

Genetická diverzita hospodářských zvířat

doc. Ing. Jindřich Čítek, CSc.

*Zemědělská fakulta JU
Katedra genetiky, šlechtění a výživy zvířat*

Seminář doktorského grantu 523/03/H076 :
Molekulární data v genetice populací a hodnocení diverzity
ZF JU České Budějovice
25. – 26. 10. 2004

Genetickou diverzitu chápeme jako různost
mezi živými organismy, která je geneticky
fixovaná.

Je nutnou podmínkou života, sama je
výsledkem působení přírodní
selekce u volně žijících druhů.

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

2

Genotyp jedince se nemění, jedinec brzy umírá.

Populace pokračují, jejich genofond se proměnlivý.

Čím více je genetické variability v populaci, tím lépe
přežívá a její vývoj je rychlejší.

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

3

Geneticky fixované rozdíly mezi plemeny jsou
výsledkem umělé selekce.

V rámci plemene dochází
k omezování diverzity a směřování
genofondu k určenému cíli.

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

4

Zdroje genetické variability v populaci

- mutace
- segregace
- rekombinace

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

5

Význam diverzity

- umožňuje přežití druhu
- objekt pro šlechtění

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

6

Data o míře polymorfismu poskytují primární údaje, zda plemeno má tak unikátní genom, aby si zasloužilo záchranu:

- výskyt vzácných alel
- odhad genetických distancí
- jednoduché srovnání plemen z hlediska alelických frekvencí na jednoduchých lokusech
- odchylky od teoretického genotypového složení populace v lokusech pro biochemický polymorfismus

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

7

Metody hodnocení genetické diverzity

- nejčastěji podle stupně polymorfismu – polymorfismus DNA, biochemický, imunologický, morfologický

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

8

DNA polymorfismus

- bodový polymorfismus
- repetitivní sekvence - mikrosatelity

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

9

Mikrosatelity

- častý výskyt v genomu
- vysoký stupeň polymorfismu
- využití pro mapování, markery
asistovanou selekci, evoluční studie,
ověřování původu

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

10

Vnitropopulační genetickou diverzitu lze hodnotit
např. podle

- heterozygotnosti
- polymorfního informačního obsahu
- efektivního počtu alel
- pravděpodobnosti genotypové
identity aj.

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

11

Heterozygotnost

je pravděpodobnost, že dvě náhodně zvolené alely z
populace nejsou identické

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

12

Heterozygotnost

teoretická

$$H = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

p_i frekvence i -té alely, n počet alel

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

13

Heterozygotnost

experimentální

$$H = \frac{n_{hi}}{n}$$

n_{hi} počet heterozygotů, n rozsah populace

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

14

Polymorfní informační obsah PIC

$$PIC = H - 2 \sum_{i=1}^{n-1} p_i^2 \sum_{j=i+1}^n p_j^2$$

p_i, p_j alelické frekvence

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

15

Efektivní počet alel

$$EA = \frac{1}{\sum_{j=1}^n p_j^2}$$

p_i frekvence alel

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

16

Pravděpodobnost genotypové identity
dvou jedinců vybraných náhodně v populaci
(výpočet z alelických frekvencí)

$$G1 = \prod_{i=1}^r \left(\sum_{j=1}^{n_i} p_{ij}^4 + 4 \sum_{j=i}^{n_{i-1}} \sum_{k=j+1}^{n_i} p_{ij}^2 p_{ik}^2 \right)$$

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

17

Pravděpodobnost vyloučení nesprávného rodiče,
je-li znám genotyp obou rodičů a potomka

$$P = 1 - 2 \sum_{i=1}^n p_i^2 + \sum_{i=1}^n p_i^3 + 2 \sum_{i=1}^n p_i^4 - 3 \sum_{i=1}^n p_i^5 - 2 \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right)^2 + 3 \sum_{i=1}^n p_i^2 \sum_{i=1}^n p_i^3$$

p_i frekvence alel

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

18

Pravděpodobnost vyloučení nesprávného rodiče,
je-li genotyp jednoho z rodičů neznámý

$$P = 1 - 4 \sum_{i=1}^n p_i^2 + 2 \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right)^2 + 4 \sum_{i=1}^n p_i^3 - 3 \sum_{i=1}^n p_i^4$$

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

19

Pravděpodobnost vyloučení obou rodičů, je-li znám
genotyp potomka a obou rodičů (tj. vyloučení
záměny potomka)

$$P = 1 + 4 \sum_{i=1}^n p_i^4 - 4 \sum_{i=1}^n p_i^5 - 3 \sum_{i=1}^n p_i^6 - 8 \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right)^2 + 8 \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right) \left(\sum_{i=1}^n p_i^3 \right) + 2 \left(\sum_{i=1}^n p_i^3 \right)^2$$

