

Ανάλυση γενετικής ποικιλότητας και γονιδιακής
ροής καστανεώνα και απομονωμένου φυσικού
πληθυσμού καστανιάς στη νήσο Λέσβο με
ουδέτερους και μη μοριακούς δείκτες

Νικόλαος Τουρβάς

Οκτώβριος 2018

Εισαγωγή

Η ευρωπαϊκή καστανιά (*Castanea sativa* Mill.) ένα από τα πιο διαδεδομένα και οικονομικά σημαντικά είδη της λεκάνης της Μεσογείου (cite euforgen). Εκμεταλλεύεται τόσο για τους καρπούς της όσο και για την ξυλεία της και για αυτό το λόγο καλλιεργείται σε περιοχές πλέον της μεσογειακής ζώνης (citation?).

Η μεγάλη εξάρτηση κοινωνιών έχει οδηγήσει... Εξαιτίας της εκτεταμένης ανθρωπογενούς μεταφοράς γενετικού υλικού..., γενετικό υλικό του είδους έχει τύχει εκτεταμένης μεταφοράς (δες στα παπερ για ancient και κάνε cite) εδώ και αιώνες. Επιπλέον η χρήση επιλεγμένων γενοτύπων σε καστανεώνες αλλά και πρεμνοφυής διαχείριση των φυσικών πληθυσμών έχουν επιφέρει σημαντικές απώλειες γενετικών πόρων του είδους (αραβανοπ? - παπαδ). Η πίεση αυτή έχει ισχυροποιηθεί - ενταθεί λόγω προσβολών κυρίως από τους μύκητες *Cryphonectria parasitica* και *Phytophthora cambivora*.

ΔΕΣ Παπαδήμα Καστοριά

Θεωρητικό πλαίσιο

1. Σημασία γενετικής ποικ Long term see introduction (Pollegioni et al., 2011) γανο σελ 20-22 Selection may erode genetic diversity, which is a crucial factor for the success of breeding programs. Γεωργία vs δασοπονία φυσικοί πληθυσμοί και Γανό σελ 19 (Γανόπουλος, 2013) τι γίνεται με τους καστανεώνες, δες Πετρόπουλος. (Πετρόπουλος, 2016) τι γίνεται με τα coppice → (Aravanopoulos, 2018)

Refugia - Gene flow - Long term (Petit et al., 2003, 2005) Founder effect από ανθρω

(κίνδυνος για γονιδιακή ροή - μόλυνση στον φυσικό πληθυσμό)

Δυο λόγια για τη διεθνή βιβλιογραφία. Υπάρχει ή δεν υπάρχει ποικιλότητα; "Γενικά" έχει βρεθεί ότι ... [...] Συγκεκριμένα στην Ελλάδα...

1. Η λεπτομερής γνώση της δομής και της σύνθεσης της γενετικής παραλλακτικότητας αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την προστασία και διαχείριση των γενετικών πόρων ενός είδους. Στη γεωργία, οι περισσότερες καλλιέργειες, έχουν απολέσει το μεγαλύτερο μέρος των γενετικών πόρων που διέθεταν πριν την βελτιστοποίηση της παραγωγικής διαδικασίας μέσω της επιλογής.

Ερευνητικά ερωτήματα

- μελέτη γενετικής ποικιλότητας των 2 πληθ
- γενετικός χαρακτηρισμός καστανεώνα και κατ' επέκταση της ποικιλίας και φυσικού πληθυσμού
- μελέτη γονιδιακής ροής μεταξύ των δύο πληθυσμών

Μεθοδολογία

Συλλογή φυτικού υλικού & Εκχύλιση DNA

Κατ' ελάχιστον 25 άτομα από κάθε πληθυσμό? Αναγέννηση - αν ναι ενδεχομένως περισσότερα άτομα ???

CTAB

Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης & Γενοτύπηση

3 SSR and 5 EST-SSR citation??? is it this citation? (Marinoni et al., 2003) θα χρησιμοποιήσουμε SSR γιατί είναι κατάλληλοι για τη μελέτη πρόσφατων μικροεξελικτικών διαδικασιών (Wang, 2010) Πώς θα γίνουν οι ομάδες multiplex → diveRsity ABI3730xl σκοράρισμα → GeneMapper

Βασικές παράμετροι γενετικής ποικιλότητας

ΜΑΛΛΟΝ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΦΤΙΑΞΩ ΠΙΝΑΚΑ ΜΕ ΛΟΓΙΣΜΙΚΑ ΚΑΙ ΤΙ ΘΑ ΚΑΝΟΥΝ R (R Core Team, 2018) adegenet (Jombart, 2008) poppr (Kamvar et al., 2014) hierfstat (Goudet, 2005) genepop (Rousset, 2008) pegas ape fangorn

αριθμός διαφορετικών γενοτύπων (multilocus genotypes) Allelic richness - indicator να σημειωθεί ML_Null-Freq LGP Fst outliers → BAYESCAN outflank

NeEstimator → M ratio → υποδεικνύει μείωση μεγέθους πληθυσμού σε μεγάλα χρονικά διαστήματα (Aleksic and Geburek, 2014) BOTTLENECK → πρόσφατες γενετικές στενωπούς ($2 N_e$ - $4 N_e$ γενεές)

R Notebook - R markdown

διαφοροποίηση

Nei's D_s , Cav-Sf για φυλογενετικά F_{ST} , G''_{ST} , D_{est} PCA, CA AMOVA φυλογενετική ape Cavalli-Sforza - Μάλλον δε χρειάζεται για 2 πληθυσμούς. Αν όμως προστεθούν κ άλλοι STRUCTURE DAPC

Γονιδιακή ροή

δες οπωσδήποτε (Aleksic and Geburek, 2014; Leonarduzzi et al., 2016) Cervus (see SM1 Leonarduzzi) → ποσοστό παιδιών που οι γονείς τους είναι άτομα του πληθυσμού $N_m = 1/4F_{ST}$ παραδοσιακή μέθοδος STRUCTURE μοντέλο πρόδρομης γνώσης πληθυσμών → δες (Aleksic and Geburek, 2014; Pritchard et al., 2000) MIGRATE ???

