
8. međunarodni kongres
Oplemenjivanje bilja, sjemenarstvo i rasadničarstvo

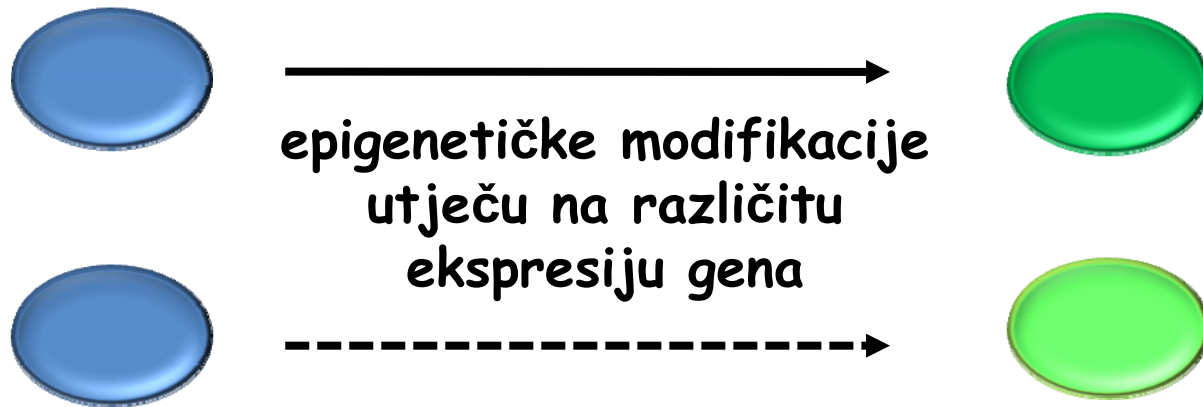
Epigenetička vs. genetička raznolikost prirodnih biljnih populacija: Hrvatske endemične kadulje

Zlatko Šatović
Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
e-mail: zsatovic@agr.hr

Sv. Martin na Muri, 13. studenog 2015.

Epigenetika

- grana genetike koja proučava nasljedne promjene u ekspresiji i funkciji gena koje ne mogu biti objašnjene promjenama u nukleotidnoj sekvenci DNA



sve stanice imaju isti genom
- **genom**: skup informacija sadržan
u sekvenci DNA

1 genom

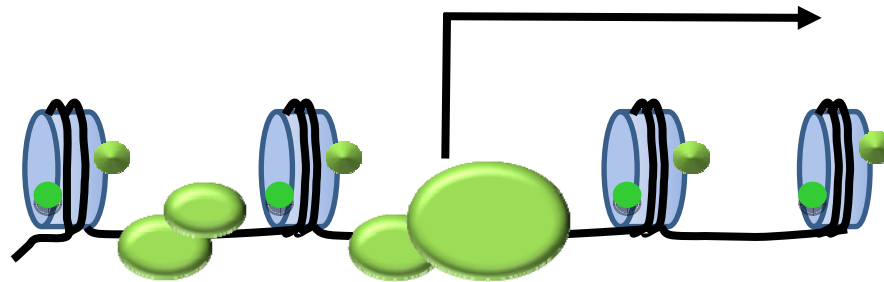
svaki stanični tip ima specifičan epigenom
- **epigenom**: skup informacija sadržan
u kromatinu koji utječe na transkripciju

>200 različitih epigenoma

Epigenetički mehanizmi

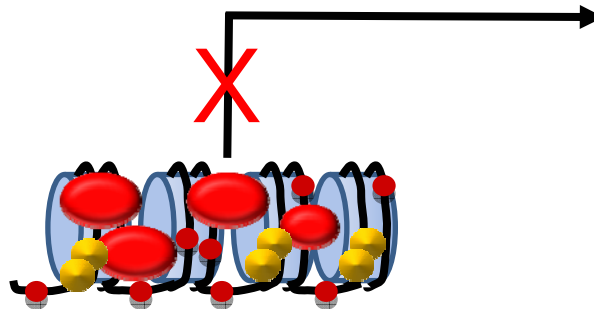
- epigenetički mehanizmi utječu na stanje kromatina
- otvoreno stanje kromatina: transkripcija omogućena

gen je aktivan



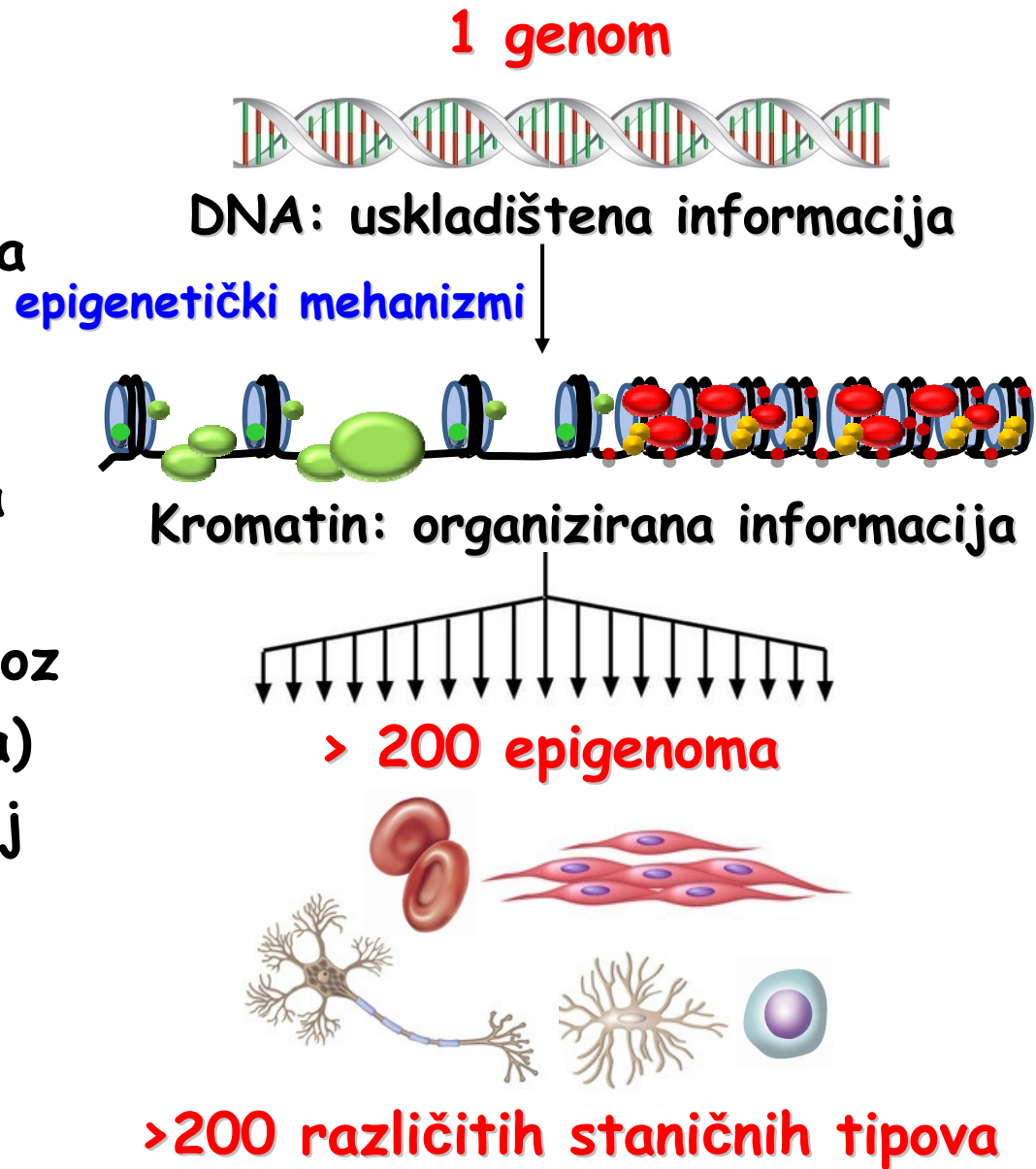
- zatvoreno stanje kromatina: transkripcija onemogućena

