



Adaptivna genetska raznolikost: Studija slučaja hrvatskih endemičnih kadulja

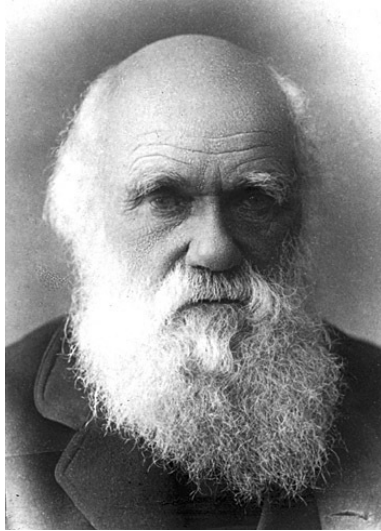
Zlatko Šatović
Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
e-mail: zsatovic@agr.hr

HBoD, Zagreb, 09. listopada 2014.

Adaptivna genetska raznolikost:
Studija slučaja hrvatskih endemičnih kadulja

- (A) Teorija**
 - (B) Utvrđivanje adaptivnih lokusa**
 - (C) Studija slučaja: Ljekovita kadulja**
-

(A) Teorija



Charles Darwin

Prirodan odabir

**Evolucijske promjene su
uzrokovane prirodnim odabirom**



Motto Kimura

Neutralna teorija

**Evolucijske promjene na
molekularnoj razni uzrokovane
neutralnim procesima**

Adaptivni vs. neutralni lokusi

- neutralni lokusi

pod utjecajem stohastičkih procesa

- mutacije, genetski otklon i prijenos gena

odraz stanja populacije i filogenetske povijesti

učinak na razini cjelokupnog genoma (**genome-wide effect**)

- adaptivni lokusi

pod utjecajem determinističkog procesa

- prirodnog odabira

odraz prilagodbe na specifične okolišne uvjete

učinak na razini pojedinačnih lokusa (**locus-specific effect**)

Učinak prirodnog odabira

- prirodan odabir dovodi do promjene u obrascima alelnih učestalosti između populacija, te tako:

(1) znatno povećava diferencijaciju između populacija

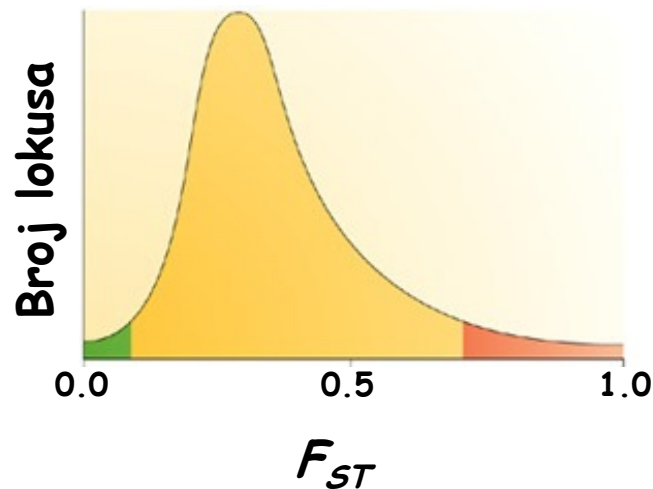
- u slučaju pozitivnog odabira (**positive selection**)
lokalno adaptivnih alela određenih lokusa
 - povećanje učestalosti alela s povoljnim djelovanjem na adaptaciju na specifične uvjete

(2) znatno smanjuje diferencijaciju između populacija

- u slučaju
purificirajućeg odabira (**purifying selection**)
 - smanjenje učestalosti alela s štetnim djelovanjem na fenotip
ravnotežnog odabira (**balancing selection**)
 - održavanje učestalosti alela zbog veće sposobnosti preživljavanja heterozigotnih jedinki u odnosu na homozigote

Parametar F_{ST}

- indeks genetske diferencijacije između populacija
- izračun parametra F_{ST} za svaki pojedinačni lokusa



- neutralni lokusi ■
- adaptivni lokusi ■
- pozitivan odabir
- purificirajući ili ravnotežan odabir

- utvrđivanje lokusa koji pokazuju atipične vrijednosti parametra F_{ST} (outlier loci)

Ciljevi istraživanja

Koji je udio prirodnog odabira u oblikovanju sveukupne genetske raznolikosti prirodnih populacija?

