



10. međunarodni kongres
Oplemenjivanje bilja, sjemenarstvo i rasadničarstvo

**GENETSKA STRUKTURA POPULACIJA
LJEKOVITE KADULJE
S BALKANSKOG I APENINSKOG POLUOTOKA**

Zlatko Šatović

Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
Znanstveni centar izvrsnosti

za bioraznolikost i molekularno oplemenjivanje bilja (CroP-BioDiv)
e-mail: zsatovic@agr.hr

Sv. Martin na Muri, 10. studenog 2017.

PLAN

- (1) Ljekovita kadulja (*Salvia officinalis* L.)
- (2) Genetska raznolikost populacija
- (3) Genetske struktura
- (4) Raznolikost genetskih skupina
- (5) Buduća istraživanja

PLAN

- (1) Ljekovita kadulja (*Salvia officinalis* L.)
- (2) Genetska raznolikost populacija
- (3) Genetske struktura
- (4) Raznolikost genetskih skupina
- (5) Buduća istraživanja

LJEKOVITA KADULJA

- vrsta:

Ljekovita kadulja (*Salvia officinalis L.*)

- višegodišnja, stranooplodna biljna vrsta
- eterično ulje: cis- i trans-tujon, kamfor
- raznolikost kemotipova

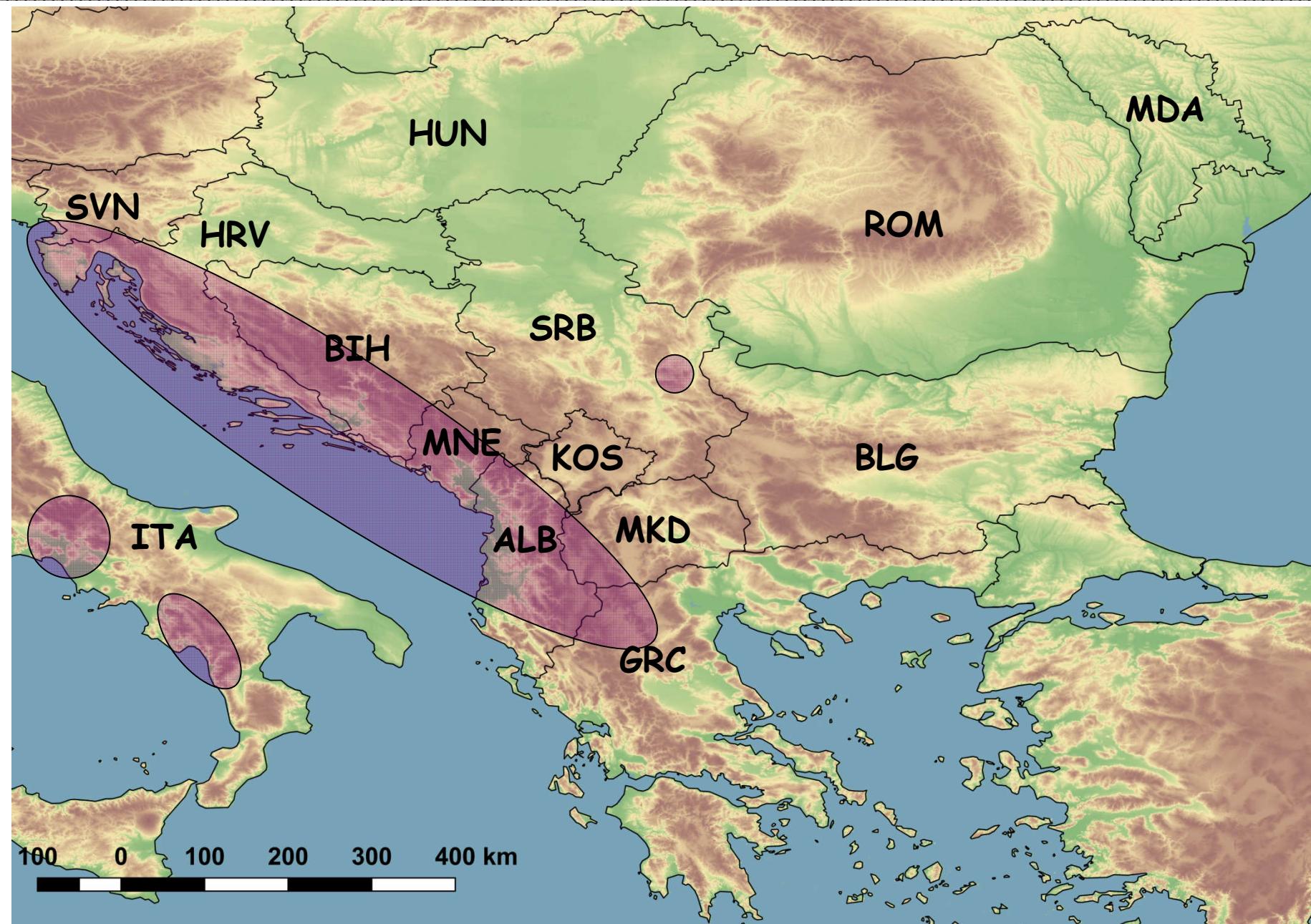
- rasprostranjenost

obalno područje zapadnog Balkana
središnji i južni Apenini

- uzgoj: Sredozemlje, Balkan, Njemačka, SAD, Australija
- prikupljanje u prirodi: Albanija, BiH, Hrvatska
 - negativan utjecaj na bioraznolikost
- naturalizirane (feralne) populacije: Sredozemlje, Balkan
 - biljke koje su pobjegle iz uzgoja



RASPROSTRANJENOST LJEKOVITE KADULJE



UZORCI / ANALIZA

- **uzorci:**

62 populacije / 1350 biljaka

Italija (13), Slovenija (2), Hrvatska (23),
Bosna i Hercegovina (2), Crna Gora (7), Srbija (2),
Albanija (5), Makedonija (1), Grčka (7)

- **analiza:**

8 mikrosatelitnih biljega

- dinukleotidni motiv

SoUZ001, SoUZ002, SoUZ003, SoUZ007, SoUZ011

- trinukleotidni motiv

SoUZ013, SoUZ014, SoUZ019

INFORMATIVNOST BILJEGA

Biljeg	Ponavljajući motiv	Raspon (pb)	N_a	PIC
SoUZ001	(AG) ₁₅	141-221	41	0.954
SoUZ002	(TG) ₁₁	133-217	23	0.818
SoUZ003	(GT) ₁₃	160-212	22	0.766
SoUZ007	(GT) ₁₁	138-210	13	0.654
SoUZ011	(GA) ₂₅	150-214	30	0.945
SoUZ013	(AAC) ₈	173-218	15	0.836
SoUZ014	(AGA) ₁₀	175-241	22	0.891
SoUZ019	(AGA) ₁₆	132-204	25	0.827
<hr/>			23.88	0.836
<hr/>			191	

