

The background of the slide is a close-up photograph of several Centaurea plants. The plants have green stems with small, pointed leaves. There are several flower buds in various stages of development, some showing the characteristic spiky, scaly structure of the genus. One flower is in full bloom, displaying numerous small, light purple or lavender petals. The overall lighting is soft, and the colors are somewhat muted, giving the image a natural, scientific feel.

Estudos de dinâmica de invasão no género *Centaurea*

GWAS, Microarrays e ddRADseq

Tiago Andrade a64516

Genómica e Alteração Ambiental



Índice

Introdução a espécies invasoras

Centaurea difusa e *solstitialis*

Transcriptómica em Microarrays

Genome wide association study

ddRADseq

Caracteres de populações invasoras

Integração dos resultados

Conclusão

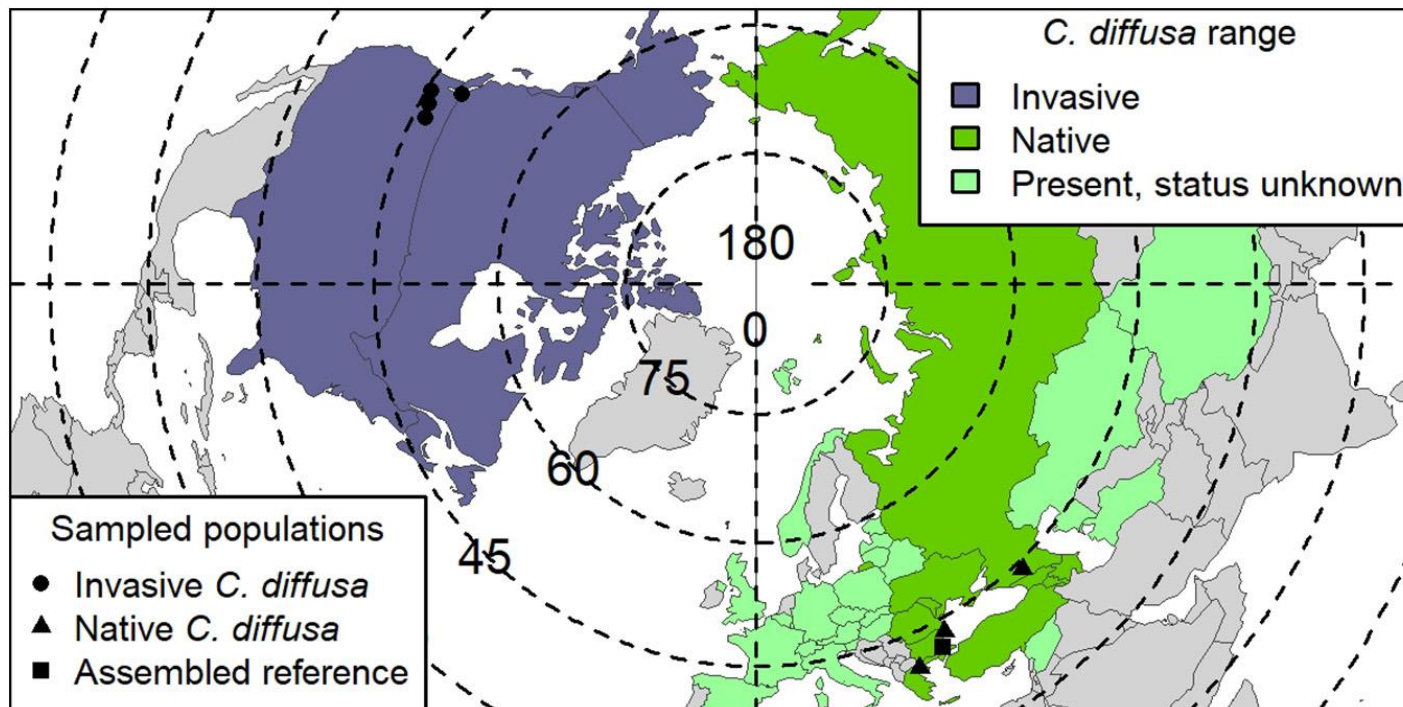


Introdução a espécies invasoras

- “Qualquer espécie não nativa que altera ou perturba o ecossistema que coloniza de forma significativa.”
 - Encyclopedia Britannica (traduzido)

