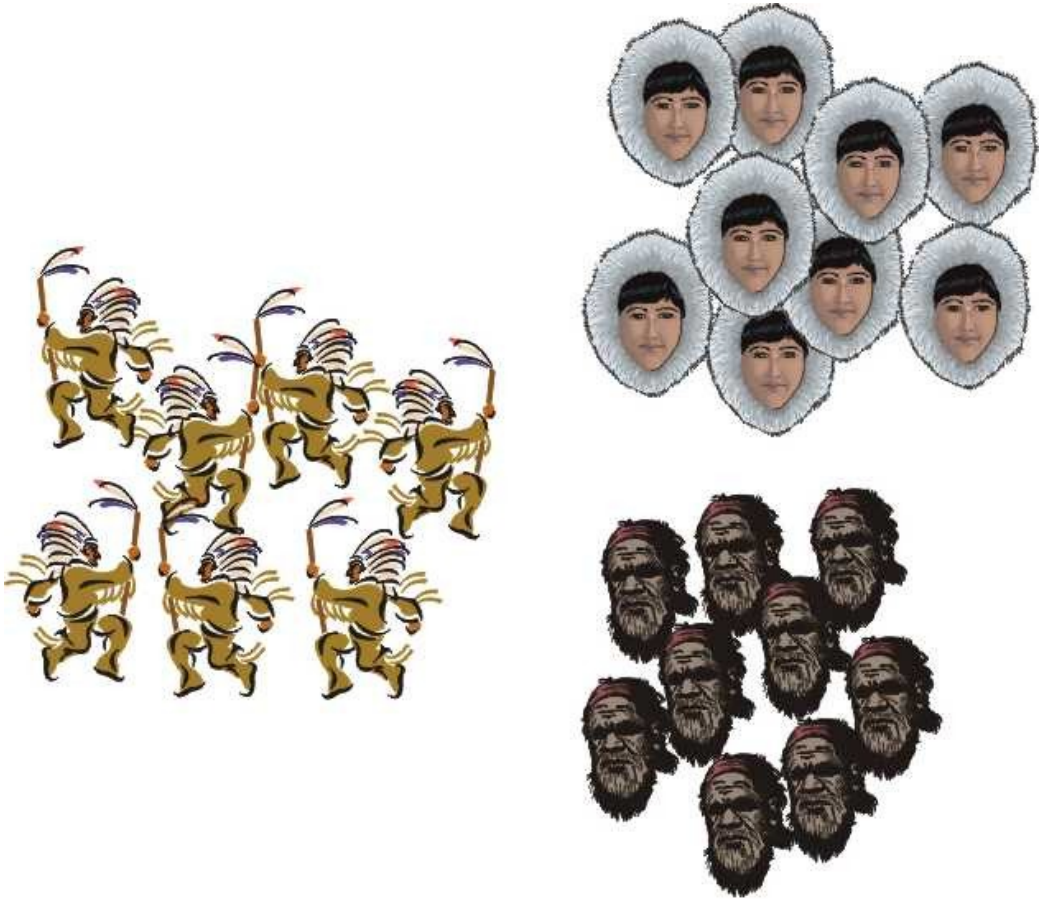
MODULARIZACE VÝUKY EVOLUČNÍ A EKOLOGICKÉ BIOLOGIE
CZ.1.07/2.2.00/15.0204

Analýza populační variability a struktury



evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Hierarchická populační struktura

Druh → populace → subpopulace (demy)

Hlavní otázky populačně-genetické analýzy:

- Jak je variabilní daná populace a jaká je její efektivní velikost (neutrální genetická teorie: $He=4N_e\mu/[4N_e\mu+1]$)
- Nachází se daná populace v období demografické expanze nebo poklesu?
- Existuje mezi dvěma subpopulacemi bariéra toku genů a jak je silná? Jaká je prostorová genetická struktura?
- Vyskytují se v populacích imigranti nebo jejich potomci (hybridi)?

Diploidní single-locus markery (mikrosatelity)

počet lokusů

počet jedinců

počet populací

počet vzorků v 1. populaci

počet vzorků v 2. populaci, atd.