- N_a - broj alela

- PIC - informacijski sadržaj polimorfizma

PLAN

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

(2) Genetska raznolikost populacija

(3) Genetske struktura

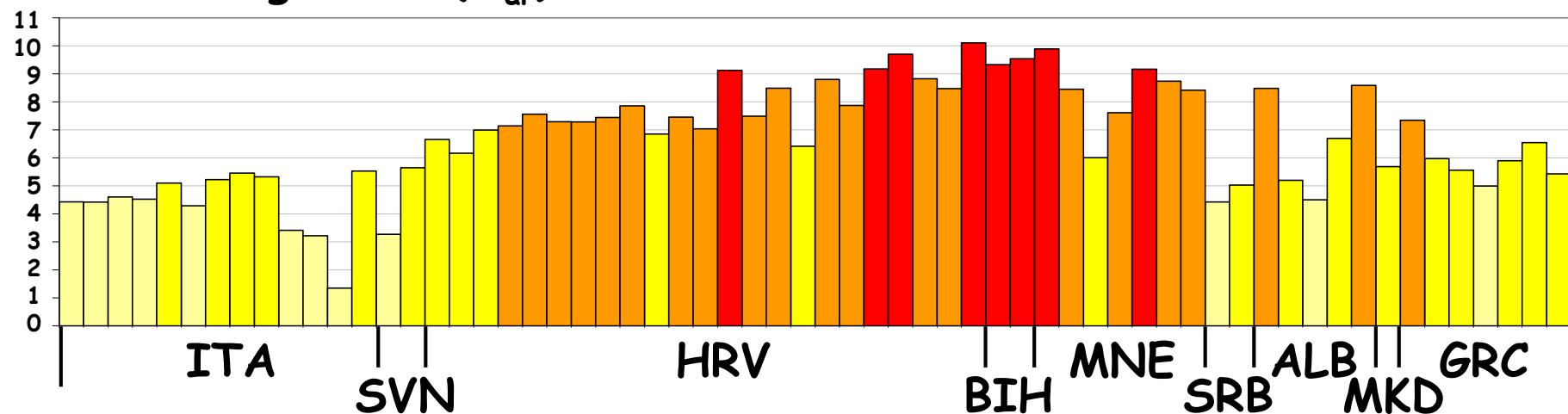
(4) Raznolikost genetskih skupina

(5) Buduća istraživanja

GENETSKA RAZNOLIKOST POPULACIJA

Parametar	Prosjek	Raspon
Broj alela (N_a)	7.242	1.38-11.48
Alelno bogatstvo (N_{ar})	6.669	1.35-10.11
Zapažena heterozigotnost (H_o)	0.665	0.081-0.832
Očekivana heterozigotnost (H_E)	0.683	0.087-0.846

Alelno bogatstvo (N_{ar})



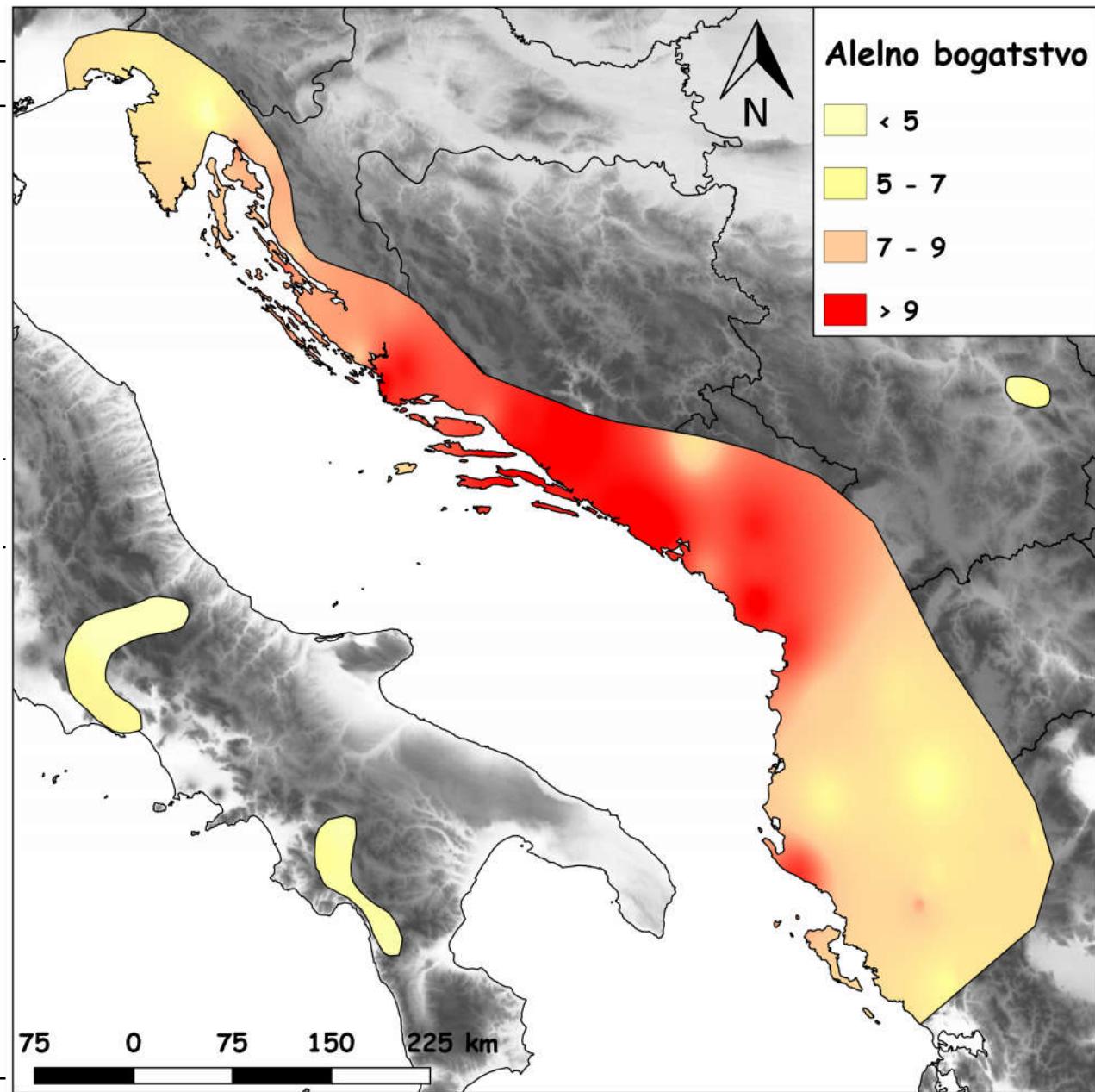
AELNO BOGATSTVO

■ $N_{ar} > 9$

Br.	Populacija	Država
P38	Konavle	HRV
P41	Vrbanj	MNE
P35	Pelješac	HRV
P40	Mostar	BIH
P39	Međugorje	BIH
P34	Hvar	HRV
P45	Rumija	MNE
P28	Šparadići	HRV

■ $N_{ar} < 5$

P59	Arta	GRC
P03	Maratea	ITA
P04	Cilento	ITA
P52	Prespa	ALB
P01	Pollino 2	ITA
P48	Miljkovac	SRB
P02	Pollino 1	ITA
P06	Savoia	ITA
P10	d'Antino	ITA
P14	Novokračine	SVN
P11	M. Salviano	ITA
P12	Maiella	ITA



PLAN

- (1) Ljekovita kadulja (*Salvia officinalis* L.)
- (2) Genetska raznolikost populacija
- (3) Genetske struktura**
- (4) Raznolikost genetskih skupina
- (5) Buduća istraživanja

GENETSKA STRUKTURA

Metoda:

Bayesovska analiza genetske strukture
(*Bayesian model-based clustering method*)

Software:

STRUCTURE (Pritchard et al., 2000)