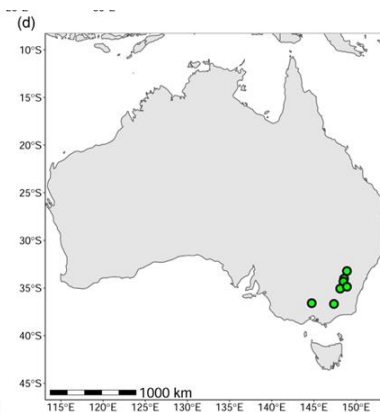
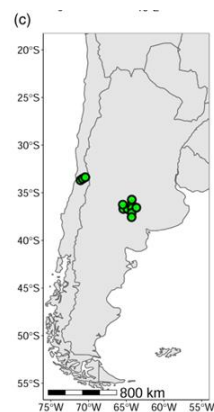
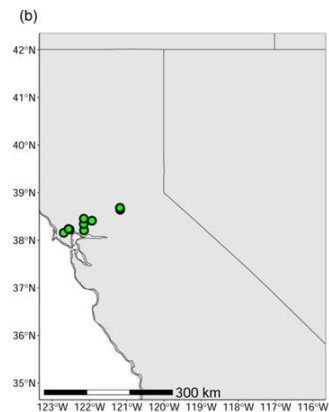
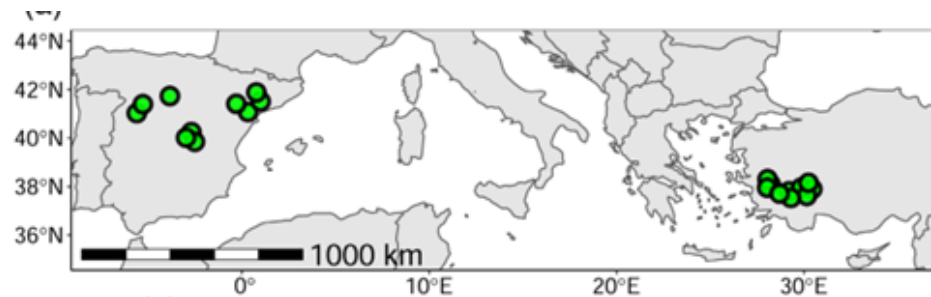
Centaurea diffusa

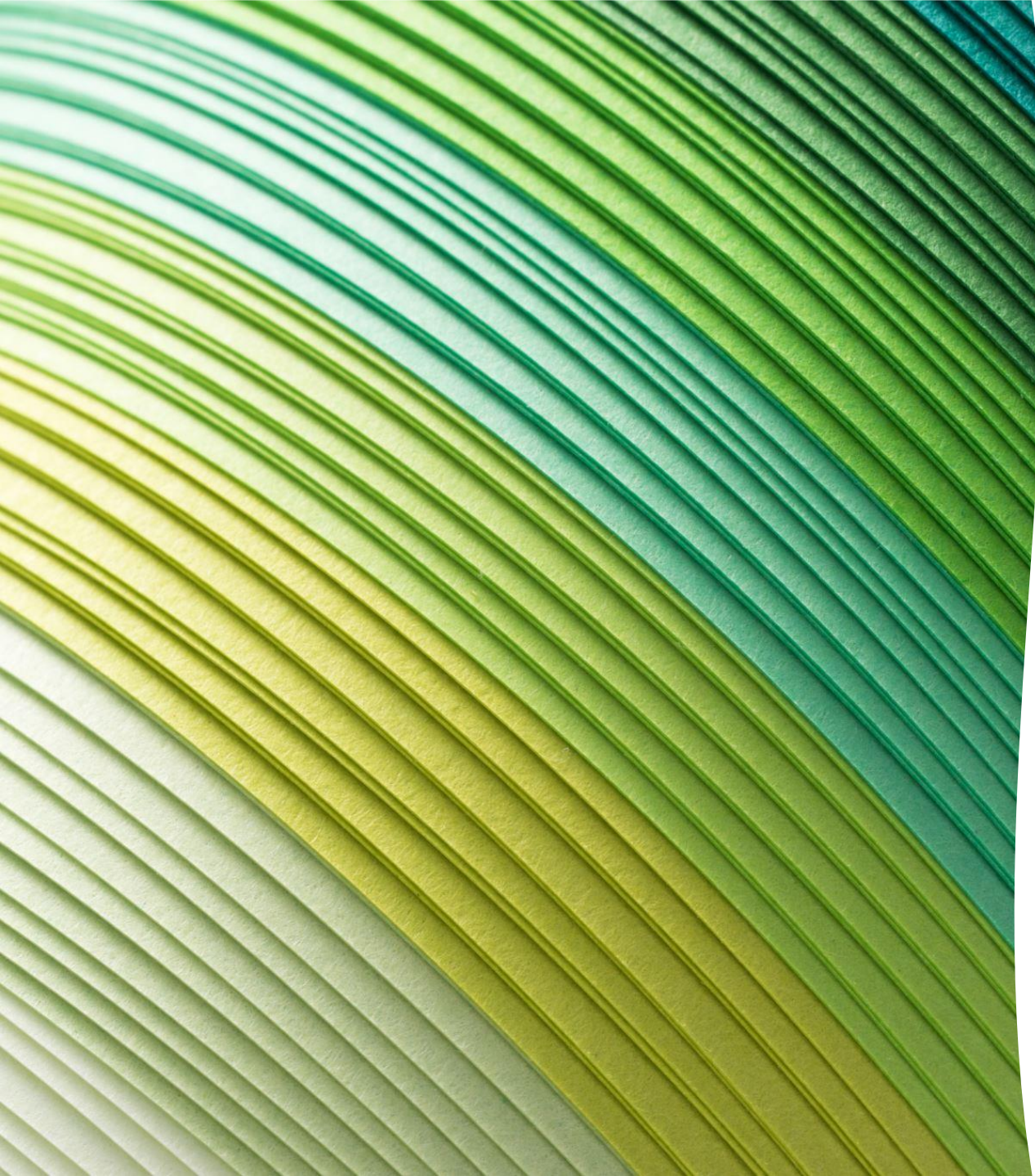
- Família Asteraceae
- Forma monoculturas densas
- Altera as condições dos solos e disponibilidade de água
- Reduz a qualidade da vegetação para pastagem
- Economicamente relevante devido a estragos



