

Biosystematika:

II. Evoluce polyploidů

Martin Čertner

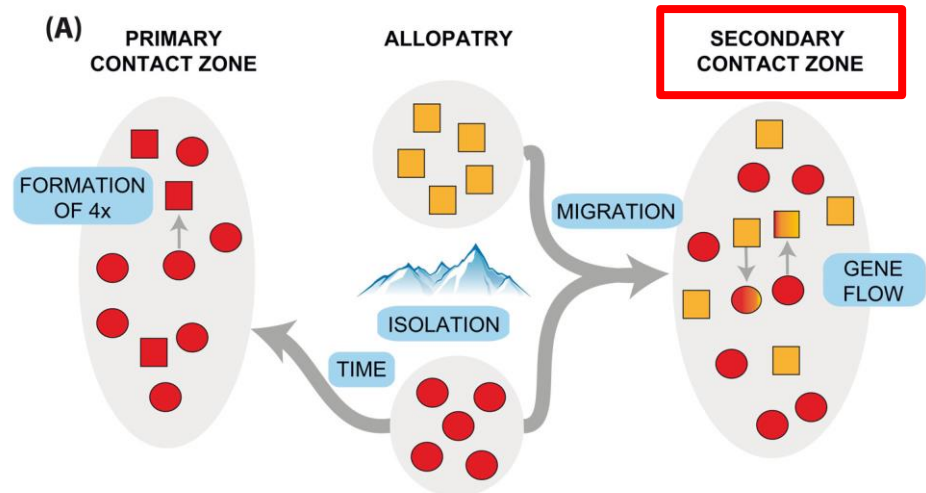
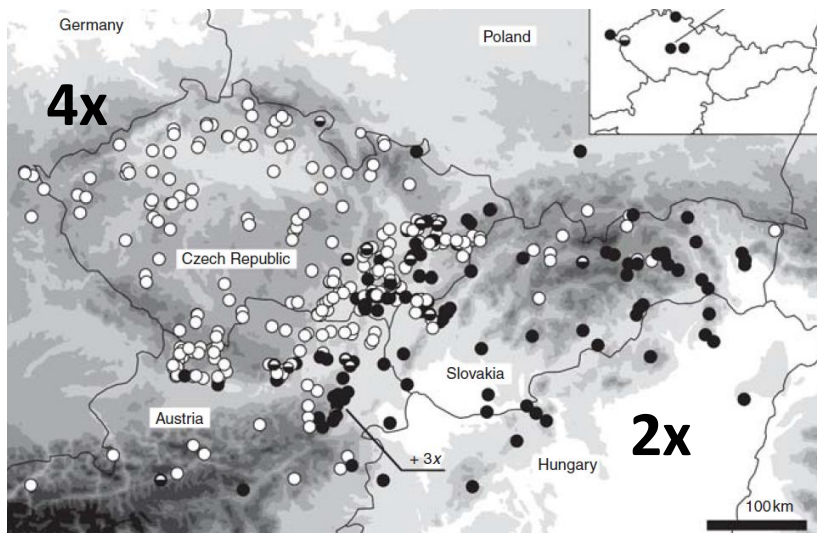
Co nás dneska čeká?

- kontaktní zóny cytotypů
- koexistence cytotypů a její stabilita
- evoluce v kontaktních zónách: reinforcement
- genový tok přes ploidní bariéru
- rychlost evoluční diverzifikace polyploidních linií
- jak se mění genomy polyploidů (diploidizace)

Kontaktní zóny cytotypů

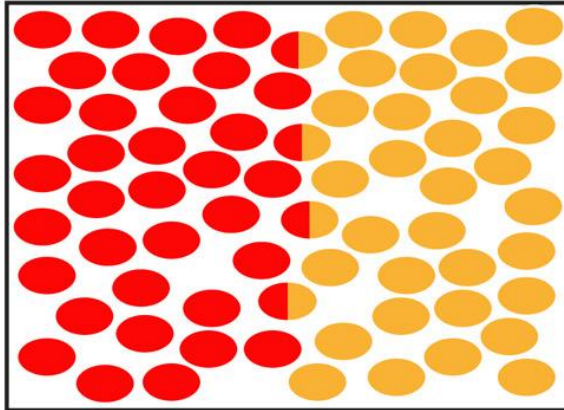
= speciální typ hybridních zón, jen velmi vzácně zde dochází k úspěšné hybridizaci (kvůli ploidní bariéře)

- nejčastější příležitost ke koexistenci různých cytotypů (a k jejímu studiu ;)
- naprostá většina z nich **sekundárního původu**
 - např. rekolonizace území liniemi z různých refugií (pokud se liší ploidii)



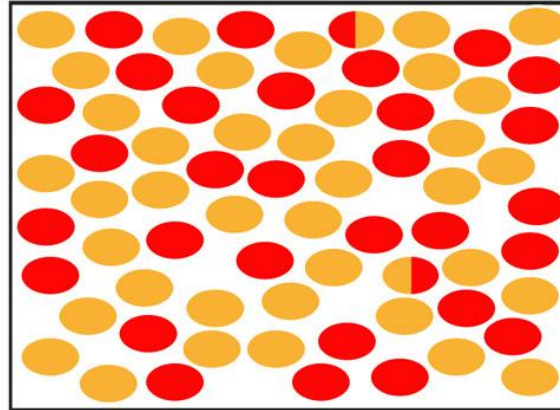
Koexistence cytotypů je překvapivě častá

- u druhů se známou ploidní heterogenitou (N = 69):
 - průměrně 3,5 různých cytotypů (2 – 8)
 - smíšené populace v průměru 16,1 %



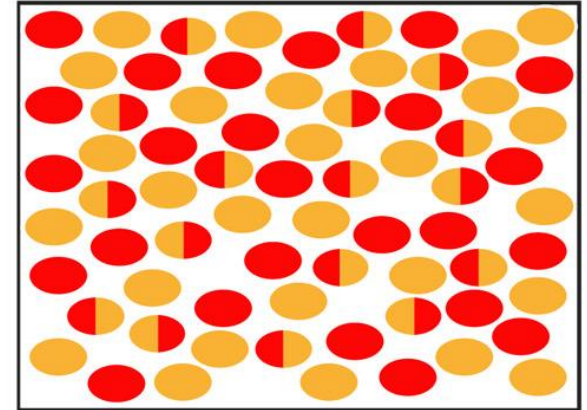
LARGE-SCALE PARAPATRY

39 %



MOSAIC PARAPATRY

30 %



SYMPATRY

27 %

+ 4 % cytotypy v allopatrii

Koexistence cytotypů je překvapivě častá

- jaké cytotypy spolu koexistují v kontaktních zónách nejčastěji?

Table 2. Ploidy Combinations Reported Among 69 Mixed-Ploidy Plant Species^a

Dominant cytotypes	Number of species	% Mostly asexual species	% Species with odd cytotype(s)	% Species with intermediate cytotype(s)	% Species with rare cytotypes	Rare cytotypes present (number of cases)				
						3x	4x	5x	6x	Other cytotypes (number of cases if >1)
2x + 3x	4	100	100	0	25	^b	1	0	0	
2x + 4x	42	2	62	62	67	26	–	5	12	
2x + 6x	2	0	50	0	50	1	0	1	–	7x, 8x, 9x
2x + 3x + 4x	2	50	100	100	100	–	–	2	0	
2x + 4x + 6x	6	0	83	83	83	4	–	5	–	7x (2), 8x (2), 9x
4x + 5x + 6x	2	100	100	100	100	1	–	–	–	7x
4x + 6x	2	0	50	50	50	0	–	1	–	
4x + 8x	3	0	0	100	100	0	–	0	3	
Others ^c	6	17	83	50	100	3	0	1	1	7x (2), 8x (2), 9x, 10x (2), 11x, 12x, 14x

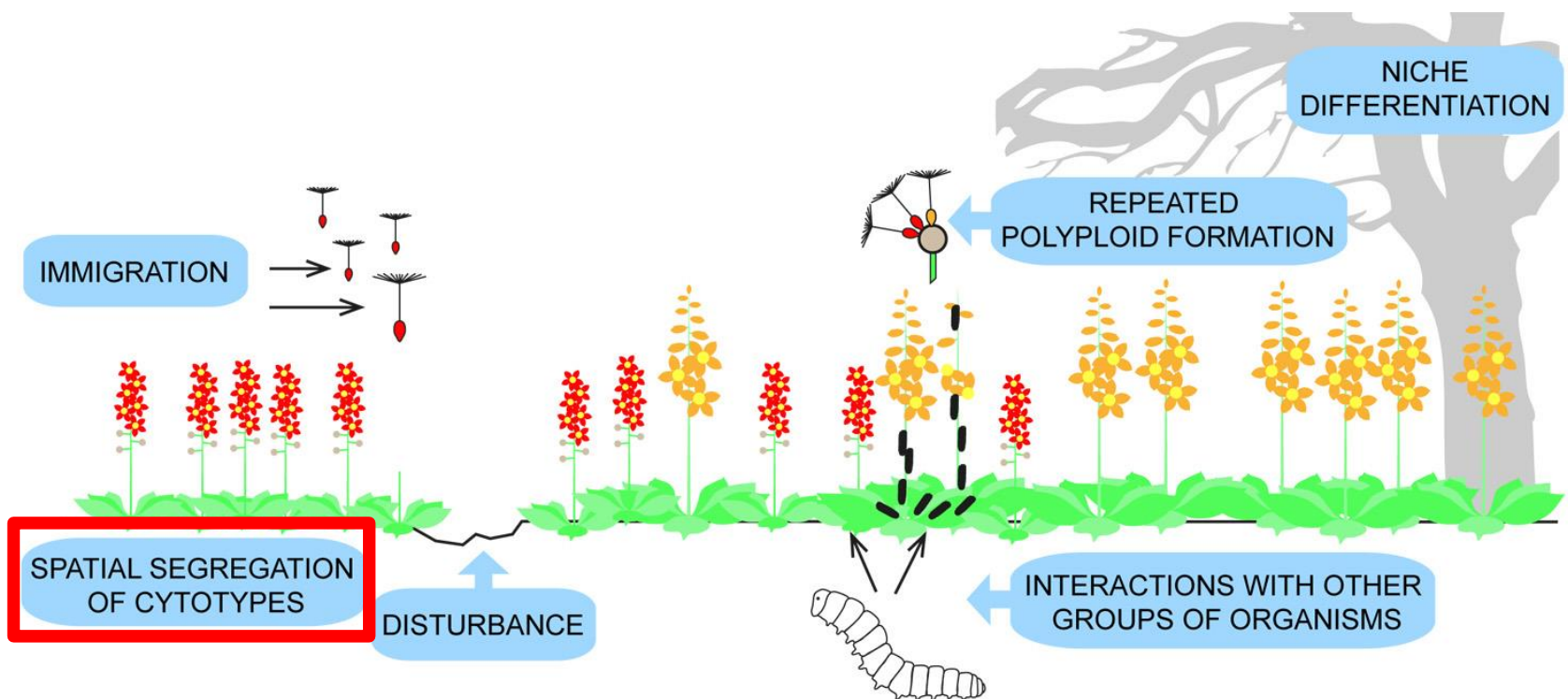
^aIn all species included >100 plants were measured for ploidy. Assessments of rare, odd, and intermediate ploidy cytotypes are based on adult plants. Details on individual systems are given in Table S1.

^b‘–’ Indicates that no information is available.

^cPloidy combinations (one case each): 2x + 4x + 5x + rare 3x; 2x + 4x + 6x + 12x + rare 3x; 4x + 6x + 8x + rare 3x, 5x, 7x; 4x + 12x + rare 6x, 10x, 14x; 6x + rare 8x, 9x, 10x, 11x, 12x; 6x + 9x + rare 7x, 8x.