gen je utišan



Epigenetički kod

- epigenetička se informacija uspostavlja rano u embrionalnom razvoju i omogućava diferencijaciju stanica
- epigenetička se informacija prenosi kroz stanične diobe (mitoza)
- stanice zadržavaju svoj identitet



Epigenetika, ekologija i evolucija

- (1) Epigenetičke se informacije mogu prenijeti i u sljedeću generaciju
 - (2) Raznolikost prirodnih populacija postoji ne samo na razini genoma već i epigenoma
 - (3) Epigenetička raznolikost utječe na fenotipsku raznolikost, a time i na prirodan odabir
 - (4) Epigenetičke promjene su pod izravnim utjecajem okoliša
-

Temeljna pitanja

- (1) Genetička/epigenetička raznolikost
unutar i između prirodnih populacija
 - (2) Epigenetička raznolikost
i okolišni čimbenici
 - (3) Genetička/epigenetička raznolikost
biljnih vrsta koje se razmnažaju vegetativno
 - (4) Genetička/epigenetička raznolikost
u hibridnim populacijama
-

Biljni materijal

- prirodne populacije hrvatskih endemičnih kadulja:

(1) Ljekovita kadulja (*Salvia officinalis* L.)

(2) Kratkozupčasta kadulja (*S. brachyodon* Vandas.)

(3) Uškasta kadulja (*Salvia x auriculata* Mill.)

- Ljekovita kadulja (*S. officinalis* L.)

x grčka kadulja (*S. fruticosa* L.)

Metode

(1) Genetički biljezi SSR

- Ponavljajuće jednostavne sekvence (mikrosateliti)
- *Simple Sequence Repeats (microsatellites)*

(2) Epigenetički biljezi MSAP

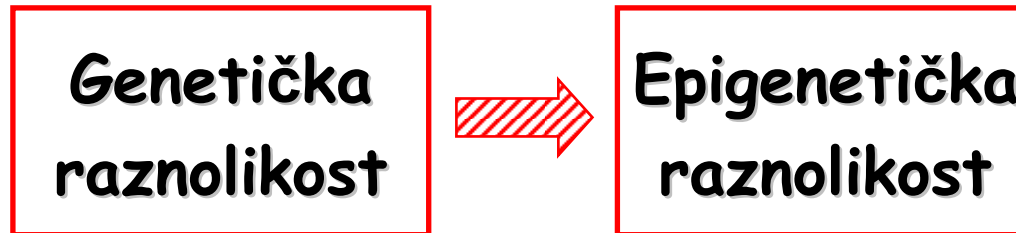
- Polimorfizam umnoženih ulomaka osjetljivih na metilaciju
- *Methylation-Sensitive Amplified Polymorphism*

- metilacija

- dodatak metilne skupine na 5 C atom citozina
 - jedan od epigenetičkih mehanizama
-

1. Pitanje

(1) Koji je odnos između genetičke i epigenetičke raznolikosti?



(1) Ljekovita kadulja

- rasprostranjena od Italije do Grčke
- centar raznolikosti na istočnoj obali Jadranskog mora



- višegodišnja, stranooplodna biljna vrsta
 - 25 populacija / 25 jedinki po populaciji
-

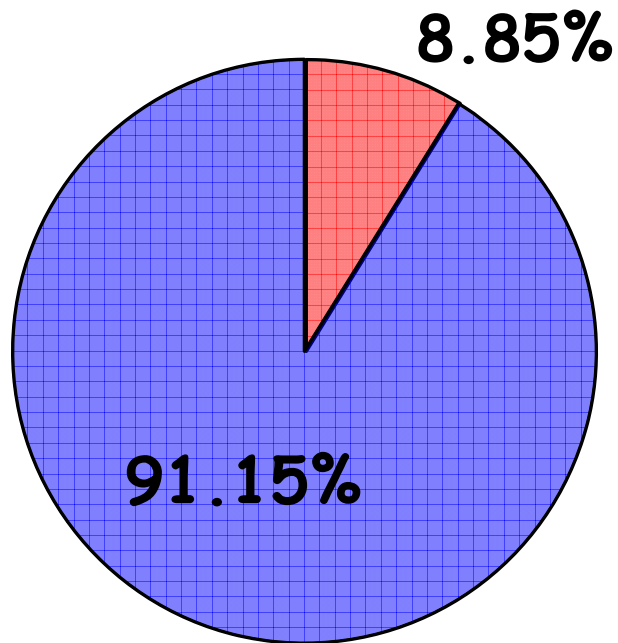
Genetička vs. epigenetička struktura

- Analiza molekularne varijance:

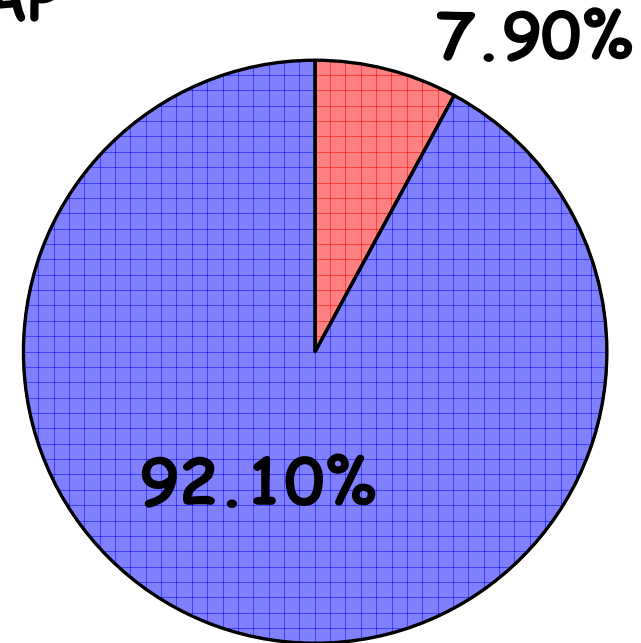
● % varijance između populacija

● % varijance unutar populacija

SSR



MSAP



- slična raspodjela genetičke i epigenetičke raznolikosti

Genetička struktura

- tri genska skupa

Alelna bogatstvo (N_{ar})