Centaurea solstitialis

- Muito semelhante a *Centaurea diffusa*.
- Apresenta maior dispersão nativa.
- Invadiu vários territórios incluindo América do Norte, Sul e Austrália.
- Género *Centaurea* possui tendência significativa para ervas daninhas.





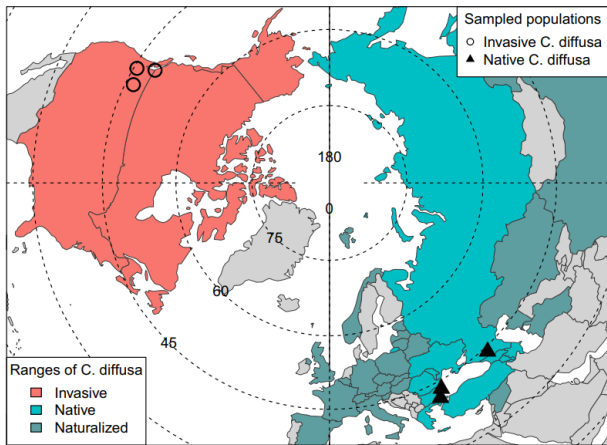
Métodos de estudio de especies invasoras

Transcriptómica

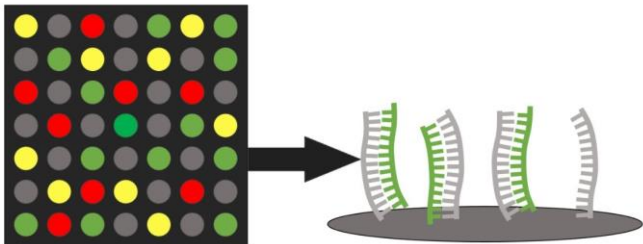
GWAS

ddRADseq

Transcriptômica em Microarrays (Workflow)