U kojim slučajevima i u kojoj mjeri dolazi do genetske adaptacije prirodnih populacija?

Koji su najvažniji okolišni čimbenici koji utječu na genetsku adaptaciju prirodnih populacija?

Populacijska genomika

- analiza velikog broja lokusa ili genomskih regija u svrhu utvrđivanja evolucijskih procesa koji utječu na genetsku raznolikost populacija

Krajobrazna genetika (Landscape genetics)

- analiza odnosa između genetske raznolikosti populacija i okolišnih čimbenika

(B) Utvrđivanje adaptivnih lokusa

(1) Uzorkovanje

- veći broj jedinki / više populacija

(2) Analiza molekularnim biljezima

- uočavanje polimorfizama i na neutralnim i na adaptivnim lokusima
- analiza jedinki pomoću više stotina biljega
- dominantni: AFLPs, DArTs
- kodominantni: SSRs, SNPs
- sekvence: sekvenciranje nove generacije (NGS)

(3) Utvrđivanje adaptivnih lokusa

(4) Usporedba neutralnih i adaptivnih lokusa

- utjecaj adaptivnih lokusa na vrijednosti genetskih parametara populacija (outlier bias)
 - utvrđivanje uzroka (okolišnih čimbenika) koji su doveli do adaptacije
-

Metode utvrđivanja adaptivnih lokusa

(1) Frekventistička metoda (Frequentist method)

- izračun parametra F_{ST} za svaki lokus između analiziranih populacija
- očekivana vrijednost parametra F_{ST} - prosječan F_{ST} lokusa ponderiran na očekivanu heterozigotnost (H_E)
- simulacija koalescencije* (coalescent simulation) na temelju konačnog otočnog modela** (finite island model) u svrhu izračuna nulte raspodjele vrijednosti F_{ST}
- utvrđivanje signifikantnosti vrijednost F_{ST}

(2) Bayesovska metoda (Bayesian method)

- izračunava omjer između posteriornih vjerojatnosti modela pretpostavljajući adaptivnost i neutralnost pojedinog lokusa

$$PO = \frac{\Pr(M_1|D)}{\Pr(M_2|D)}$$

PO - posteriorni omjer vjerojatnosti modela
(posterior odds; PO)

Pr - posteriorna vjerojatnost

M_1 - model koji uključuje odabir

M_2 - neutralni model

D - podaci

*praćenje rodoslovlja svakog pojedinačnog alela do skorašnjeg zajedničkog pretka

**model pri kojem je izvorna populacija podijeljena na n populacija između kojih postoji jednaka vjerojatnost migracija (uniformna migracijska stopa)

Računalni programi

(1) Frekventistička metoda

- za kodominante biljege
 - program FDIST (Beaumont i Nichols, 1996)
 - program DetSel (Vitalis et al., 2008)
 - program LOSITAN (Antao et al., 2008)
- za dominantne biljege
 - program DFDIST (Perez-Figueroa et al. (2010)
 - program MCHEZA (Antao i Beaumont, 2011)

(2) Bayesovska metoda

- za kodominante i dominantne biljege
 - program BayeScan (Foll i Gaggiotti, 2008)
-

Odnos između genetske raznolikosti i okoliša

- krajobrazna genetika

analiza odnosa između raspodjele alelnih učestalosti i okolišnih čimbenika mjesta prikupljanja

(1) Okolišni podaci

- ključni za provedbu istraživanja krajobrazne genetike
- okolišne varijable za koje se smatra da su relevantne za adaptaciju populacija
- podaci GIS
- baze podataka: The Global Map Project; WorldClim

(2) Regresijska analiza

- višestruke univarijatne logističke regresije u svrhu testiranja povezanosti između alelnih učestalosti na lokusima biljega AFLP i okolišnih varijabli mjesta prikupljanja
 - program MatSAM (Joost et al., 2007)
 - program Samβada (Stucki et al., 2014)
-