Sjeverni Jadran 7.55

Srednji Jadran 8.55

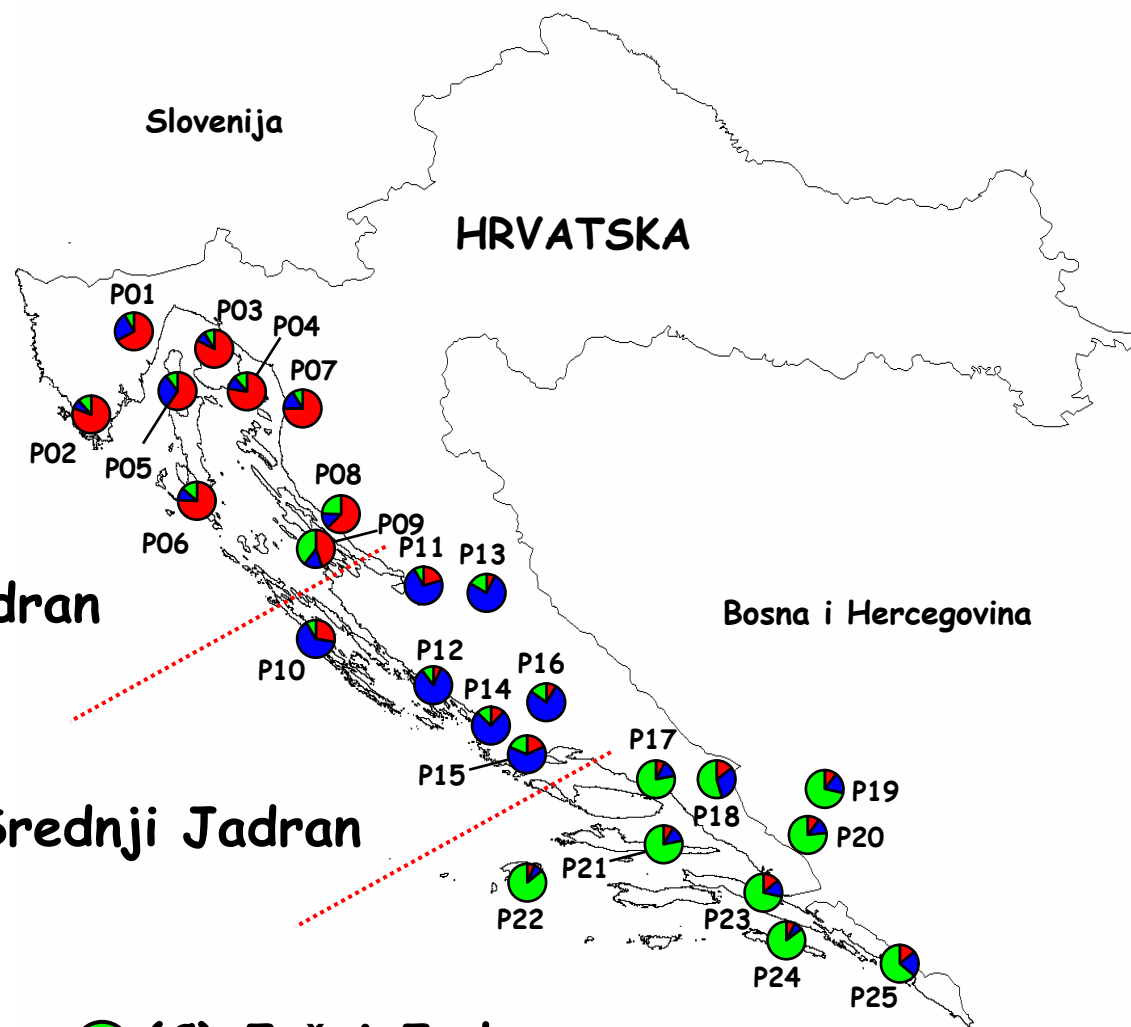
Južni Jadran 9.50

P 0.003

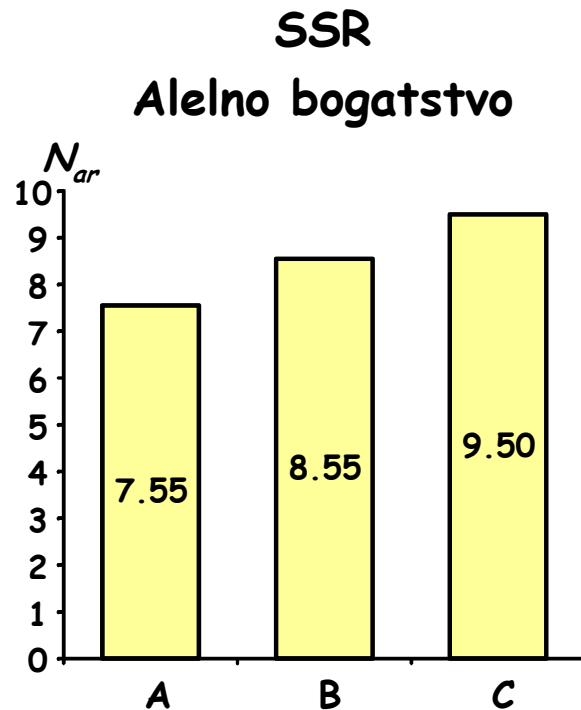
● (A) Sjeverni Jadran

● (B) Srednji Jadran

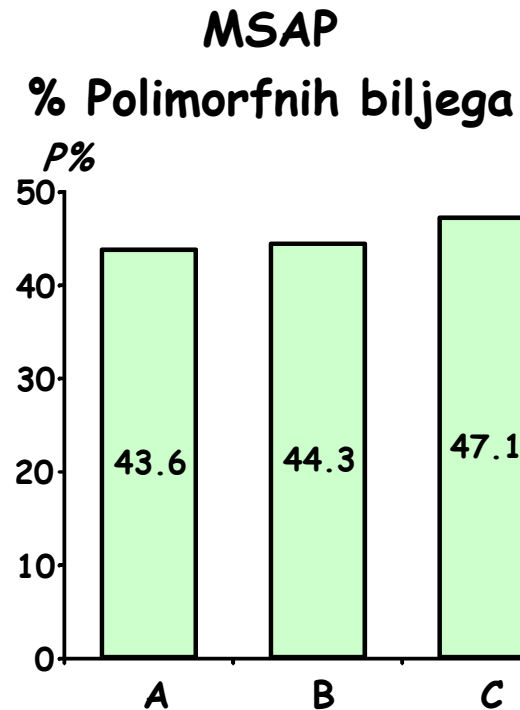
● (C) Južni Jadran



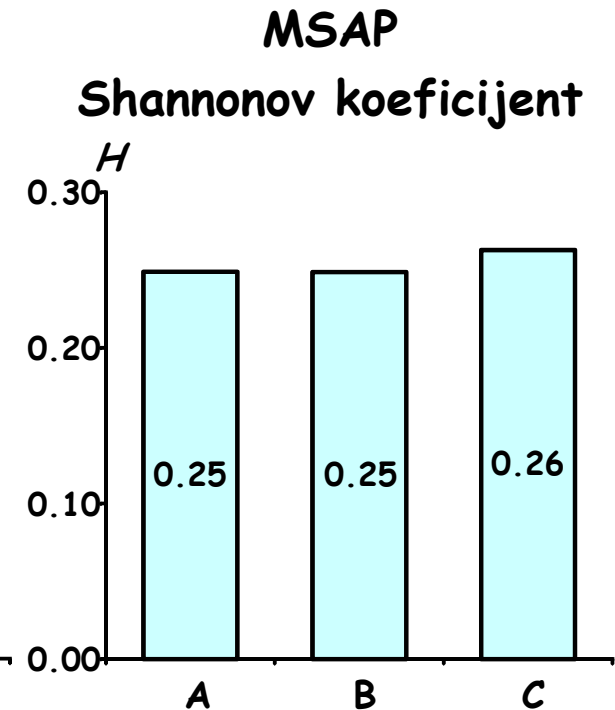
Genetička vs. epigenetička raznolikost



Korelacija na temelju
25 populacija:



SSR N_{ar} / MSAP $P\%$
 $r = 0.24$
 $R^2 = 0.05$

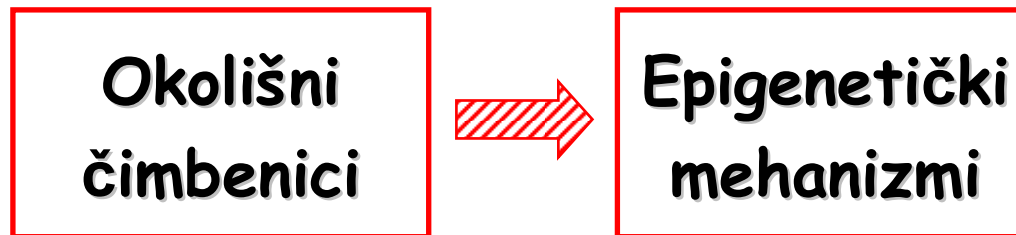


SSR N_{ar} / MSAP H
 $r = 0.31$
 $R^2 = 0.09$

- niska korelacija između genetičke i epigenetičke raznolikosti

2. Pitanje

(2) Postoje li sustavni obrasci epigenetičke raznolikosti u odnosu na pojedine okolišne čimbenike?



Epigenetička raznolikost i okolišni uvjeti

(1) Okolišni podaci

- 25 mjesta prikupljanja ljekovite kadulje
- 19 bioklimatskih varijabli
- baza podataka: WorldClim

(2) Regresijska analiza

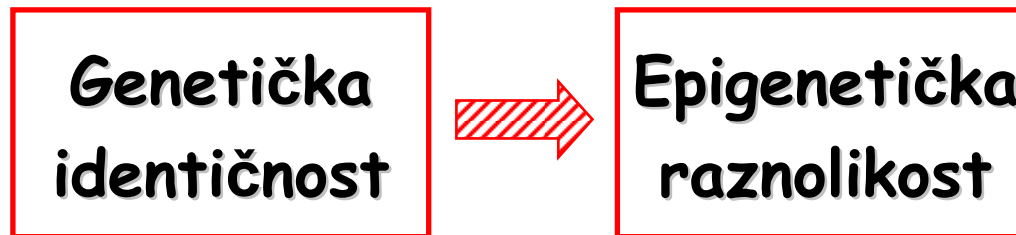
- višestruke univarijatne logističke regresije u svrhu testiranja povezanosti između učestalosti epialela i okolišnih varijabli mjesta prikupljanja
 - program Samβada (Stucki et al., 2014)
-

Epigenetički biljezi i bioklimatska svojstva

	No.	Bioklimatsko svojstvo	Broj biljega
- 36 biljega MSAP signifikantno povezanih s 15 bioklimatskih svojstava	BIO1	Prosječna godišnja temperatura	0
	BIO2	Prosječni dnevni temperaturni opseg	8
	BIO3	Izotermnost	8
	BIO4	Sezonske promjene temperature	4
	BIO5	Maksimalna temperatura najtoplijeg mjeseca	0
	BIO6	Minimalna temperatura najhladnijeg mjeseca	2
	BIO7	Godišnji temperaturni opseg	4
	BIO8	Prosječna temperatura najvlažnijeg kvartala	5
	BIO9	Prosječna temperatura najsušeg kvartala	0
	BIO10	Prosječna temperatura najtoplijeg kvartala	1
- svojstva su međusobno korelirana	BIO11	Prosječna temperatura najhladnijeg kvartala	0
	BIO12	Godišnja količina oborina	6
	BIO13	Količina oborina u najvlažnijem mjesecu	3
	BIO14	Količina oborina u najsušem mjesecu	13
- mnogi su biljezi signifikantno korelirani s više svojstava	BIO15	Koeficijent varijacije oborina	8
	BIO16	Količina oborina u najvlažnijem kvartalu	3
	BIO17	Količina oborina u najsušem kvartalu	13
	BIO18	Količina oborina u najtoplijem kvartalu	12
	BIO19	Količina oborina u najhladnijem kvartalu	5
		Ukupno	95

3. Pitanje

(3) Koja je razina epigenetičke raznolikosti kod vrsta koje se razmnožavaju vegetativno?



