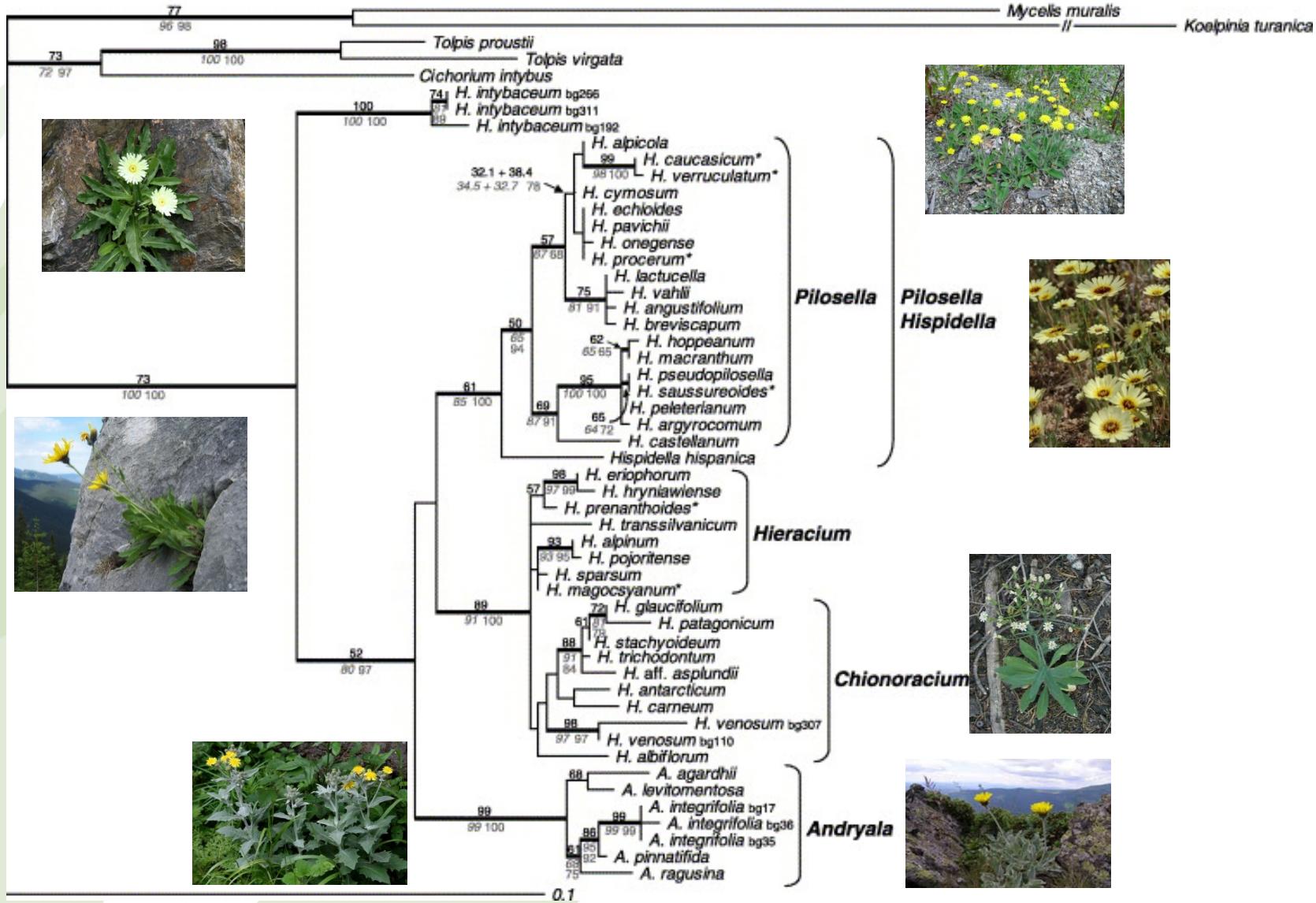


# Tribus Hieraciinae

internal transcribed spacer



# Tribus *Hieraciinae*

## Results

Chloroplast markers revealed the existence of two divergent haplotype groups within the subgenus *Pilosella* that did not correspond to presumed relationships. Furthermore, chloroplast haplotypes of the genera *Hispidella* and *Andryala* nested each within one of these groups.

In contrast, ITS data were generally in accord with morphology and other evidence and were therefore assumed to reflect the true phylogeny. They revealed a sister relationship between *Pilosella* and *Hispidella* and a joint clade of *Hieracium* subgenera *Hieracium* and *Chionoracium* (*Stenotheca*) while genus *Andryala* represented a third major lineage of the final ingroup cluster.

## Conclusions

*Pilosella* should be treated as a separate genus, American species of *Chionoracium* should be a part of *Hieracium* s.str.

# *Hieracium*

## základní charakteristiky

vytrvalé bylinky

650 – 8000 druhů

mírné pásmo Evropy, Asie, Severní Amerika, pohoří střední a Jižní Ameriky

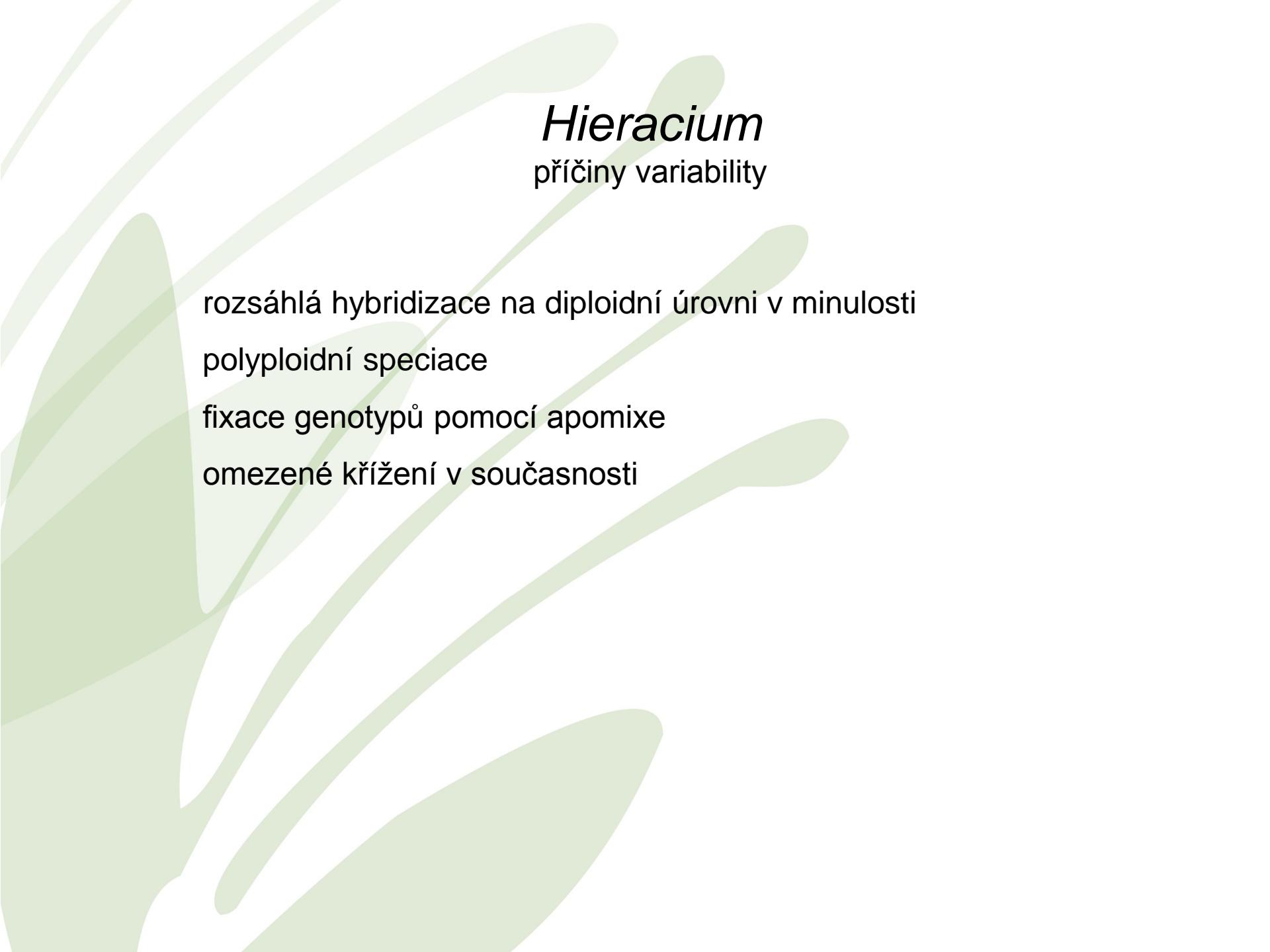
hlavní centra diverzity v evropských pohořích a pohořích střední a Jižní Ameriky

