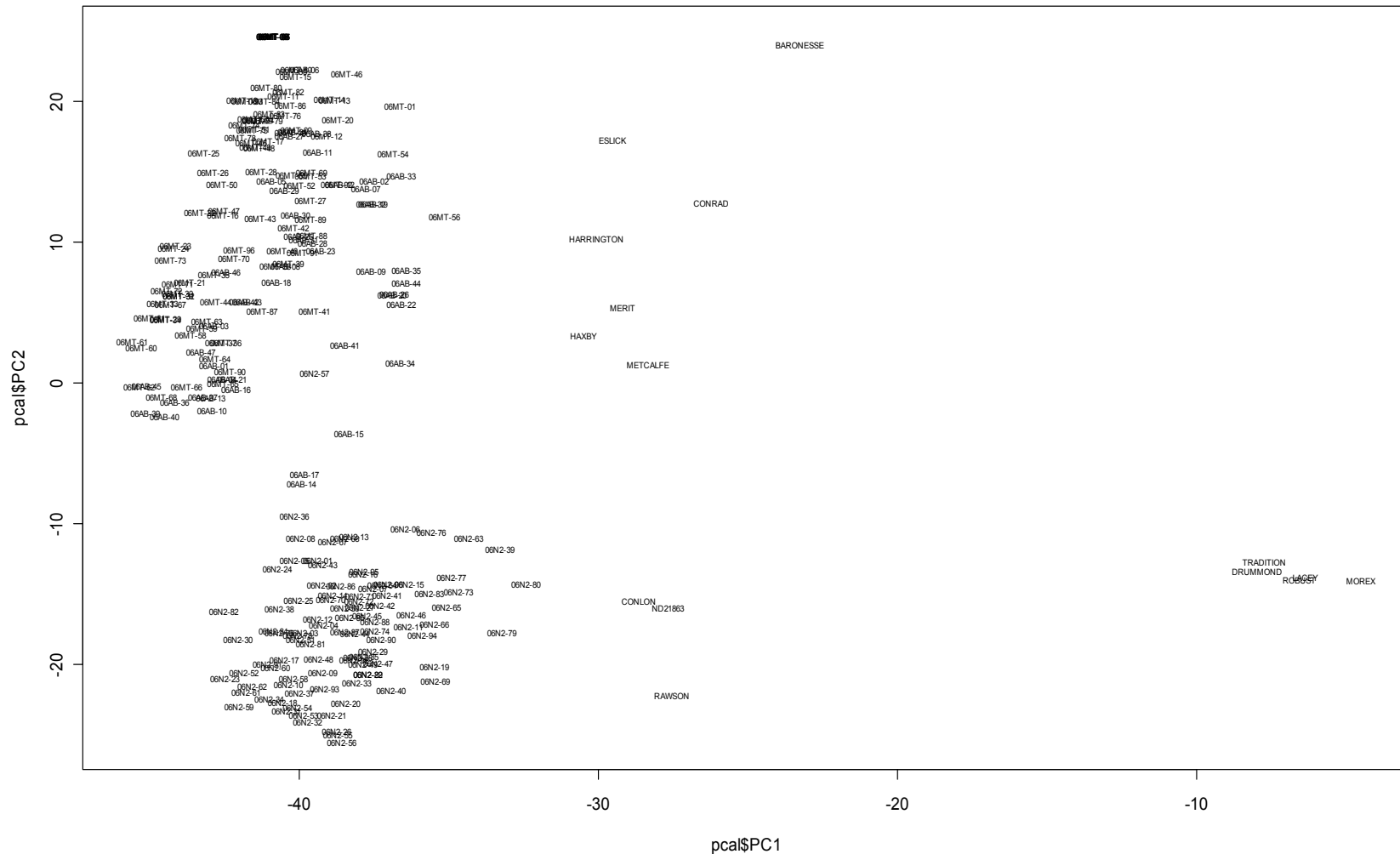
$$Y_i = M_{ki} + G_i + e_{ij}$$

- M_k je učinak pretpostavljenog QTL-a povezanog s molekularnim biljegom (fiksni efekt), a G_i učinak ostalih gena, odnosno genetsko zaleđe (slučajni efekt)
 - modeliranje se provodi zasebno za svaki biljeg, primjenom standardnih statističkih programa s paketima ili modulima za mješovite modele – R/ASREML, SAS...
-