Πίνακας 1: Group Rows

	mpg	cyl	disp	hp	drat	wt
Group 1						
Mazda RX4	21.0	6	160.0	110	3.90	2.620
Mazda RX4 Wag	21.0	6	160.0	110	3.90	2.875
Datsun 710	22.8	4	108.0	93	3.85	2.320
Hornet 4 Drive	21.4	6	258.0	110	3.08	3.215
Hornet Sportabout	18.7	8	360.0	175	3.15	3.440
Valiant	18.1	6	225.0	105	2.76	3.460
Duster 360	14.3	8	360.0	245	3.21	3.570
Group 2						
Merc 240D	24.4	4	146.7	62	3.69	3.190
Merc 230	22.8	4	140.8	95	3.92	3.150
Mean values						
Merc 280	19.2	6	167.6	123	3.92	3.440

^a This is a footnote. *** means highly significant

Γενετική τοπίου

IBD - mantel test - adegenet, ape Genetic boundaries γενετικά φράγματα φραγμοί- Monmonier's algorithm sPCA Geneland DIYABC ??? GeneClass2 ???

Αναμενόμενα αποτελέσματα

Τι θα μάθουμε από αυτή τη ### Γενετική τοπίου IBD - mantel test - adegenet, ape Genetic boundaries γενετικά φράγματα φραγμοί- Monmonier's algorithm sPCA Geneland DIYABC ??? GeneClass2 ??? μελέτη... χαρακτηρισμός ποικιλίας Λέσβου gene flow

Χρηματοδότηση / Χρονοδιάγραμμα

(Villani et al., 1991)

Βιβλιογραφία

Aleksic, J.M., Geburek, T., 2014. Quaternary population dynamics of an endemic conifer, *Picea omorika*, and their conservation implications. *Conservation Genetics* 15, 87–107. <https://doi.org/10.1007/s10592-013-0523-6>

Aravanopoulos, F.A., 2018. Do Silviculture and Forest Management Affect the Genetic Diversity and Structure of Long-Impacted Forest Tree Populations? *Forests* 9, 14.

- Goudet, J., 2005. Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes* 5, 184–186. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00828.x>
- Jombart, T., 2008. ADEGENET: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24, 1403–1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>
- Kamvar, Z.N., Tabima, J.F., Grünwald, N.J., 2014. Poppr : An R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* 2, e281. <https://doi.org/10.7717/peerj.281>
- Leonarduzzi, C., Piotti, A., Spanu, I., Vendramin, G.G., 2016. Effective gene flow in a historically fragmented area at the southern edge of silver fir (*Abies alba* Mill.) Distribution. *Tree Genetics & Genomes* 12, 95. <https://doi.org/10.1007/s11295-016-1053-4>
- Marinoni, D., Akkarak, A., Bounous, G., Edwards, K.J., Botta, R., 2003. Development and characterization of microsatellite markers in *Castanea sativa* (Mill.). *Molecular Breeding* 11, 127–136. <https://doi.org/10.1023/A:1022456013692>
- Petit, R.J., Aguinalde, I., De Beaulieu, J.L., Bittkau, C., Brewer, S., Cheddadi, R., Ennos, R., Fineschi, S., Grivet, D., Lascoux, M., Mohanty, A., Müller-Starck, G., Demesure-Musch, B., Palmé, A., Martín, J.P., Rendell, S., Vendramin, G.G., 2003. Glacial refugia: Hotspots but not melting pots of genetic diversity. *Science* 300, 1563–1565. <https://doi.org/10.1126/science.1083264>
- Petit, R.J., Duminil, J., Fineschi, S., Hampe, A., Salvini, D., Vendramin, G.G., 2005. Comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations. *Molecular Ecology* 14, 689–701. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02410.x>
- Pollegioni, P., Woeste, K., Olimpieri, I., Marandola, D., Cannata, F., Emilia Malvolti, M., 2011. Long-term human impacts on genetic structure of Italian walnut inferred by SSR markers. *Tree Genetics & Genomes* 7, 707–723. <https://doi.org/10.1007/s11295-011-0368-4>
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P., 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 155, 945–959.
- R Core Team, 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- Rousset, F., 2008. Genepop'007: A complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8, 103–106. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x>
- Villani, F., Pigliucci, M., Benedettelli, S., Cherubini, M., 1991. Genetic differentiation among Turkish chestnut (*Castanea Sativa* Mill.) Populations. *Heredity* 66, 131–136. <https://doi.org/10.1038/hdy.1991.16>
- Wang, I.J., 2010. Recognizing the temporal distinctions between landscape genetics and phylogeography. *Molecular Ecology* 19, 2605–2608. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04715.x>
- Γανόπουλος, Ι., 2013. Διερεύνηση γενετικής ποικιλότητας, ταυτοποίηση και εφαρμογή λειτουργικών δεικτών στην κερασιά (*Prunus Avium* L.) (Διδακτορική Διατριβή). Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

Πετρόπουλος, Σ., 2016. Γενετική ποικιλότητα συμπατρικών πληθυσμών καστανίας (*Castanea Sativa* Mill.) και των καρποφάγων εντόμων αυτής (Μεταπτυχιακή Διατριβή). Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.