geografické koordináty

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	A
1	11	233	10	30	22	25	22	18	23	12	27	25	29															
2	**Allele frequency**																											
3	**ID**	**Pop**	**Ppip01**		**Ppip02**		**Ppip04**		**Ppip06**		**EF1**		**EF4**		**EF6**		**Paur05**		**NN18**		**NnP217**		**NnP219**			**X**	**Y**	
4	**TYN1**	**TYN**	174	176	128	128	213	215	120	132	166	175	236	247	174	188	249	251	287	291	205	209	140	170		48.76500	17.00750	
5	**TYN2**	**TYN**	167	167	132	132	207	207	130	136	169	175	230	245	182	188	247	249	287	287	205	218	166	166		48.76500	17.00750	
6	**TYN3**	**TYN**	176	178	128	128	207	207	130	130	169	169	0	0	184	190	249	249	283	293	209	213	166	170		48.76500	17.00750	
7	**TYN4**	**TYN**	180	180	130	132	207	207	118	124	171	173	220	243	184	190	247	249	283	285	209	214	140	166		48.76500	17.00750	
8	**TYN5**	**TYN**	174	174	128	128	207	207	128	138	179	181	241	241	182	188	247	253	0	0	205	209	158	162		48.76500	17.00750	
9	**TYN6**	**TYN**	180	182	128	130	209	209	136	136	173	175	241	243	184	186	253	253	295	325	209	213	162	170		48.76500	17.00750	
10	**TYN7**	**TYN**	174	180	128	130	215	215	130	130	173	173	241	241	190	190	249	249	285	325	209	213	158	162		48.76500	17.00750	
11	**TYN8**	**TYN**	174	175	128	134	207	221	128	138	171	177	220	240	178	186	249	249	287	293	213	213	162	166		48.76500	17.00750	
12	**TYN9**	**TYN**	156	178	126	130	209	209	128	149	177	177	220	230	184	188	249	255	287	287	217	218	158	166		48.76500	17.00750	
13	**TYN10**	**TYN**	167	178	128	130	209	209	132	134	171	175	243	245	184	186	245	247	285	287	205	218	158	174		48.76500	17.00750	
14	**TYN11**	**TYN**	170	174	130	130	217	217	130	138	173	175	0	0	182	190	251	257	289	291	213	213	166	170		48.76500	17.00750	
15	**TYN12**	**TYN**	174	176	130	132	0	0	134	134	175	177	220	220	186	186	249	251	293	297	209	209	158	162		48.76500	17.00750	
16	**TYN13**	**TYN**	166																				162	170		48.76500	17.00750	
17	**TYN14**	**TYN**	162																				166	166		48.76500	17.00750	
18	**TYN15**	**TYN**	156																				166	174		48.76500	17.00750	
19	**TYN16**	**TYN**	168	178	126	128	215	217	132	134	173	175	243	243	178	178	247	249	289	289	205	209	162	170		48.76500	17.00750	
20	**TYN17**	**TYN**	178	178	126	130	207	211	132	132	171	175	220	238	176	180	249	255	289	289	178	209	162	166		48.76500	17.00750	
21	**TYN18**	**TYN**	161	174	130	130	213	213	132	132	173	177	245	245	178	178	243	249	289	289	205	209	162	182		48.76500	17.00750	
22	**TYN19**	**TYN**	174	180	128	132	213	213	134	134	169	169	220	220	174	182	249	249	285	285	209	213	131	131		48.76500	17.00750	
23	**TYN20**	**TYN**	176	176	130	130	0	0	138	151	171	171	247	247	186	188	249	255	287	287	209	209	131	166		48.76500	17.00750	
24	**TYN21**	**TYN**	178	178	128	134	213	213	132	134	171	173	245	245	180	188	247	249	285	287	209	209	144	154		48.76500	17.00750	
25	**TYN22**	**TYN**	156	175	128	132	217	217	124	132	177	177	220	220	180	182	251	253	287	297	209	217	170	170		48.76500	17.00750	
26	**TYN23**	**TYN**	168	176	128	128	213	213	120	153	173	173	220	236	178	180	245	253	285	287	209	213	154	162		48.76500	17.00750	
27	**TYN24**	**TYN**	176	176	130	130	219	219	132	149	175	175	216	245	182	184	255	255	283	297	205	209	131	174		48.76500	17.00750	
28	**TYN25**	**TYN**	177	179	128	130	209	213	126	126	156	173	241	241	188	188	249	255	289	297	198	213	158	166		48.76500	17.00750	
29	**TYN26**	**TYN**	177	179	126	130	201	201	118	124	171	179	218	245	174	184	249	255	295	295	205	205	158	166		48.76500	17.00750	
30	**TYN27**	**TYN**	176	176	126	128	207	207	120	153	169	173	220	220	182	188	249	255	291	291	205	209	136	162		48.76500	17.00750	
31	**TYN28**	**TYN**	168	172	128	132	219	219	130	130	169	175	249	249	186	188	245	253	285	289	209	213	132	170		48.76500	17.00750	
32	**TYN29**	**TYN**	170	180	128	130	219	219	130	130	171	171	243	243	184	184	249	255	285	289	209	213	166	178		48.76500	17.00750	
33	**TYN30**	**TYN**	170	177	124	130	215	215	138	138	171	177	232	236	184	186	249	253	285	291	209	209	162	174		48.76500	17.00750	
34	**NOV1**	**NOV**	172	176	128	134	209	219	120	120	169	175	253	253	182	184	251	255	289	295	178	209	162	166		48.83320	16.50610	
35	**NOV2**	**NOV**	178	178	130	130	209	209	128	132	173	173	238	243	182	184	249	251	285	287	205	209	136	170		48.83320	16.50610	
36	**NOV3**	**NOV**	163	165	126	126	207	213	122	124	173	175	220	245	178	186	247	247	285	285	205	213	133	179		48.83320	16.50610	
37	**NOV4**	**NOV**	167	178	128	134	205	205	118	124	173	177	220	220	186	188	253	255	287	289	205	213	162	166		48.83320	16.50610	
38	**NOV5**	**NOV**	176	178	128	130	201	201	130	130	173	177	243	245	174	184	247	249	287	293	201	209	162	170		48.83320	16.50610	
39	**NOV6**	**NOV**	176	178	126	130	209	215	128	134	166	173	0	0	184	184	245	245	287	287	205	213	162	166		48.83320	16.50610	