Lažne asocijacije

- **genetski uzroci:**
 - **strukturiranost eksperimentalne populacije – razlike u alelnim frekvencijama između subpopulacija**
 - **različiti stupanj srodnosti genotipova – različite korelacije/kovarijance fenotipova**
 - **uklanjanje lažnih asocijacija – modifikacija modela daljnjim raščlanjivanjem genotipskog učinka vodeći računa o strukturi i srodnosti**
-

Struktura populacije ječma (PCA, SNP)



Model jednog biljega + Q

- ...uključuje i (fiksni) efekt strukture populacije Q:

$$Y_i = M_{ki} + Q_i + G_i + e_{ij}$$

- struktura populacije Q može se definirati pomoću molekularnih biljega:
 - Bayesovskim pristupom – program STRUCTURE (Pritchard et al. 2000)
 - analizom glavnih komponenti (Price et al. 2006)
-

Q + K model (Yu et al. 2006)

- ...uključuje i matricu srodnosti K:

$$Y_i = M_{ki} + Q_i + G_i K + e_{ij}$$

- **K** se koristi kao matrica varijanci-kovarijanci slučajnog učinka genotipa i može se definirati:
 - pomoću molekularnih biljega:
 - izračunavanjem koeficijenta srodnosti (SpaGeDi – Hardy i Vekemans, 2007)
 - izračunavanjem genetskih udaljenosti (Stich et al. 2008)
 - pomoću pedigreea
-

Statistički pristup uklanjanju lažnih asocijacija

- **statistički uzrok: 1 biljeg = 1 model – provođenje velikog broja testova koji nisu međusobno nezavisni**
 - **uklanjanje lažnih asocijacija:**
 - **Bonferronijeva korekcija**
 - **stopa lažnih otkrića (FDR):**
 - **Benjamini and Hochberg (1995)**
 - **Storey (2002)**
-

FDR (Benjamini i Yekutieli, 2005)

Biljeg	P	k	$P_{adj} = \alpha * k / m$	diff = $P - P_{adj}$
168	0,00042	1	0,00044	-0,00003
217	0,00049	2	0,00088	-0,00040
218	0,00049	3	0,00133	-0,00084
172	0,00104	4	0,00177	-0,00073
190	0,00110	5	0,00221	-0,00112
165	0,00133	6	0,00265	-0,00132
220	0,00195	7	0,00310	-0,00114
221	0,00229	8	0,00354	-0,00125
77	0,00235	9	0,00398	-0,00163
80	0,00235	10	0,00442	-0,00207
75	0,00357	11	0,00487	-0,00130
79	0,00357	12	0,00531	-0,00174
167	0,00392	13	0,00575	-0,00183
175	0,00503	14	0,00619	-0,00116
170	0,00629	15	0,00664	-0,00035
169	0,00654	16	0,00708	-0,00054
88	0,00811	17	0,00752	0,00059
219	0,01089	18	0,00796	0,00292
117	0,01254	19	0,00841	0,00413