Mechanismy koexistence cytotypů

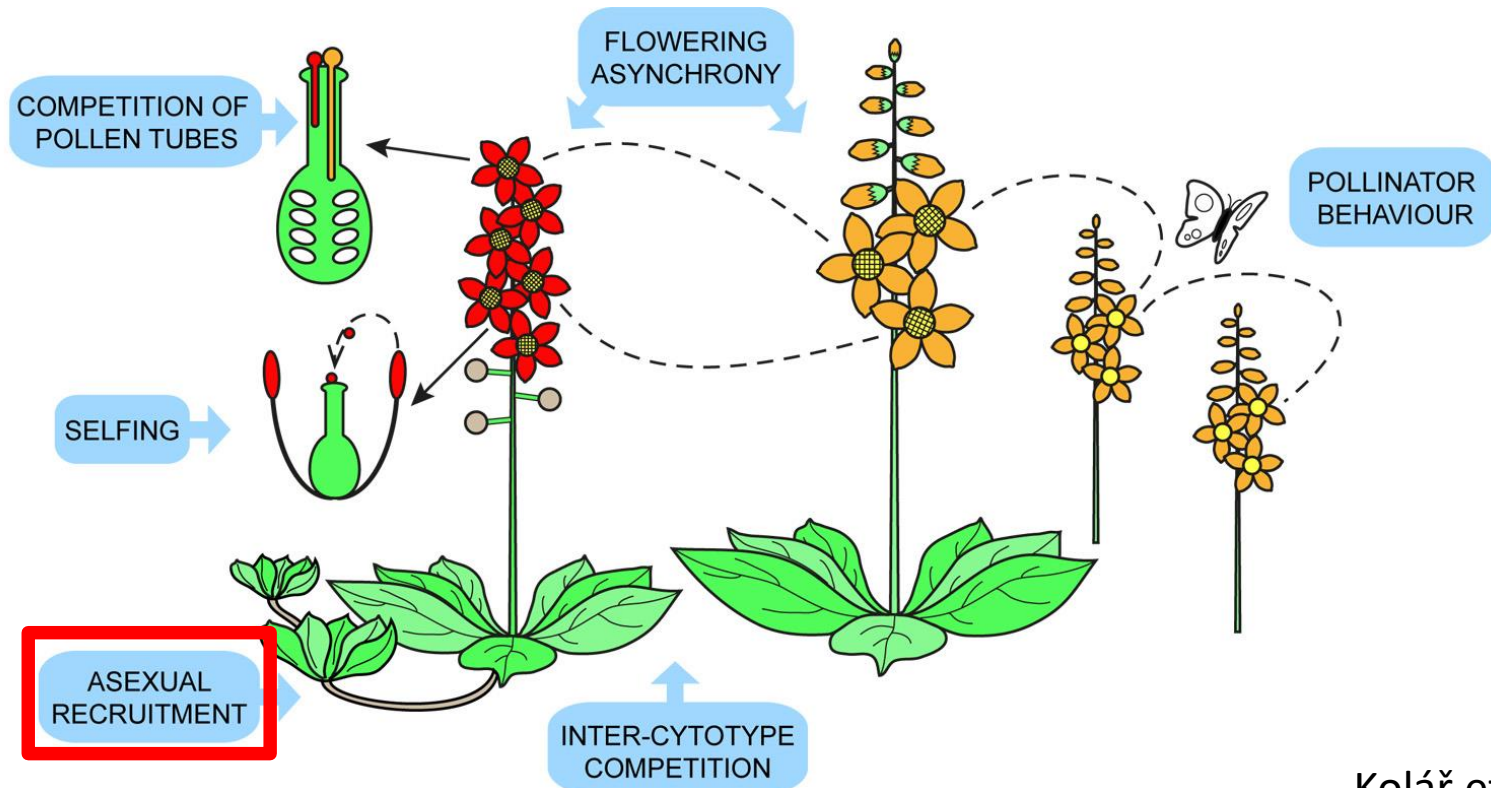
- největší význam:
 - **separace cytotypů v prostoru** (rozdílné niky, kolonizační historie, ...)



Mechanismy koexistence cytotypů

- největší význam:

- **časté nepohlavní rozmnožování** → častější smíšené populace (27 % vs. 15 %), vyšší frekvence lichých polyploidů



Do jaké míry je koexistence cytotypů stabilní?

„**minority cytotype exclusion**“
(frekvenčně závislá selekce)



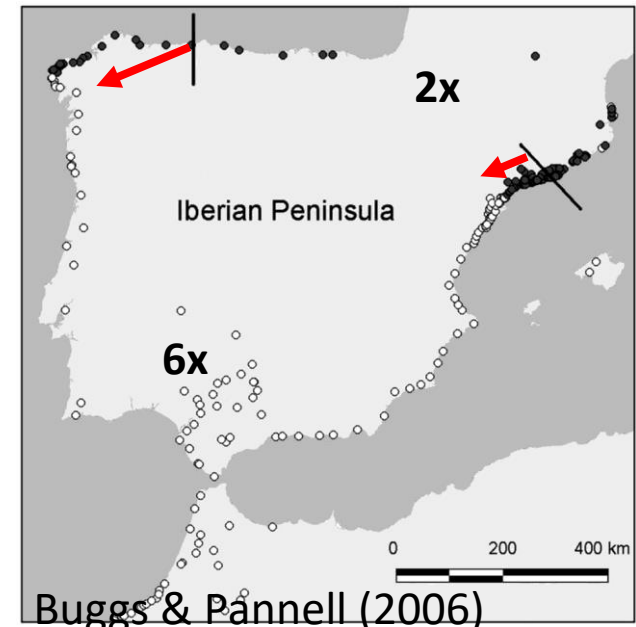
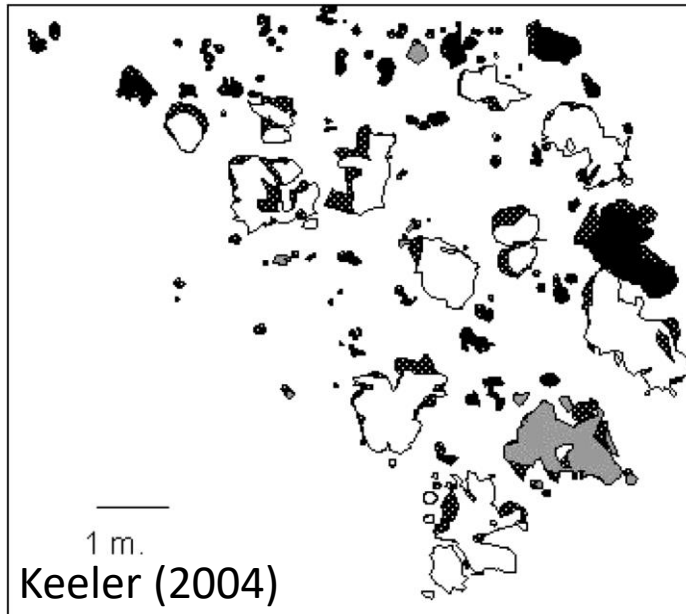
řada možných stabilizačních mechanismů
(např. klonalita, odlišná fenologie)

- prostorová (ekologická) izolace cytotypů přispívá stabilitě (např. na úrovni celých kontaktních zón)
- jak je to ale v případě cytotypově smíšených populací?
 - **teoretické modely:** koexistence často možná jen za specifických kombinací podmínek, modely ale poskytují značně zjednodušený pohled ...

Do jaké míry je koexistence cytotypů stabilní?

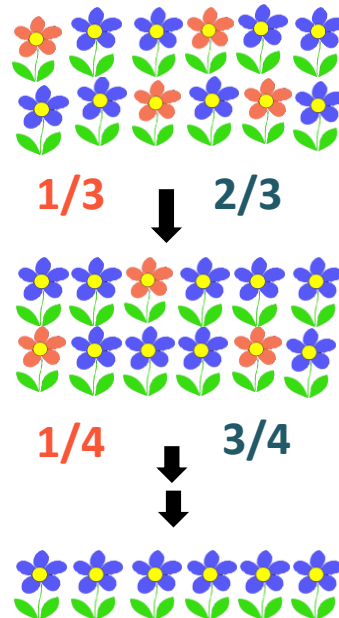
- empirická data:

- u *Andropogon gerardii* 6x + 9x minimální změny za 4 roky (dlouhověký a vytrvalý druh)
- u *Mercurialis annua* se 2x – 6x kontaktní zóna posunula za 40 let o 80 a 200 km (dvoudomí 2x produkují více pylu, 6x hybridní potomky)



Případová studie 1

Jak dlouho spolu mohou cytotypy koexistovat na úrovni populací?



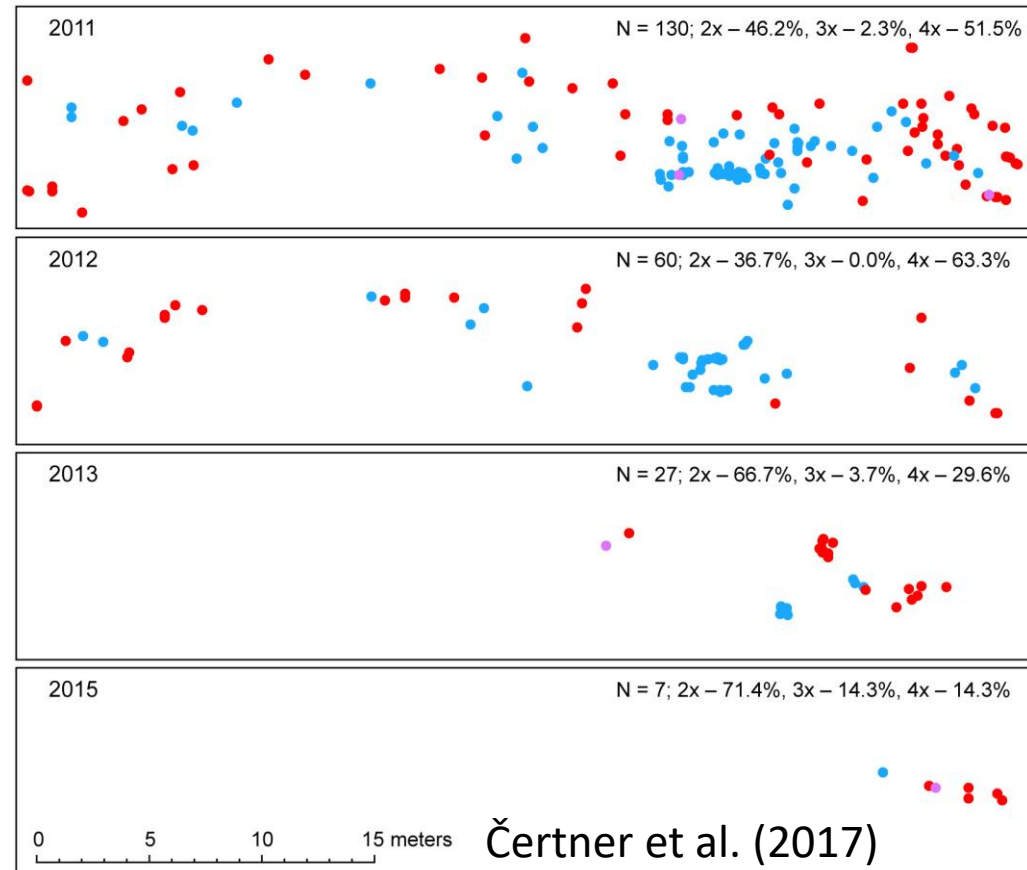
Vývoj smíšených populací v čase

- **tradiční komplikace:** většina modelových druhů (dlouhověké) trvalky

- ***Tripleurospermum***

- značné fluktuace frekvencí cytotypů

- 26 ze 36 pop. (72 %) smíšených i po 1-5 letech



- **půdní semenná banka** + imigrace cytotypů z okolních pop. + opakované lokální disturbance

**Může v kontaktních zónách cytotypů
docházet k adaptivním evolučním změnám?**

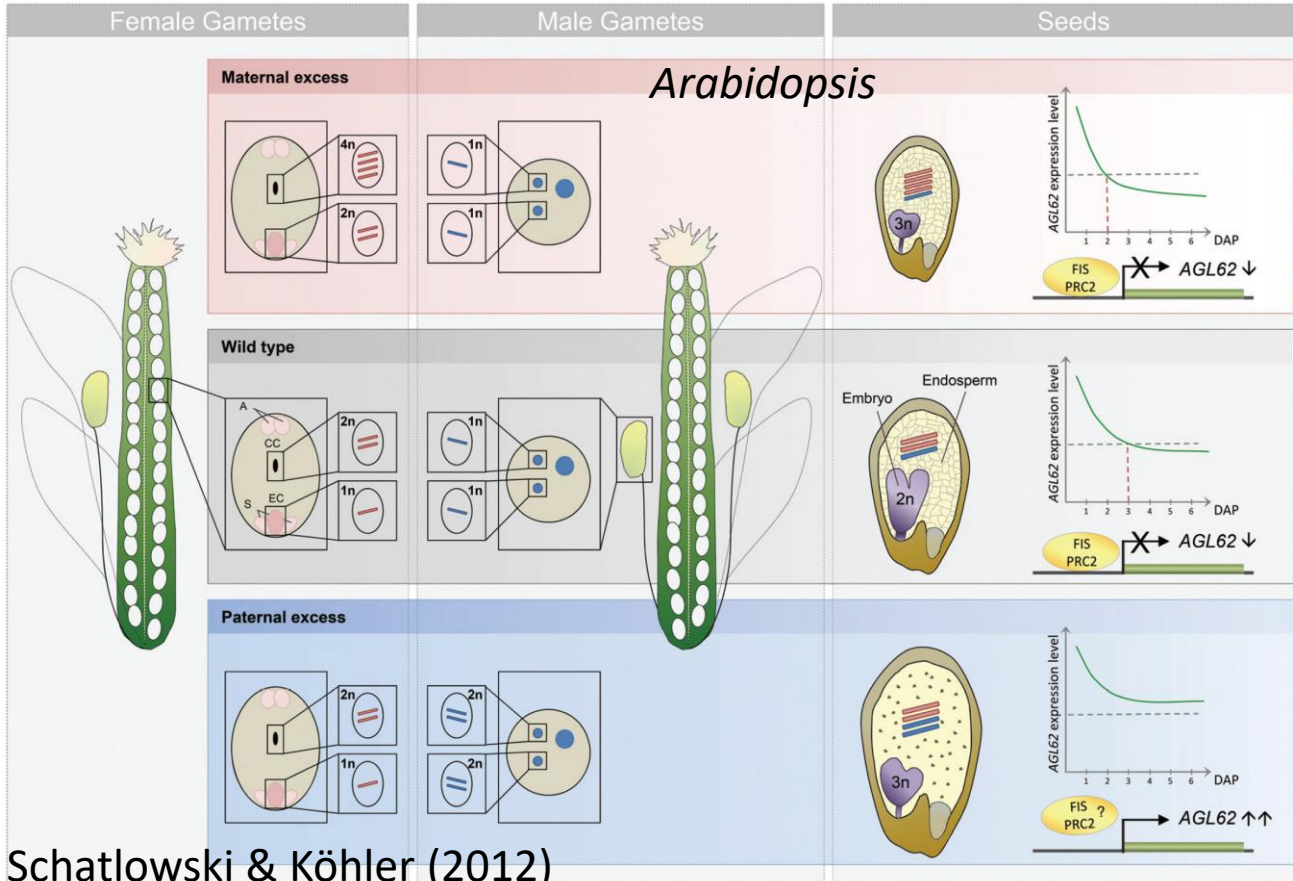
Jaké zde působí selekční tlaky?