pop1

pop2

genotypy, tj. velikosti fragmentů v populaci

Velké množství populačně-genetických programů

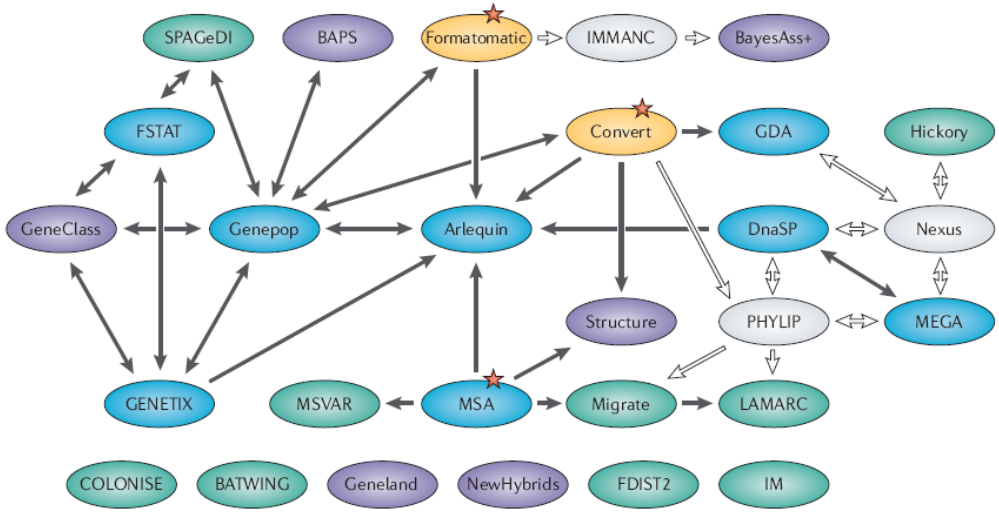
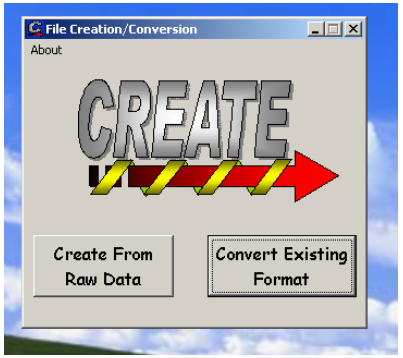
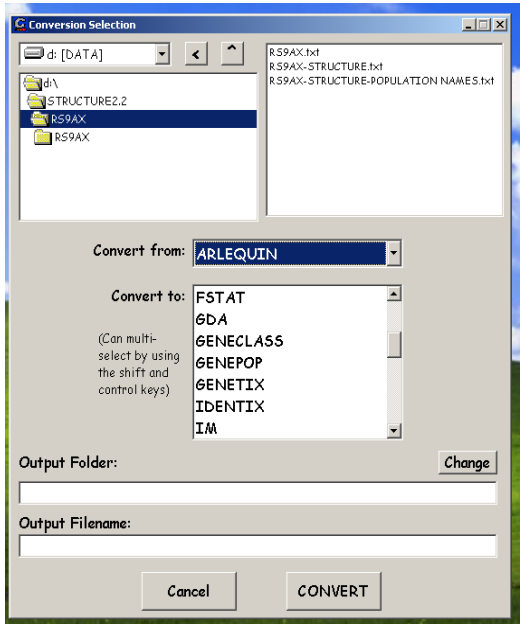


Figure 1 | **Flow chart of possible data exchange between different population genetics programs.** Although many programs have their own input-file specification, data files can still be exchanged between most programs (black arrows), avoiding tedious reformatting processes. The red stars are recommended starting points to format an initial data set. Blue ellipses represent multi-purpose packages, whereas individual-centred programs are shown in violet. The two conversion programs are shown in yellow. Specialized programs are shown in green, and light grey ellipses represent programs that are not reviewed here, but the data formats of which are used by other programs allowing indirect data exchange (white arrows). The data files associated with the programs listed on the bottom row cannot be exchanged directly with the other programs.





Computer programs for population genetics data analysis: a survival guide

Laurent Excoffier and Gerald Heckel

© 2006 Nature Publishing Group

Účel populačně-genetické analýzy

Table 5 | **List of computer programs suited for a given analysis and genetic marker**

	Multi-allelic markers*	STR	Dominant markers (AFLP)	SNP	DNA sequences
Descriptive statistics			SPAGeDi		Arlequin, DnaSP, MEGA
Linkage disequilibrium					
Analysis of population subdivision			Hickory		Arlequin, DnaSP, MEGA
Detection of new immigrants: known populations					
Detection of new immigrants: inferred populations					
Demographic expansion or decline					Arlequin, DnaSP, IM, LAMARC, Migrate
Population size					IM, LAMARC, Migrate
Divergence time					DnaSP, IM, LAMARC, Migrate
Migration rates					DnaSP, IM, LAMARC, Migrate
Neutrality tests					Arlequin, DnaSP, MEGA
Spatially explicit analyses					