(C) Studija slučaja: Ljekovita kadulja



Uzorkovanje

25 populacija

~ 25 biljaka po populaciji

Analiza molekularnim biljezima

4 kombinacije AFLP

559 polimorfnih biljega

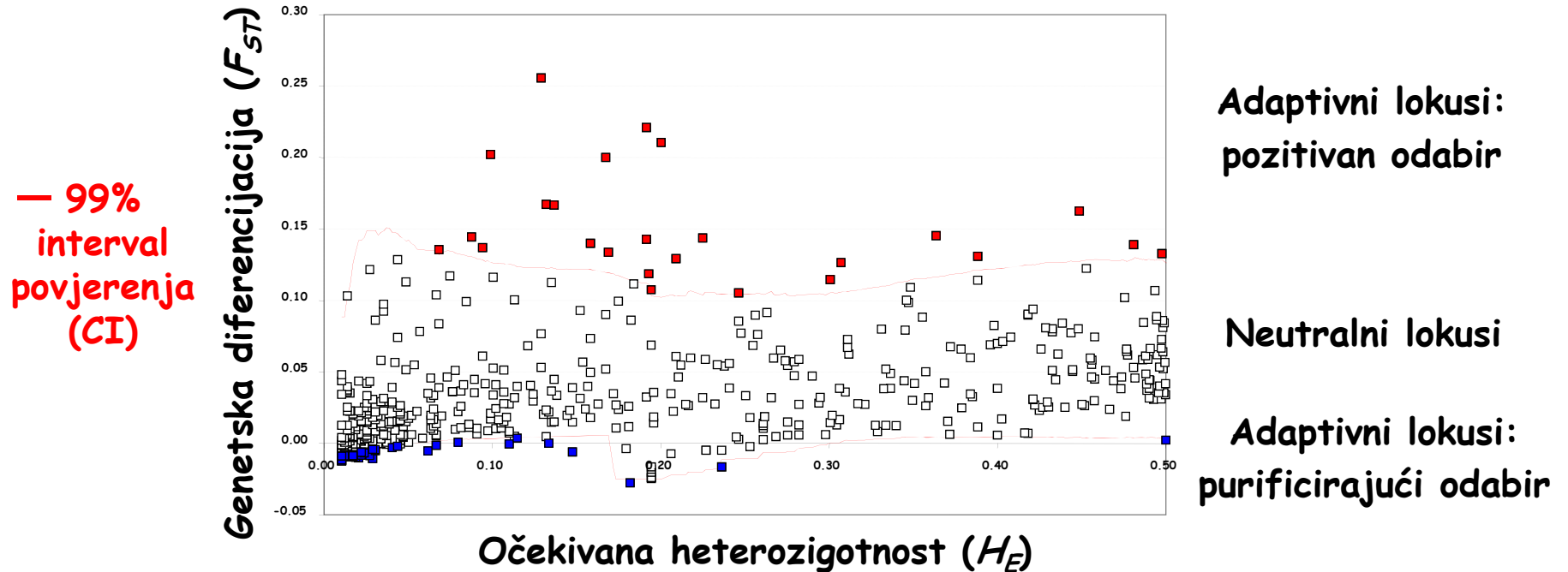
Izračun genetskih parametara populacija

Parametar	Metoda			
	Zhivotovsky		Holsinger	
Ukupna genetska raznolikost	H_T	0.186	H_t	0.177
Raznolikost unutar populacija	H_W	0.178	H_s	0.169
Genetska diferencijacija	F_{ST}	0.042	$\theta^{(II)}$	0.043
Koeficijent samooplodnje	F_{IS}	0.000*	f	0.024

*zadan *a priori*

- visoka unutarpopulacijska raznolikost
- niska genetska diferencijacija (0.006-0.081)
- nizak koeficijent samooplodnje