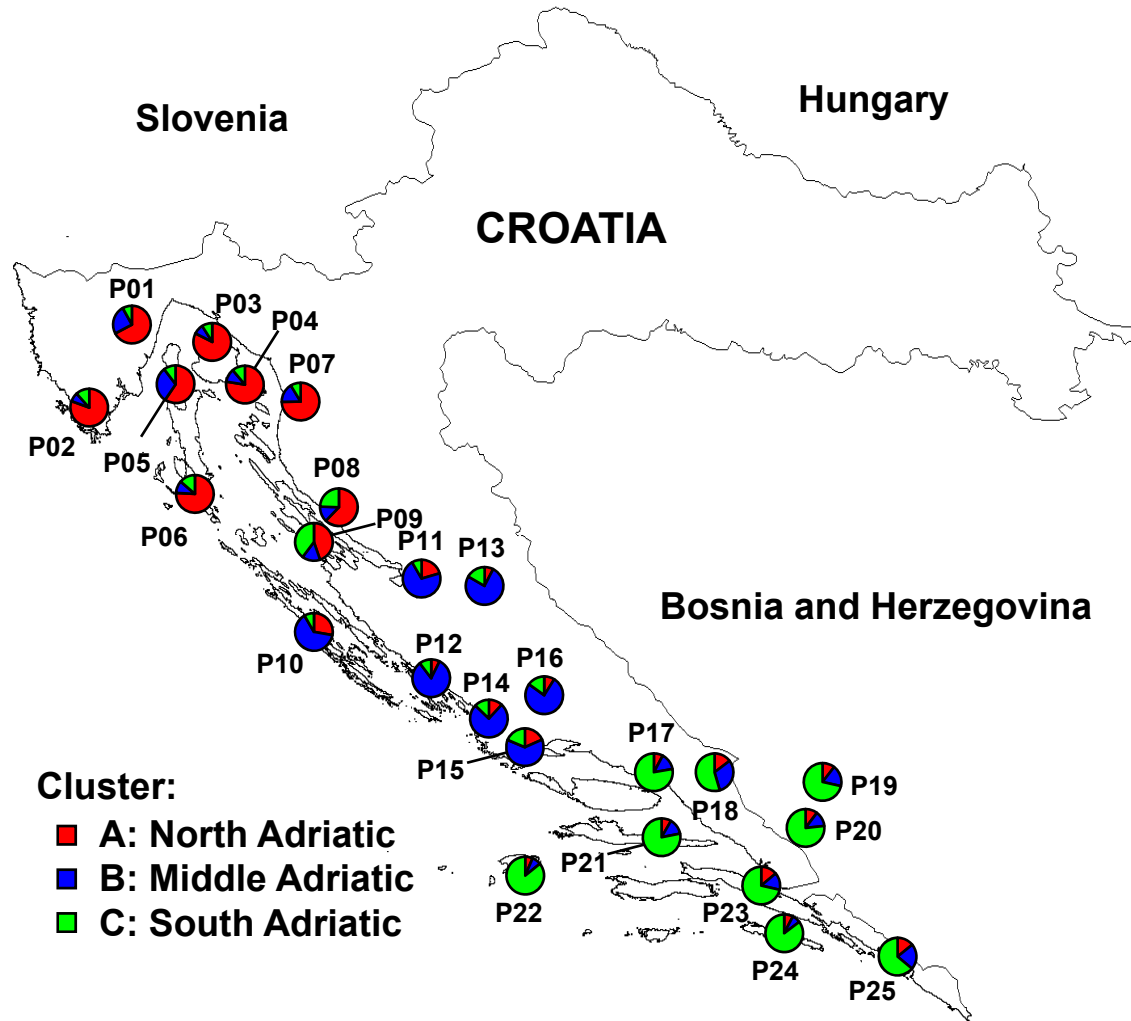
- **F-test za učinak biljega, korigiran na FDR od $\alpha = 0,1$**