málo diploidních druhů, většina polyploidi (tri- a tetraploidi, vzácně pentaploidi)

vazba reprodukčního způsobu a plodie – diploidi výhradně sexuální, polyploidi apomikti

# *Hieracium*

## příčiny variability



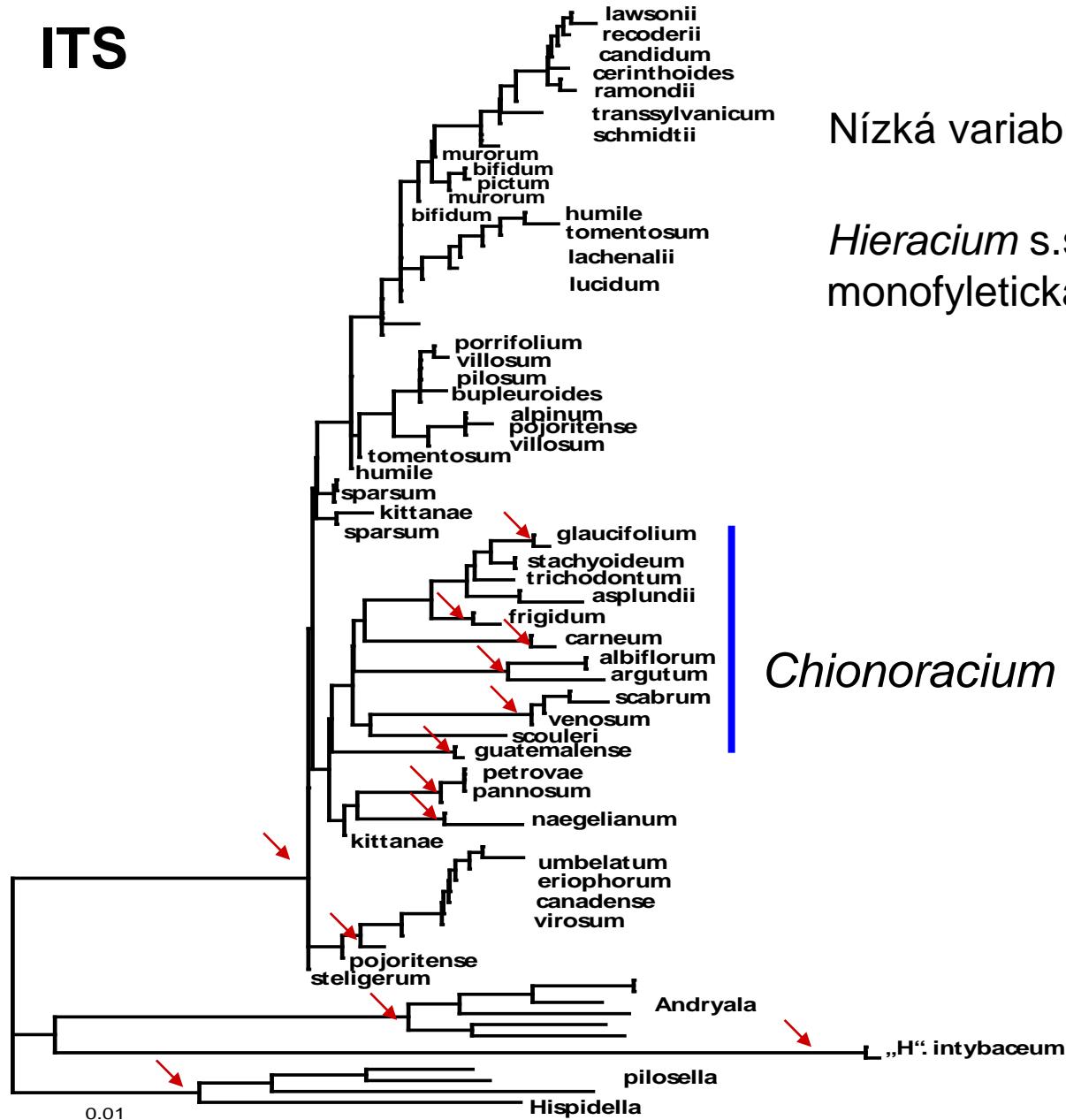
rozsáhlá hybridizace na diploidní úrovni v minulosti  
polyploidní speciace  
fixace genotypů pomocí apomixe  
omezené křížení v současnosti

# *Hieracium*

## Hlavní cíle a otázky

- 1) Objasnit fylogenetické vztahy
- 2) Zjistit hlavní evoluční mechanismy, reprodukční mechanismy
- 3) Posoudit rozsah a evoluční význam hybridizace v minulosti i současnosti
- 4) Přispět k poznání faktorů a mechanismů způsobujících přechod k apomiktickému způsobu rozmnožování

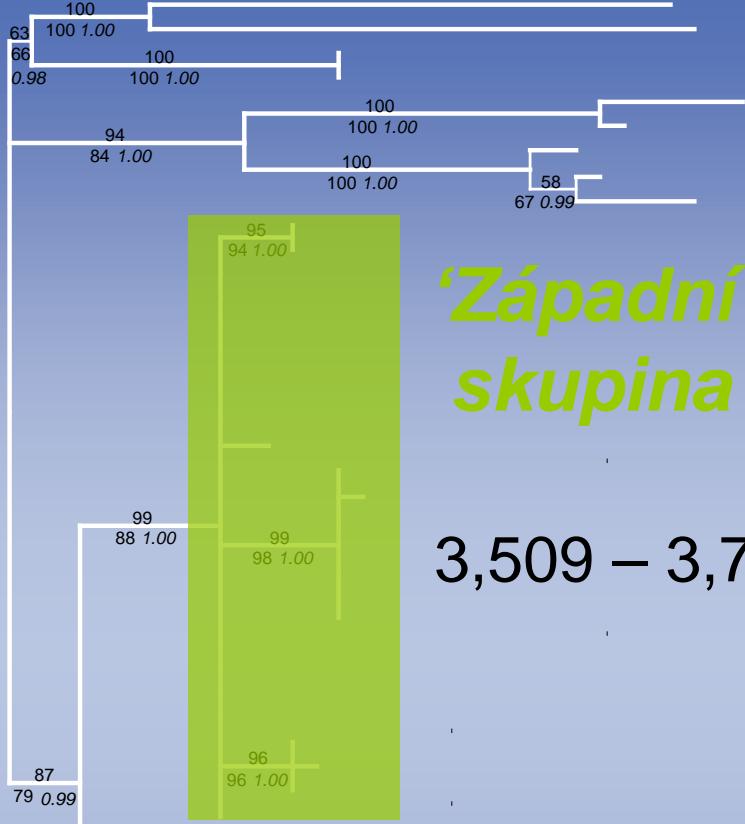
ITS



Nízká variabilita

*Hieracium* s.str./*Chionoracium*  
monofyletická skupina

ETS



3,509 – 3,758 pg (1C)