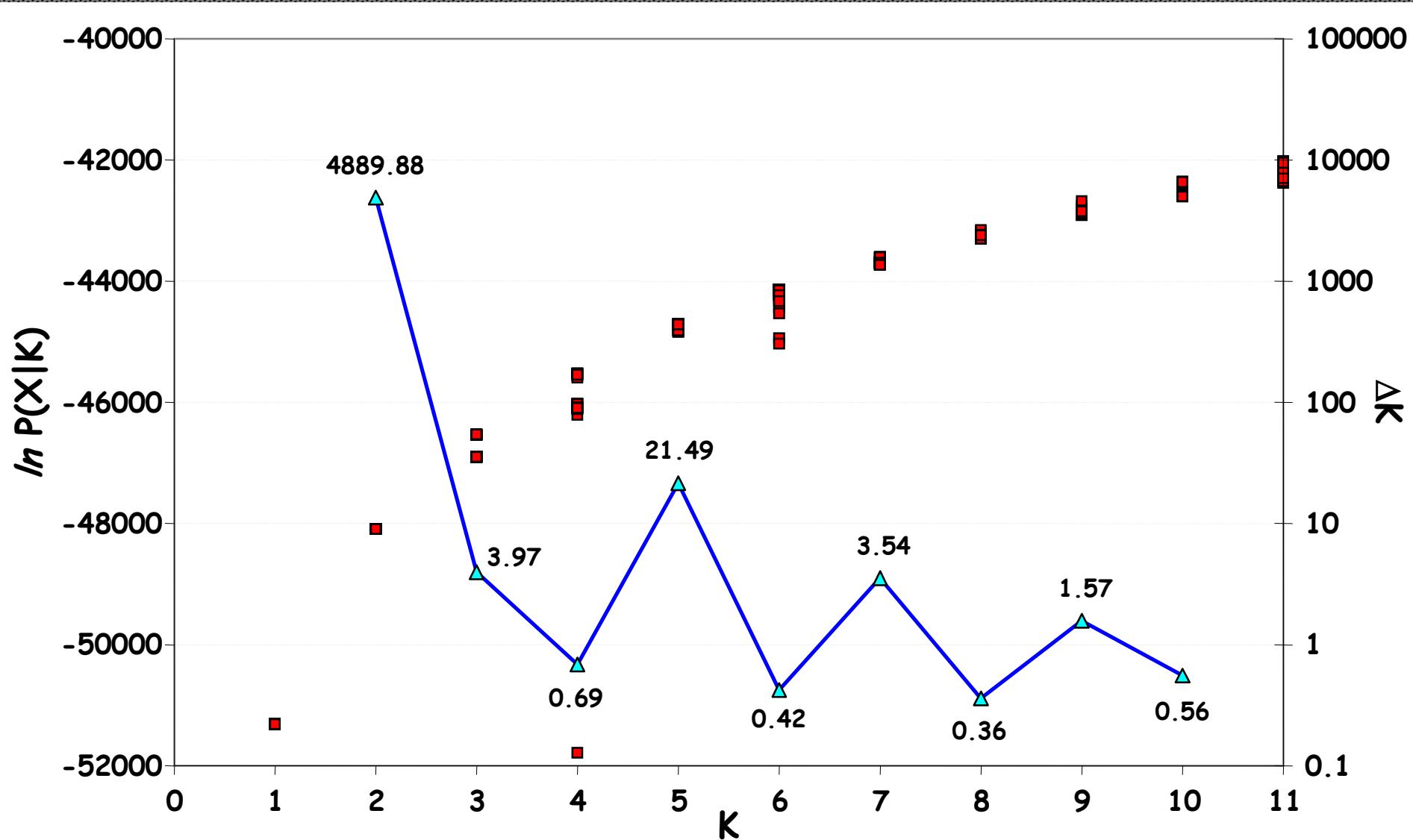
Prepostavka:

- u analiziranom uzorku postoje jedinke koje pripadaju različitim skupinama sa svojstvenim alelnim učestalostima

Cilj:

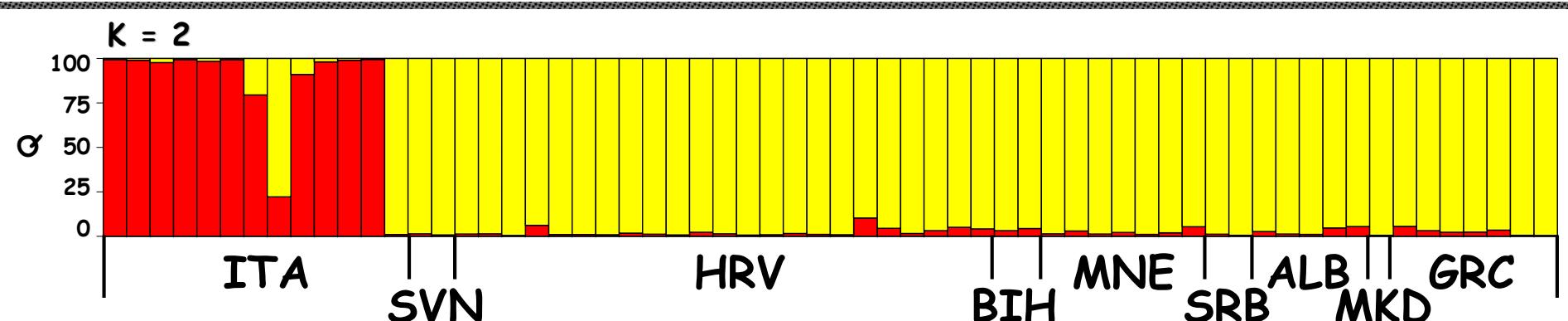
- svrstati jedinke u skupine na takav način da je unutar svake skupine maksimalizirana
 - (A) Hardy-Weinbergova ravnoteža (*HWE*)
 - (B) ravnoteža vezanosti gena (*linkage equilibrium*)

BROJ GENETSKIH SKUPINA: $\ln P(X|K)$ i ΔK



- $\ln P(X|K)$: vjerodostojnost (posteriorna vjerovatnost; 30 prohoda za svaki K)
- ▲ ΔK : stopa promjene vjerodostojnosti između uzastopnih vrijednosti K