*By multi-allelic markers, we mean loci for which no specific mutation model is assun ed. In the latter case, computations are based on allele frequencies onl s are assum A sequence, STR and SNP allele frequencies, as well as nucleotide f l packages e disequilibrium, and to detect new immigrants. AFLP, amplified fragme ndem repe

frekvence alel

frekvence alel + mutační model

1. Vnitropopulační variabilita (popis získaných dat)

Polymorfismus

- podíl polymorfních lokusů (znaků) – 95 % nebo 99 % (např. 0,8 = 4 z pěti zkoumaných mikrosatelitů mají v populaci alespoň 2 alely, z nichž ta vzácnější dosahuje frekvence alespoň 1% nebo 5%)

Počet alel (number of alleles)

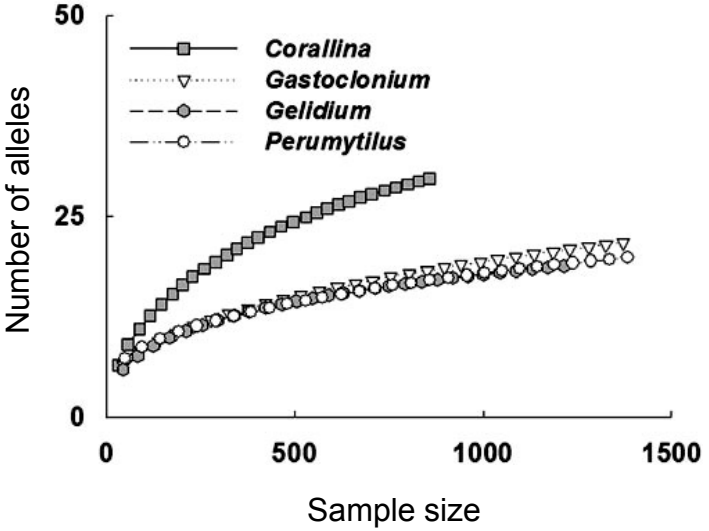
- počet alel na lokus

Alelická bohatost (allelic richness)

- počet alel na lokus vztažený k velikosti vzorku (metodou „rarefaction“) - FSTAT

Pozorovaná heterozygotnost (observed heterozygosity)

- průměrná četnost heterozygotů v jednotlivých lokusech



Hardy-Weinbergova rovnováha (HWE)

Př. Jeden lokus se 2 alelami

Alela	Četnost alely
A	p
a	q

$p + q = 1$

p, q - zjistíme analýzou svých vzorků

Genotyp	Očekávaná četnost genotypu
AA	p^2
Aa	2pq
aa	q^2

= Hardy-Weinbergova rovnováha

- četnosti genotypů zjistíme analýzou svých vzorků
- odchylky od očekávaných četností ⇒ např. χ^2 test

Očekávaná heterozygotnost (expected heterozygosity, H_e) při HWE

$H_e=1-(p^2+q^2)$ ..... pro 1 lokus se 2 alelami s četností *p* a *q*

Předpoklady HWE

- náhodné párování (panmixia)
- zanedbatelný efekt mutací a migrací („closed populations“)
- nekonečně velká populace
- Mendelovská dědičnost použitých markerů
- neutrální znaky – žádná selekce

- znaky nejsou ve vazbě – kontrola na „linkage disequilibrium“ (vazebná nerovnováha)

2 lokusy ve fyzické blízkosti
(snížená pravděpodobnost rekombinace
linkage disequilibrium)

vs.

nebo

2 lokusy fyzicky vzdálené
(pravděpodobnost rekombinace není ovlivněna
linkage equilibrium)

Odchylky od HW rovnováhy

- Test HWE – nejlépe Genepop („exact probability tests“) – pokud jsou odchylky, tak některý předpoklad HWE nebyl splněn

- nadbytek heterozygotů = negativní asortativní páření (tj. cílené rozmnožování nepodobných jedinců) – použité lokusy mohou být výhodné v heterozygotním stavu (např. geny MHC)

- nedostatek heterozygotů
- inbreeding (postihuje všechny lokusy stejně)
- nulové alely (jen na některých lokusech bude deficit heterozygotů)

Příklad – stanovení variability populace

Jedinec	Locus 1	Locus 2	Locus 3	Locus 4	Průměr
Ind 1	170/170	223/227	116/116	316/316	
Ind 2	170/172	223/225	112/112	316/316	
Ind 3	172/172	223/225	112/112	316/316	
Ind 4	170/172	223/227	112/112	316/316	
Počet alel	2	3	2	1	**2**
Ho	0,5	1,00	0	0	**0,375**
p	0,5	p = 0,5	0,75	1,00	
q	0,5	q = 0,25 r = 0,25	0,25	0	
He	0,5	0,625	0,375	0	**0,375**