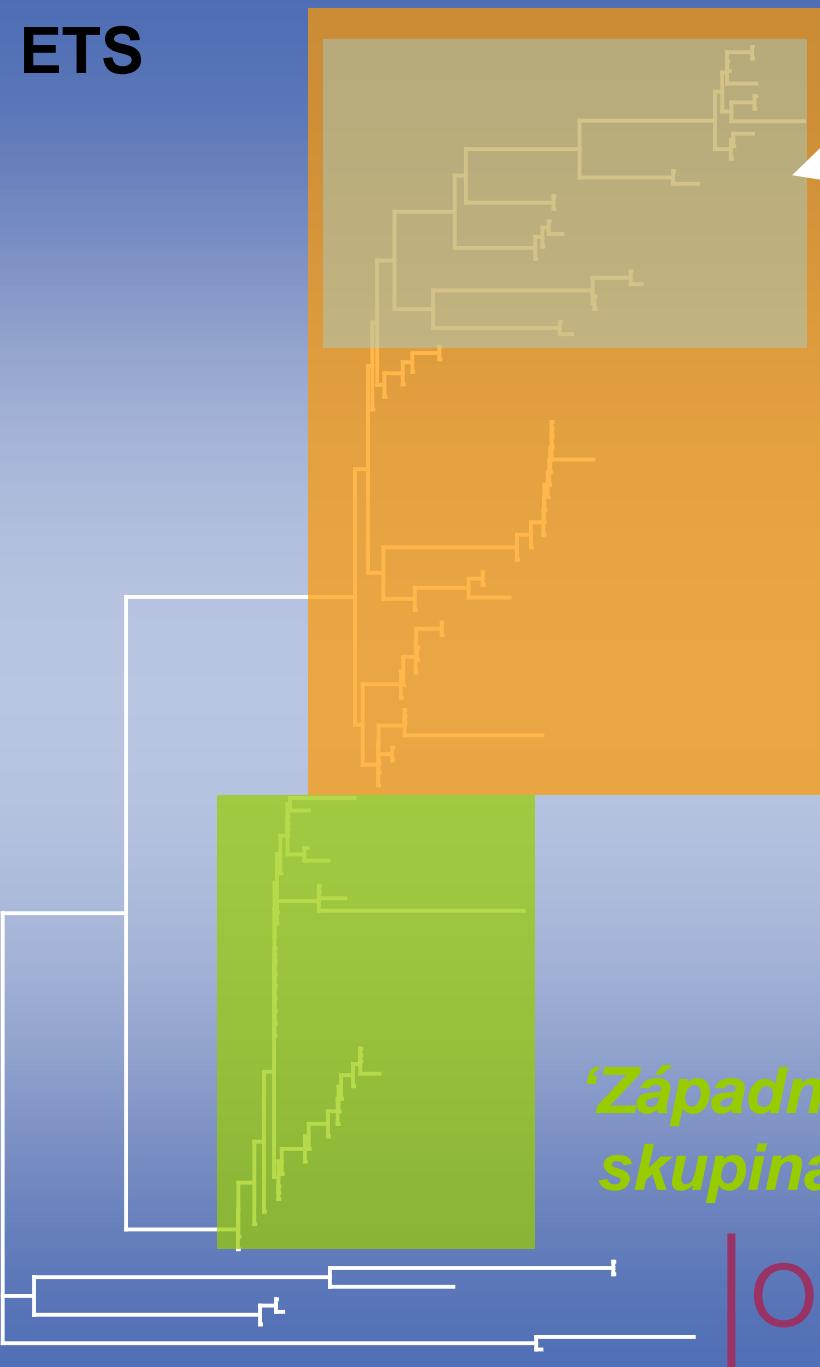
# **‘Východní’ skupina**

3,631 – 4,343 pg (1C)

# Korelace:

- rozšíření druhů
  - velikost genomu

# *Chionoracium*



'Východní  
skupina'

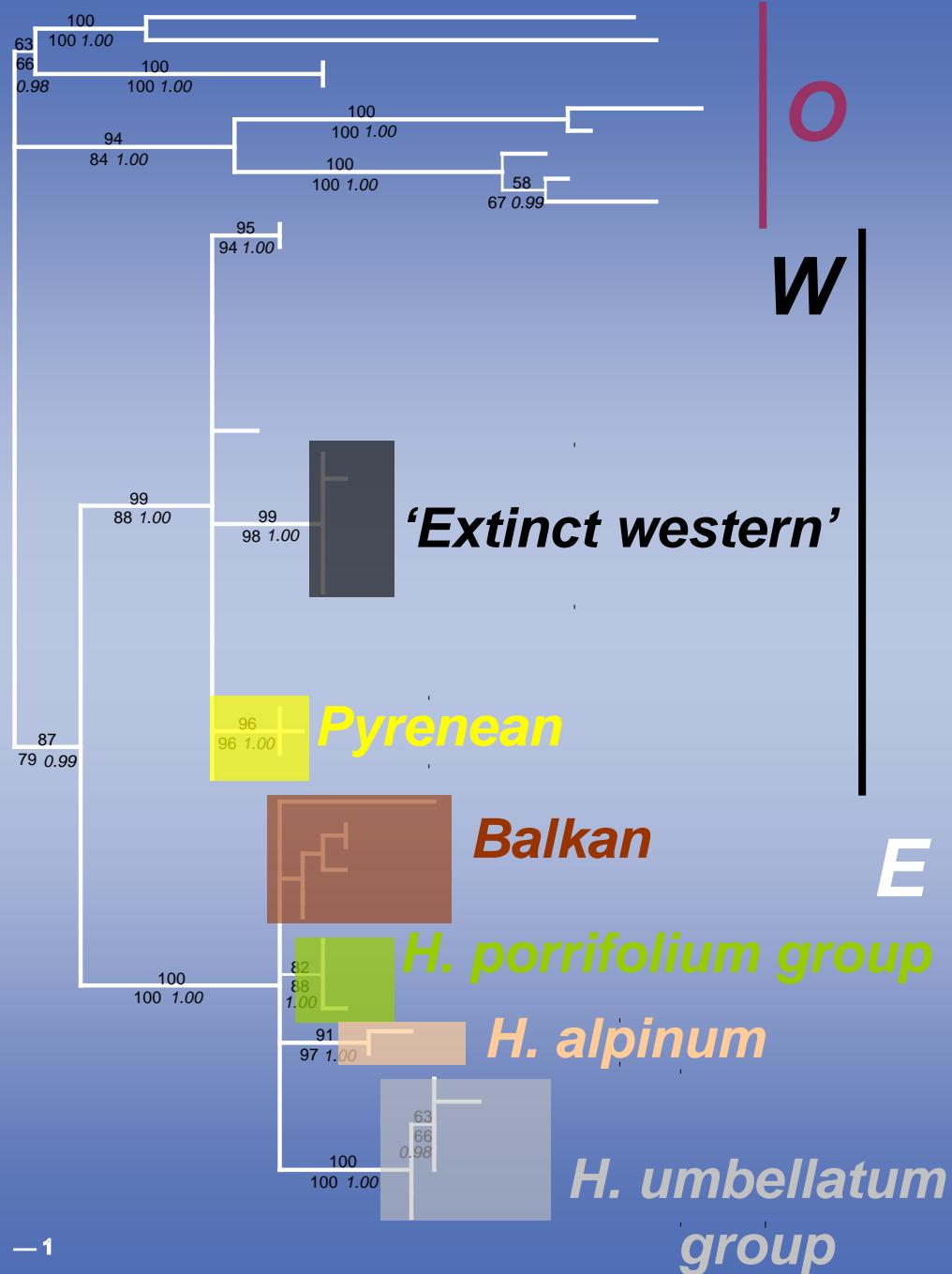
Není monofyletická

Odvozené od Východní  
skupiny

'Západní  
skupina'