K = 2

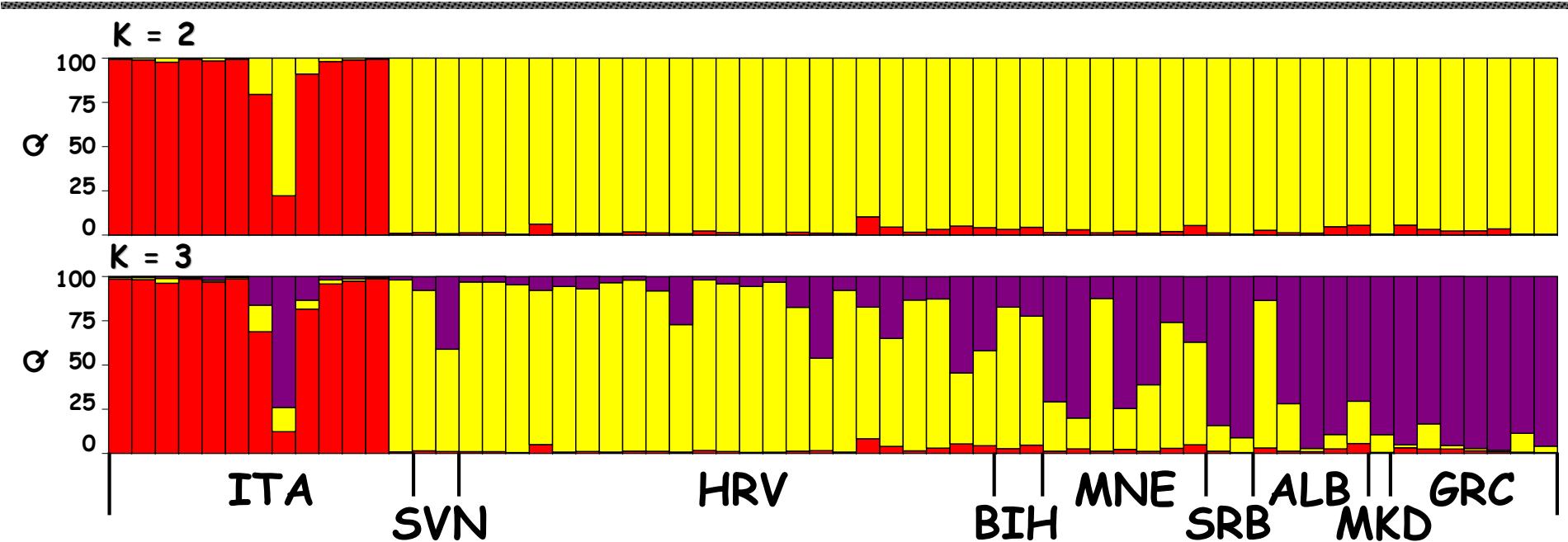


A
Apenini

B
Balkan

- izračun % genoma (Q) svake jedinke koji potječe iz određenog genetske skupine
- svaka je populacija predstavljena stupcem, a boja odgovara prosječnom % genoma jedinki u populaciji koji potječe iz određene genetske skupine