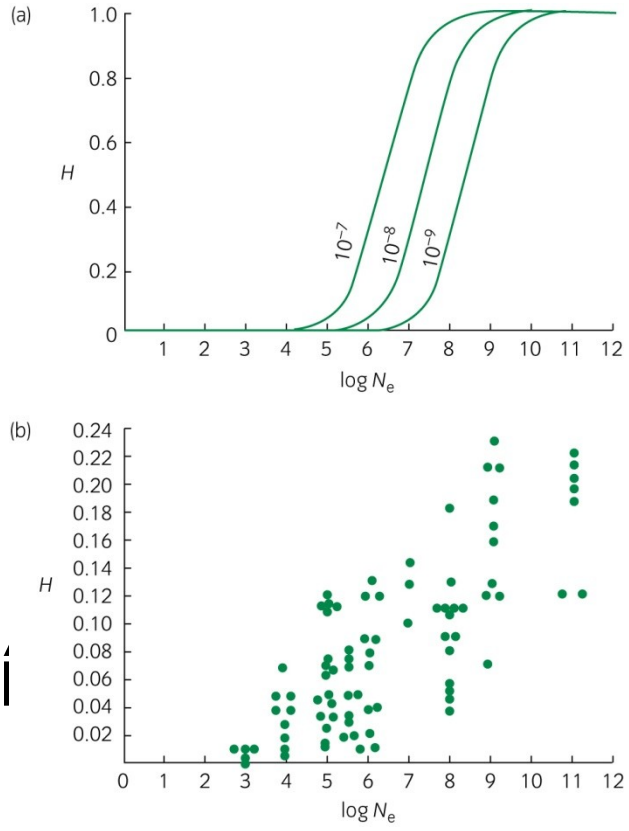
$H_e=1-(p^2+q^2)$

$H_e=1-(p^2+q^2+r^2)$

Polymorfismus = 0,75

Použití údajů o genetické variabilitě

- neutrální genetická teorie: $H_e=4N_e\mu/[4N_e\mu+1]$
- mutation-drift equilibrium
- srovnání různých populací a jejich N_e (H_e, AR atd.)



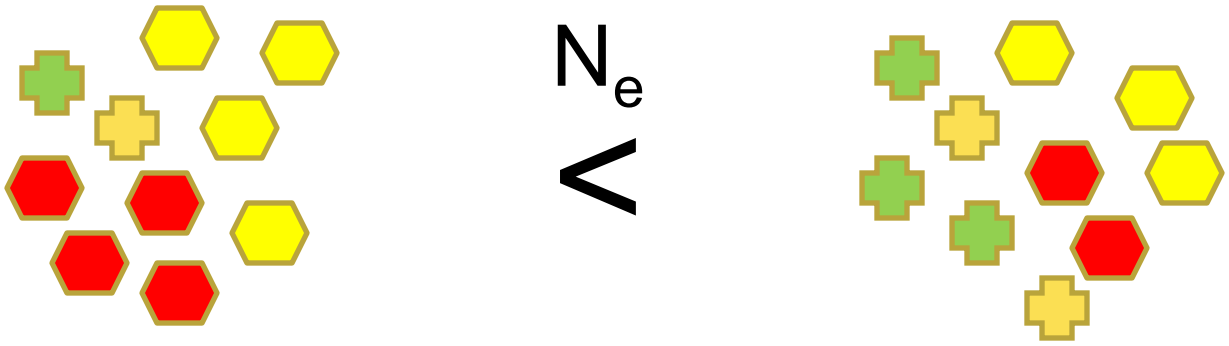
$N \sim H_e$ ... nemusí to být pravda

- vliv historického vývoje populací („bottlenecks“)
- Northern elephant seals *Mirounga angustirostrus* – 120 000 jedinců – 50 allozymových lokusů – žádná variabilita

rypouš severní

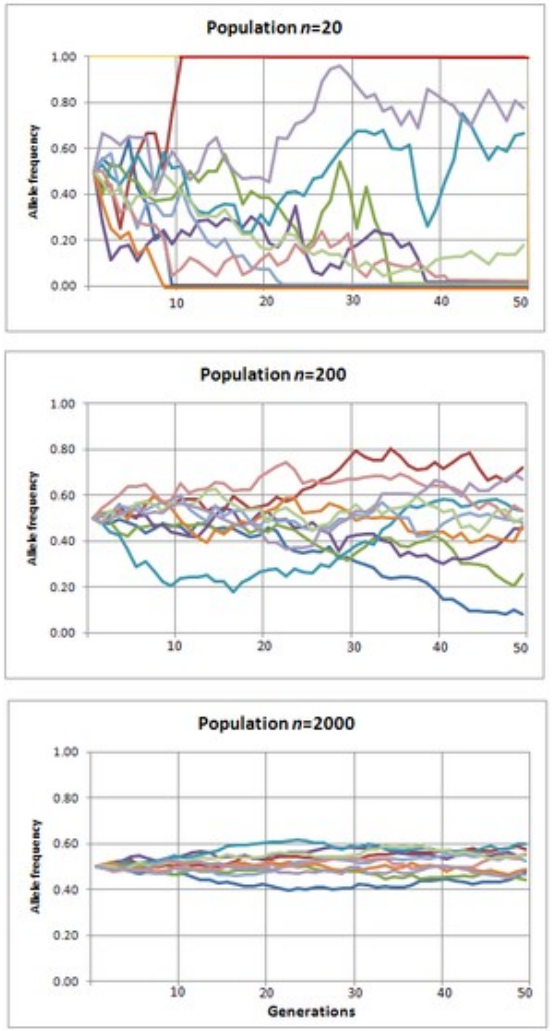
Efektivní velikost populace (N_e)

- N_e = velikost ideální populace (náhodné páření, rovnoměrný poměr pohlaví), která ztrácí genetickou diverzitu stejnou rychlostí jako aktuální populace (vlivem náhodného driftu)
- ovlivněna genetickou a věkovou strukturou, poměrem pohlaví, intenzitou inbreedingu atd.