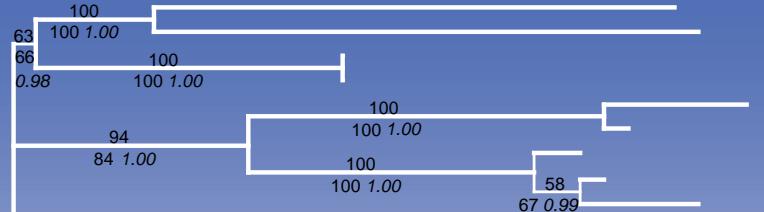
Vícenásobný vznik/kolonizace  
Ameriky (možní obě cesty)

ETS

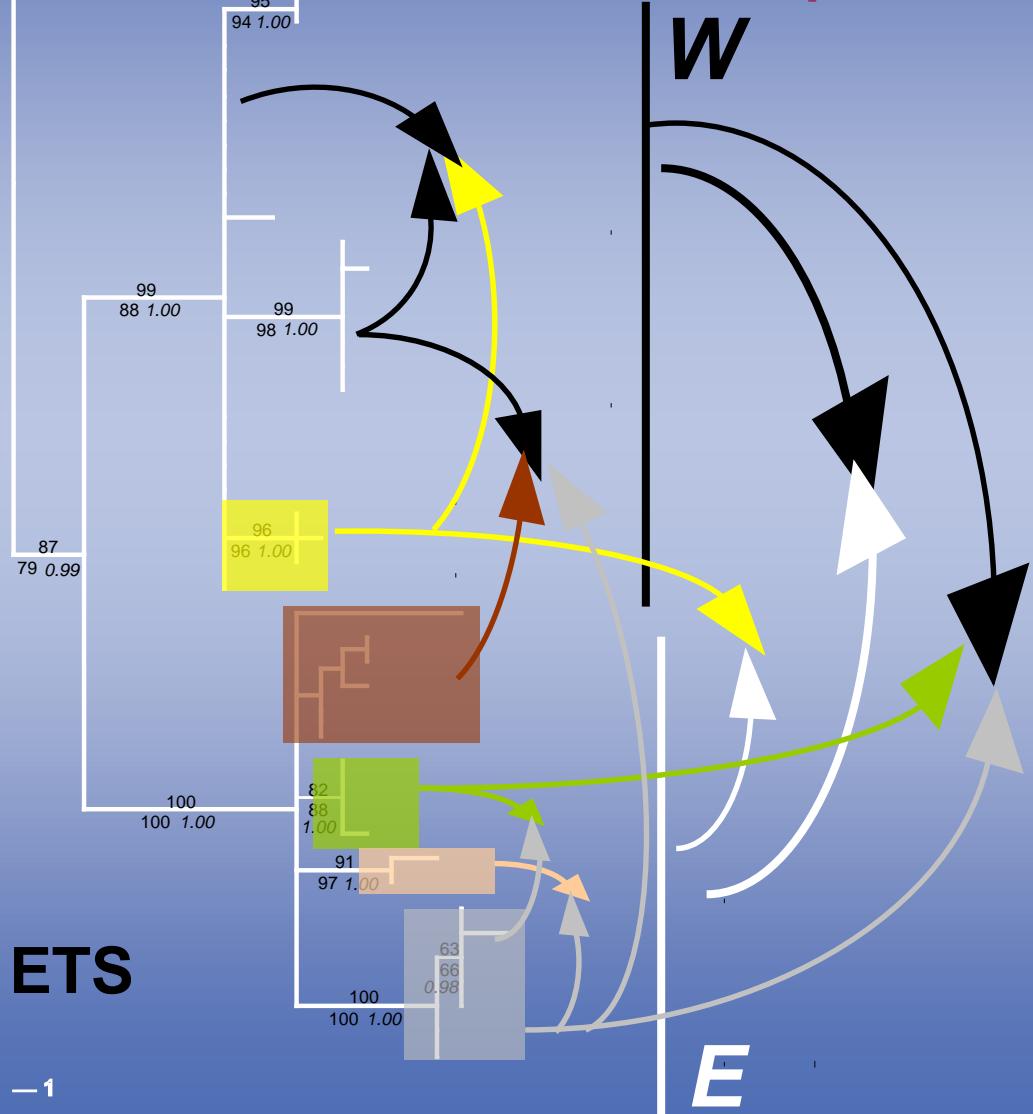


# Hybridizace

O



W



V rámci/mezi hlavními skupinami

Také diploidi hybridního původu

Aditivita nukleotidových bází v přímých sekvencích

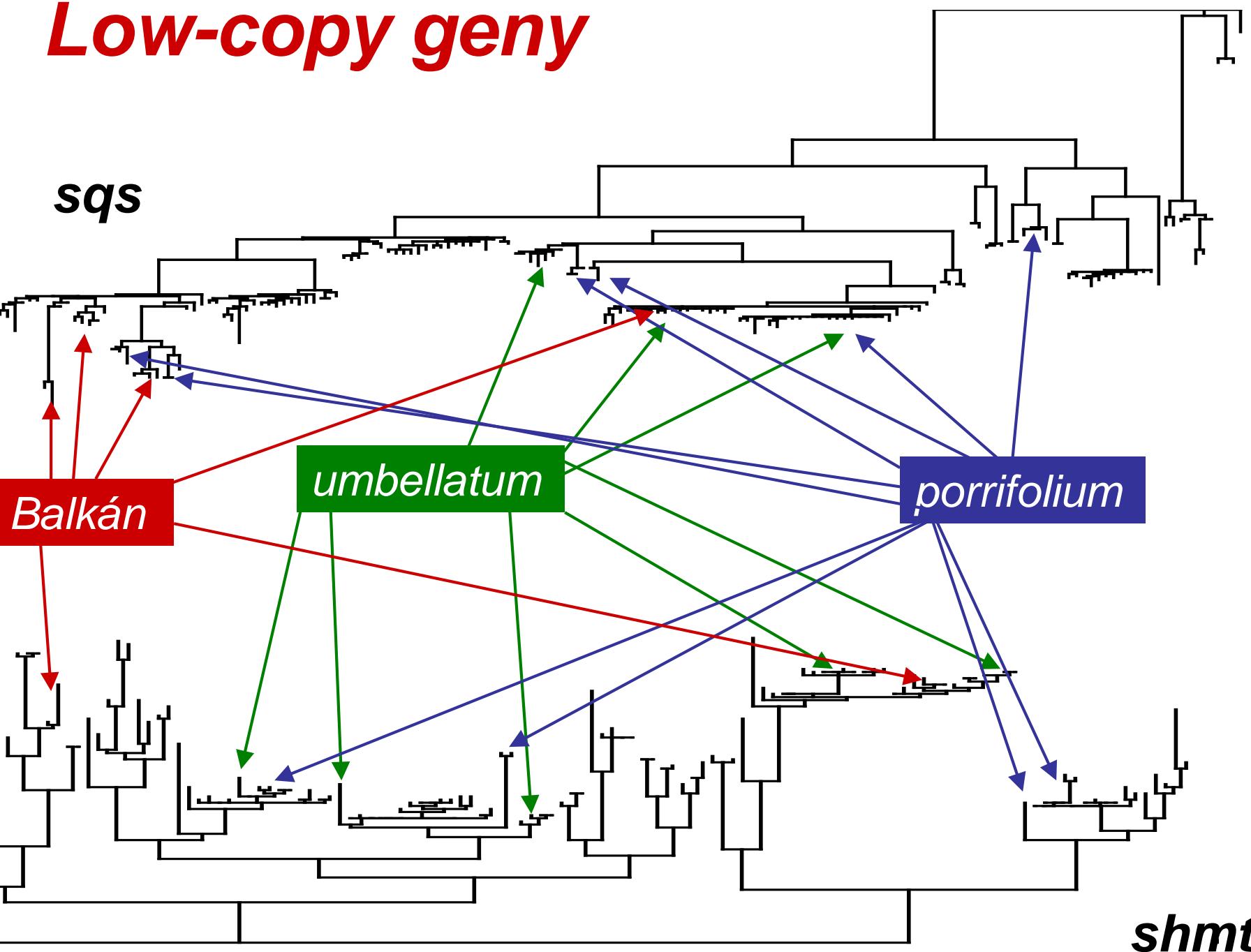
Klonování

Chloroplast capture

ETS

# Low-copy geny

sqs



# Fylogeneze shrnutí

- *Fylogeneze*

- ETS – nejlepší rekonstrukce vztahů mezi taxony
- vysoká intraindividuální variabilita
- low-copy geny – informace o původu konkrétních taxonů
- různé markery – incongruence výsledků

- *Chionoracium*

- pochází z ‘Východní’ skupiny

- *Hybridizace*

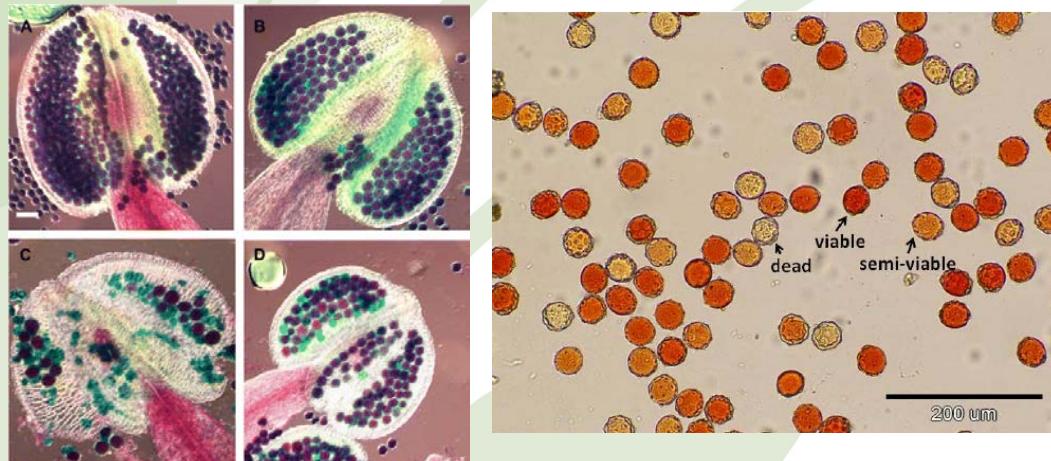
- ve vyšší míře než se čekalo
- i někteří diploidi jsou hybridního původu