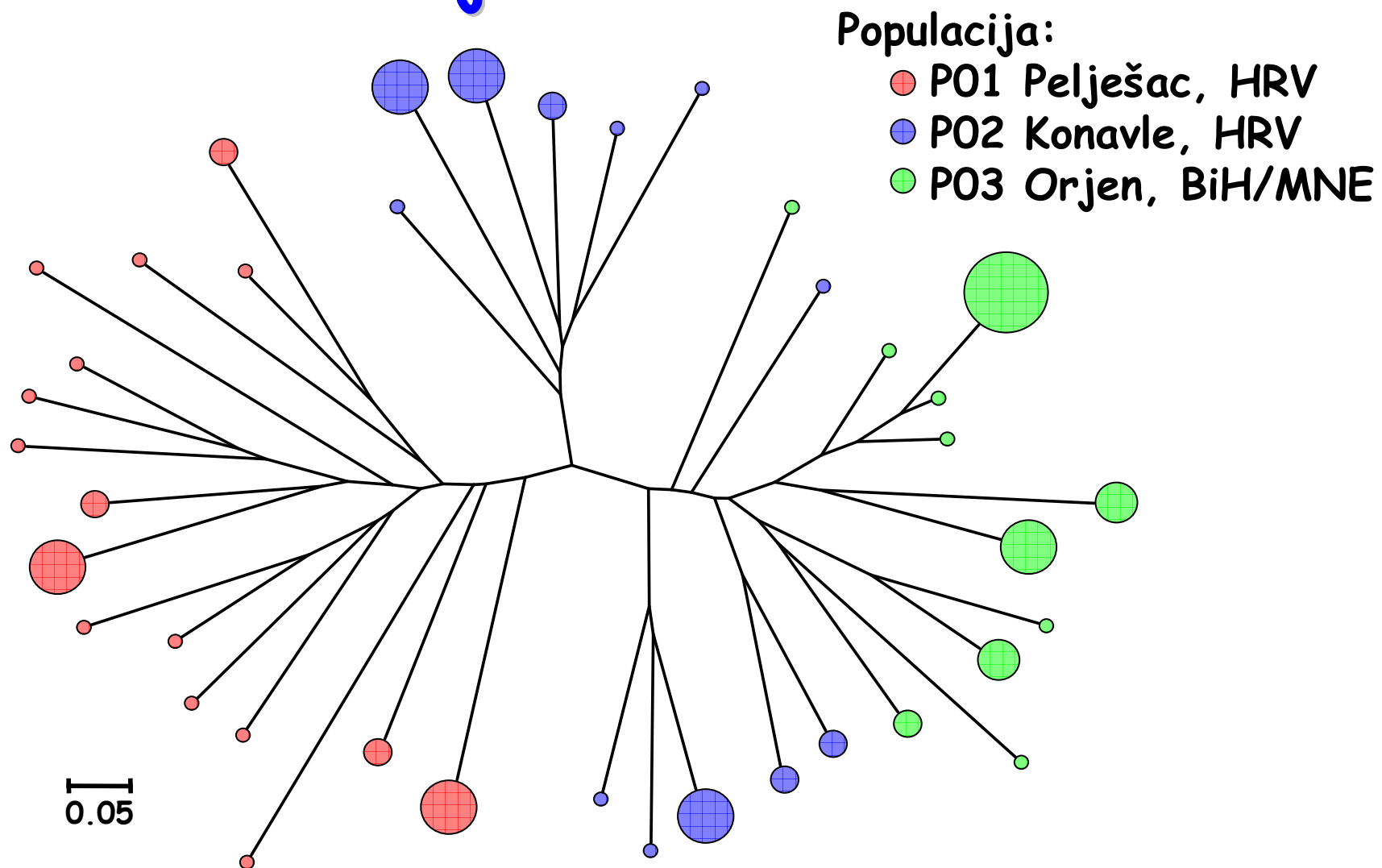
(2) Kratkozupčasta kadulja

- stenoendem
- tri poznata lokaliteta:
 1. Sv. Ilija, Pelješac
Hrvatska
 2. Velji Do, Konavle,
Hrvatska (2013)
 2. Orjen planina,
BiH/Crna Gora

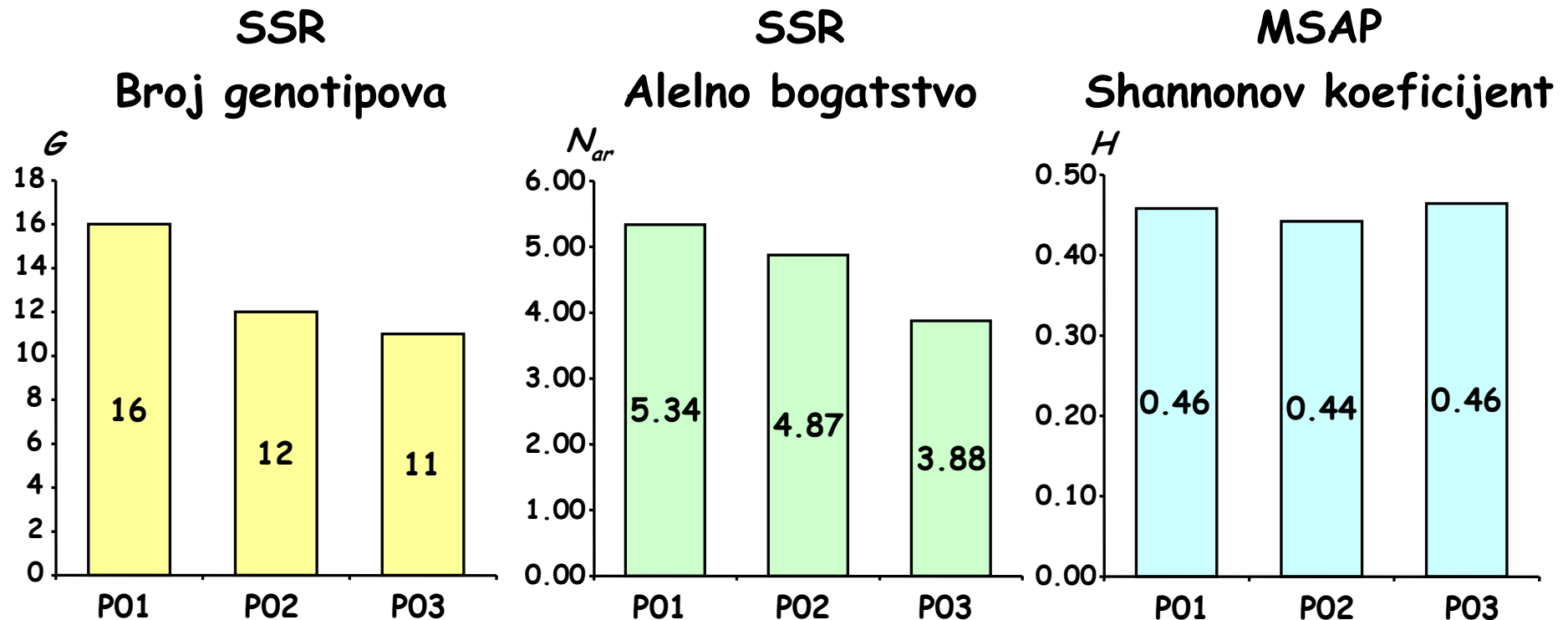


- razmnažanje: generativno i vegetativno (vriježe)
 - 3 populacije / 25 jedinki po populaciji
-

Genetička udaljenost

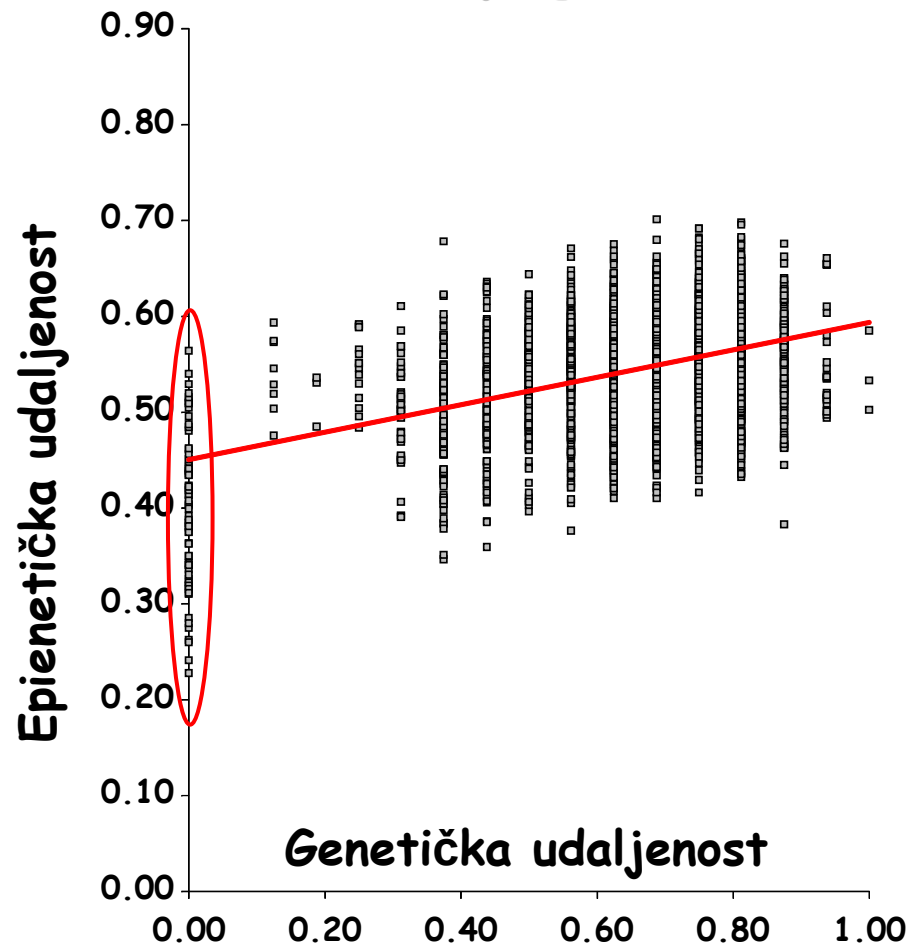


Genetička vs. epigenetička raznolikost



- znatne razlike u razini klonalne i genetičke raznolikosti
- manje razlike u razini epigenetičke raznolikosti