Postzygotická reprodukční izolace 2x a 4x

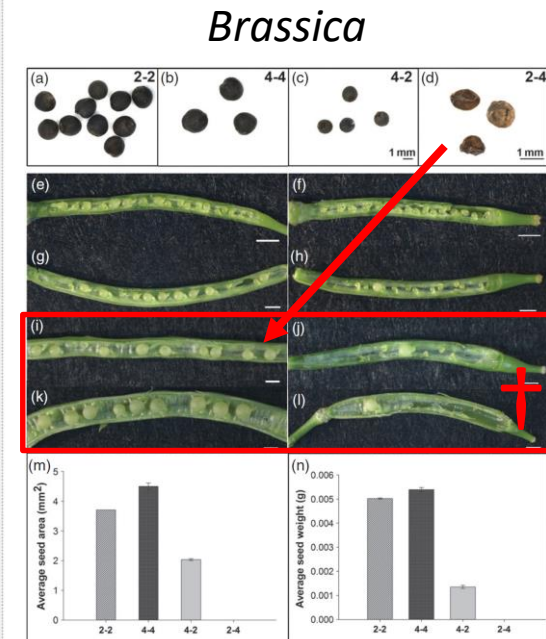
- **triploid block**
 - příčinou častých aborcí 3x semen nejsou problémy s embryem, ale kolaps vývoje endospermu
- heteroploidní křížení naruší 2 : 1 poměr rodičovských genomů v endospermu
- genomový imprinting (parental conflict theory)
 - epigenetické značení genů v gametách mění jejich expresi, v endospermu pak konflikt rodičovských zájmů

Postzygotická reprodukční izolace 2x a 4x

- genomový imprinting (parental conflict theory)
 - ↑ matka: menší semena, ↑ otec: větší semena
 - závisí na načasování celularizace endospermu



Schatlowski & Köhler (2012)



Stoute et al. (2012)

Případová studie 2

Research

New
Phytologist



Postzygotic isolation varies by ploidy level within a polyploid complex

Brittany L. Sutherland and Laura F. Galloway

Department of Biology, University of Virginia, Charlottesville, VA 22904-4328, USA

Author for correspondence:
Brittany L. Sutherland
Tel: +1 434 282 5599
Email: bls3md@virginia.edu

Received: 29 March 2016
Accepted: 12 June 2016

New Phytologist (2017) 213: 404–412
doi: 10.1111/nph.14116

Key words: cytotype, hexaploid, polyploid complex, polyploidy, postzygotic, reproductive isolation, tetraploid.

Summary

- Whole genome duplication is considered to be a significant contributor to angiosperm speciation due to accumulation of rapid, strong interploidy reproductive isolation. However, recent work suggests that interploidy reproductive isolation may not be complete, especially among higher order cytotypes. This study evaluates postzygotic reproductive isolation among three cytotypes within a polyploid complex.
- We conducted reciprocal crosses using two diploid and two hexaploid populations each crossed to tetraploid populations spanning the geographic and phylogenetic range of the *Campanula rotundifolia* polyploid complex. Interploidy and intrapopulation crosses were scored for fruit set, seed number, germination proportion and pollen viability. Postzygotic isolation was calculated for each cross as the product of these fitness components. A subset of offspring was cytotyped via flow cytometry.
- Postzygotic isolation was significantly lower in tetraploid–hexaploid crosses than diploid–tetraploid crosses, mostly due to substantially higher germination among tetraploid–hexaploid crosses. Tetraploid–hexaploid crosses produced pentaploids exclusively, whereas diploid–tetraploid crosses produced both triploids and tetraploids in high frequencies.
- Postzygotic isolation was weaker among higher order polyploids than between diploids and tetraploids, and unreduced gametes may facilitate diploid–tetraploid reproduction. This incomplete postzygotic isolation could allow ongoing interploidy gene flow, especially among higher order polyploids, which may slow divergence and speciation in polyploid complexes.

Postzygotická reprodukční izolace cytotypů

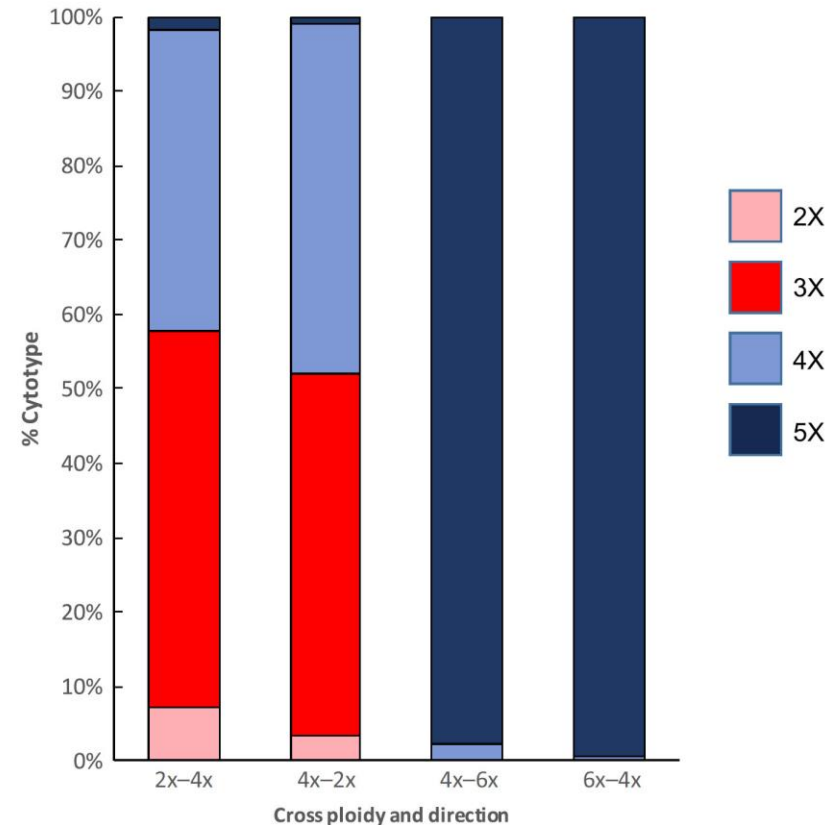
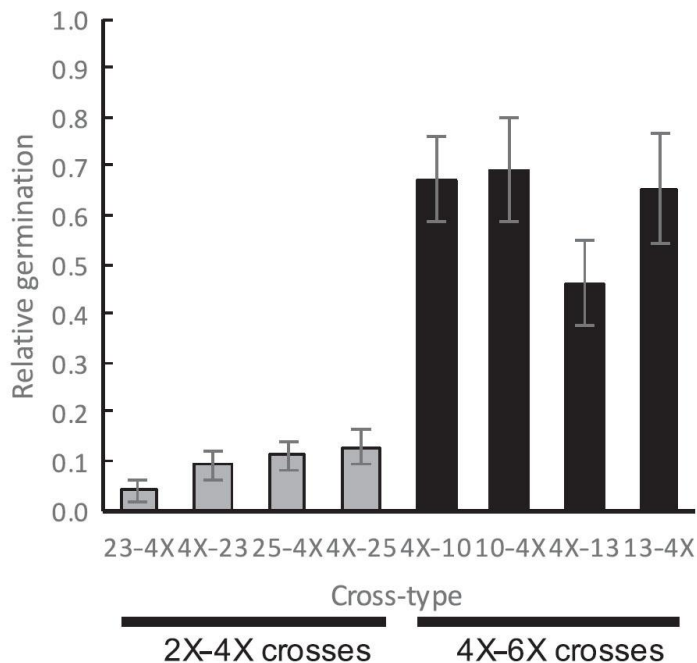


Fig. 3 Combined cytotype composition of F₁ offspring from two rounds of interpollid crosses. Diploid and hexaploid *Campanula rotundifolia* test populations were reciprocally crossed to 11 tetraploid populations. Maternal ploidy is listed first.

Postzygotická reprodukční izolace cytotypů

- **obecná pravidla:**

- silnější RI mezi 2x a 4x než mezi polyploidy (4x a 6x)

- vyšší úspěch reciprokých křížení kde matka má vyšší ploidii

- (obě vychází z míry odchylky od 2 : 1 poměru rodičovských genomů)*

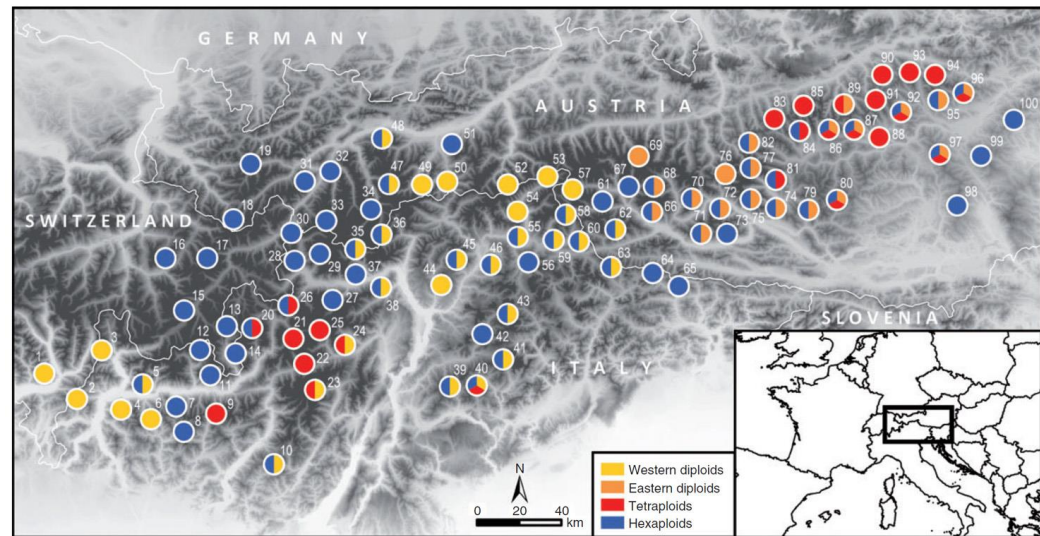
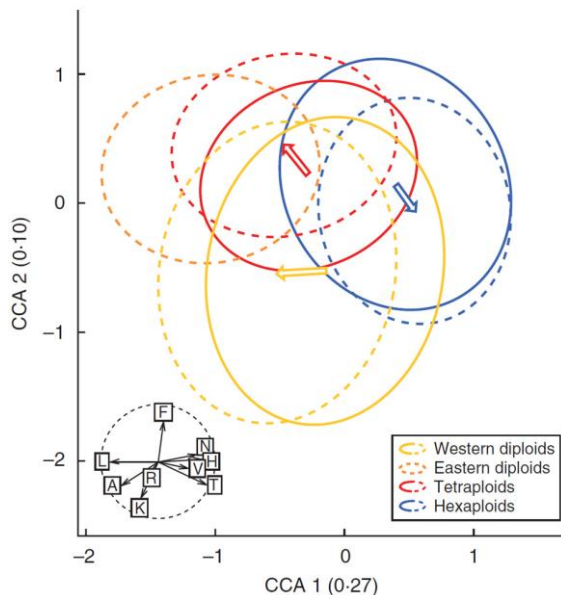
- do jaké míry však lze genomic imbalance hypothesis aplikovat i mimo Brassicaceae?