# Máme fylogenezi, a co dál...? Hlavní evoluční mechanismy

Hybridizace – určitě dřív, ale jak v současnosti když je diploidů tak málo...? A mohou se na křížení nějak podílet i vyšší apomiktické ploidie když občas tvoří životaschopný pyl (testy TTC, fluorescein, Alexandrovo barvení)

Polyploidní speciace – určitě

Alopatická diferenciace/speciace – nejspíš jo



# Máme fylogenezi, a co dál...? Hlavní evoluční mechanismy

## Křížení mezi diploidními druhy



*Hieracium alpinum* (A, 2x), *H. krasanii* (B, 2x) a *H. transylvanicum* (C, 2x) z Černé hory na Podkarpatská Rusi

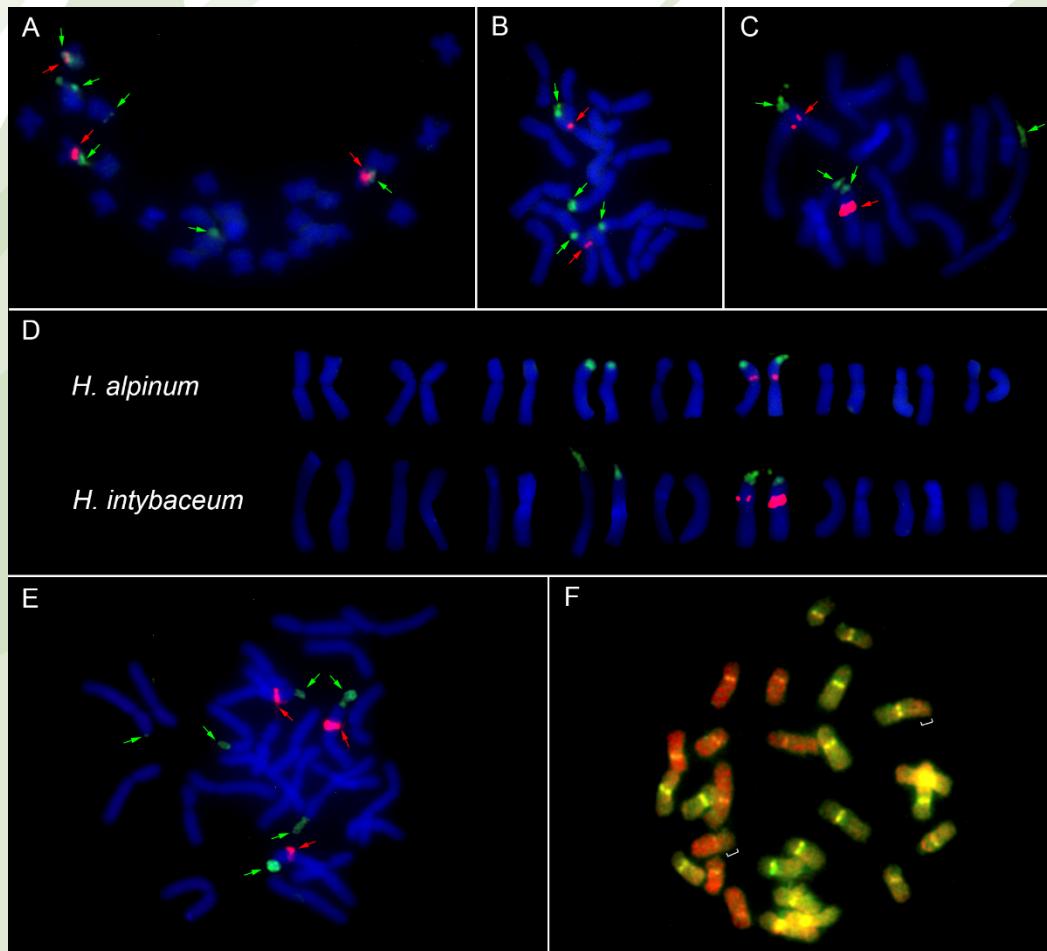
A podařilo se nám získat i další hybridy, např. mezi *H. prenathoides* a *H. intybaceum*, vždy ale diploidní a nepodařilo se nám je polyploidizovat

V přírodě dále např. hybridy mezi *H. alpinum* a *H. umbellatum*, a asi i mezi diploidními pyrenejskými druhy