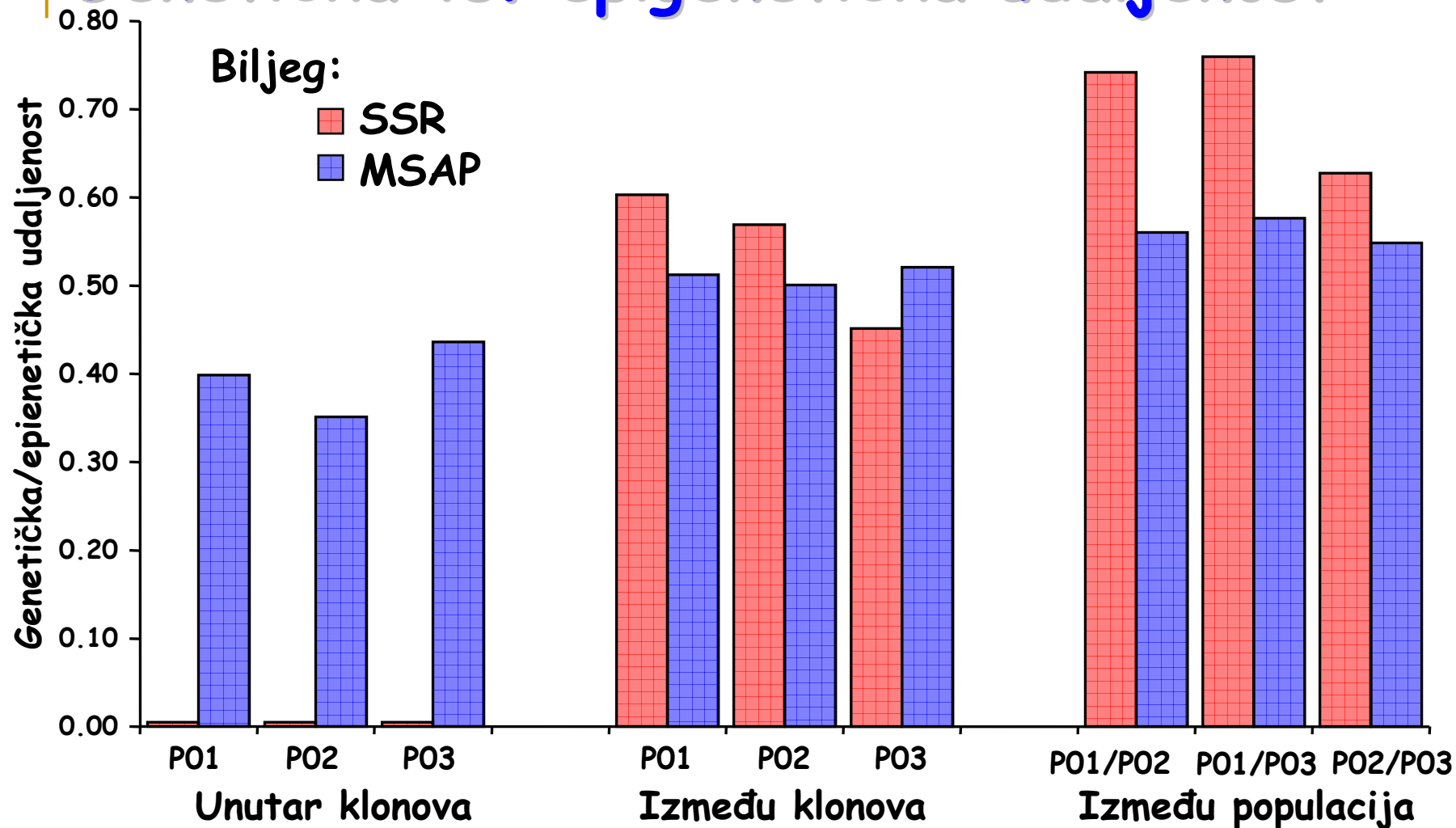
Genetička vs. epigenetička udaljenost



SSR D_{psa} / MSAP D_{Dice}
 $r = 0.42$
 $R^2 = 0.18$

- umjerena korelacija između genetičke i epigenetičke udaljenosti između jedinki

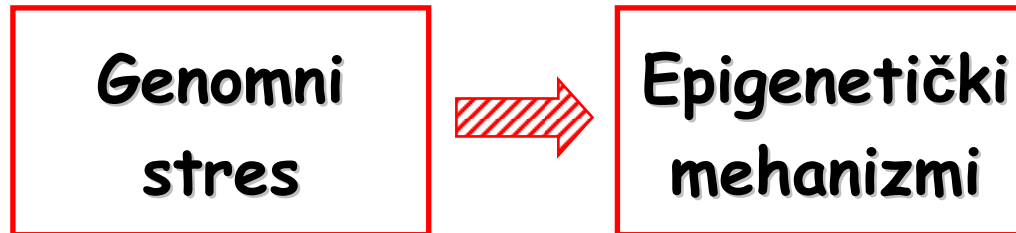
Genetička vs. epigenetička udaljenost



- znatna epigenetička udaljenost između
genetički identičnih jedinki

4. Pitanje

(4) Pokazuju li prirodni hibridi veću epigenetičku raznolikosti u odnosu na roditeljske vrste?