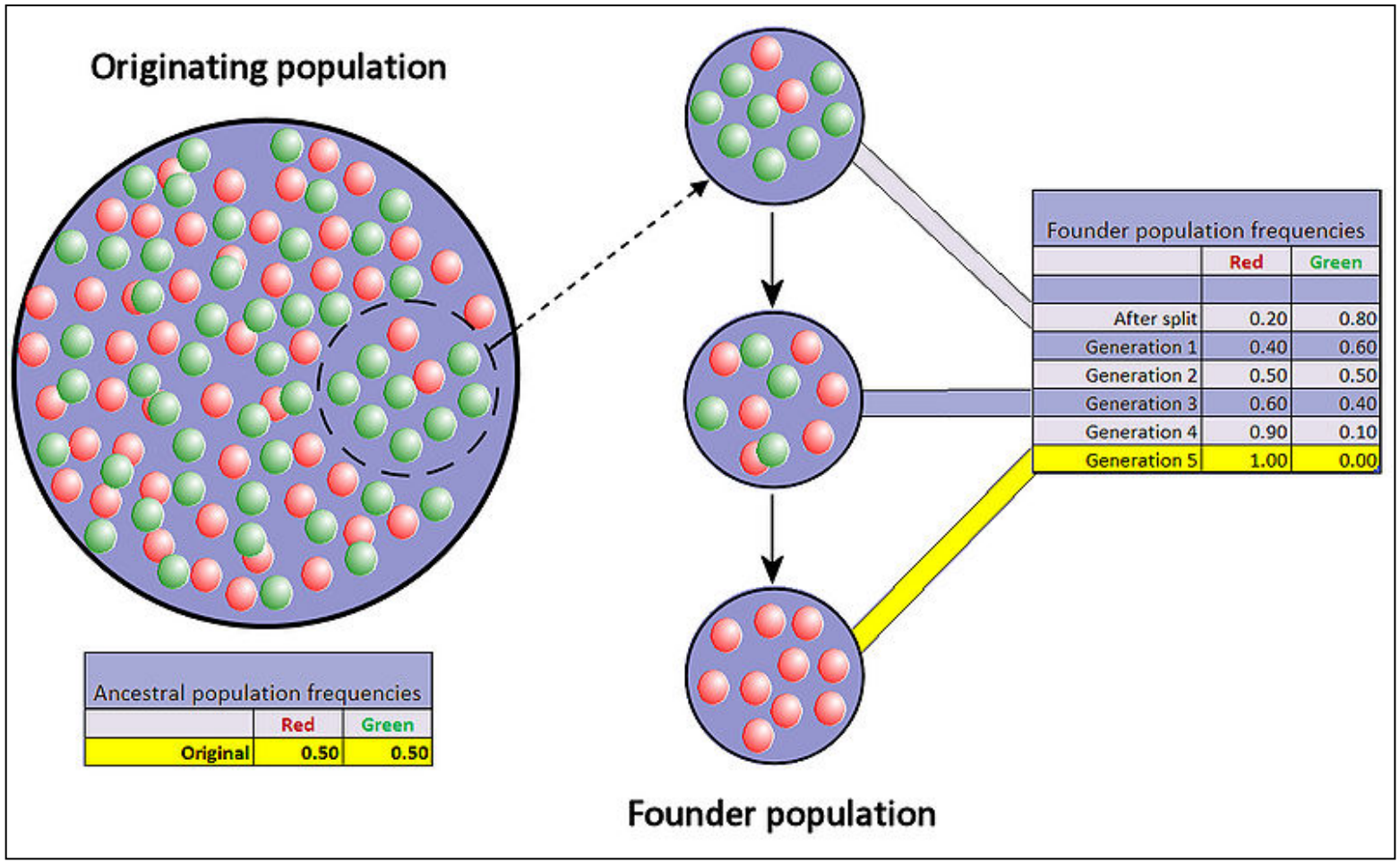
- vývoj genetické variability v malých populacích závisí na N_e více než na N