DNA Microarray



Genoma de 2 indivíduos *C. diffusa*
Nativo e invasor

Recolha de sementes

Tratamento e amostragem

Extração

Preparação

Hibridização

Pre-processamento

Análise

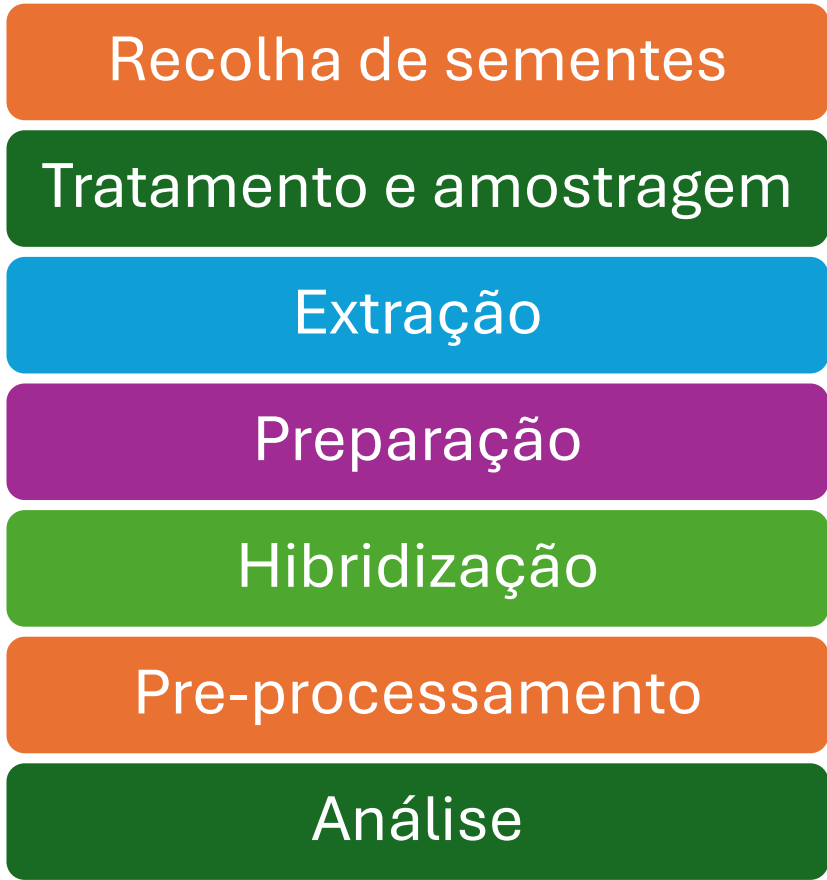
Common garden
102 plantas
3 condições de stress
3 réplicas



Transcriptômica em Microarrays (Workflow)

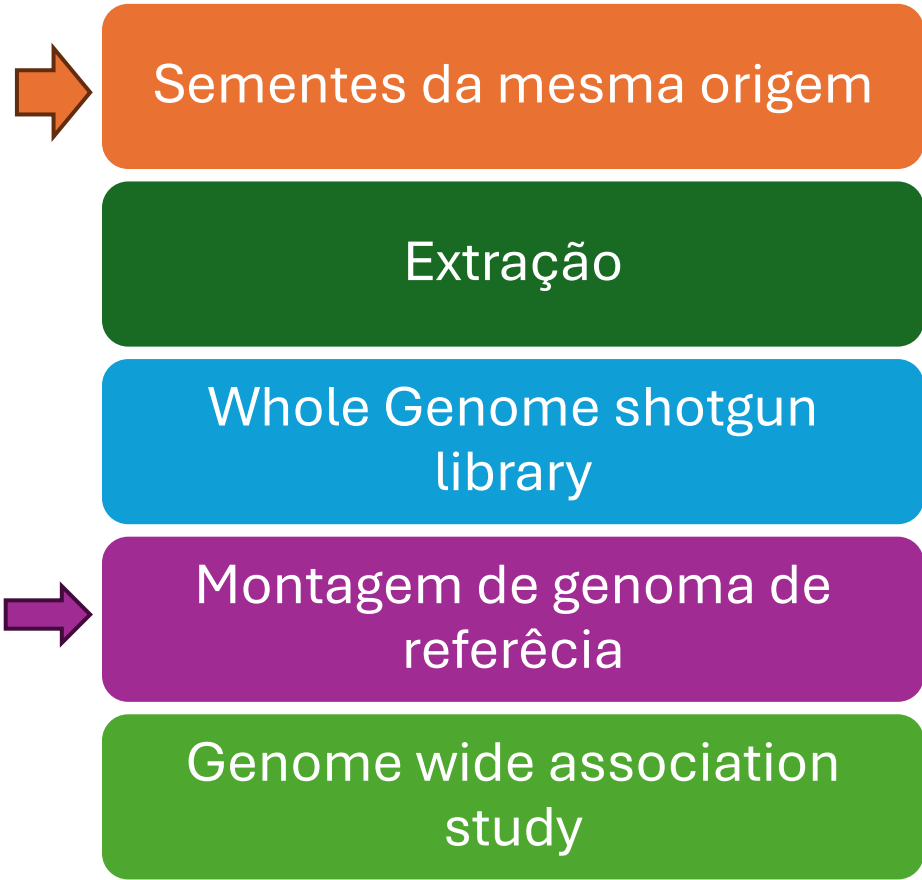
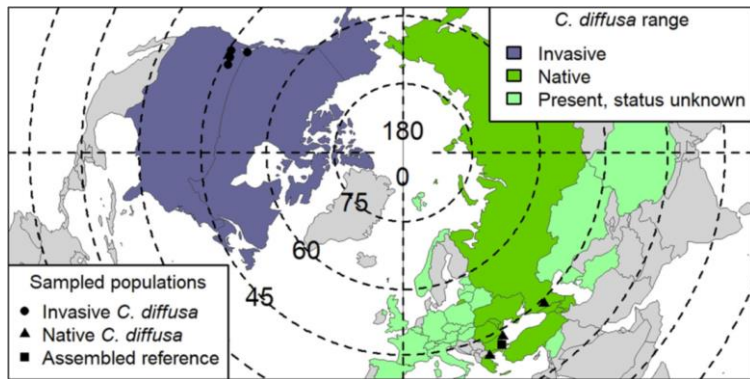