K = 3



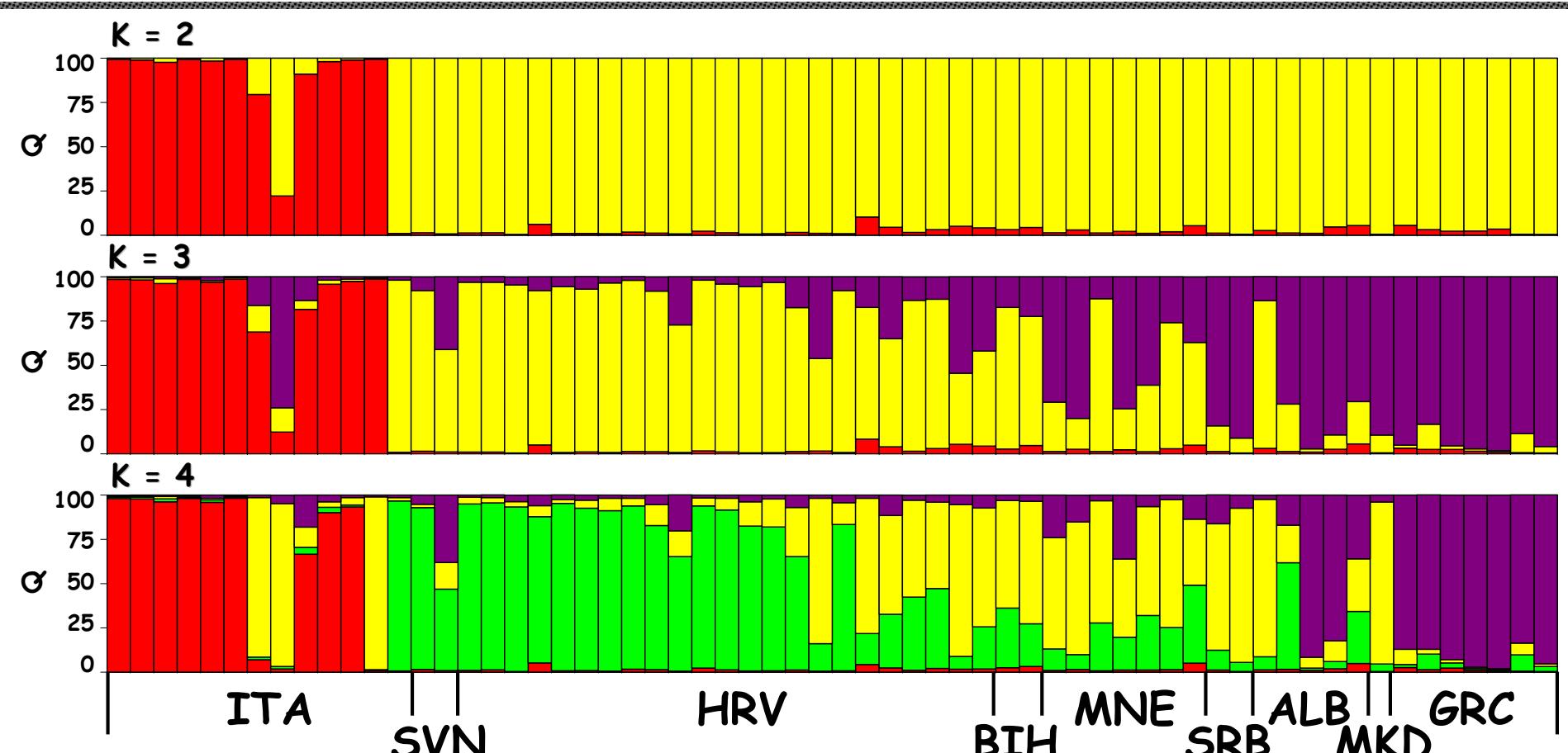
Apenini

sjeverozapadne
populacije

Balkan

jugoistočne
populacije

K = 4



Apenini

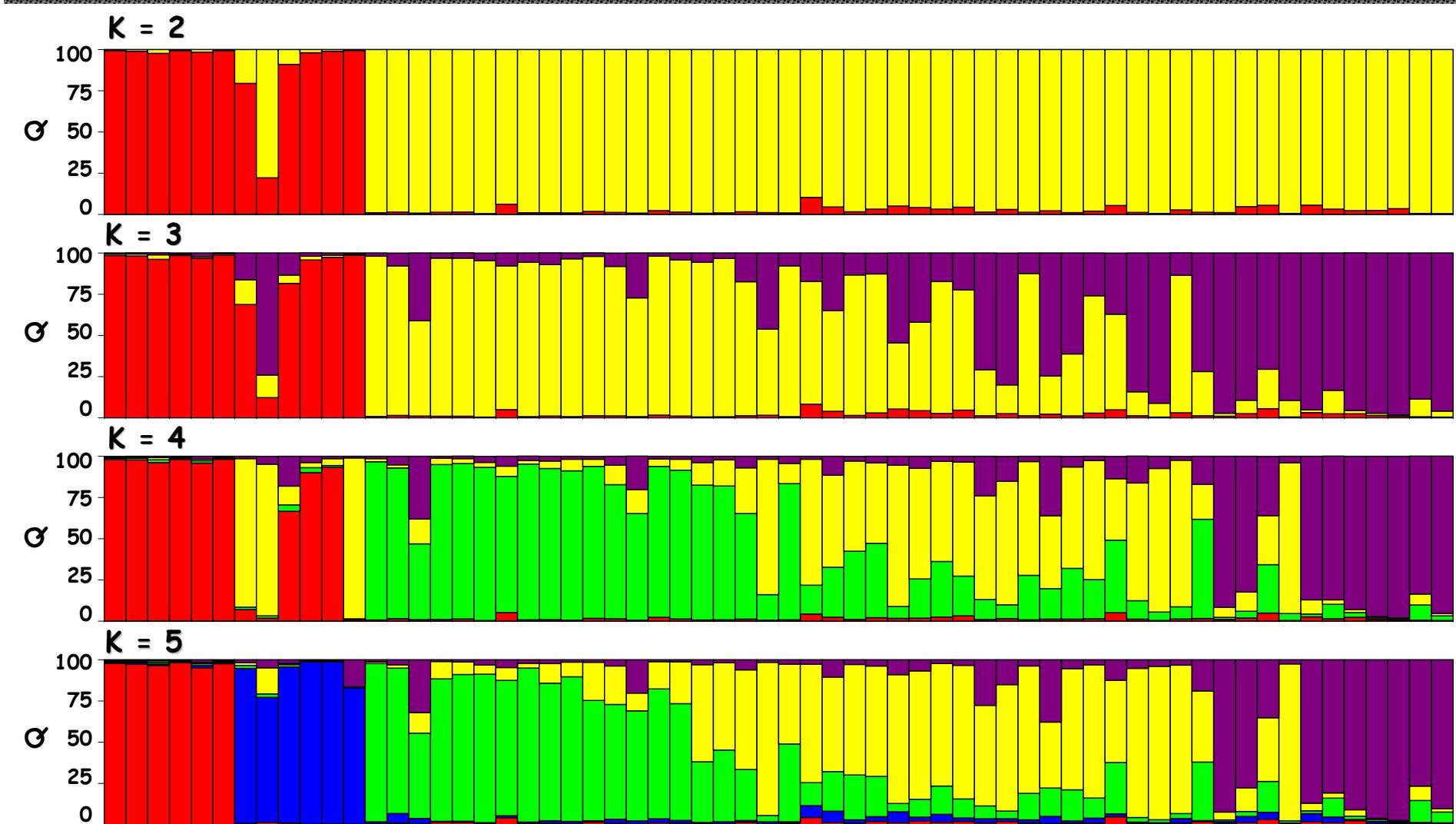
sjeverni
Jadran

Balkan

srednji
Jadran

Albanija
Grčka

$K = 5$



A
B

C

D

E

GENETSKE SKUPINE

Skupina

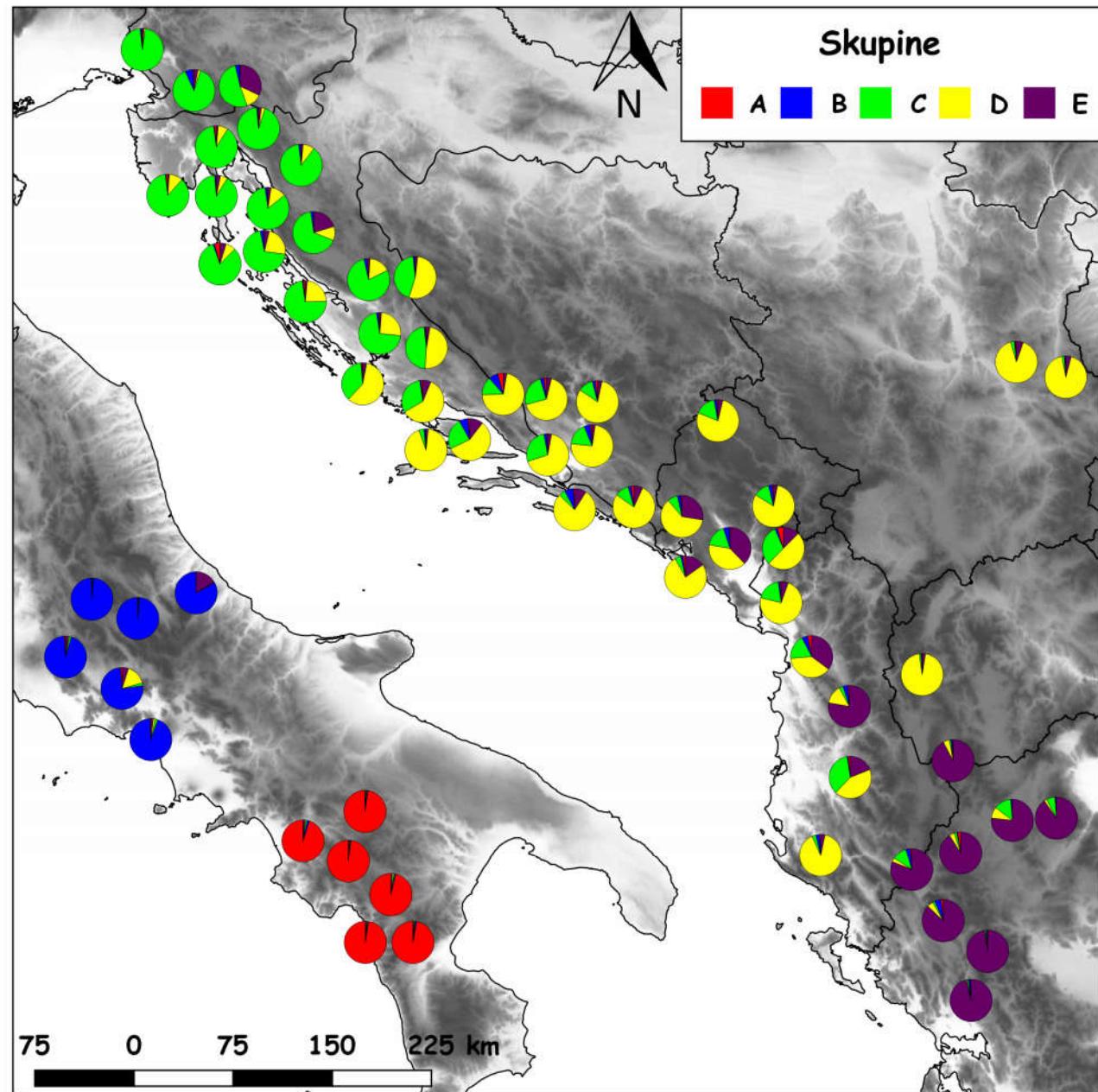
A južni Apenini

B središnji Apenini

C sjeverni Jadran

D srednji Jadran

E Albanija/Grčka



PLAN

- (1) Ljekovita kadulja (*Salvia officinalis* L.)
- (2) Genetska raznolikost populacija
- (3) Genetske struktura
- (4) Raznolikost genetskih skupina**
- (5) Buduća istraživanja**

RAZNOLIKOST GENETSKIH SKUPINA

Skupina	Broj populacija	N_{pr}
A južni Apenini	6	6
B središnji Apenini	6	0
C sjeverni Jadran	15	2
D srednji Jadran	26	26
E Albanija/Grčka	9	9