Reinforcement v kontaktních zónách?

- křížení mezi cytotypy snižuje jejich fitness → selekce na vznik prezygotických reprodukčních bariér?
 - pokud ano, rozdíly mezi cytotypy větší v sympatrii než allopatrii

A) niche displacement of cytotypes (v KZ se více liší ekologicky)

Senecio carniolicus (Sonnleitner et al., 2016)



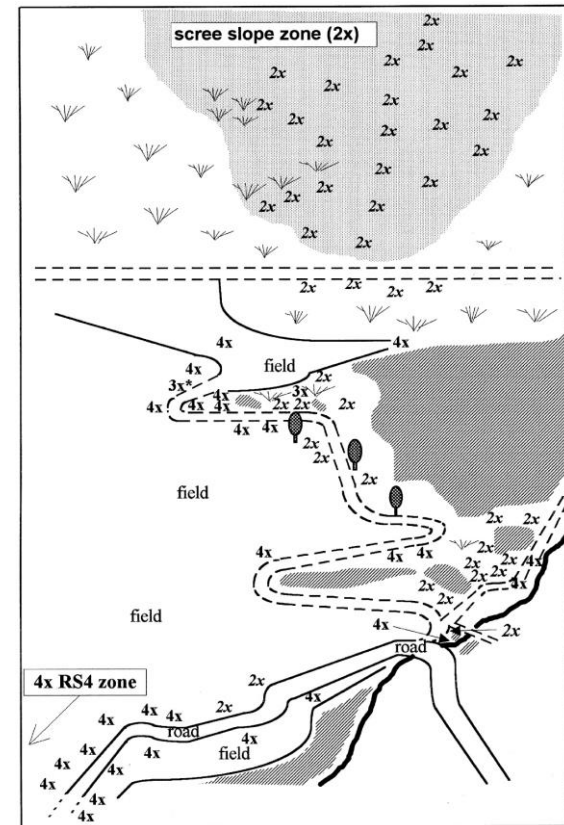
Reinforcement v kontaktních zónách?

- křížení mezi cytotypy snižuje jejich fitness → selekce na vznik prezygotických reprodukčních bariér?
 - pokud ano, rozdíly mezi cytotypy větší v sympatrii než allopatrii

B) vyšší míra autogamie v kontaktní zóně

Arrhenatherum elatius (Petit et al., 1997)

Multilocus outcrossing rate (t_m)	
Diploids	
Parapatric	0.642 (0.108)
Allopatric	0.930 (0.087)
Tetraploids	
Parapatric	0.541 (0.079)
Allopatric	0.701 (0.103)



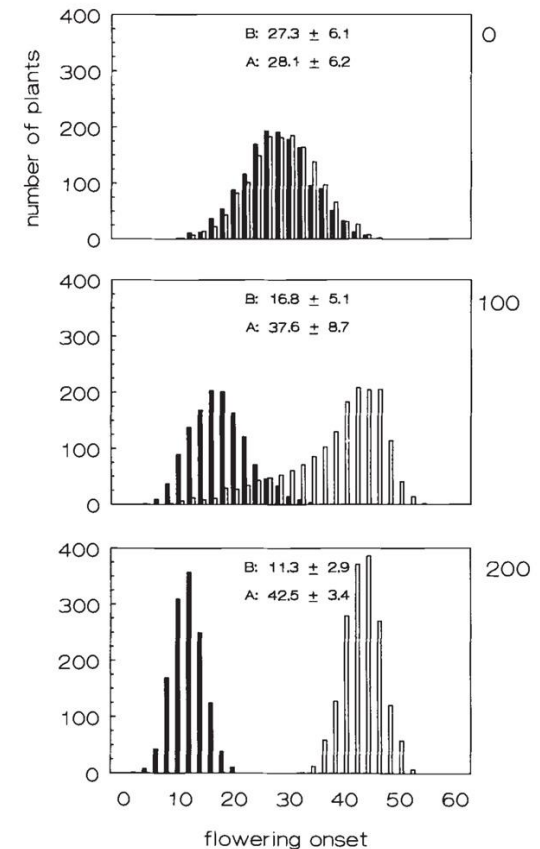
Reinforcement v kontaktních zónách?

- křížení mezi cytotypy snižuje jejich fitness → selekce na vznik prezygotických reprodukčních bariér?
 - pokud ano, rozdíly mezi cytotypy větší v sympatrii než allopatrii

C) nižší překryv doby kvetení cytotypů v KZ

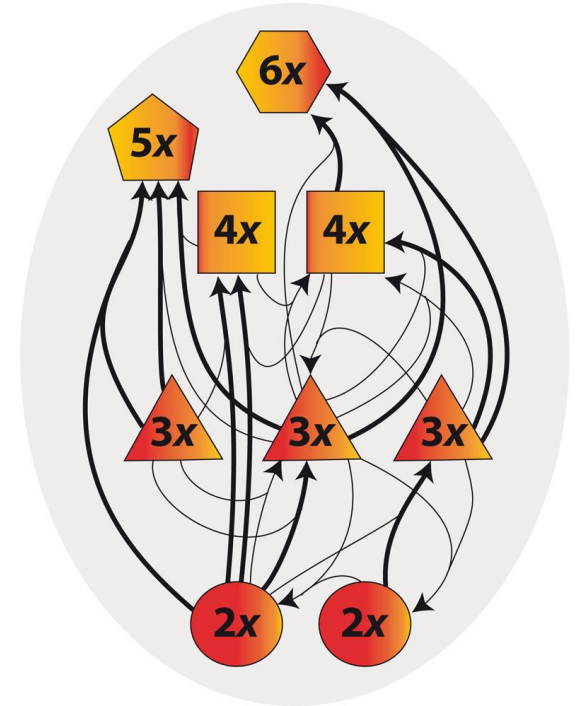
Plantago media (Van Dijk & Bijlsma, 1994):

- v KZ se 2x a 4x liší dobou kvetení
- počet semen je silně korelovaný s dobou kvetení, selekce preferuje časnější 2x a opožděné 4x
- model evoluce doby kvetení (0, 100, 200 generací) →



Genový tok mezi cytotypy

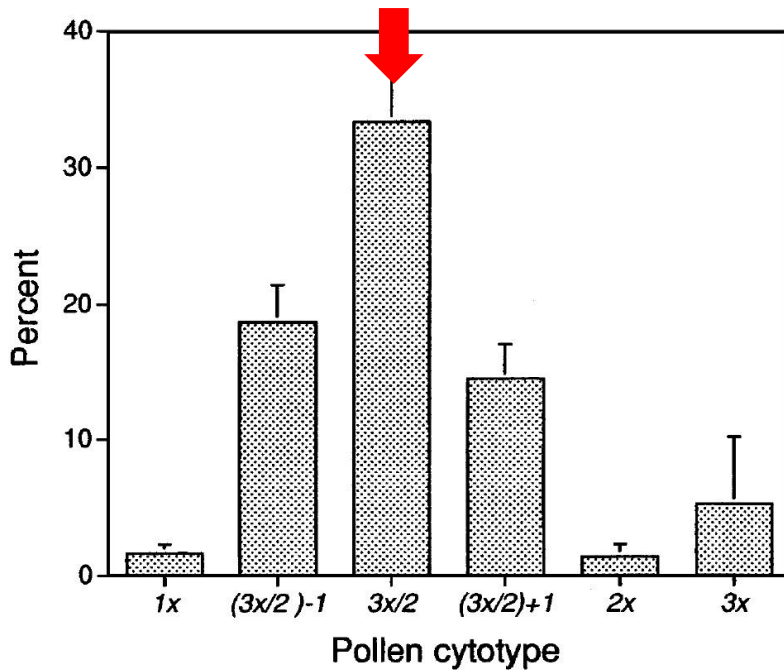
- s počtem cytotypů v populaci výrazně roste počet možných křížení
- **nejčastější případ – $2x + (3x) + 4x$:**
- jednosměrný tok $2x \rightarrow 4x$ je možný vždy (neredukované gamety)
- tok genů $2x \leftarrow 4x$ je možný pouze v případě (alespoň částečně) fertálních $3x$, ti ale zároveň přispívají i k $2x \rightarrow 4x$



Genový tok mezi cytotypy

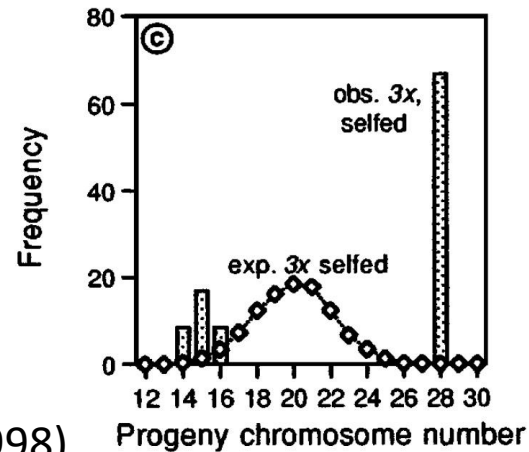
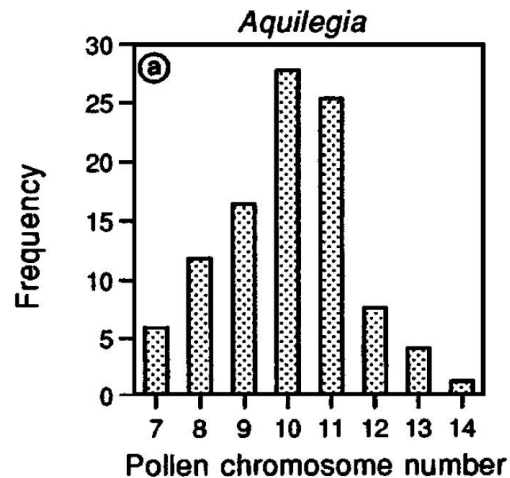
- jaké gamety lze očekávat od triploidů?

- hlavně aneuploidní ($3x/2$ nejčastěji)
- euploidní: $1x$, $2x$, $3x$

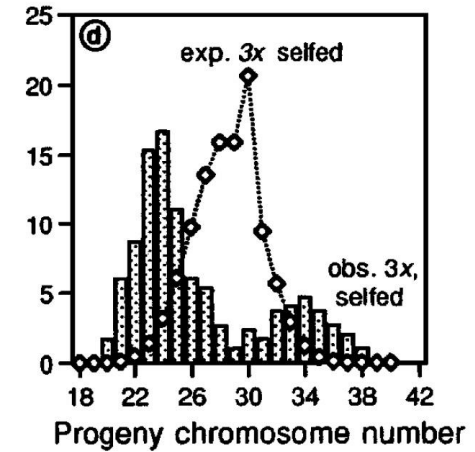
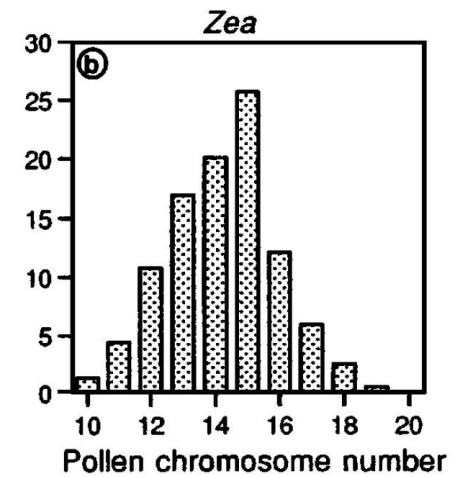


Ramsey & Schemske (1998)