Marcação de cDNA



Pre-proc.	Análise
NimbleScan v.2.6.	REML
K-nearest neighbor (R)	PCA
Oligo R pack.	FDR
Log2 transf.	heatmap.2
Quantile normalization	Gene Ontology
	<i>A. thaliana</i> BLASTP
	topGO

Genome wide association study (Workflow)



Qiagen DNeasy column-less protocol



Illumina HiSeq 2000 100 bp paired-end sequencing

Cloroplasto	Núcleo
BWA	Megahit
SamToFastq.jar	Blastn Alcachofra
ALLPATHS-LG	Chromosomer
BLAST	CD-HIT
GapFiller	Diamond
aTRAM	AAT
DOGMA	GMAP
	Evidence Modeler

Genome wide association study (Workflow)

381 indivíduos usados para criar bibliotecas de genótipo PstI-MspI

Genome wide association study

PCR

KAPPA HiFi Hotstart master mix



Illumina HiSeq 2000 100 bp paired-end sequencing

Análise

GAPIT

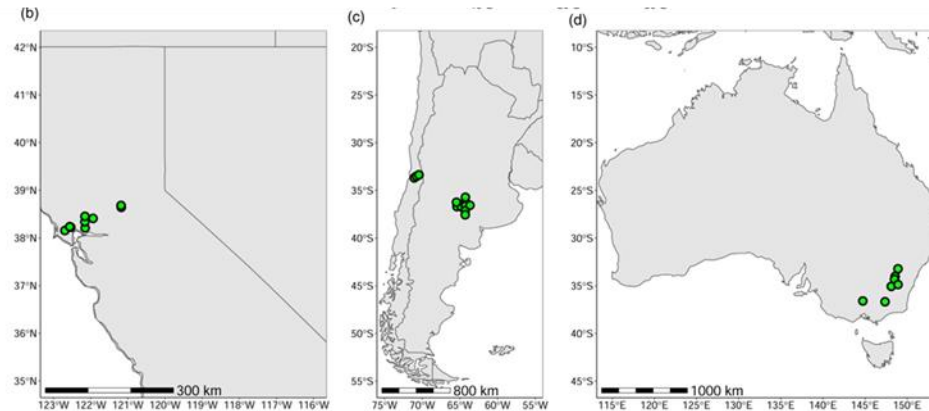
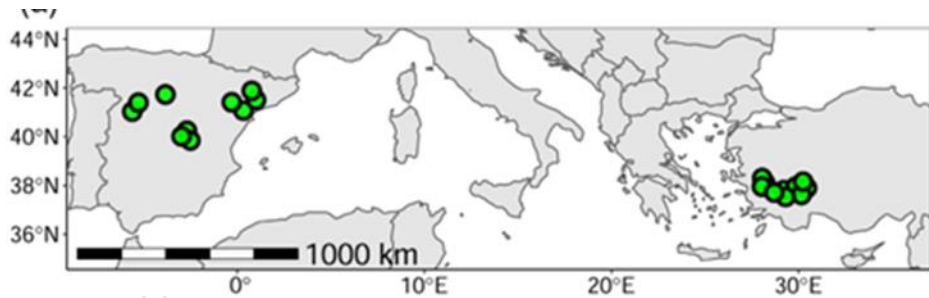
BIC-model

