

# Návrh témy doktorandského štúdia v odbore **Biológia** so začiatkom štúdia v školskom roku 2024/2025

**Meno školiteľa:** RNDr. Barbora Šingliarová, PhD.

**Pracovisko:** Botanický ústav CBRB SAV, Dúbravská cesta 9, 84523 Bratislava; detašované pracovisko Ďumbierska 1, Banská Bystrica

**Študijný program:** Botanika

**Téma neprístupná pre externé štúdium (len interné štúdium)**

**Téma pre:** PriF UK

## **Téma dizertačnej práce slovensky/anglicky:**

**Názov:** Evolučné a ekologické dôsledky rastlinných invázií: dopady hybridizácie a polyploidizácie po invázii

**Anglický názov:** Evolutionary and ecological outcomes of plant invasions: consequences of post-invasion hybridization and polyploidization

### **Anotácia (vrátane cieľa):**

Vzhľadom na zložitosť biologických invázií a následných procesov (napr. interakcie s pôvodnými druhmi) je dôkladné pochopenie kľúčových faktorov a ich manažment veľkou výzvou. Nepôvodní zástupcovia rodu *Solidago* (zlatobyl) predstavujú v Európe výnimočne úspešné invázne druhy. Cieľom práce bude určenie vplyvu hybridizácie a introgresie v populáciách krížiacich sa invázných a pôvodných druhov *S. canadensis-xniederederi-virgaurea* a polyploidizácie v populáciách *S. gigantea* na evolučný a invázný potenciál novovytvorených genotypov v rámci invadovaného areálu v Európe. Využijeme prístup, ktorý kombinuje skrining relatívneho obsahu DNA, vyhodnotenie podrobnej genetickej štruktúry populácií pomocou moderných molekulárnych markerov a zhodnotenie reprodukčného potenciálu a fitness parametrov. Očakávame, že práca prinesie nové poznatky o mikroevolučných procesoch prebiehajúcich po inváziách a ich vplyve na ďalšiu inváznosť, ako aj poskytne podklady pre rozhodnutia v oblasti ochrany prírody a manažmentu.

### **Annotation (including the aim of the thesis):**

Because of the complexity of biological invasions and post-invasion processes (such as mating interactions with native species), a better understanding of the underlying factors and their management is challenging. Members of the genus *Solidago* represent exceptionally successful invaders in Europe. This thesis aims to determine the impact of hybridization and introgression in alien-hybrid-native *S. canadensis-xniederederi-virgaurea* populations and polyploidization in *S. gigantea* populations on the evolutionary and invasive potential of newly formed genotypes within the invaded range in Europe. We will take an integrative approach combining relative DNA content screening, assessment of population genetic structure by up-to-date molecular markers and measurements of reproductive potential and fitness parameters. We expect that results of the study will bring new insights into the microevolutionary processes and their impact on further invasiveness as well as to provide a baseline for nature conservation and management decisions.

### **Navrhované metodické postupy:**

Populácie *S. canadensis - xniederederi virgaurea*: Na základe našich predchádzajúcich štúdií budú na Slovensku a v Poľsku vybrané tri populácie, ktoré sa líšia početnosťou hybridných rastlín. Okrem toho budú do štúdie zahrnuté jedince z populácií s výskytom len jedného z rodičov, aby sme charakterizovali čiste rodičovskú variabilitu.

Tetraploidné a/alebo pentaploidné populácie *S. gigantea*: Jedna známa čistá 5x a jedna ploidná zmiešaná zo SV Slovenska budú podrobne prezbierané. Okrem toho bude do štúdie zaradený materiál z populácií 4x *S. gigantea*, aby sme charakterizovali variabilitu čiste 4x cytotypu.

1. **Prietoková cytometria (FCM)**: je spoľahlivá metóda na identifikáciu študovaných taxónov/cytypov, pretože ich obsah DNA sa neprekrýva a rozdiely medzi nimi sú štatisticky významné. Na správnu interpretáciu výsledkov FCM použijeme známe počty chromozómov.