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

20

Celková pravděpodobnost vyloučení pro více lokusů se potom vypočte vždy podle vzorce

$$P = 1 - (1 - P_1)(1 - P_2) \dots (1 - P_k)$$

Důležité pro design setů polymorfních lokusů pro ověřování parentity (nyní podle mikrosatelitů, připravuje se přechod k SNP)

Mezipopulační genetická diverzita –

Genetické vzdálenosti mezi plemeny

- Nei standard
- Cavalli-Sforza
- Reynolds, Weyr, Cockerham
- a mnoho dalších

Nei standard:

$$D = -\ln \left(\frac{\sum_{m,i} p_{1mi} p_{2mi}}{[\sum_{m,i} p_{1mi}^2]^{1/2} [\sum_{m,i} p_{2mi}^2]^{1/2}} \right)$$

m je suma přes lokusy, i přes alely na m -tém lokusu, p_{1mi} je frekvence i -té alely na m -tém lokusu v populaci 1.

Cavalli-Sforza :

$$D^2 = 4 \sum_m [1 - \sum_i p_{1mi}^{1/2} p_{2mi}^{1/2}] / \sum_m (a_m - 1)$$

m je suma přes lokusy, i přes alely na m -tém lokusu, a je počet alel na m -tém lokusu

Reynolds, Weyr, Cockerham:

$$D^2 = \frac{\sum_m \sum_i [p_{1mi}^2 - p_{2mi}^2]^2}{2 \sum_m [1 - \sum_i p_{1mi} p_{2mi}]}$$

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

25

Pravděpodobnost identity dvou jedinců
náležejících dvěma různým populacím :

$$G2 = \prod_{i=1}^r \left(\sum_{j=1}^{n_i} a_{ij}^2 b_{ij}^2 + 4 \sum_{j=1}^{n_i-1} \sum_{k=j+1}^{n_i} a_{ij} b_{ij} a_{ik} b_{ik} \right)$$

r počet lokusů, n_i počet alel na i -tém lokusu, a_{ij} , a_{ik} frekvence j -té a k -té alely na i -tém lokusu v 1. populaci, b_{ij} , b_{ik} frekvence ve 2. populaci

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

26

Výběr vhodné metody

- musí být zaručena náhodnost výběru
- stejný rozsah vzorku – distance je negativně korelována s velikostí vzorku. Pokud není rozsah stejný, doporučuje se provést bootstrapping.

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

27

Výběr vhodné metody

Rozlišení populací probíhá jako důsledek těchto procesů:

- 1/ náhodný tlak
- 2/ migrace
- 3/ mutace
- 4/ selekce

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

28

Výběr vhodné metody

- Neiova standardní distance - pro nekonečný isoalelický model mutace, tj. všechny lokusy mají stejný podíl neutrálních mutací, genetická variabilita na počátku je v rovnováze mezi mutací a genetickým tlakem a efektivní velikost každé populace zůstává stejná
- Cavalli-Sforzova a Reynoldsova distance - neexistence mutací, tj. veškeré změny ve frekvencích alel způsobeny genetickým driftem, nepředpokládají neměnnost početního rozsahu populací a jejich stejnou velikost
- DA Neiova distance – vhodná bez ohledu na mutační model

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

29

Fylogenetické stromy v používaném software vychází z biologických modelů. Procesy, které vedou rozlišení druhů a rozlišení plemen v rámci druhu se však liší, získané výsledky proto nesmí být „přeinterpretovány“.

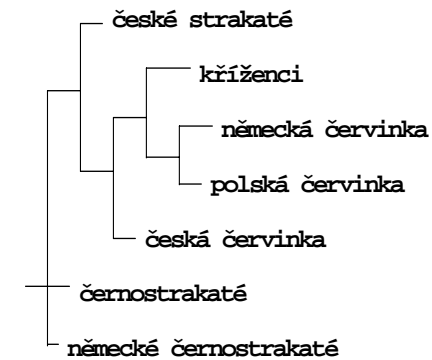
25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

30

Příklady dendrogramů

Dendrogram Neighbor-Joining,
vstupní distance Cavalli-Sforza, všechny lokusy
(použit statistický balík Phylip)