Manhattan & Q-Q plots

Identificação de genes rodeando os SNPs

Anotada por semelhança a *Arabidopsis thaliana*

ddRADseq (Workflow)



Recolha de sementes

Common Garden

Caracterização Ambiental

Preparação de biblioteca ddRADseq

Processamento de dados

Análise

- 50 Populações
- Medição de traços fenotípicos
- Cruzamentos experimentais

ddRADseq (Workflow)

Recolha de sementes

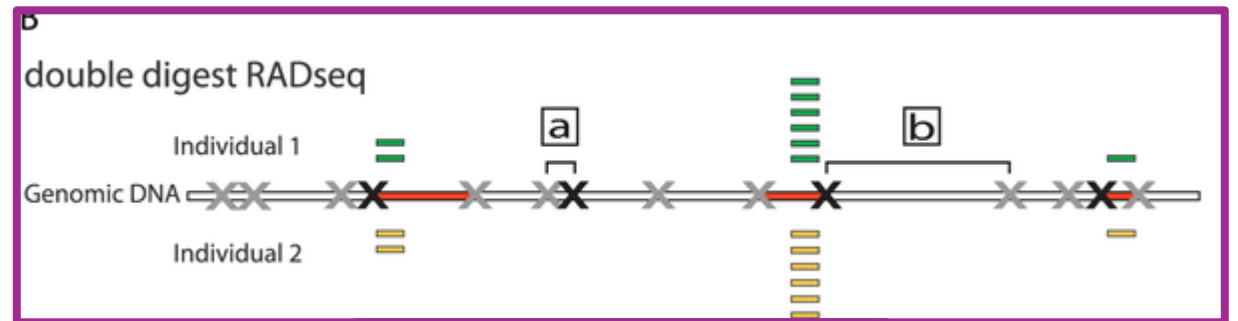
Common Garden

Caracterização Ambiental

Preparação de biblioteca
ddRADseq

Processamento de dados

Análise



Sequenciação por
Illumina HiSeq 2500

ddRADseq (Workflow)



R studio		De novo SNP discovery	
Levenes Shapiro-Wilk tests	Fviz_pca function	Stacks 2.2	divBasic in R
Pearson's correlation	Psych and stats	Denovo_map pipeline	diversity
Glmer lme4	Pst	VCFtools	STRUCTURE 2.3.4
Tukey HSD	Baesyan approach	Bayescan	STRUCTURE HARVESTER
Linear mixed models	Gibbs sampler	Dirichlet distribution	CLIMPAK
Dropterm		OutFlank	
PCA		PCAdapt	



Quais são os caracteres das populações invasoras?