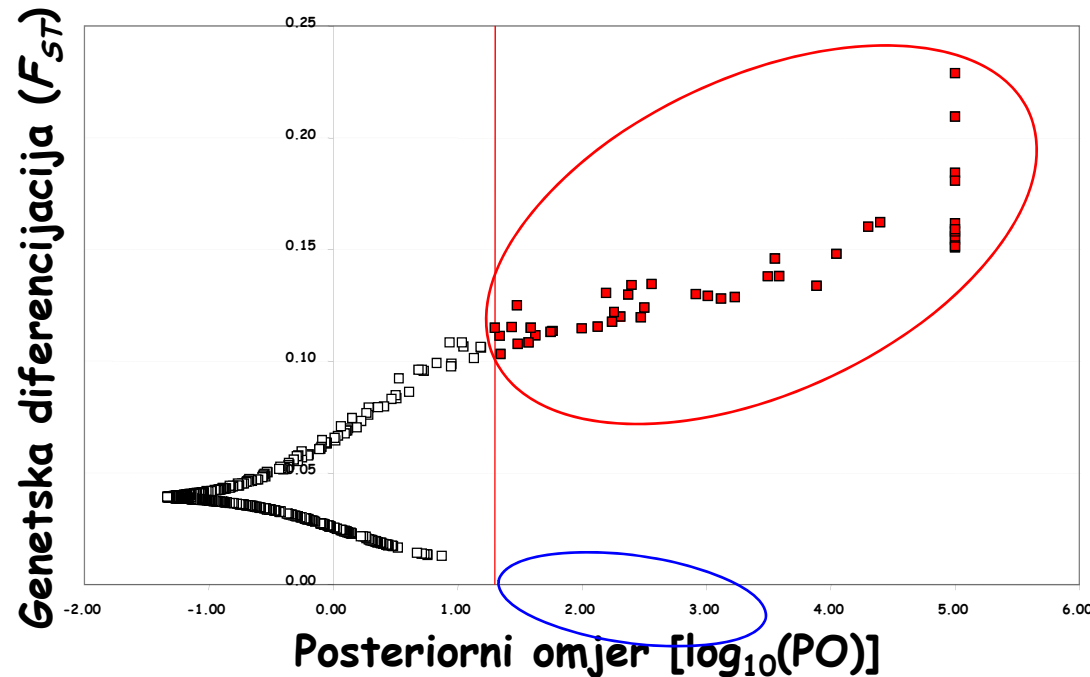
MCHEZA: adaptivni lokusi



	Broj lokusa	%
■ Adaptivni lokusi: pozitivan odabir	25	4.47
□ Neutralni lokusi	496	88.73
■ Adaptivni lokusi: purificirajući odabir	38	6.80

BayeScan: adaptivni lokusi

prior PO 10.00
FDR 0.01
PO 19.89
 $\log_{10}(\text{PO})$ 1.29



Adaptivni lokusi:
pozitivan odabir

Adaptivni lokusi:
purificirajući odabir

	Broj lokusa	%
■ Adaptivni lokusi: pozitivan odabir	44	7.87
□ Neutralni lokusi	515	92.13
■ Adaptivni lokusi: purificirajući odabir	0	0.00

Odnos između genetske raznolikosti i okoliša

(1) Okolišni podaci

- 19 bioklimatskih svojstava (BIO1-BIO19)
baza podataka WorldClim Ver. 1.4
(Hijmans et al., 2005a; www.worldclim.org)
- predstavljaju sadašnje stanje (11 temp. + 8 oborine)
- na temelju zemljopisnih koordinata mjesta prikupljanja