25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

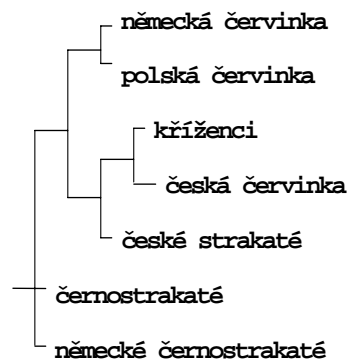
31

25.10.2004

Molekulární data v genetice
populací a hodnocení diverzity

32

Dendrogram Neighbor-Joining, vstupní distance Cavalli-Sforza, proteinové markery

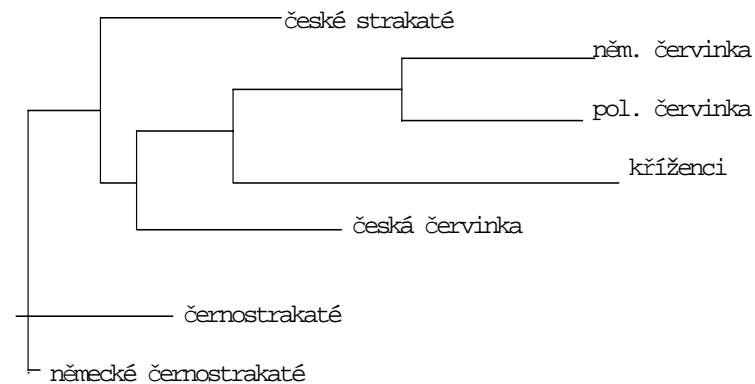


25.10.2004

Molekulární data v genetice populací a hodnocení diverzity

33

Dendrogram CONTML, všechny lokusy

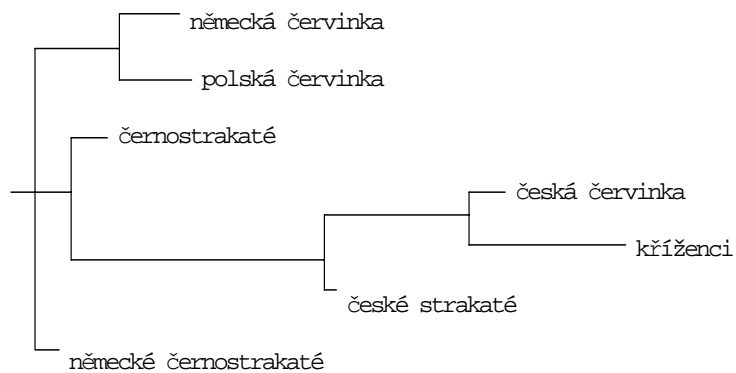


25.10.2004

Molekulární data v genetice populací a hodnocení diverzity

34

Dendrogram CONTML, proteinové markery

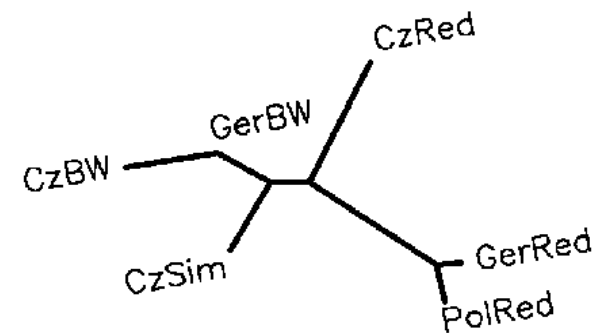


25.10.2004

Molekulární data v genetice populací a hodnocení diverzity

35

Dendrogram Neighbor-Joining, Nei distance, mikrosatelity, proveden bootstrap (stat. balík Phylip)



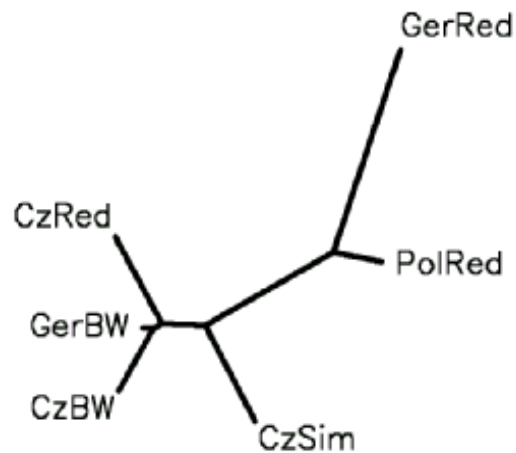
25.10.2004

Molekulární data v genetice populací a hodnocení diverzity

36

Dendrogram Neighbor-Joining, Nei distance, mikrosatelity

Nebyl proveden bootstrap, plemeno německá červinka (GerRed) je proto více vzdáleno od polské červinky (PolRed) v důsledku malého rozsahu výběrového souboru.



25.10.2004

37

Příčiny omezování genetické diverzity

- nižší užitkovost
- obliba chovatelů (módní vlny)
- strukturální změny
- umělá inseminace - ohrožuje diverzitu i ve velkých populacích

25.10.2004

Molekulární data v genetice populací a hodnocení diverzity

38

Důvody pro ochranu genetické diverzity

- uchování genetické diverzity pro budoucí šlechtění
- uchování kulturního dědictví

25.10.2004

Molekulární data v genetice populací a hodnocení diverzity

39

Závěr

- diverzita má zásadní význam pro budoucí šlechtění
- důležité je uchování diverzity v komerčních populacích
- uchování malých původních plemen jako rezervoáru původního genofondu
- analýza genetické diverzity a její využití ve šlechtění slibuje podstatné zrychlení šlechtitelského pokroku

25.10.2004

Molekulární data v genetice populací a hodnocení diverzity

40