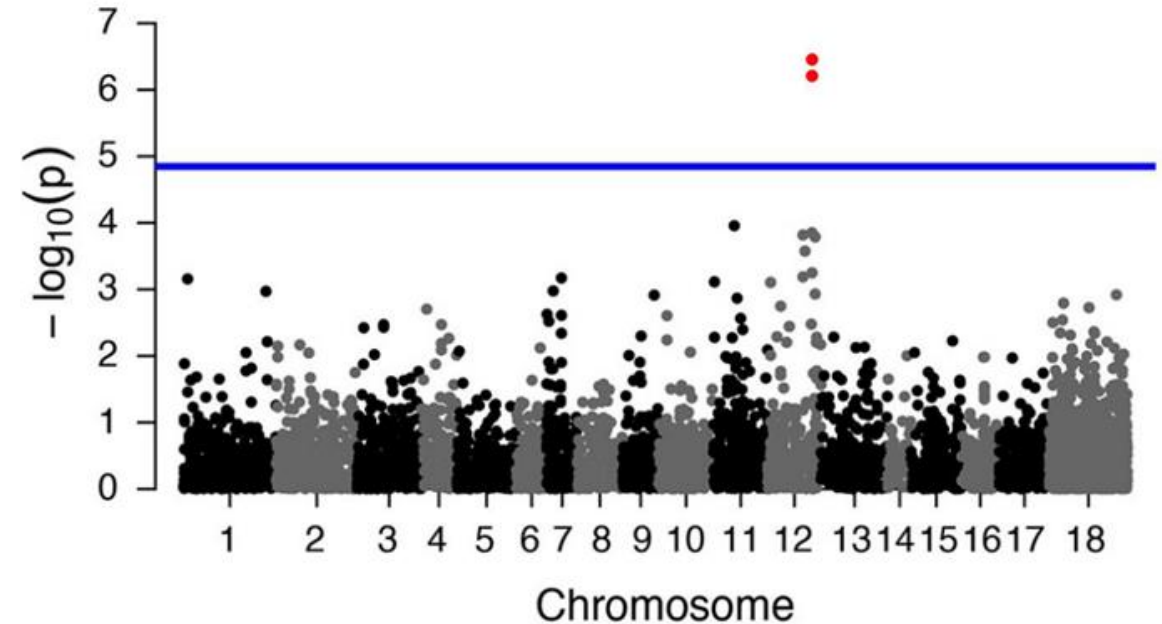
Caracteres GO associados a dinâmica de Invasão

Nativos	Invasores
Transdução de sinal	Regulação negativa de atividade catalítica
Morfogénese de componentes celulares	Biossíntese de Flavonoides
Processo metabólico de citoquininas	Biossíntese do ácido L-ascórbico
Via de sinalização de etileno	Processo metabólico do ácido L-ascórbico
Resposta celular a etileno	Processo metabólico de carboidratos
Transporte de nucleobases	Organização de mitocôndrias
Biossíntese de fenilpropanoides	Processos metabólicos de aminoácidos
Atividade de NAD	Atividade de Peptidase
Atividade do transportador transmembranar de compostos contendo nucleobases	Atividade de dioxigenase
	Fotossistema II do cloroplasto
	Complexo de evolução de oxigénio do fotossistema II

Foco: mais biomassa e menor reação a seca

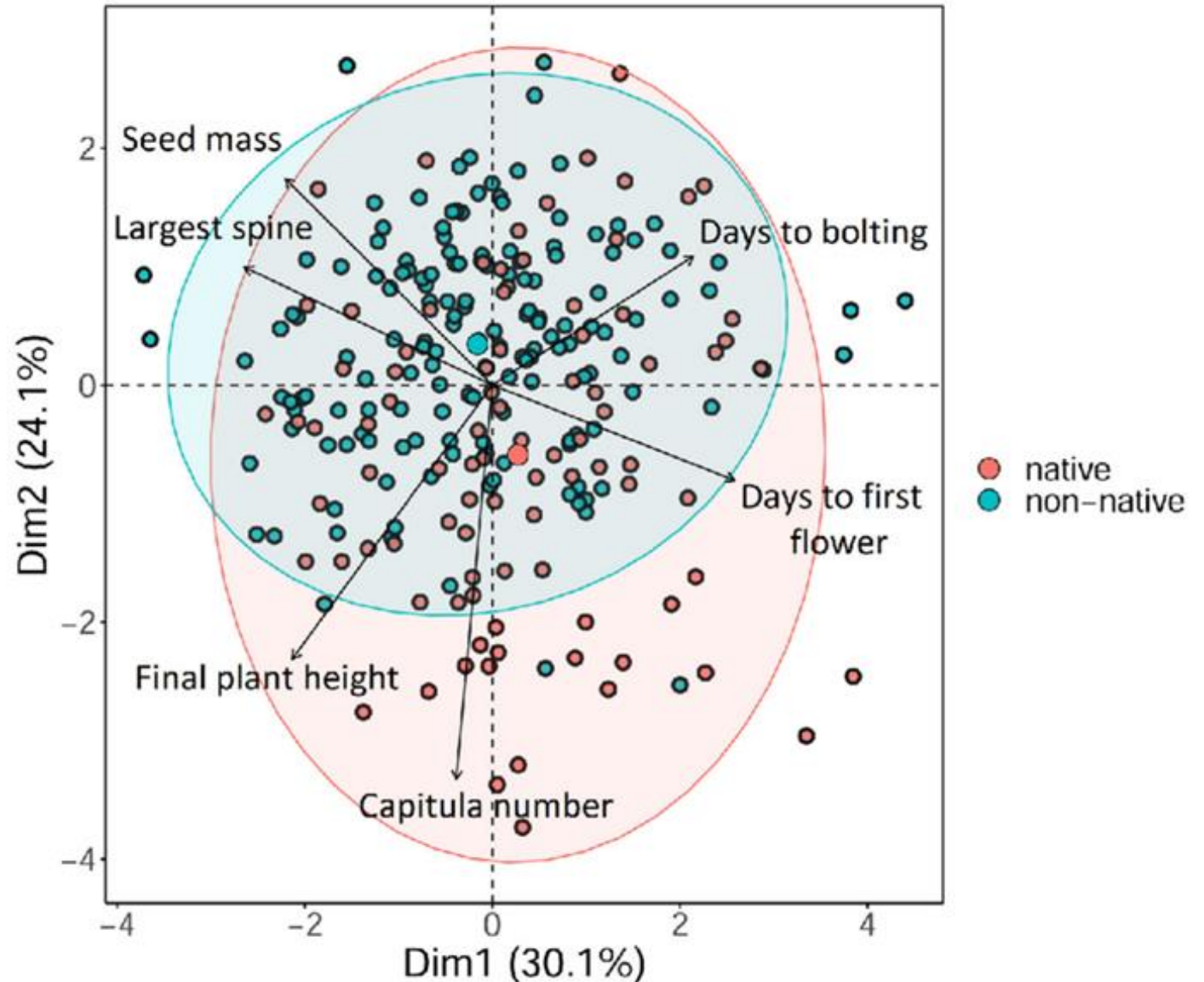
Confirmação por GWAS em estudos de invasão