(2) Regresijska analiza

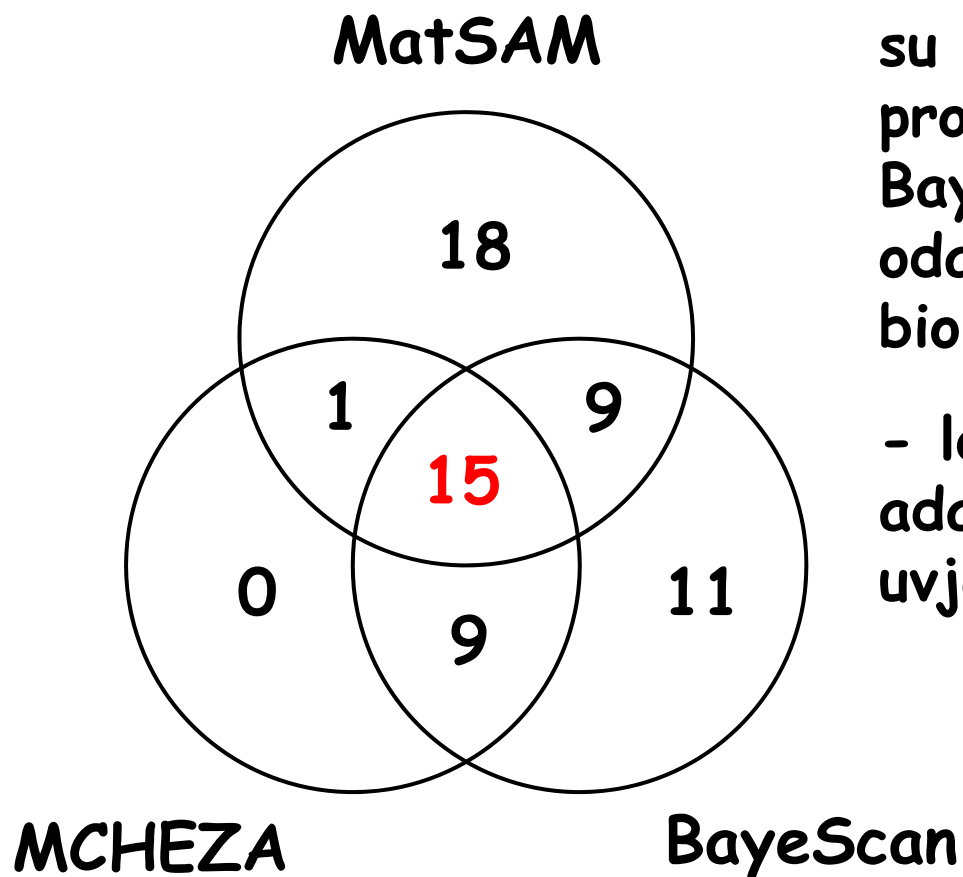
- program MatSAM (Joost et al., 2007)
 - 19 bioklimatskih svojstava / 559 biljega AFLP
-

MatSAM: korelirani lokusi

- svojstva su međusobno korelirana
- mnogi su lokusi signifikantno korelirani s više svojstava

No.	Bioklimatsko svojstvo	Broj biljega
BIO1	Prosječna godišnja temperatura	2
BIO2	Prosječni dnevni temperaturni opseg	10
BIO3	Izotermnost	13
BIO4	Sezonske promjene temperature	3
BIO5	Maksimalna temperatura najtoplijeg mjeseca	3
BIO6	Minimalna temperatura najhladnijeg mjeseca	2
BIO7	Godišnji temperaturni opseg	7
BIO8	Prosječna temperatura najvlažnijeg kvartala	8
BIO9	Prosječna temperatura najsušeg kvartala	3
BIO10	Prosječna temperatura najtoplijeg kvartala	2
BIO11	Prosječna temperatura najhladnijeg kvartala	3
BIO12	Godišnja količina oborina	9
BIO13	Količina oborina u najvlažnijem mjesecu	4
BIO14	Količina oborina u najsušem mjesecu	21
BIO15	Koeficijent varijacije oborina	16
BIO16	Količina oborina u najvlažnijem kvartalu	5
BIO17	Količina oborina u najsušem kvartalu	23
BIO18	Količina oborina u najtoplijem kvartalu	24
BIO19	Količina oborina u najhladnijem kvartalu	4
Ukupno		43

Vennov dijagram



- 15 od 24 lokusa AFLP koji su na temelju rezultata oba programa (MCHEZA i BayeScan) pod pozitivnim odabirom je korelirani s bioklimatskim svojstvima

- lokusi uključeni u lokalnu adaptaciju na okolišne uvjete

Što dalje?

- (1) Procjena genetskih parametara populacija isključivo na temelju neutralnih lokusa u svrhu analize utjecaja adaptivnih lokusa na navedene vrijednosti (**outlier bias**)
 - usporedba s vrijednostima dobivenima na temelju mikrosatelitnih biljega
 - (2) Procjena adaptivne genetske raznolikosti populacija
 - koje populacije imaju znatno veću adaptivnu genetsku raznolikosti? Jesu li zemljopisno blizu? Jesu li u sličnim okolišnim uvjetima?
 - postoji li korelacija između adaptivne i neutralne genetske raznolikosti?
 - (3) Epigenetika: biljezi MSAP
 - neutralni vs. adaptivni epigenetski lokusi
 - usporedba epigenetske raznolikosti i strukture populacija s adaptivnom genetskom raznolikošću
-



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