ALLO-3x



AUTO-3x

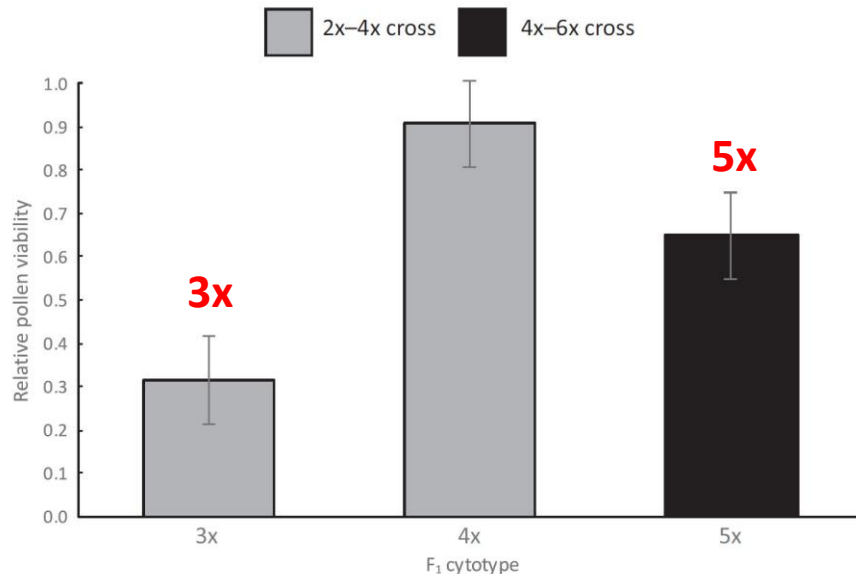


Genový tok mezi cytotypy

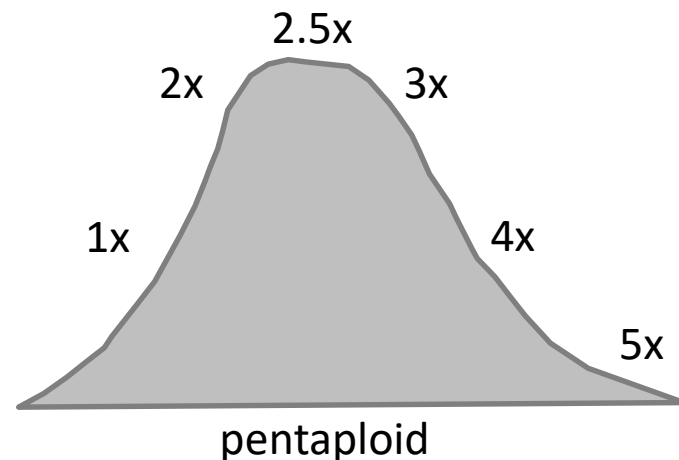
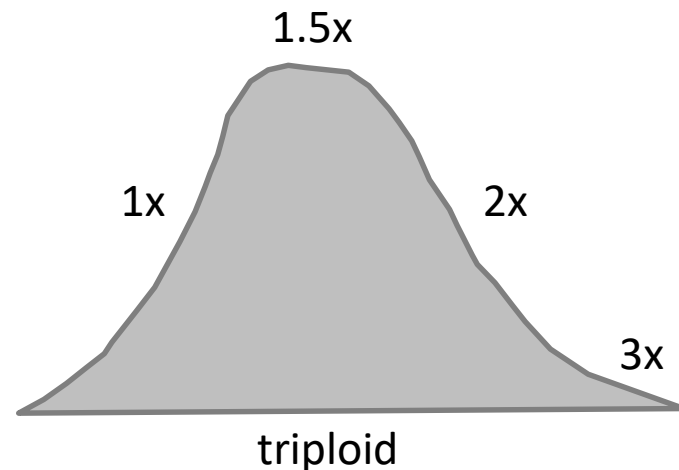
- a co vyšší polyploidie s lichým počtem sad?

- nezdá se, že vyšší fertilita pylu ($5x > 3x$)
- obecné mechanismy však stejné

fertilita pylu u *Campanula rotundifolia*:



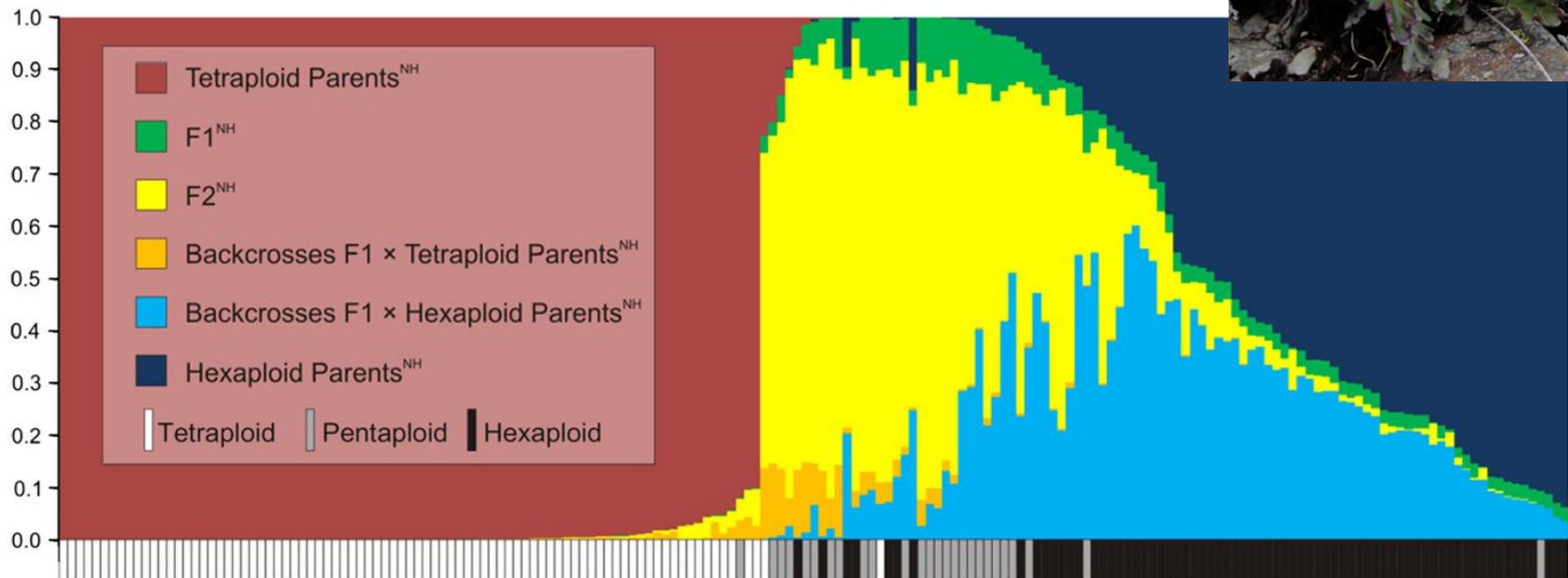
Sutherland & Galloway (2017)



Genový tok mezi cytotypy

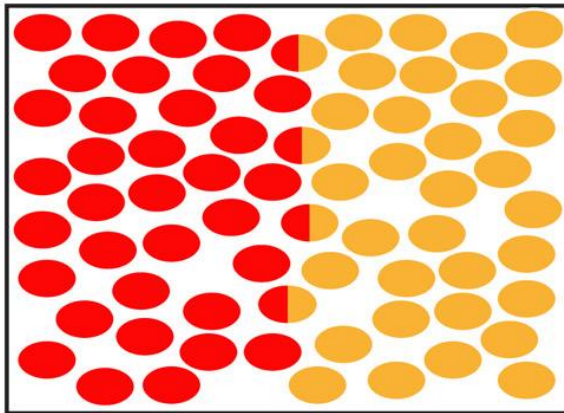
- *Senecio carniolicus*

- ve smíšených populacích 4x s 6x často 5x hybridi
- AFLP: asymetrický genový tok 4x → 6x

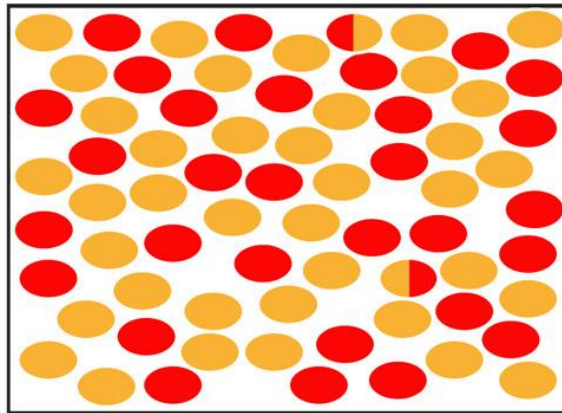


Případová studie 3

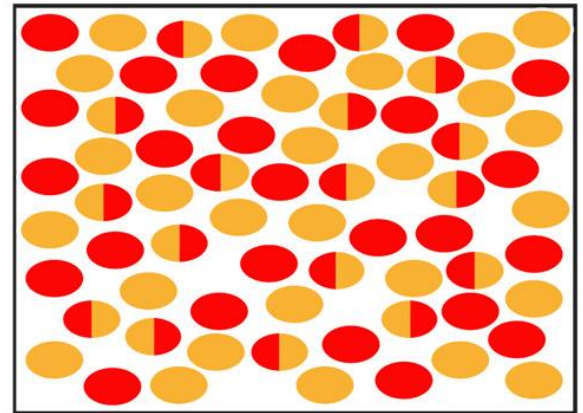
Může koexistence cytotypů zanechat trvalé stopy v jejich evoluční historii?



LARGE-SCALE PARAPATRY



MOSAIC PARAPATRY

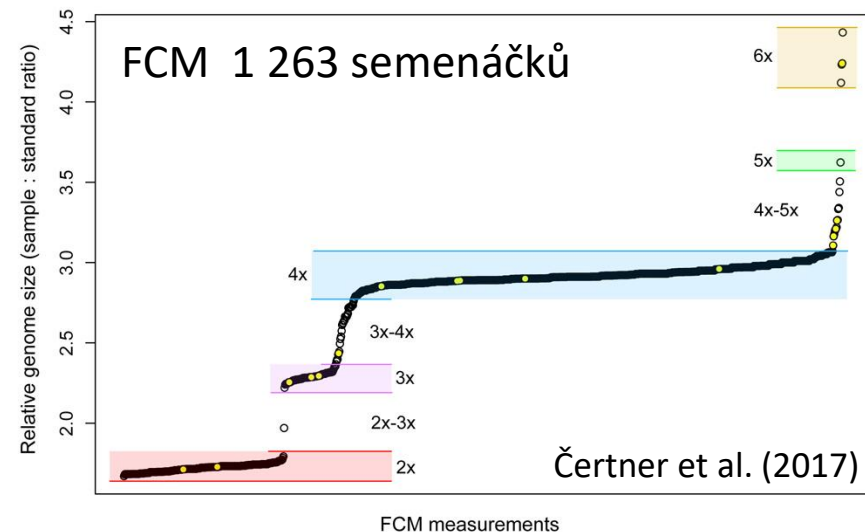
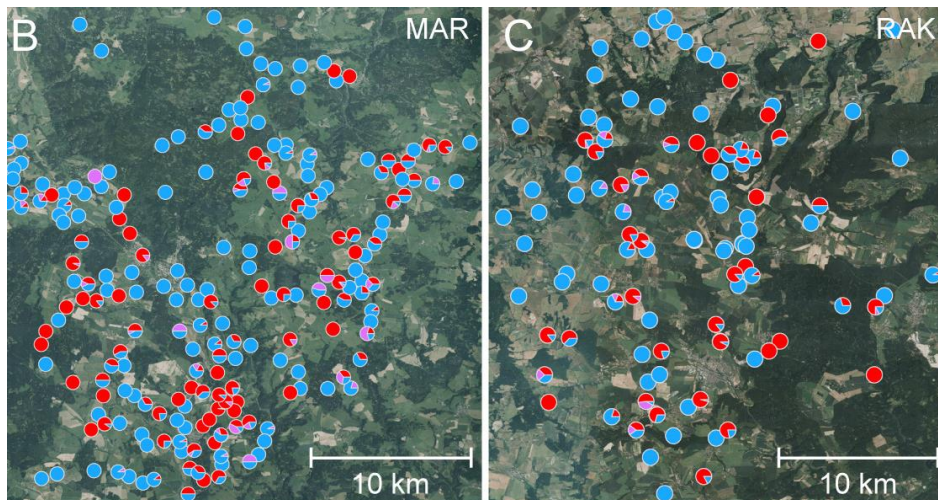


SYMPATRY

Co třeba genový tok mezi 2x a 4x?