(3) Uškasta kadulja

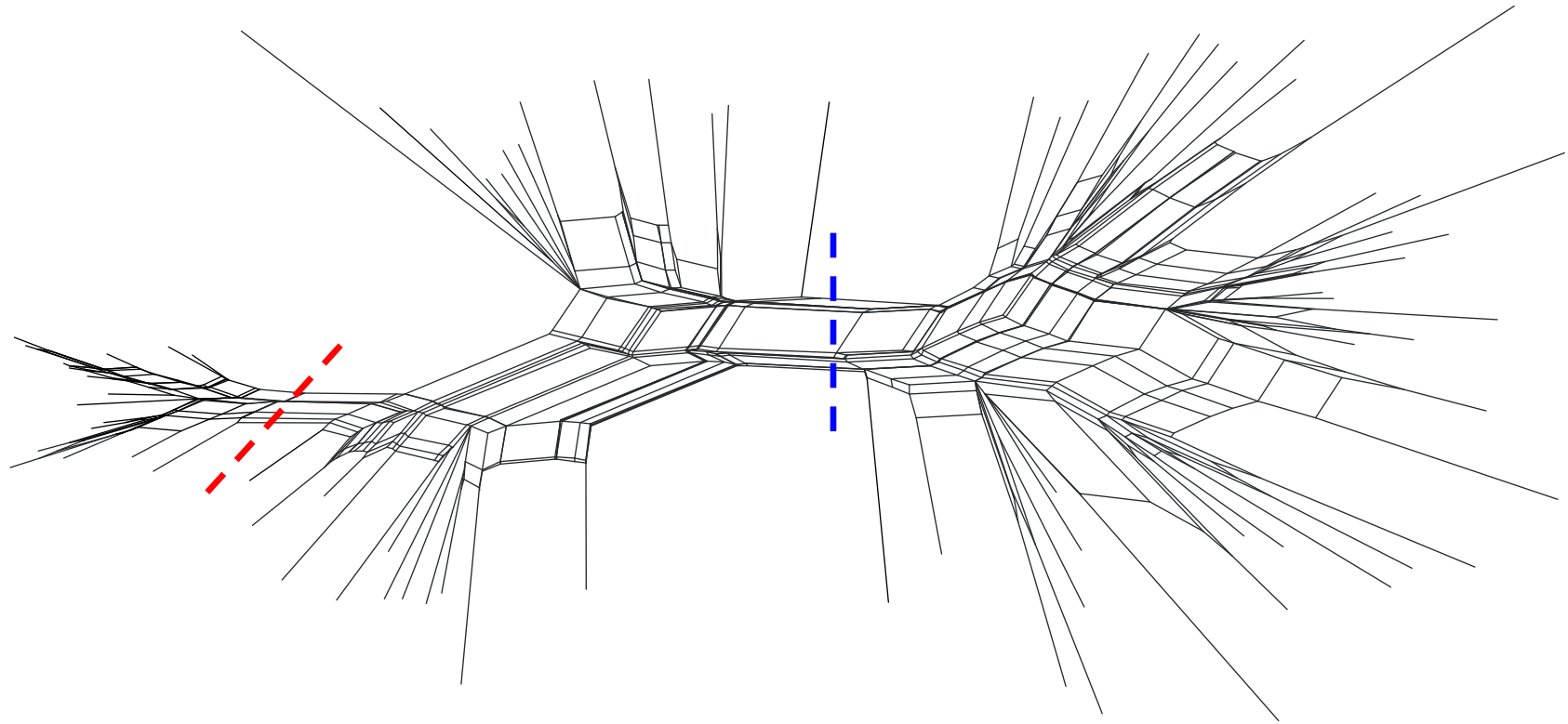


S. officinalis *S. x auriculata* *S. fruticosa*

- grčka kadulja: u Hrvatskoj samo na Visu
- hibridi između ljekovite i grčke kadulje
 - poznati, ali samo u uzgoju ('Newe Ya'ar No. 4')
- populacija u blizini Komiže
 - broj jedinki: 16 So + 25 Sxa + 38 Sf