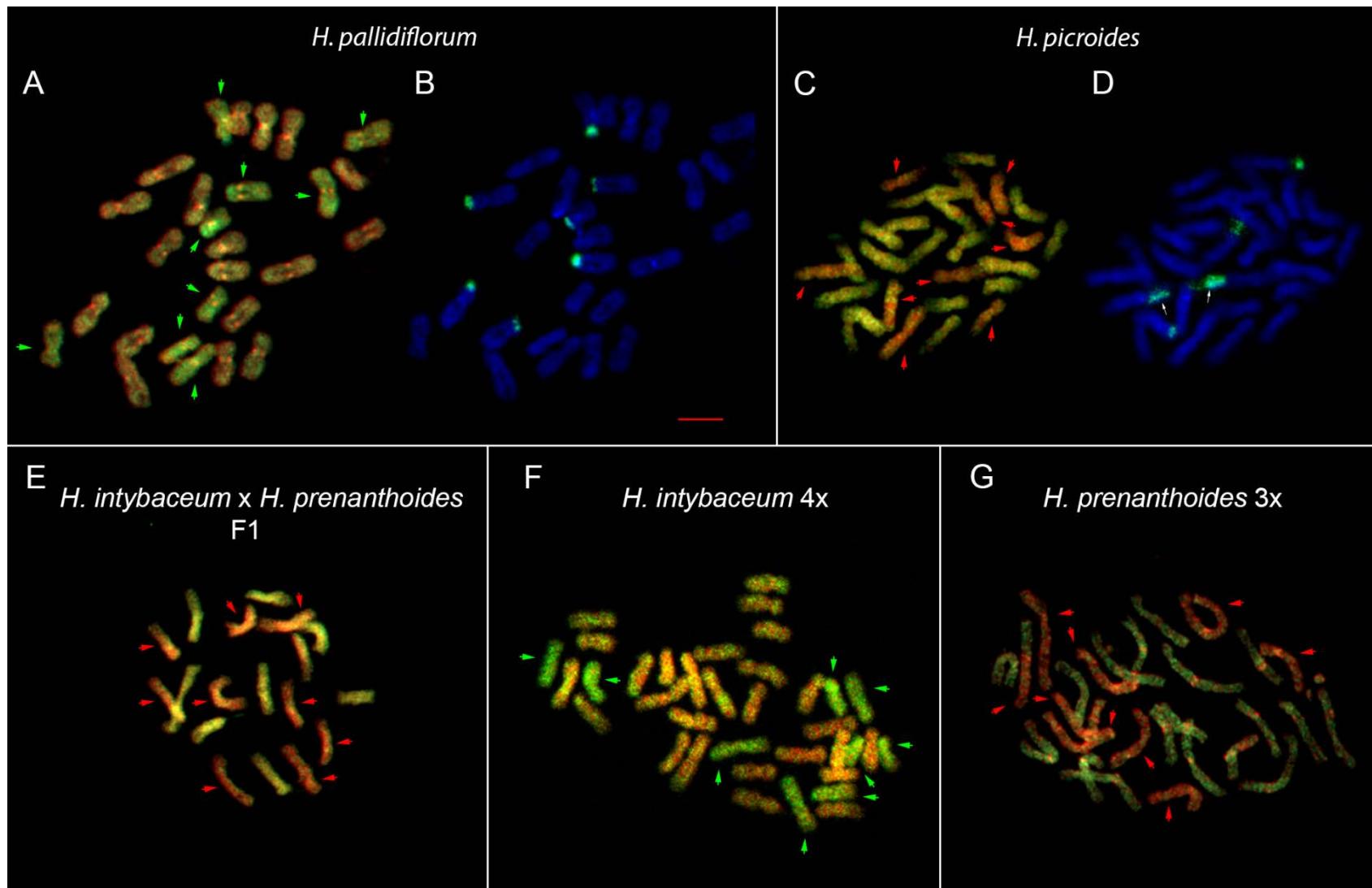
Mohou se ale křížit i pyl produkovující tetraploidi s diploidy (např. tetraploidní apomikt *H. decipiens* s diploidním *H. alpinum*). Obráceně to nejde – precocious embryos.

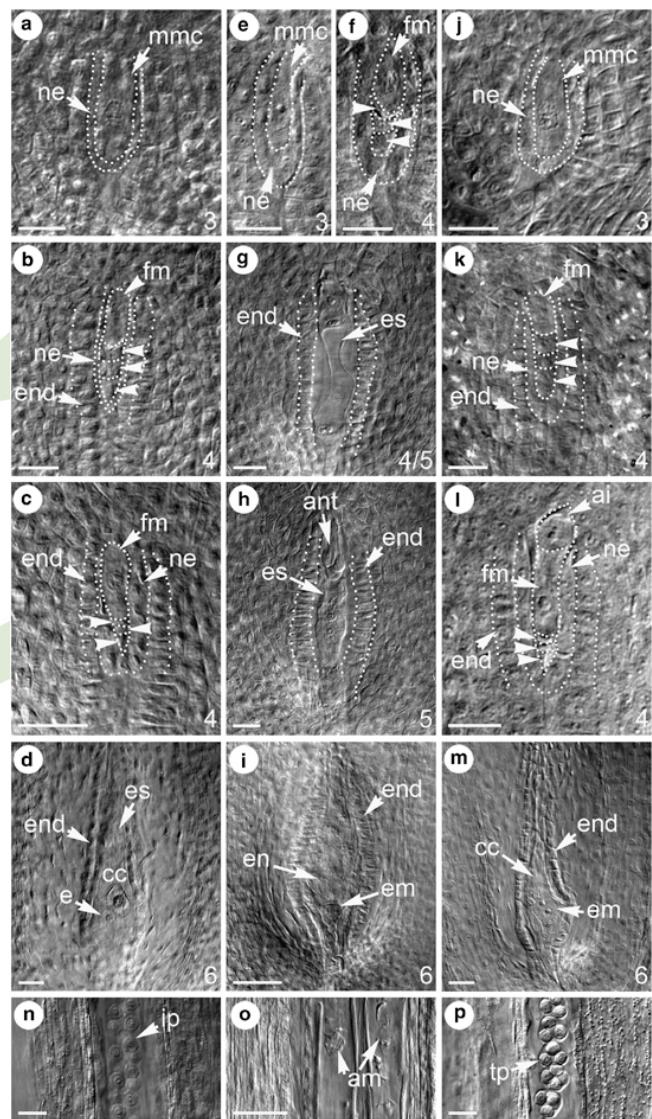
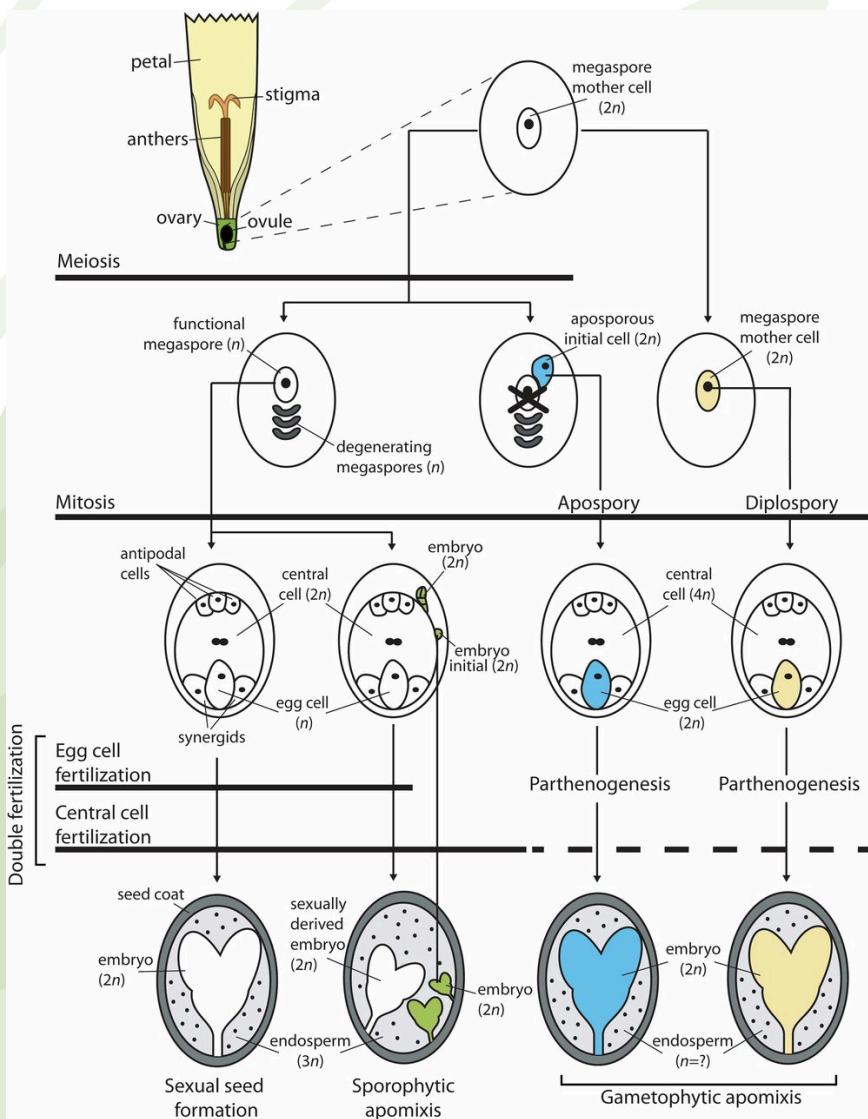
# Jak ale poznáme rodiče u hybridogenních typů?