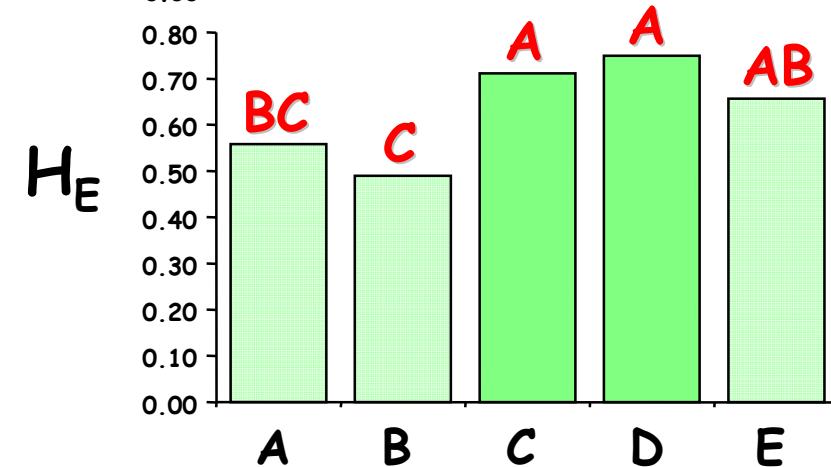
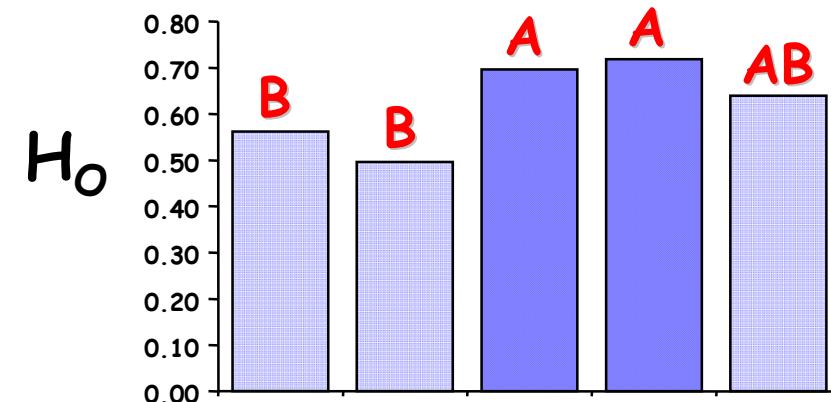
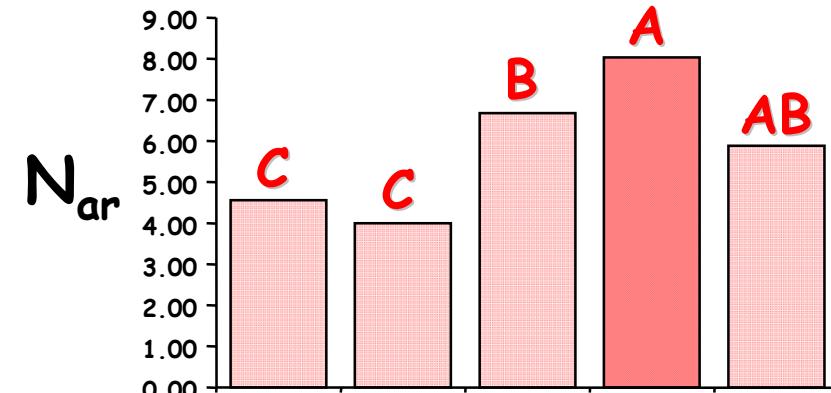
N_{pr} - broj jedinstvenih alela

N_{ar} - alelno bogatstvo

H_O - zapažena heterozigotnost

H_E - očekivana heterozigotnost

Vrijednosti označene istim slovom
signifikantno se ne razlikuju na razini 5%



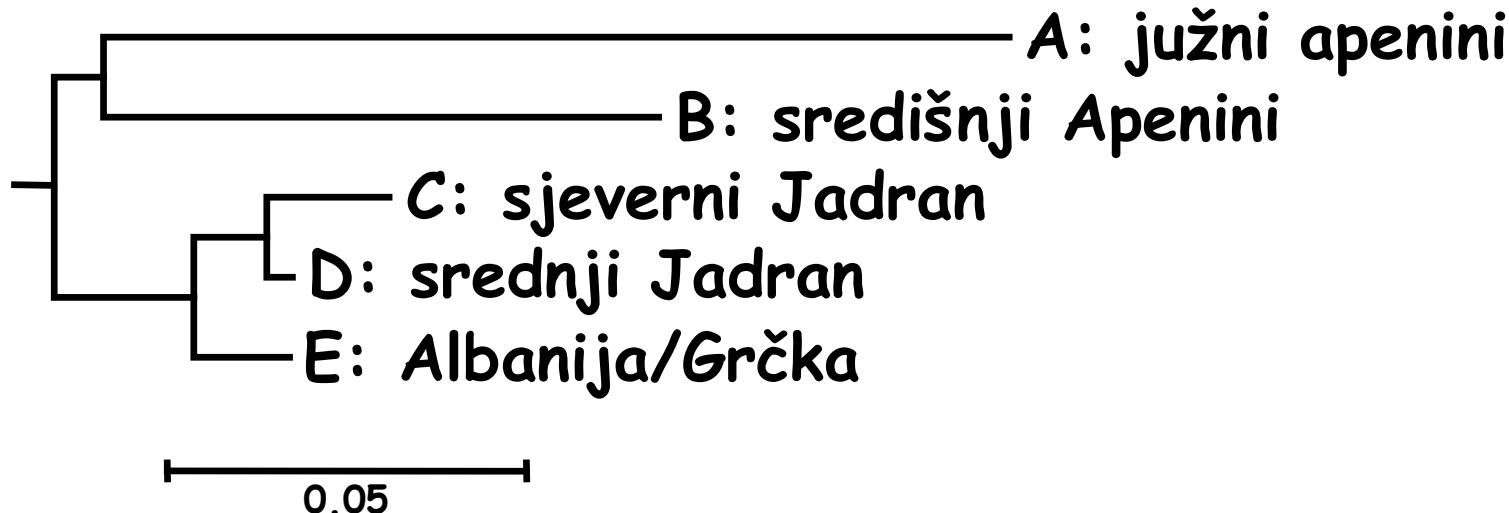
GENETSKI ODNOS IZMEĐU SKUPINA

Mjerilo udaljenosti:

Neto nukleotidne udaljenost (net nucleotide distance)

Izrada stabla:

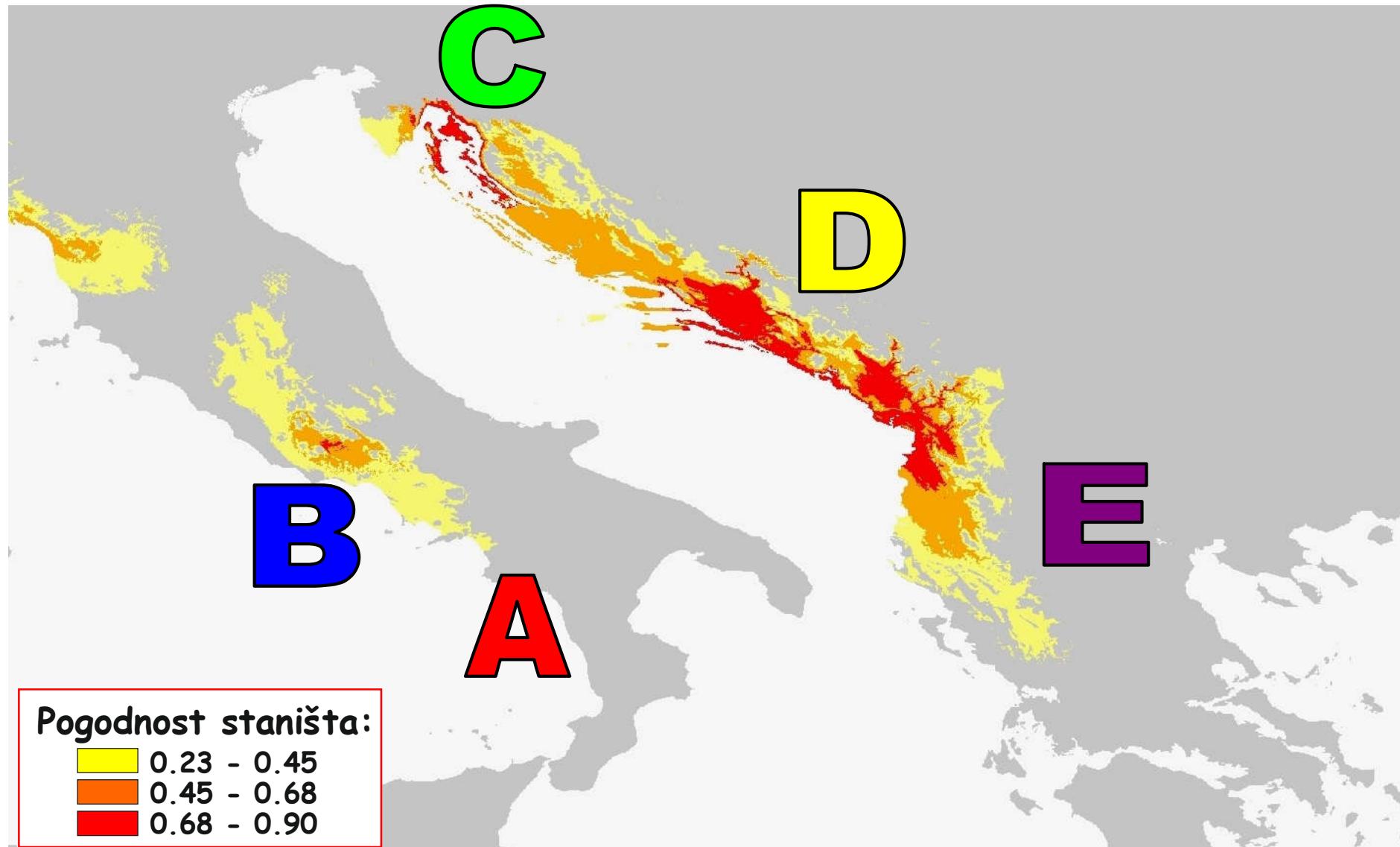
Metoda sparivanja susjeda (Neighbor-Joining method)



MODELIRANJE EKOLOŠKIH NIŠA

- Modeliranje ekoloških niša
(Ecological Niche Modelling; ENM)
- Modeliranje rasprostranjenosti vrsta
(Species Distribution Modelling; SDM)
 - procijeniti odnos između rasprostranjenosti vrste po određenim nalazištima i okolišnih uvjeta tih nalazišta
 - procijeniti pogodnost staništa za vrstu
 - izraditi model rasprostranjenosti vrste
(= utvrditi povoljno stanište za vrstu)
- **ulazni podaci:**
 - (1) zemljopisna rasprostranjenost
90 podataka o rasprostranjenosti
 - (2) okolišni uvjeti nalazišta
19 bioklimatskih parametara (WorldClim database)
 - 11 temperaturnih- i 8 oborinskih parametara
 - predstavljaju godišnja kretanja, sezonske promjene, te temperaturne i oborinske ekstreme

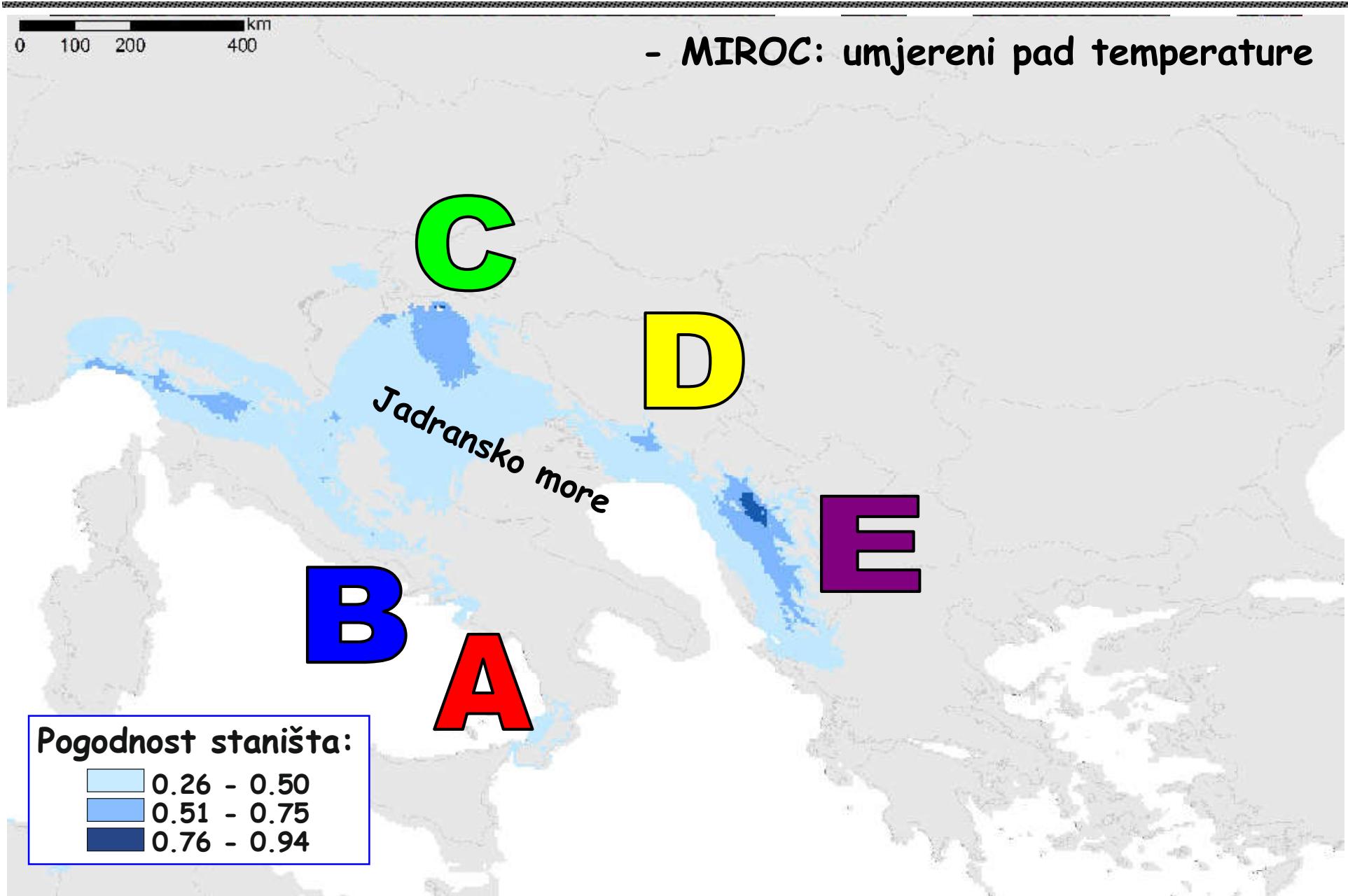
POGODNOST STANIŠTA: BIOKLIMATSKA STVOJSTVA