(C) Studija slučaja: Ljekovita kadulja

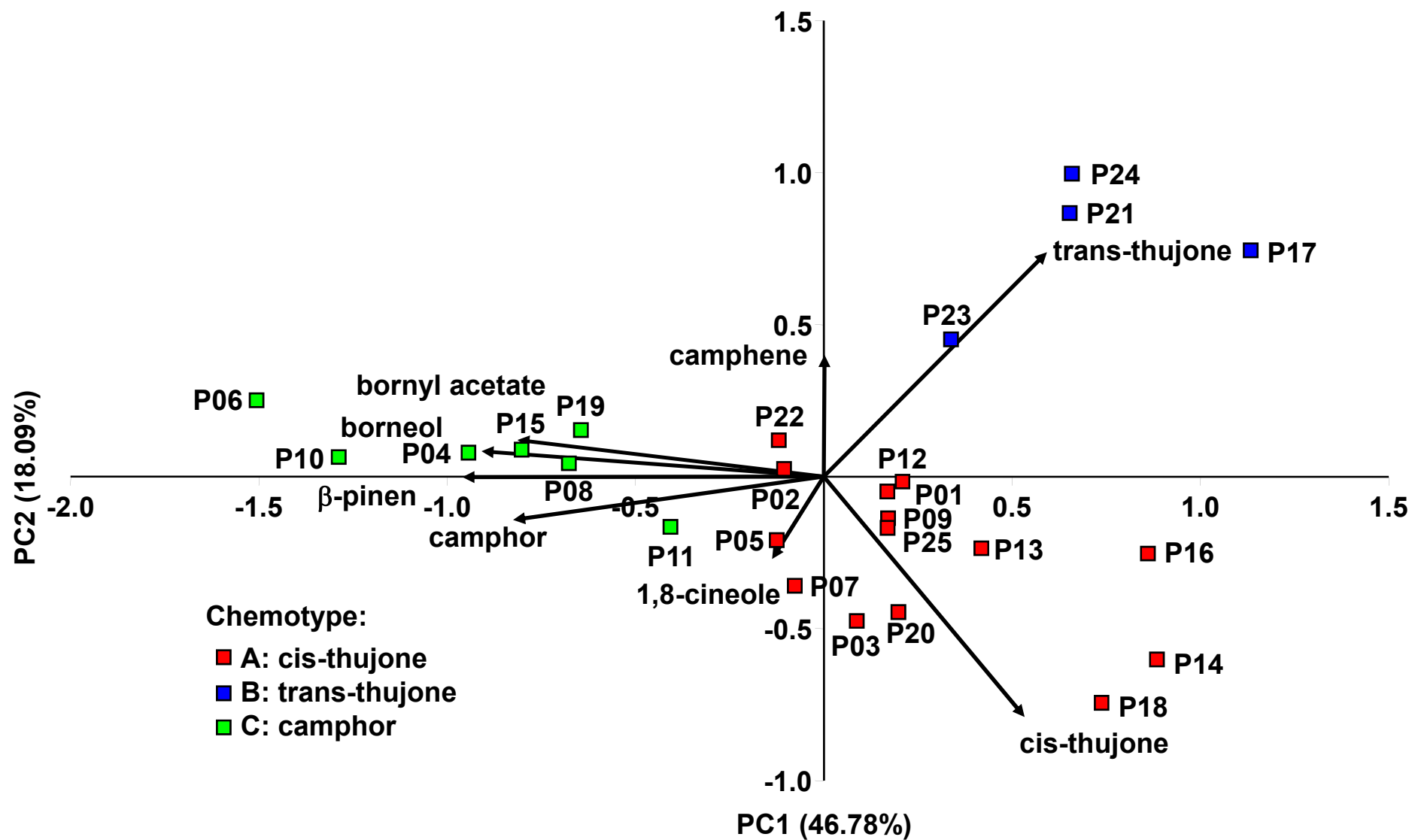


- 25
populacija
- 4/559 AFLP
- 8/161 SSR
- 62/8
komponente
ulja

Struktura populacije kadulja



Kemotipovi



Povezanost biljega i lokusa za komponente ulja

Tab. 1. The eight main essential-oil compounds in 25 Dalmatian sage populations and the number of significantly associated AFLP markers identified by the simple model and K+Q model

No	Compound	Average	Range	No. of significant AFLP markers ($P < 0.01$)	
				Simple model	K+Q model
1	cis-thujone	26.29	10.34-49.65	50	12 (8)*
2	camphor	19.53	5.16-36.54	122	11 (5)
3	trans-thujone	11.94	1.50-44.91	81	19 (14)
4	1,8-cineole	9.78	5.04-15.69	56	13 (9)
5	β -pinene	5.97	1.23-11.92	79	11 (3)
6	camphene	5.09	0.97-9.89	48	9 (4)
7	borneol	2.81	0.90-6.27	50	4 (2)
8	bornyl acetate	1.91	0.34-5.98	39	4 (2)

*Number of markers unique for the compound is given in parenthesis

Što dalje?



- **odrediti
sadržaj ulja
jedinki u
populacijama,
pa potvrditi
postojanje
veza**
- **istražiti
metaboličke
puteve?**



Pridružujuće kartiranje od Q do K: Studija slučaja hrvatskih endemičnih kadulja

Projekt financira Hrvatska zaklada za znanosti

Projektni tim



Zlatko Šatović
Klaudija Carović-Stanko
Martina Grdiša
Ivan Biruš

Jerko Gunjača
Sandro Bogdanović



Zlatko Liber
Toni Nikolić
Ivana Rešetnik
Ivan Radosavljević

Vlatka Zoldoš
Vedrana Vičić



Marija Jug-Dujaković