- Confirmação, o GWAS encontra 2 SNPs associados a largura de folha.
- Existe associação entre largura de folha e biomassa.
- Não há associação de invasão a outros traços de dimensão (poligénicos)
- bHLH30 associado a seca vs controlo
- Standing genetic variation (variantes entre populações)



ddRADseq e comparação fenotípica

- Variação genética limitada
- Invasores possuem mais capítulos e maior massa de sementes
- Seleção divergente ($P_{st} > F_{st}$)
- Adaptação evolutiva de traços fenotípicos



Integração dos diversos resultados em relação a dinâmica de invasão



Evolução rápida e seleção divergente

Massa de sementes e traços reprodutivos



Aumento de crescimento e biomassa

Redução de sensibilidade a etileno



Shift para estratégia generalista

Maturação atrasada e menor resposta a stress (seca)



Expansão de nicho realizado

Climas áridos e de larga variação de precipitação



Origem de adaptação e limites

Standing genetic variation

Conclusão

- O sucesso de espécies invasoras como *Centaurea diffusa* e a *Centaurea solstitialis* evidencia a interação entre a **evolução rápida**, a **plasticidade fenotípica** e a **seleção divergente**. A mudança para estratégias mais generalistas permitiu-lhes ultrapassar as populações nativas através de **menor inibição do crescimento em seca**, **aumento da competição reprodutiva** através da massa de sementes e o **aumento da eficiência metabólica**. Estas mudanças derivam de uma diferenciação genética limitada, proveniente de **standing genetic variation**, revelando uma elevada plasticidade fenotípica.

Referências

- Turner, K. G., Nurkowski, K. A., & Rieseberg, L. H. (2016). Gene expression and drought response in an invasive thistle. *Biological Invasions*, 19(3), 875–893. doi:10.1007/s10530-016-1308-x
- Turner, K. G., Ostevik, K. L., Grassa, C. J., & Rieseberg, L. H. (2021). Genomic analyses of phenotypic differences between native and invasive populations of diffuse knapweed (*Centaurea diffusa*). *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8, 577635. <https://doi.org/10.3389/fevo.2020.577635>
- Irimia, R. E., Montesinos, D., Chaturvedi, A., Sanders, I., Hierro, J. L., Sotes, G., Cavieres, L. A., Eren, Ö., Lortie, C. J., French, K., & Brennan, A. C. (2023). Trait evolution during a rapid global weed invasion despite little genetic differentiation. *Evolutionary Applications*, 16(5), 997–1011. <https://doi.org/10.1111/eva.13548>

||| Perguntas?