- většinou to nejde křížením, rodičovské druhy jsou většinou apomikti
- zbývají molekulární markery nebo cytogenetika



*Hieracium alpinum* ( $2n = 18$ ), *H. intybaceum* ( $2n = 18$ ) a hybridogenní *H. halleri* ( $2n = 27$ ), FISH, GISH





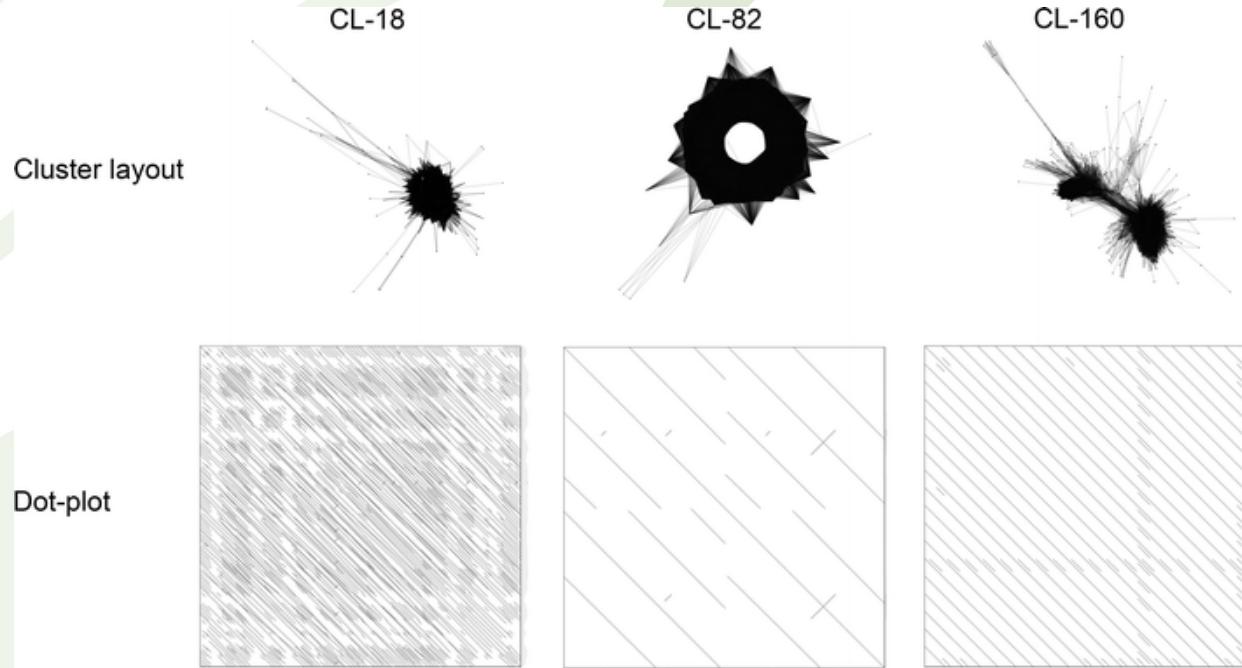
Zbytková sexualita u Hieracium s.str.... ale co s tím?

# Mapping of chromosomes with genus-specific satDNA elements derived from next-generation sequencing data

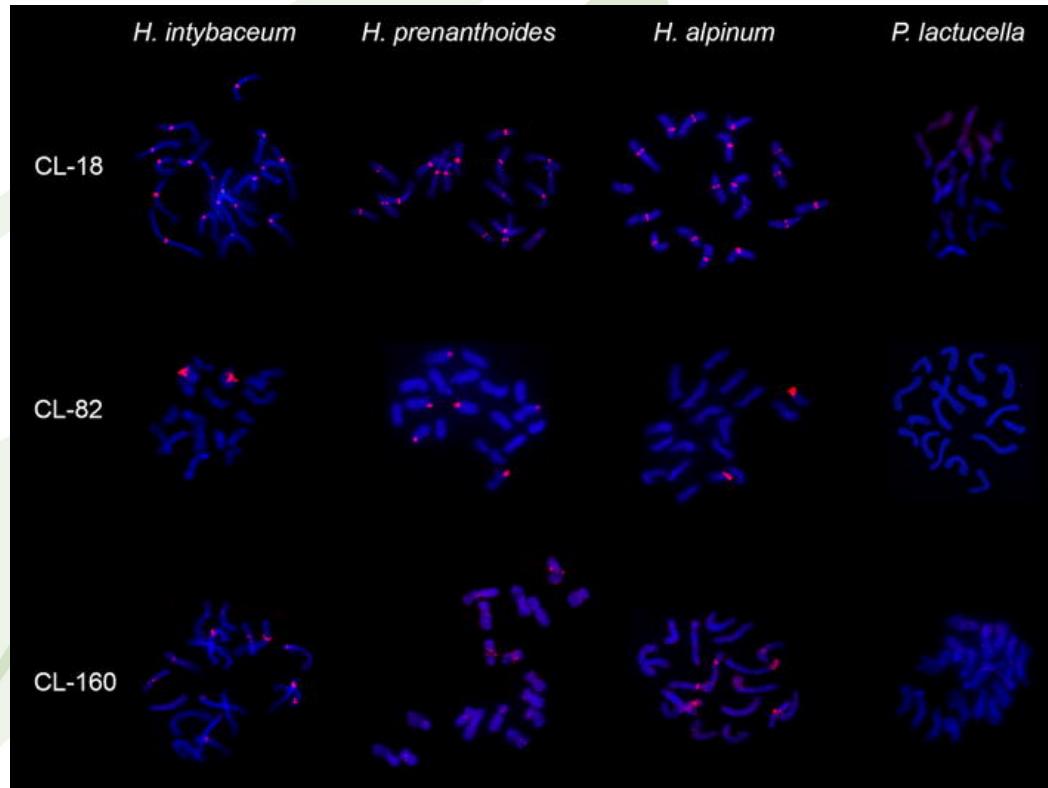
## Background and aims

The highly repetitive DNA fraction of the eukaryotic genome is considered a mobile, rapidly changing entity, thus reflecting trajectories of short-term evolutionary change. It consists of several large classes in which transposable elements and satellite DNA (satDNA) predominate.