Genetický drift

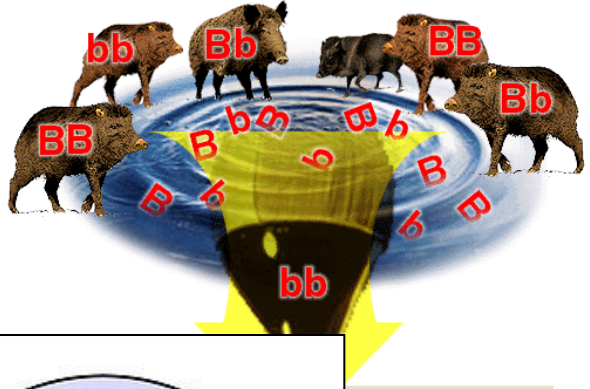


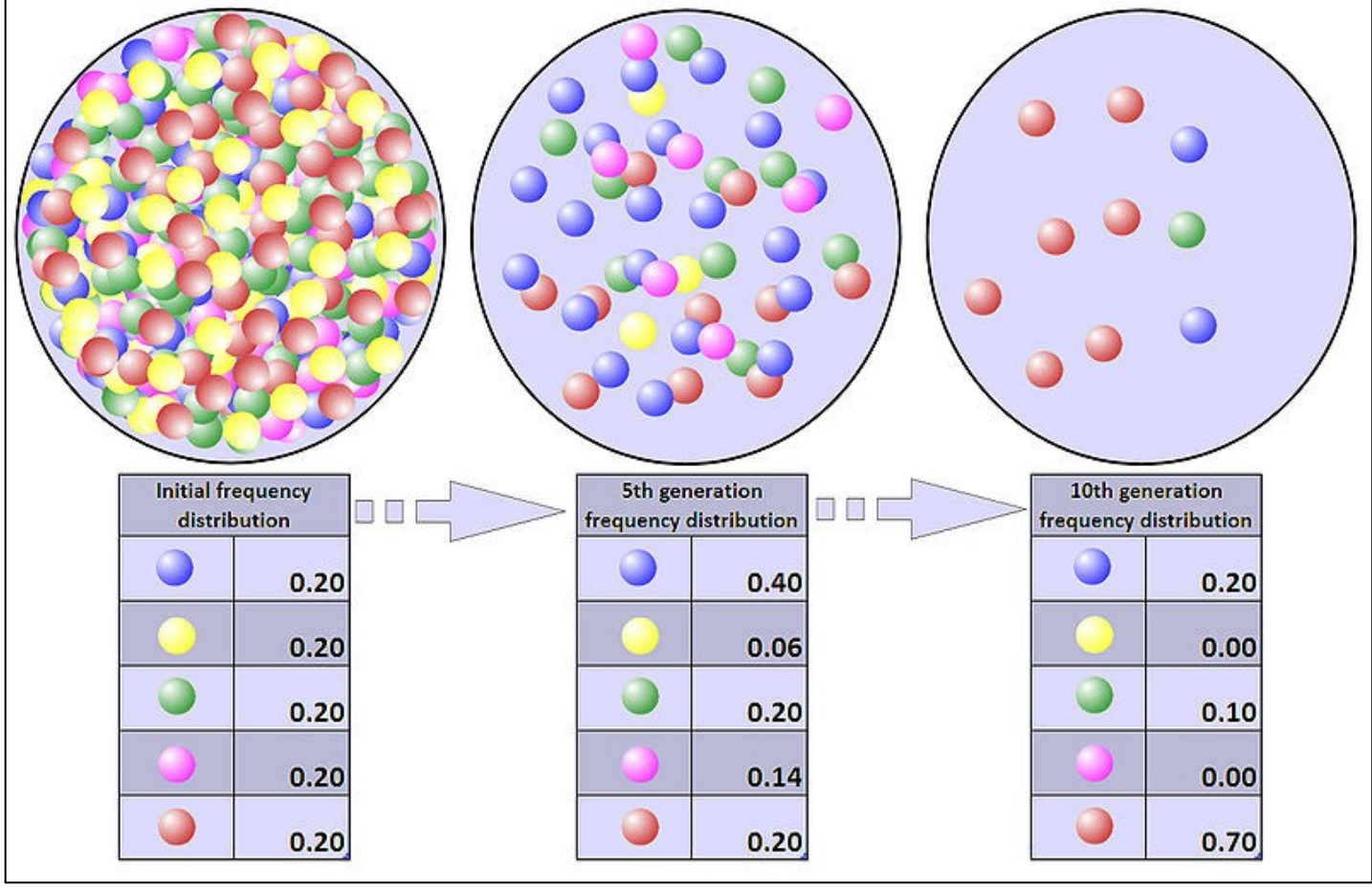
- Náhodné změny ve frekvencích alel
- Intenzita driftu závisí na velikosti populace (viz ochranářská genetika)
- Specifické případy – founder effect, bottleneck

Founder effect („jev zakladatele“)



Bottleneck



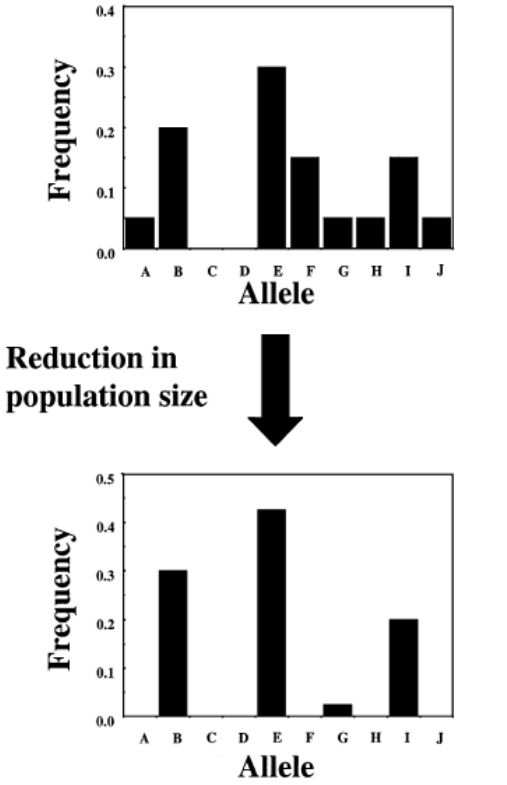


Initial frequency distribution	
	0.20
	0.20
	0.20
	0.20
	0.20

5th generation frequency distribution	
	0.40
	0.06
	0.20
	0.14
	0.20

10th generation frequency distribution	
	0.20
	0.00
	0.10
	0.00
	0.70

Detekce bottlenecku



50% reduction in no. of alleles
20% reduction in size range

Při bottlenecku vymizí nejdříve vzácné alely, rychleji než se sníží rozsah alel nebo heterozygotnost