Morfološka raznolikost

- na temelju 22 kvalitativna i 19 kvantitativnih svojstava



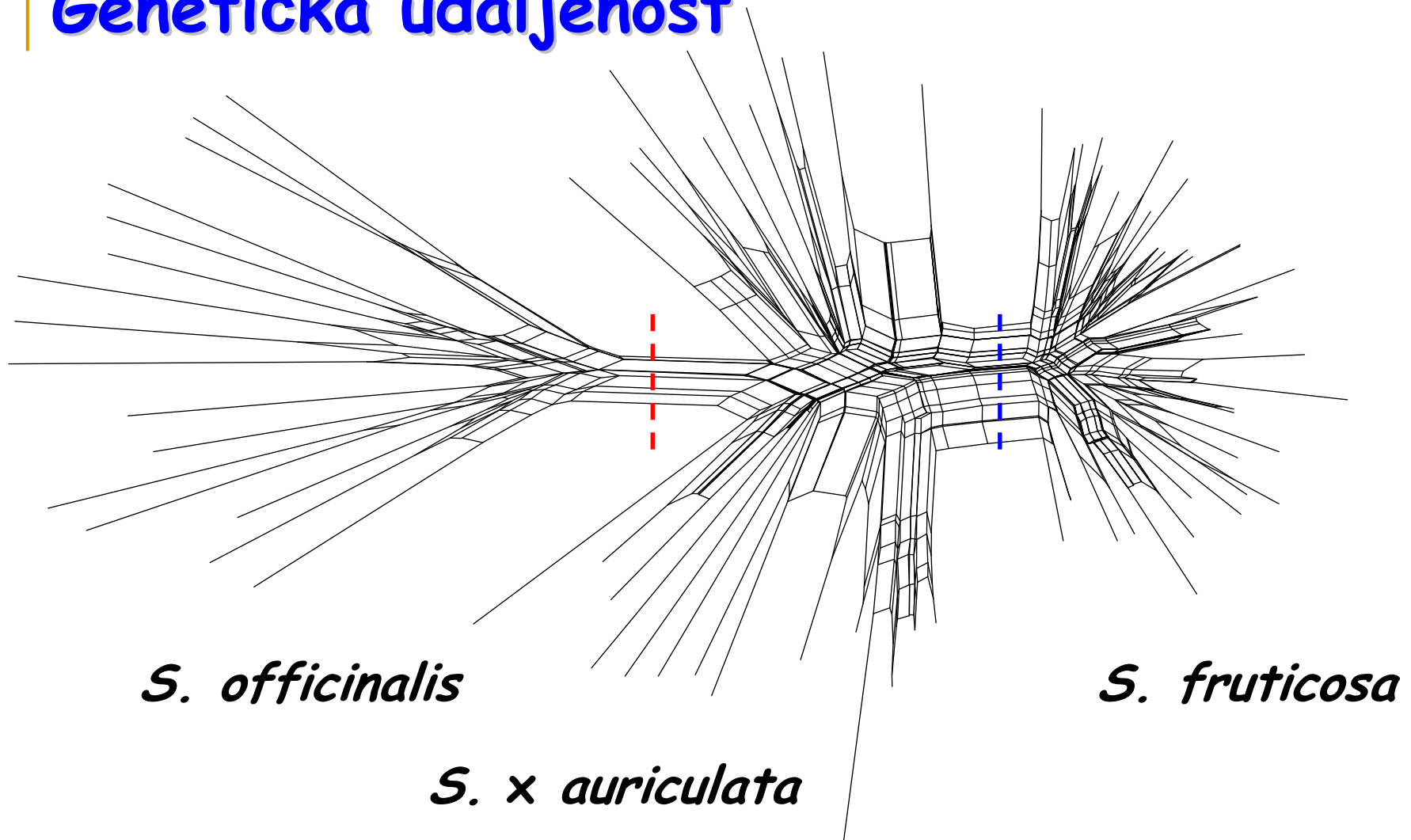
S. officinalis

S. x auriculata

S. fruticosa

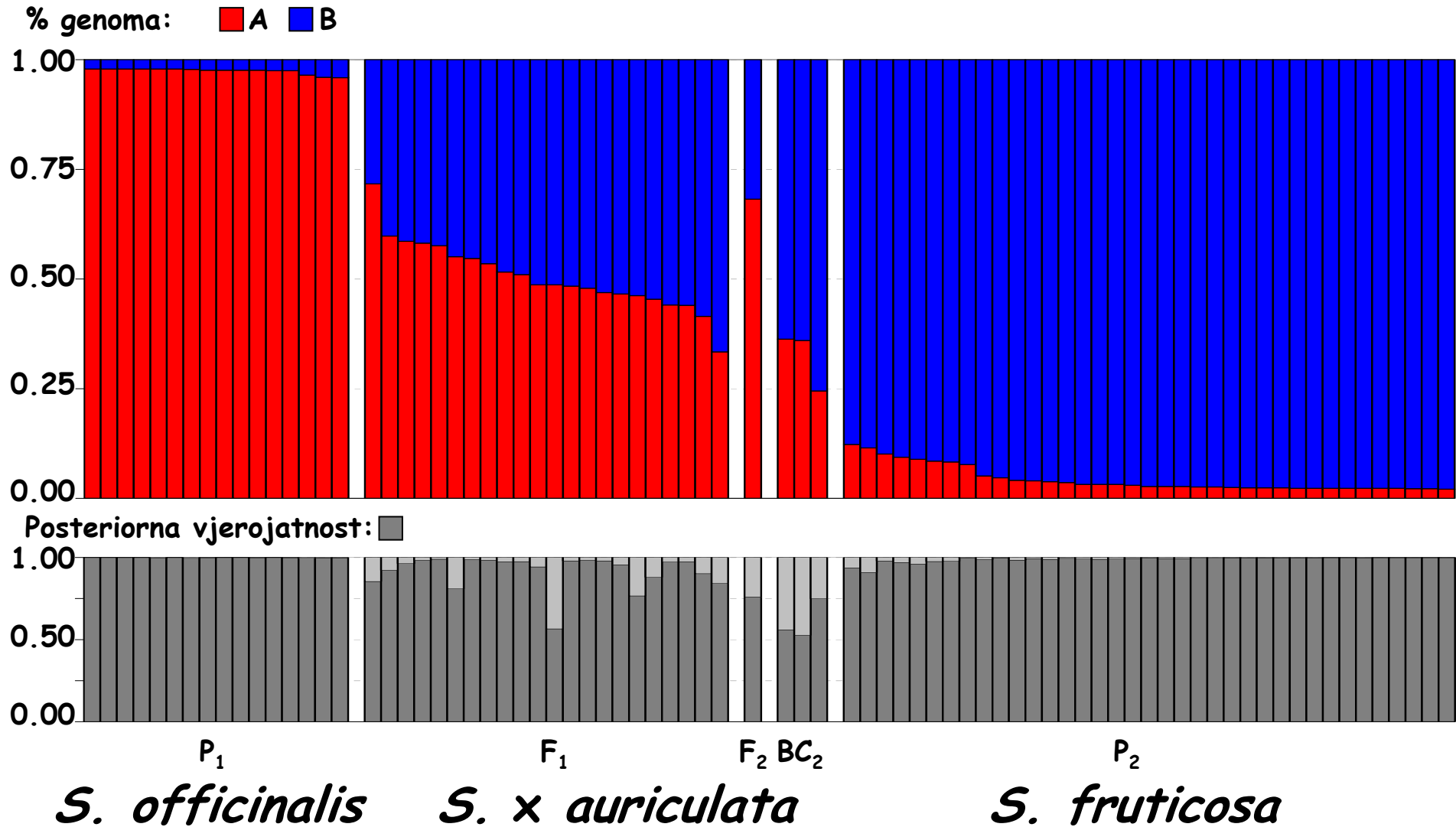
- visoka morfološka raznolikost grčke kadulje

Genetička udaljenost



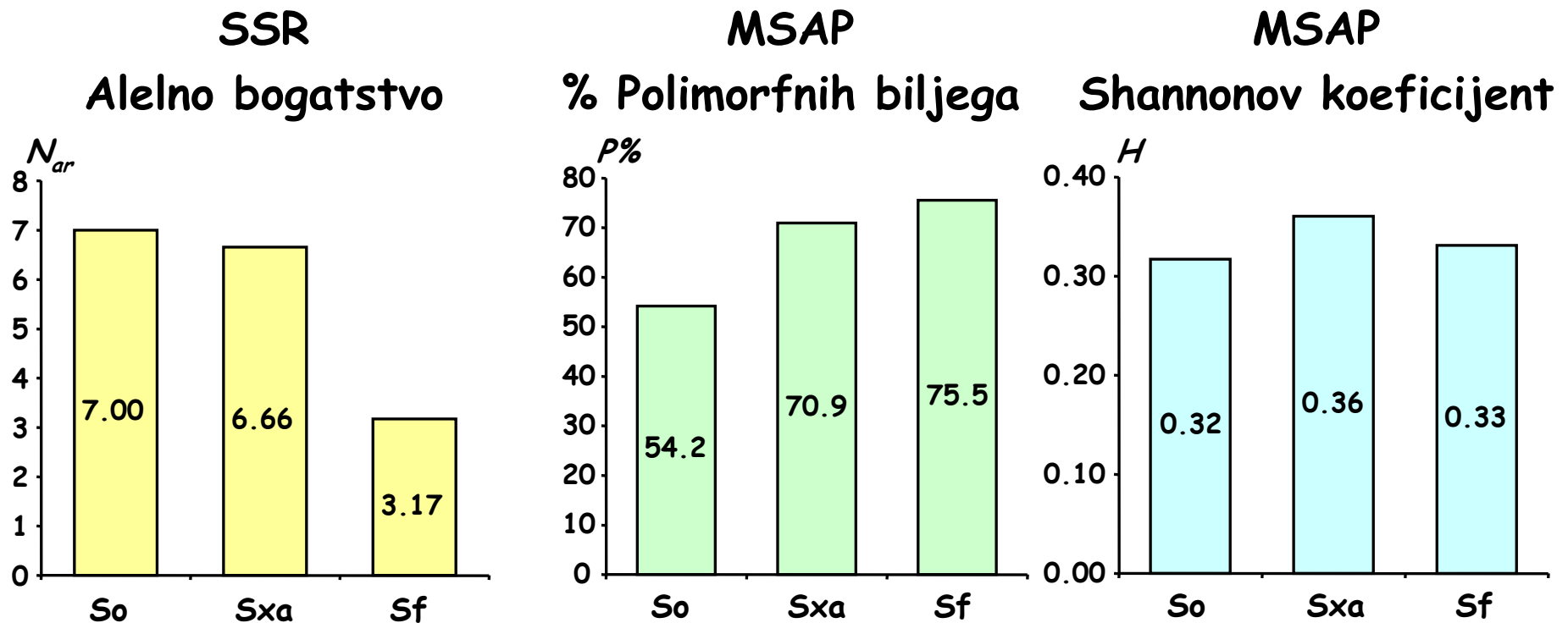
- niska genetička raznolikost grčke kadulje

Genetička struktura



- većina hibridinih jedinki su F_1 hibridi

Genetička vs. epigenetička raznolikost



- visoka razina polimorfni biljega MSAP kod Sf
- viša razina epigenetičke raznolikosti kod Sxa u usporedbi s So i Sf



Epigenetička vs. genetička raznolikost prirodnih biljnih populacija: 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