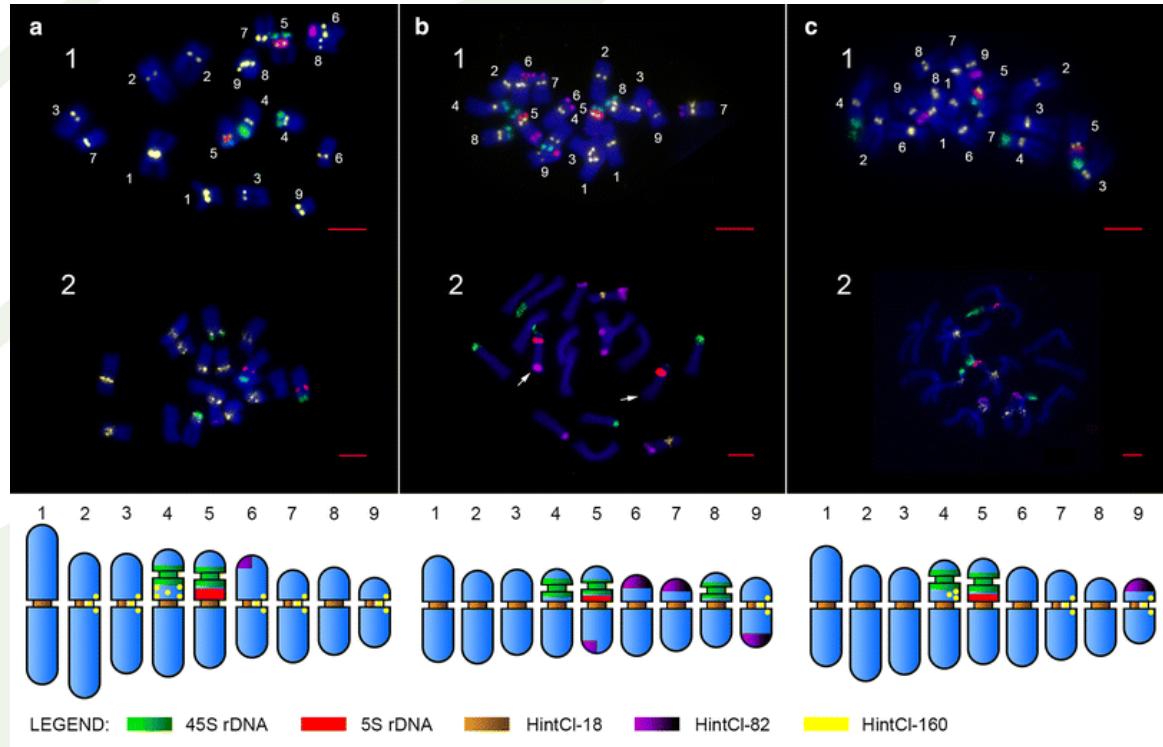
Here, we applied satDNA repeatome elements derived from NGS data as probes for fluorescence in situ hybridization to characterize the karyotypes of three diploid hawkweed species of the predominantly polyploid apomictic genus *Hieracium*, namely *H. intybaceum*, *H. prenanthoides* and *H. alpinum*.



RepeatExplorer analysis of NGS data in *Hieracium*. Cluster layouts that are typical for tandem repeats are shown in the top row, and self-to-self comparisons of the contigs displayed as dot plots (YASS program output, bottom row) where parallel lines also indicate tandem repeats (the distance between the diagonals equals the lengths of the motifs)



Chromosomal distribution of three satDNA elements (HintCI-18, HintCI-82 and HintCI-160) that were discovered in the genomes of *Hieracium intybaceum*, *H. prenanthoides* and *H. alpinum* and absent in *Pilosella lactucella*



Multi-FISH with 5S rDNA (red pseudocolor), 45S rDNA (green pseudocolor) and three satDNA elements, i.e., HintCI-18 (yellow pseudocolor on a1, b1 and c1), HintCI-82 (purple pseudocolor) and HintCI-160 (yellow pseudocolor on a2, b2, and c2) in the somatic chromosomes of *Hieracium intybaceum*, *H. prenanthoides* and *H. alpinum*.

Several chromosomes showed unique combinations of FISH chromosomal markers. This was the case in chromosomes 4, 5 and 6 of *H. intybaceum*; 4–9 of *H. prenanthoides*; and 4, 5 and 9 of *H. alpinum*.

# Mapping of chromosomes with genus-specific satDNA elements derived from next-generation sequencing data

## Results

Three cluster-distributed, genus-specific satDNA elements that are not present in the sister genus *Pilosella* were identified; notably, one element spans the functional centromeres.

Each of the investigated diploids possessed a species-specific assortment of detected repeats. Their utilization as molecular-cytogenetic markers, in combination with ribosomal DNA loci, allowed for the development of a system to identify the individual chromosomes of the *Hieracium* species.

This provide a basis for the future investigation of karyotype evolution in diploid hawkweeds and for exploring satDNA dynamics in hybrids and apomicts of allopolyploid origin.

## Mechanisms underlying the transition from sexual to apomictic reproduction

Hybridization causes genetic instability including a restructuring of the repeatome, the fastest evolving part of plant genomes. Bursts of transposable elements due to hybridization-induced genomic shock may trigger a switch to apomixis.

We use sexual and apomictic parental *Hieracium* species in an extensive breeding program and compare artificial hybrids with natural apomicts of the same parentage as a model of hybrid speciation that may lead to the formation of apomictic lineages.

### Aims

Using sexual/apomictic *Hieracium* species and their natural/artificial hybrids as a model with a combination of NGS, cytogenetics, flow cytometry and embryology, we investigate changes in the repeatome following hybridization and how these may have replaced the sexual by the apomictic pathway.

## Field populations



*H. intybaceum*  
2x sex; 4x apo



*H. pallidiflorum*  
3x, apo



*H. picroides*  
4x, apo



*H. stenoplecum*  
?\*



*H. prenanthoides*  
2x sex; 3x and 4x apo

## Garden crosses



*H. intybaceum*, 2x sex  
(parent 1)



F1 hybrids, 2x



F2 hybrids + backcrosses, all 2x



*H. prenanthoides*, 2x sex  
(parent 2)



*H. intybaceum*, 4x apo  
(parent 3)



F1 hybrids, 3x

\* reported in the literature, but recent localities not known, not included in the present study

# *Hieracium*

## Závěry

S určitou mírou zjednodušení můžeme říci, že evoluční procesy probíhající v současné době u chlupáčků (*Pilosella*) probíhaly v minulosti, možná ne zas až tak dávné, i u jestřábníků.

Evolučně starší diploidní druhy se v minulosti křížily, vznikající hybridní rostliny unikaly ze sterilizy polyploidizací a snad v této fázi docházelo k přechodu na apomiktický způsob rozmnožování.

Rostliny se bez obtíží rozmnožovat a navíc všichni potomci byli geneticky shodní s mateřskou rostlinou. Krajina se tak zřejmě rychle zaplnila množstvím navzájem odlišných a reprodukčně izolovaných apomiktických linií. Následně se ale začala projevovat asi největší evoluční nevýhoda apomiktů – neschopnost přizpůsobovat se změnám vnějšího prostředí – a celková diversita linií se zřejmě snižovala