POVIJESNO RASPROSTRANJENJE

- modeliranje rasprostranjenosti vrste u vrijeme posljednjeg glacijalnog maksimuma
(Last Glacial Maximum; LGM; ~21,000 g.pr.n.e.)
- otkrivanje mogućih glacijalnih refugija vrste
- glacijalni refugij (**glacial refugium**) - regija u kojoj je određena vrsta preživjela ledeno doba
- ulazni podaci:
 - (1) model za sadašnje stanja
 - (2) klimatski uvjeti u prošlosti
 - 19 bioklimatskih varijabli
 - bioklimatski podaci za LGM razvijeni u okviru projekta
Paleoclimate Modelling Intercomparison Project Phase II
- dva modela:
CCSM (Community Climate System Model; USA)
MIROC (Model for Interdisciplinary Research on Climate; Japan)

ENM: POSLJEDNJI GLACIJALNI MAKSIMUM (MIROC)



POGODNOST STANIŠTA: PEDOLOŠKA SVOJSTVA

Soil Atlas of Europe

Klasifikacija: The World Reference Base for Soil Resources (WBR)

- Leptosol**
 - kamenjar
 - rendzina
 - ranker
- Kambisol**
 - smeđe tlo
 - crvenica



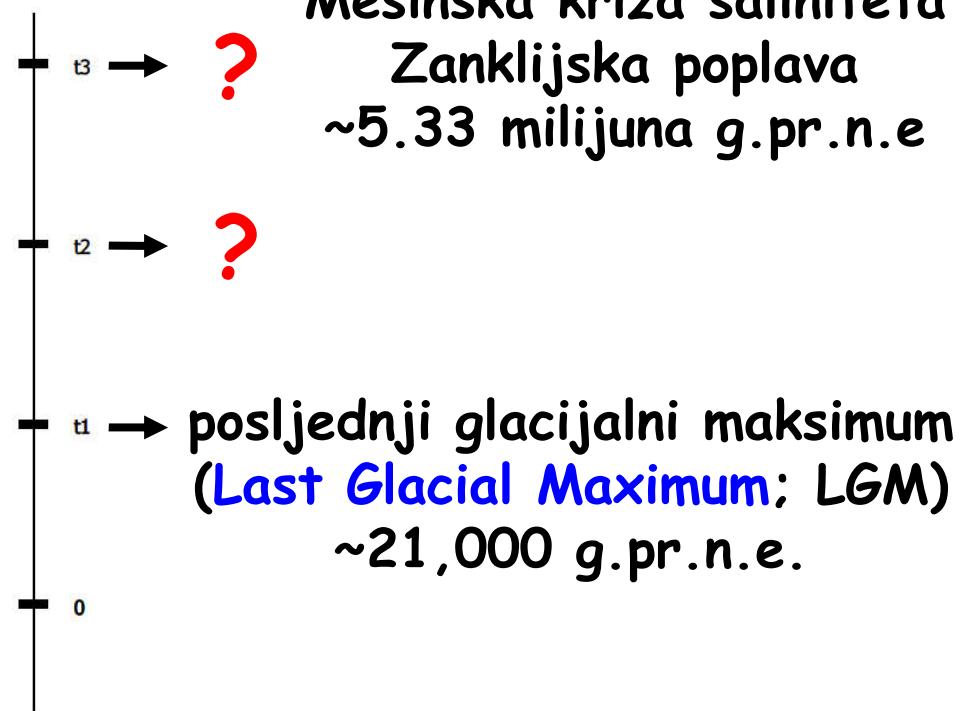
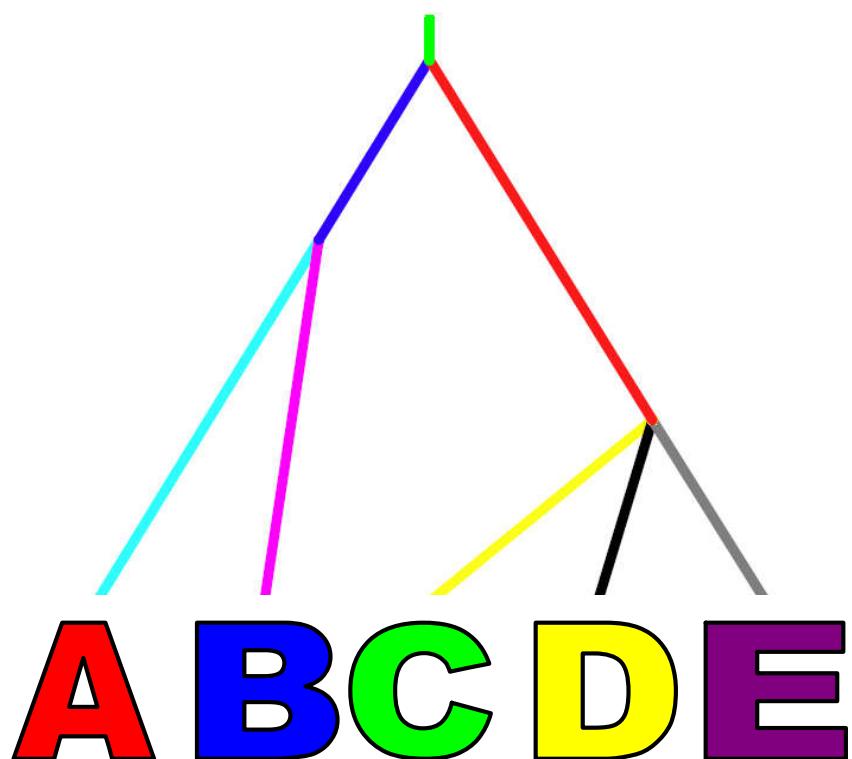
PLAN

- (1) Ljekovita kadulja (*Salvia officinalis* L.)
- (2) Genetska raznolikost populacija
- (3) Genetske struktura
- (4) Raznolikost genetskih skupina
- (5) Buduća istraživanja**

BUDUĆA ISTRAŽIVANJA

(1) Rekonstrukcija demografske povijesti vrste

- Apsoksimativna Bayesovska analiza
(*Approximate Bayesian Computation; ABC*)
- usporediti alternativne scenarije i procijeniti parametre najvjerojatnijeg scenarija
(efektivna veličina populacije; vrijeme razdvajanja)



BUDUĆA ISTRAŽIVANJA

(2) Usporediti rezultate analize mikrosatelitnim biljezima s rezultatima analize haplotipova na temelju kloroplastne DNA

Sićevačka klisura



doc. dr. sc. Ivan Šoštarić



Kadulja





**10. međunarodni kongres
Oplemenjivanje bilja, sjemenarstvo i rasadničarstvo**

**GENETSKA STRUKTURA POPULACIJA
LJEKOVITE KADULJE
S BALKANSKOG I APENINSKOG POLUOTOKA**

Zlatko Šatović

**Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
Znanstveni centar izvrsnosti**

**za bioraznolikost i molekularno oplemenjivanje bilja (CroP-BioDiv)
e-mail: zsatovic@agr.hr**

Sv. Martin na Muri, 10. studenog 2017.