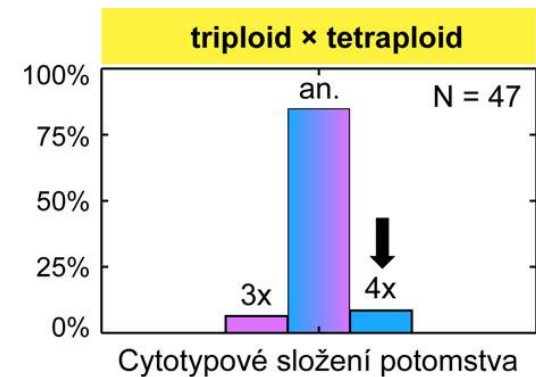
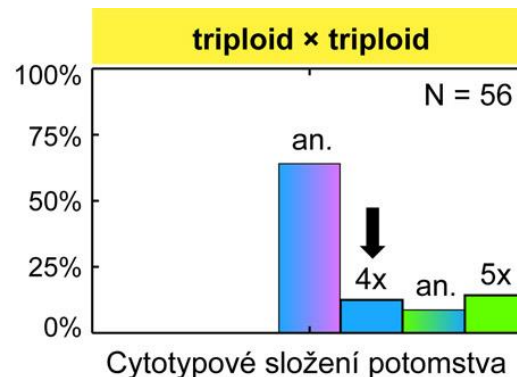
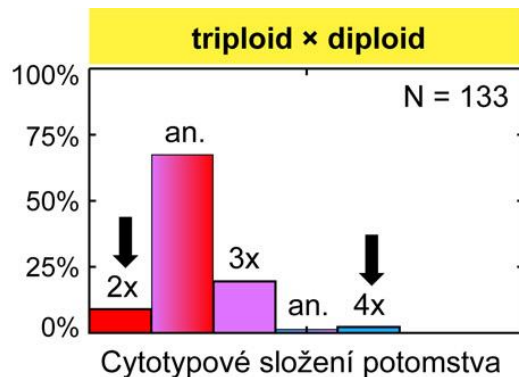
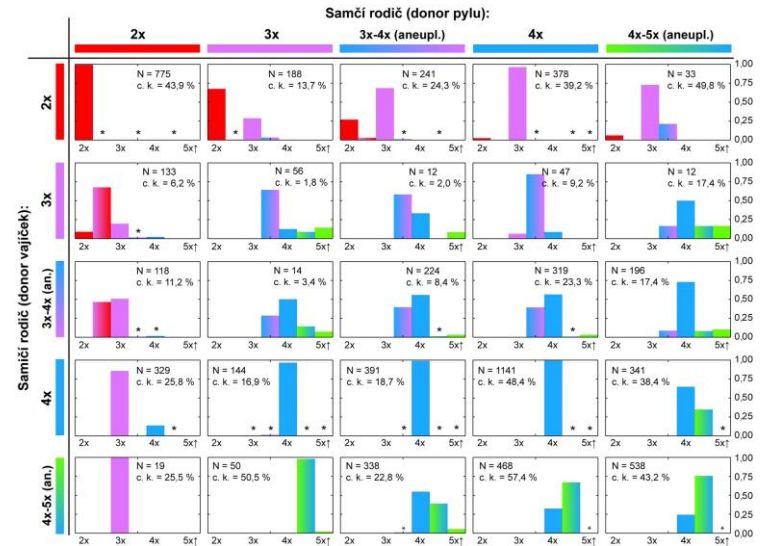
- *Tripleurospermum inodorum*

- mozaikovitá struktura kontaktní zóny
- časté smíšené populace (regionálně až 43 %)
- částečně fertlní 3x hybridi (v pop. 8 %)
- značné množství aneuploidních semenáčků (0 - 34%)



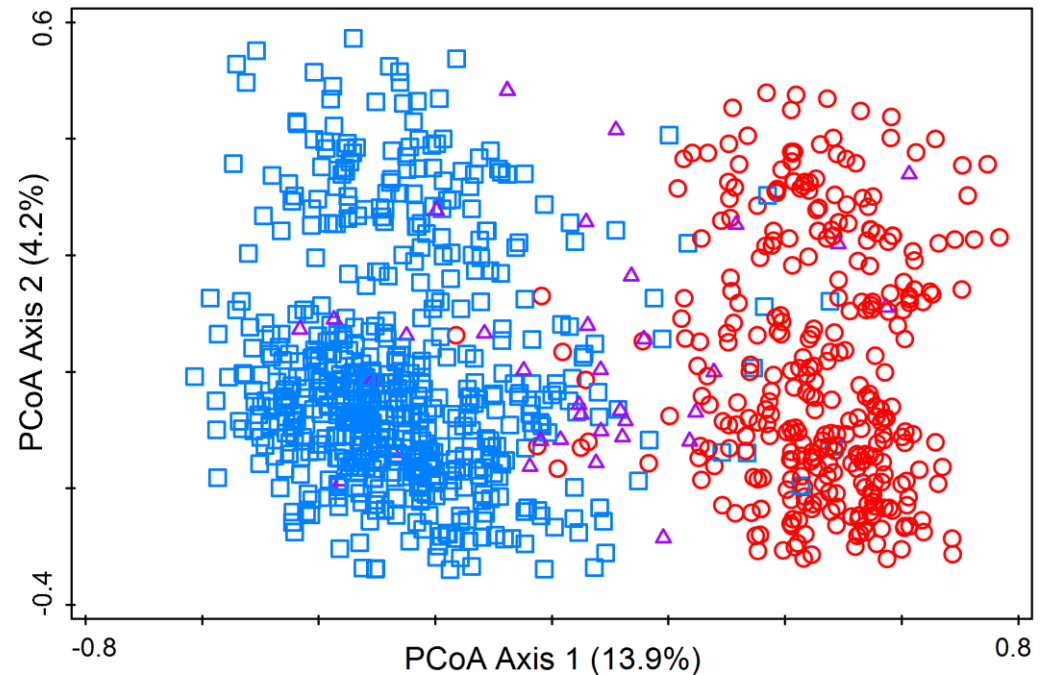
Manipulované přenosy pylu mezi cytotypy

- 3x jedinci generují aneuploidy, kteří se dále účastní reprodukčních interakcí
- v potomstvu 3x a aneuploidů se objevují i 2x a 4x semenáčky
- teoreticky **možnost obousměrného genového toku**, ale 2x → 4x se zdá být pravděpodobnější



Intenzita genového toku mezi 2x a 4x

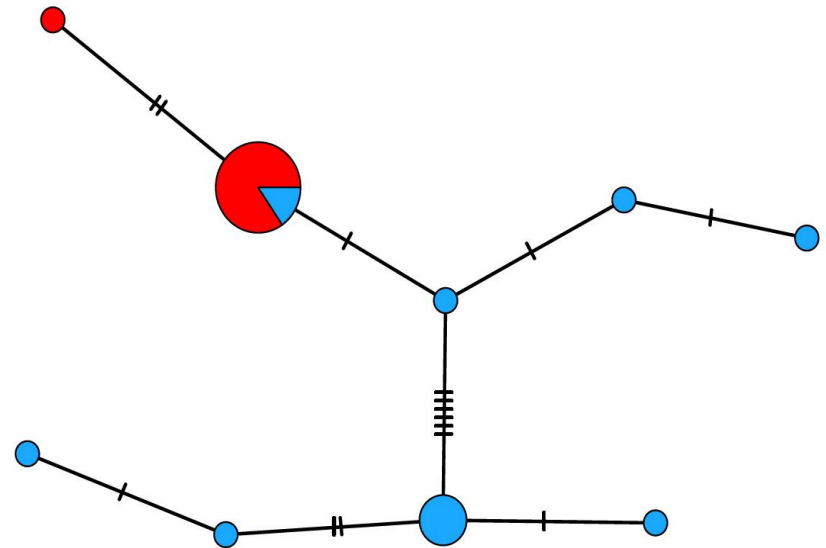
- mikrosatelity - PCoA



- dobrá separace 2x a 4x (v souladu s Cx)
- známky hybridizace na 2x i 4x úrovni
- chybí prostorová genetická struktura

Intenzita genového toku mezi 2x a 4x

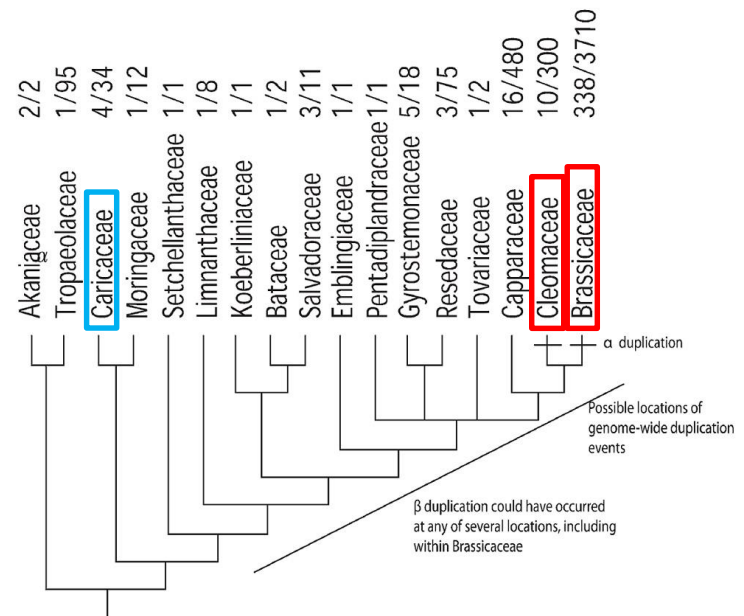
- pilotní výsledky cpDNA
- nižší haplotypová diverzita **2x**
- dvě odlišné skupiny **4x** haplotypů
- chloroplast capture jako stopa dávných 2x-4x hybridizací?



**A jak je to s evolucí polyploidních linií v
ještě větším časovém měřítku?**

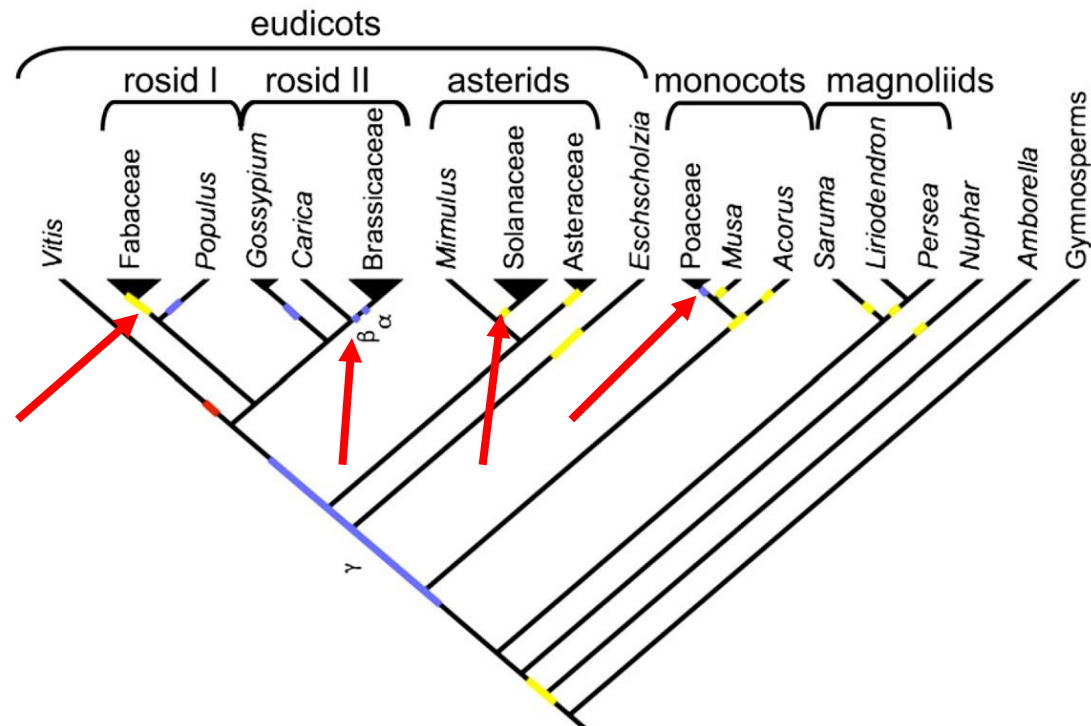
Mají polyploidní linie vyšší rychlost diverzifikace?

- co by to vlastně mělo znamenat:
 - vznikají v polyploidních liniích častěji nové druhy?
 - mají polyploidní druhy nižší pravděpodobnost extinkce?
- Soltis et al. (2009): srovnání druhové bohatosti se sesterskou skupinou, která neprošla WGD



Mají polyploidní linie vyšší rychlost diverzifikace?

- Soltis et al. (2009): srovnání druhové bohatosti se sesterskou skupinou, která neprošla WGD



ANO, alespoň u některých skupin

(Poaceae, Brassicaceae, Fabaceae, Solanaceae)

Mají polyploidní linie vyšší rychlost diverzifikace?

- Wood et al. (2009): **NE, diverzifikace diploidních a polyploidních linií se neliší**
- Mayrose et al. (2011) + Arrigo & Barker (2012): **NE, právě naopak!**
 - u kapradin a krytosemenných měly polyploidní linie větší pravděpodobnost extinkce než linie diploidní
 - označili proto polyploidy za „evolutionary dead-ends“

Mají polyploidní linie vyšší rychlost diverzifikace?

- Soltis et al. (2014):
 - celá řada chyb a nedostatků v Mayrose et al. (2011)
 - zas až tak špatné to s těmi polyploidy nebude ;)



Forum

Letters

Are polyploids really evolutionary dead-ends (again)? A critical reappraisal of Mayrose *et al.* (2011)

Introduction

Background

Polyploidy is now viewed not as a mere side branch of evolution, but as a major mechanism of evolution and diversification.

Evolutionary dead-ends again?

Based on analyses of ferns and angiosperms, Mayrose *et al.* (2011) and Arrigo & Barker (2012) revived the concept of polyploids as 'blind alleys'. Arrigo & Barker (2012, p. 140) refer to 'rarely successful polyploids' and state that 'despite leaving a substantial legacy in plant genomes, only rare polyploids survive over the long term and most are evolutionary dead-ends'. Mayrose *et al.* (2011) also refer to polyploids as 'dead-ends'. However, these authors use 'evolutionary dead-end' in a sense that differs from the traditional view of Stebbins (1950) and Wagner (1970). Whereas Stebbins

Mají polyploidní linie vyšší rychlost diverzifikace?