2. **RAD sekvenácia (RADseq)**: bude použitá na štúdium genetickej štruktúry a reprodukčných interakcií, posúdenie frekvencie a smeru hybridizácie v populáciách *S. xniederederi*, a určenie rozsahu klonality a pôvodu 5x *S. gigantea*. RADseq využíva reštrikčné enzýmy a sekvenovanie novej generácie, čo umožňuje identifikáciu desiatok tisíc SNPs (jednonukleotidových polymorfizmov) v homologických lokusoch v celom genóme u mnohých jedincov súčasne. RAD polymorfizmy predstavujú vysoko efektívne markery, ktoré dokážu odhaliť širokú škálu možných výsledkov hybridizácie. V tomto prípade použijeme techniku double-digest (dd)RADseq, pričom sa bude postupovať podľa laboratórneho protokolu, ktorý bol optimalizovaný pre *Solidago*. RADseq knižnice budú sekvenované na Illumina platforme z oboch koncov (paired-end sequencing). Údaje RADseq sa spracujú pomocou dostupných bioinformatických nástrojov (napr. STACKS 2,46; ipyrad), pričom sa vytvoria alignmenty sekvenovaných lokusov, ako aj SNP matice na následné populačné genomické analýzy. Na zhodnotenie introgresie a hybridizácie v rámci populácií použijeme rôzne algoritmy (Bayesovské zhľukovanie; nástroj HyDe; PhyloNetworks).

3. **Analýzy peľu**: merania pravidelnosti tvaru a veľkosti peľu a jeho životaschopnosti pomocou Alexandrovho farbenia s využitím svetelnej mikroskopie nám umožnia odhadnúť úroveň samčej plodnosti, a tým aj potenciál pre generatívnu reprodukciu a ďalšie interakcie so spoločne sa vyskytujúcimi taxónmi/cytypmi *Solidago*.

4. **Počet semien**: Realizovaný súbor semien vyjadruje fitness materskej rastliny vrátane úrovne samičej plodnosti. Hybridy a taxóny s nepárnou ploidiou majú tendenciu mať znížený počet vyvinutých semien v dôsledku nepravidelnej meiózy. Taxóny s nepárnou ploidnou úrovňou (ako napr. 5x *S. gigantea*) môžu naopak prejsť na apomixiu a produkovať veľa semien.

5. **Skríning semien prietokovou cytometriou (FCSS)**: použijeme na analýzu potomstva materských rastlín v oboch skupinách. Táto metóda je založená na porovnaní ploidity embrya a príslušného endospermu v rámci jedného semena. V populáciách *S. xniederederi* FCSS objasní frekvenciu a smer tvorby hybridov a frekvenciu tvorby neredukovaných gamét a ich účasť na tvorbe semien. V prípade 4x a 5x *S. gigantea* by sa okrem určenia ploidných úrovní potomstva semien a účasti samčích/samčích gamét mohol zistiť aj prechod k apomixii ako úniku pred sterilitou.

6. **Miera/rýchlosť klíčenia**: Rozdiely v miere a rýchlosti klíčenia môžu byť spôsobené zníženou kondíciou semenáčikov v dôsledku abnormálneho vývoja embryí. Skoršie načasovanie môže poskytnúť konkurenčnú výhodu.

7. **FCM semenáčikov**: Semenáčiky budeme analyzovať pomocou DAPI FCM, aby sme zistili ich relatívnu veľkosť genómu a ploidnú úroveň, čo umožní zistiť smer a frekvenciu vzniku hybridov a potenciálnych spätných krížení s rodičovskými druhmi. V prípade *S. gigantea* nám odhalená karyologická štruktúra potomstva ukáže rozsah a typ interakcií v rámci a medzi cytypmi.

**Dostupné alebo plánované zdroje financovania**: VEGA 2/0024/23 (2023-2027), DoktoGrant, 2025, priebežne budeme reagovať na ďalšie relevantné výzvy grantových schém.

**Predpokladané publikačné výstupy v časopisoch WOS (približný okruh časopisov)**:

Neobiota, Annals of Botany, Plant Systematics and Evolution, Biological Invasions

**Kľúčové slová (3-5)**:

introgresia, obsah DNA, RAD sekvenovanie, reprodukčné interakcie, reprodukčný potenciál a fitness

**Keywords (3-5)**:

DNA content, introgression, RAD sequencing, mating interaction, reproductive potential and fitness