- Landis et al. (2018):
 - ohromný datový soubor (106 WGDs, fylogeneze 32 tis. druhů)
 - tři různé statistické přístupy (MEDUSA, BAMM, MuSSE)
 - jen 13 WGDs vedlo přímo k radiaci, častěji po lag-fázi (28 WGDs)

TABLE 2. The 13 WGD events that are simultaneously associated with an upshift in diversification, including the type species for the event and the change in diversification rate.

Event	Type Species	Shift Rate
	Magnoliids	
CANEa	<i>Canella winterana</i> (L.) Gaertn.	+0.02
	Proteales	
HAKa	<i>Hakea prostrata</i> R.Br.	+0.65
	Caryophyllales	
ALINβ	<i>Allionia incarnata</i> L.	+0.04
POCNa	<i>Polygonum convolvulus</i> L.	+0.02
	Saxifragales	
SASTβ	<i>Saxifraga stolonifera</i> Curtis	+0.07
	Asterids	
XASTβ	<i>Xanthium strumarium</i> L.	+0.15
	Rosids	
SYMla	<i>Syzygium micranthum</i> (Montrouz. ex Guillaumin)	+0.05
ARTHa	<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	+0.31
PHYLα	<i>Phyllanthus</i> sp.	+0.50
BRNla	<i>Brassica nigra</i> (L.) W.D.J.Koch	+0.59
	Monocots	
ORSAa	<i>Oryza sativa</i> L.	+0.13
SALAc	<i>Sagittaria latifolia</i> Willd.	+0.03
ORSAy	<i>Oryza sativa</i> L.	+0.01

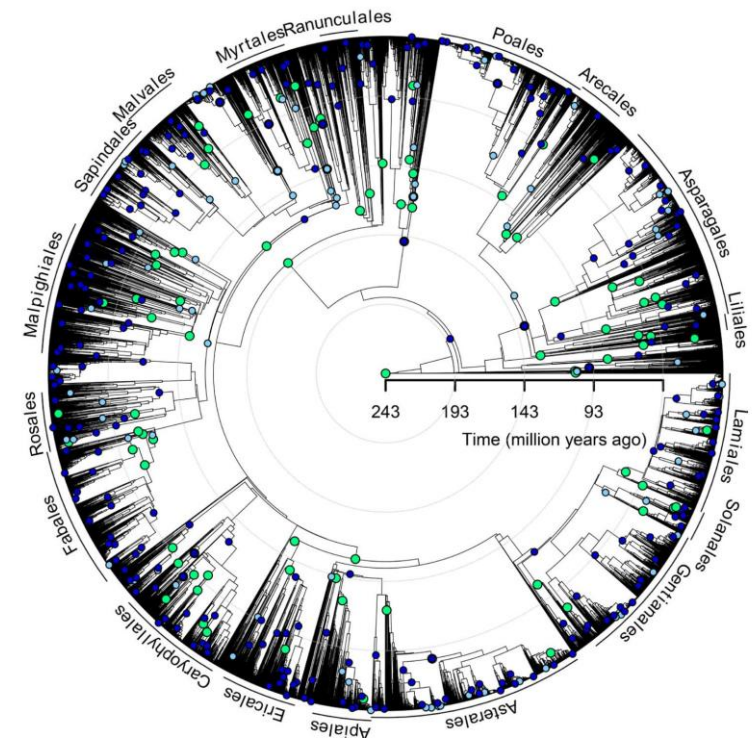
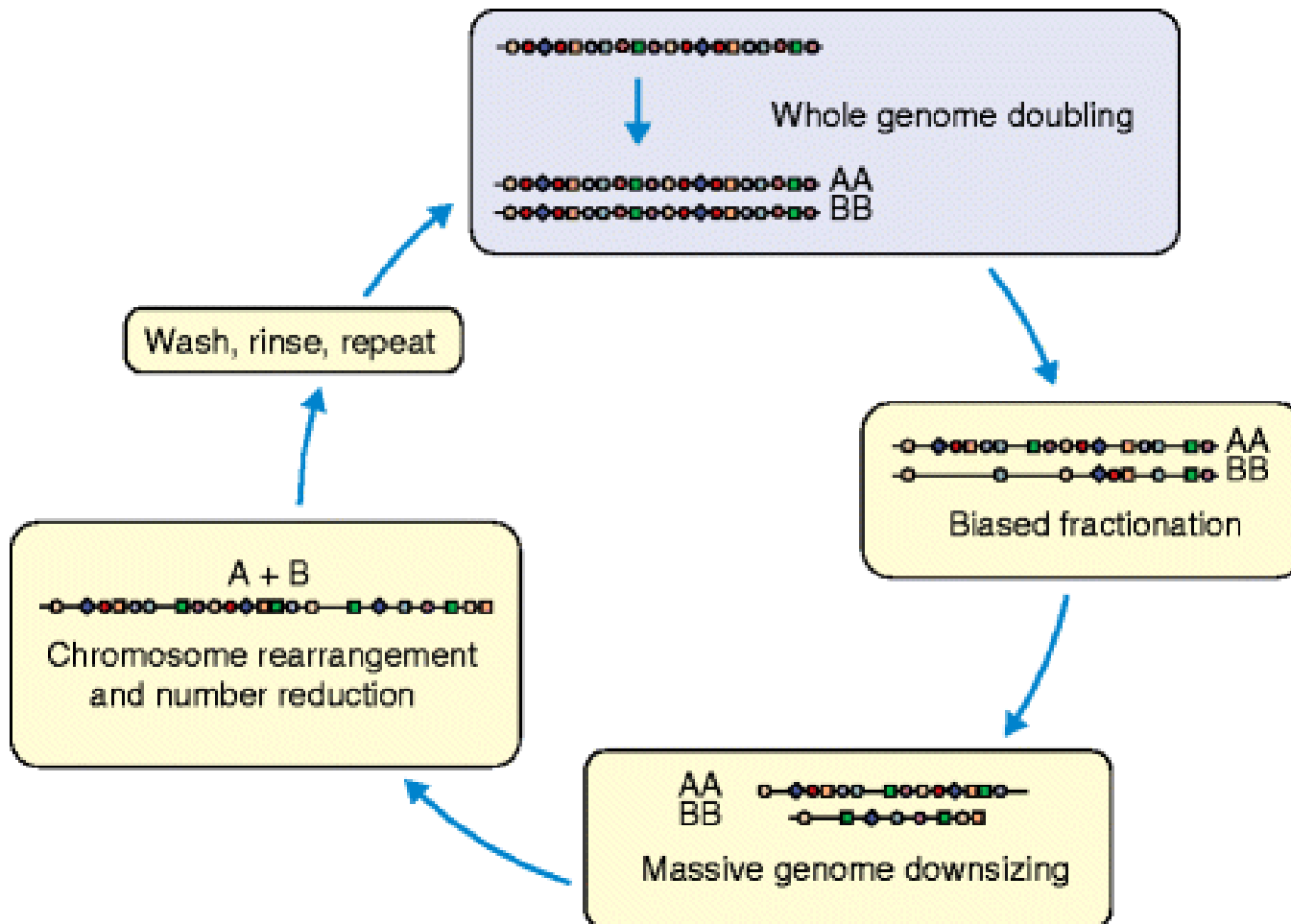


FIGURE 2. Angiosperm-only phylogeny showing 106 whole-genome duplication events (green dots), 251 diversification rate upshifts (dark blue dots), and 83 diversification rate downshifts (light blue dots) from the MEDUSA analysis.

Kam směřuje evoluce polyploidních genomů?

- po WGD následuje návrat k „diploidnímu stavu“ - **diploidizace**

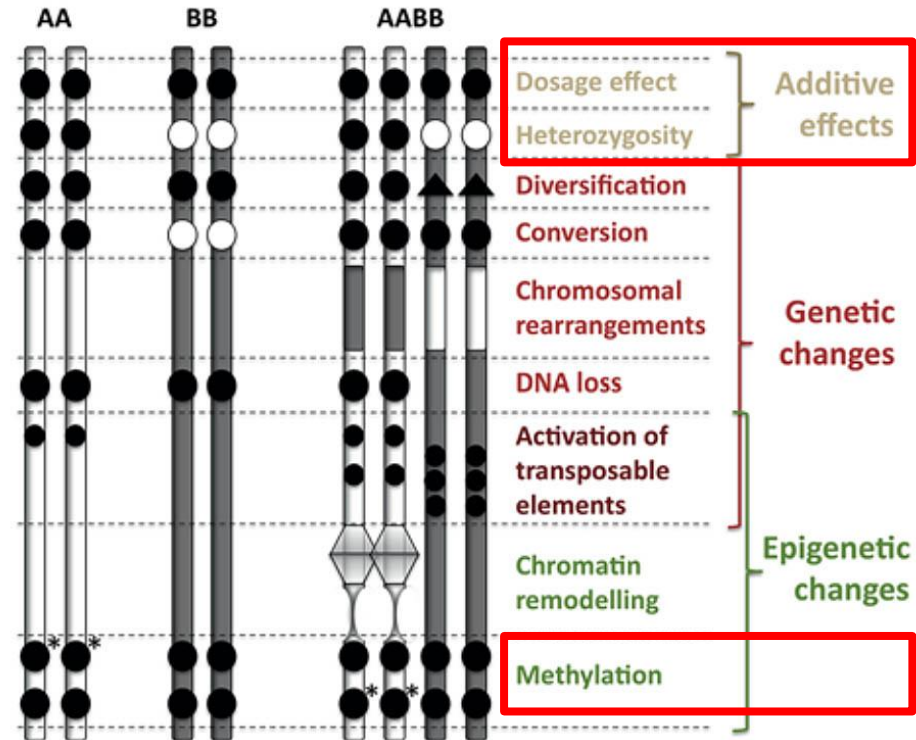


Co se děje s polyploidními genomy?

- některé změny během pár generací, jiné po miliony let

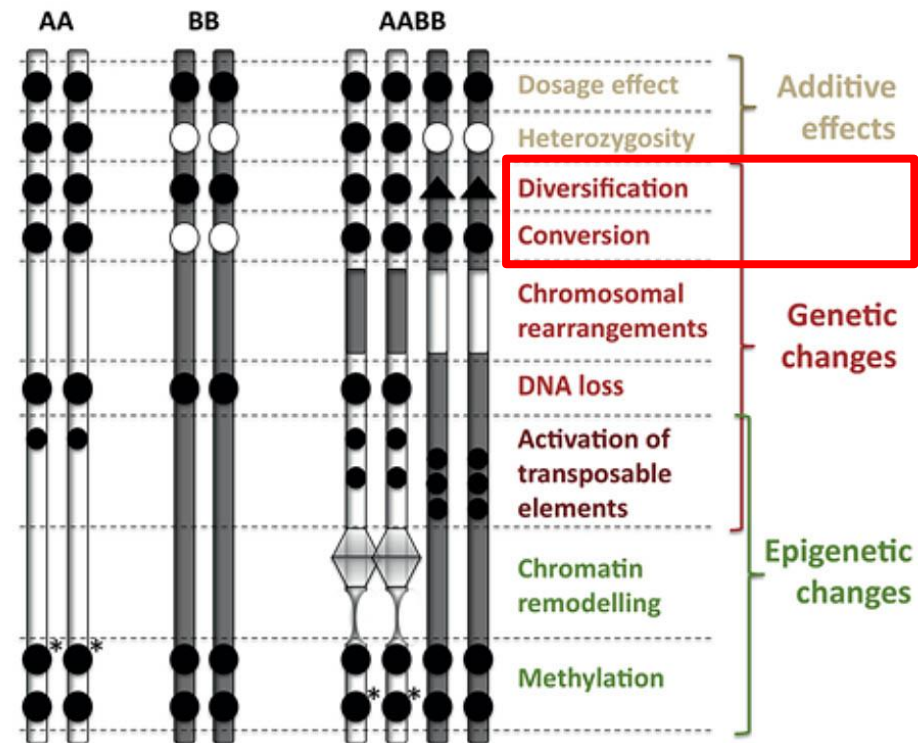
- **častý scénář:**

- bezprostřední vliv zvýšené genové doze a heterozygoty
- možné konflikty mezi rodičovskými genomy, které je třeba vyřešit → např. regulace exprese prostřednictvím DNA metylace



Co se děje s polyploidními genomy?

- některé změny během pár generací, jiné po miliony let
- častý scénář:
 - nadbytečné kopie genů:
 - **ztráta** (důležité geny se častěji vrací k jediné kopii)
 - **konverze** alel
 - **neofunctionalization**
 - **subfunctionalization**

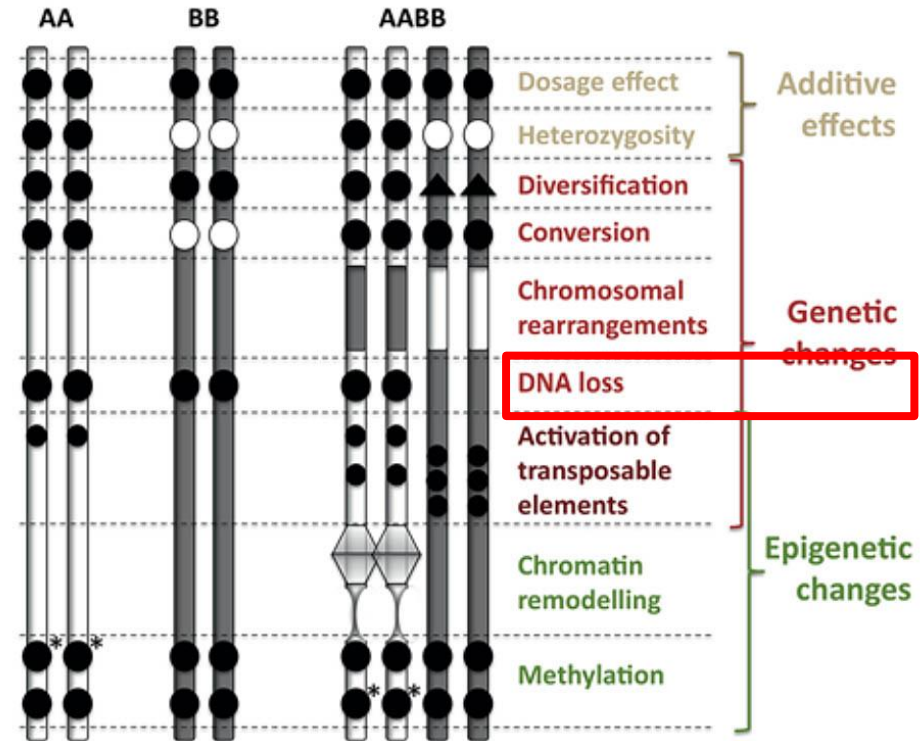
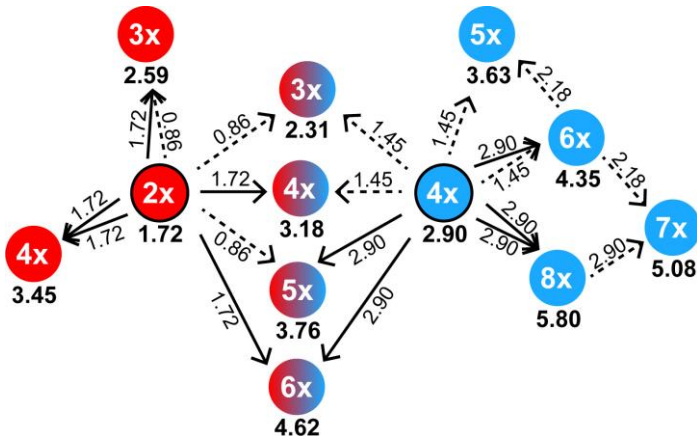


Co se děje s polyploidními genomy?

- některé změny během pár generací, jiné po miliony let

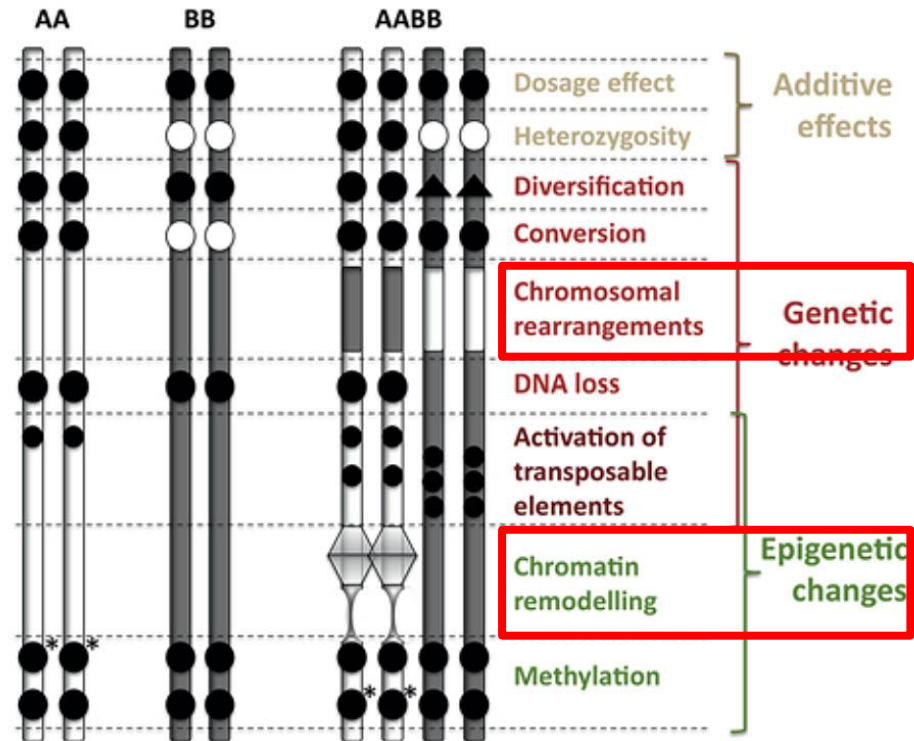
- **častý scénář:**

- rychlá ztráta DNA → tzv. **genome downsizing**
- u auto- i allopolyploidů, projevuje se snížením Cx hodnoty



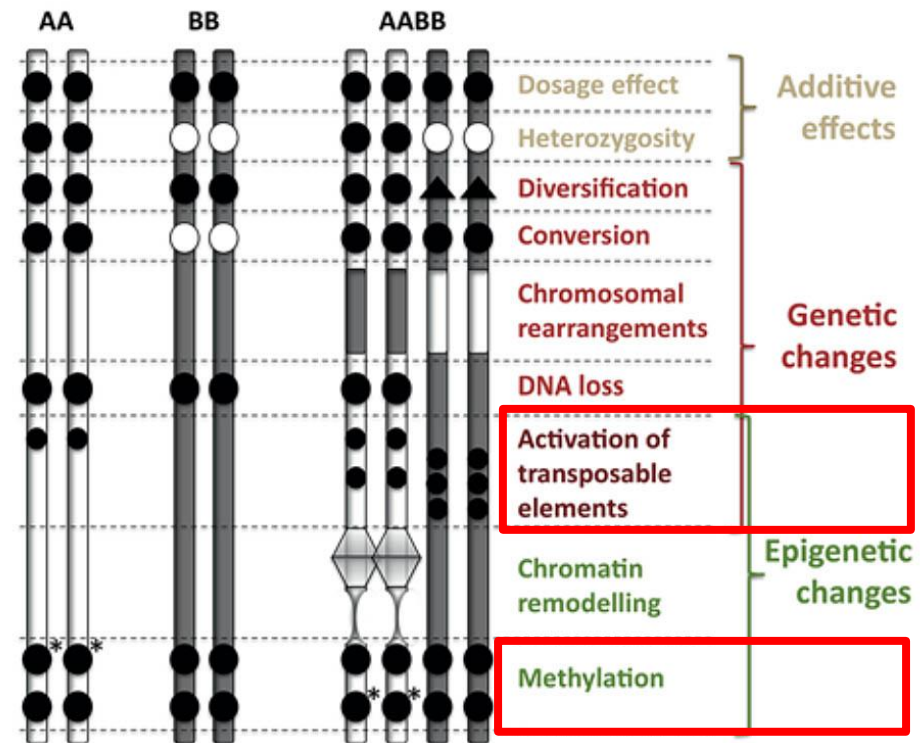
Co se děje s polyploidními genomy?

- některé změny během pár generací, jiné po miliony let
- častý scénář:
 - chromozomové přestavby:
 - menší separace rodičovských subgenomů u allopolyploidů
 - postupem času i snížení celkového počtu chromozomů (návrat k „diploidnímu stavu“)



Co se děje s polyploidními genomy?

- některé změny během pár generací, jiné po miliony let
- častý scénář:
 - WGD často pustí z řetězu **transposabilní elementy**
 - běžné umlčení TE v jednom z rodičovských subgenomů, nárůst početnosti nějaké rodiny TE
 - mohou se podílet na diploidizaci, protože ovlivňují metylací expresi genů ve svém okolí



Literatura:

- **Arrigo N, Barker MS. (2012)** Rarely successful polyploids and their legacy in plant genomes. *Current Opinion in Plant Biology*, 15: 140–146.
- **Buggs RJA, Pannell JR (2006)**. Rapid displacement of a monoecious plant lineage is due to pollen swamping by a dioecious relative. *Curr Biol* 16: 996–1000.
- **Čertner, M., Fenclová, E., Kúr, P., Kolář, F., Koutecký, P., Krahulcová, A., & Suda, J. (2017)**. Evolutionary dynamics of mixed-ploidy populations in an annual herb: Dispersal, local persistence and recurrent origins of polyploids. *Annals of Botany*, 120, 303–315.
- **Hülber, K. et al. (2015)** Ecological differentiation, lack of hybrids involving diploids, and asymmetric gene flow between polyploids in narrow contact zones of *Senecio carniolicus* (syn. *Jacobaea carniolica*, Asteraceae). *Ecol. Evol.*, 5: 1224–1234.
- **Keeler, KH. (2004)** Impact of intraspecific polyploidy in *Andropogon gerardii* (Poaceae) populations. *The American Midland Naturalist*, 152: 63–74.
- **Kolář, F., Čertner, M., Suda, J., Schönswetter, P. & Husband, B. C. (2017)**: Mixed-ploidy species: Progress and opportunities in polyploid research – *Trends in Plant Science*, 22(12): 1041-1055.
- **Landis JB, DE Soltis, Z Li, HE Marx, MS Barker, DC Tank, PS Soltis (2018)** Impact of whole-genome duplication events on diversification rates in angiosperms. *Am J Bot*, 105: 348–363.
- **Mayrose I, Zhan SH, Rothfels CJ, Magnuson-Ford K, Barker MS, Rieseberg LH, Otto SP. (2011)** Recently formed polyploid plants diversify at lower rates. *Science*, 333: 1257.
- **Petit C, Lesbros P, Xuejun G, Thompson JD. (1997)** Variation in flowering phenology and selfing rate across a contact zone between diploid and tetraploid *Arrhenatherum elatius* (Poaceae). *Journal of Heredity*, 79: 31–40.
- **Ramsey J, Schemske DW. (1998)** Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 467–501.
- **Schatlowski N. & Köhler C. (2012)** Tearing down barriers: Understanding the molecular mechanisms of interploidy hybridizations. *Journal of Experimental Botany*, 63(17): 6059–6067.
- **Soltis DE, Albert VA, Leebens-Mack J, Bell CD, Paterson AH, et al. (2009)** Polyploidy and angiosperm diversification. *Am J Bot*, 96: 336–348.

Literatura:

- **Soltis** DE, MC Segovia-Salcedo, I Jordon-Thaden, L Majure, NM Miles, EV Mavrodiev, W Mei, MB Cortez, PS Soltis, MA Gitzendanner (2014) Are polyploids really evolutionary dead-ends (again)? A critical reappraisal of Mayrose et al. (2011). *New Phytol*, 202: 1105–1117.
- **Sonnleitner** M, Hülber K, Flatscher R, García PE, Winkler M, Suda J, Schönswetter P, Schneeweiss GM. (2016) Ecological differentiation of diploid and polyploid cytotypes of *Senecio carniolicus* sensu lato (Asteraceae) is stronger in areas of sympatry. *Annals of Botany*, 117: 269–276.
- **Stoute** AI, Varenko V, King GJ, Scott RJ, Kurup S (2012) Parental genome imbalance in *Brassica oleracea* causes asymmetric triploid block. *Plant J*, 71: 503–516.
- **Sutherland**, BL. & **Galloway**, LF. (2016) Postzygotic isolation varies by ploidy level within a polyploid complex. *New Phytologist*, 213: 404–412.
- **Tayalé** A. & **Parisod** C. (2013) Natural pathways to polyploidy in plants and consequences for genome reorganization. *Cytogenetic and Genome Research*, 140: 79–96.
- **Van Dijk** PJ, **Bijlsma** R (1994) Simulations of flowering time displacement between two cytotypes that form inviable hybrids. *Heredity*, 72: 522–535.
- **Wendel** JF, Jackson SA, Meyers BC and Wing RA. (2016) Evolution of plant genome architecture. *Genome Biol.*, 17: 37.
- **Wood** TE, Takebayashi N, Barker MS, Mayrose I, Greenspoon PB, Rieseberg L. (2009) The frequency of polyploid speciation in vascular plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 106: 13875–13979.