Nutno znát (předpokládat) mutační model – pak se nasimuluje „mutation-drift“ rovnováha a srovnává se se skutečným stavem

Program M Ratio: počet alel vs. rozsah alel

Program BOTTLENECK: počet alel vs. heterozygotnost

Předpoklad testů: Populace v HW rovnováze

Bottleneck

- Při bottlenecku
  - → redukce počtu alel
  - → ovlivnění heterozygotnosti není tak rychlé
  - → více heterozygotů než by vyplývalo z populačního modelu (IAM, TPM, SMM)
- Nutno definovat mutační model, předpokladem je HW rovnováha, testuje se mutation-drift equilibrium
- Program BOTTLENECK

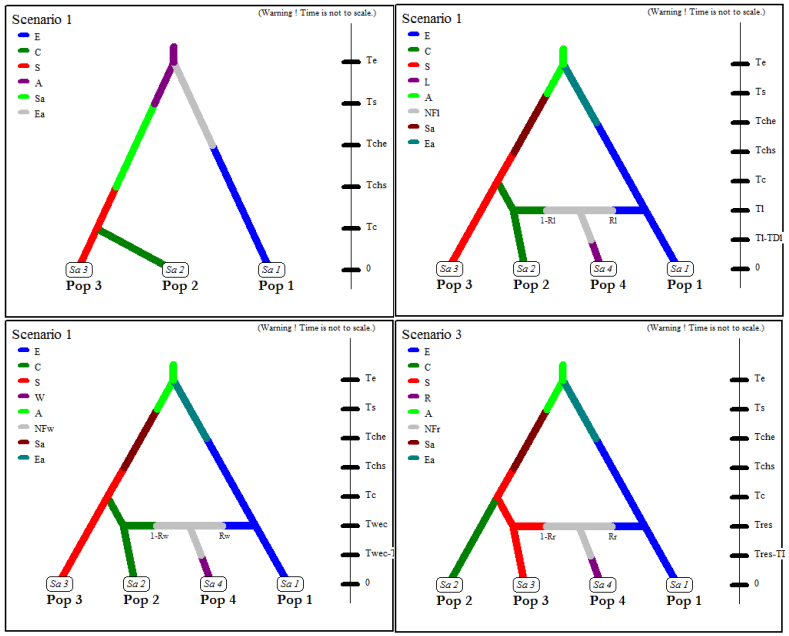
- Záleží na zvoleném modelu
- Ale SMM asi neplatí stoprocentně

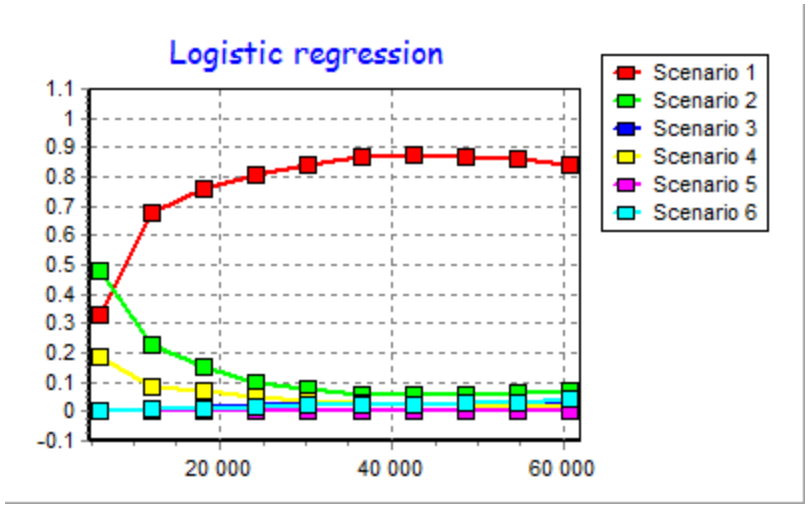
Table 4 Departures from mutation-drift equilibrium in yellow-hammer samples

Sampling sites	IAM	TPM	SMM
DEV	0.0039**	0.0078**	0.3438
GWE	0.0039**	0.0391*	0.7656
CUM	0.0039**	0.0391*	0.8125
OXO	0.0039**	0.0117*	0.3438
YOR	0.0039**	0.0117*	0.7656
T & W	0.0078**	0.1875	0.8125
LEI	0.0195*	0.2891	0.6563
SUF	0.0039**	0.0195*	0.6563

Detekce bottlenecku nebo expanze – Bayesiánský přístup

- **Komplexní Bayesiánský přístup** (založen na koalescenční teorii)
  - Detekce bottlenecku i expanze
  - Vhodné při dlouhodobějších změnách
  - Markov chain Monte Carlo simulations
  - Beaumont M. – např. program MSVAR nebo DIY ABC





Testování alternativních scénářů vývoje populací v programu DIY ABC

Otters in central Europe

- strong decline of population numbers in last century
- fragmentation of distribution area

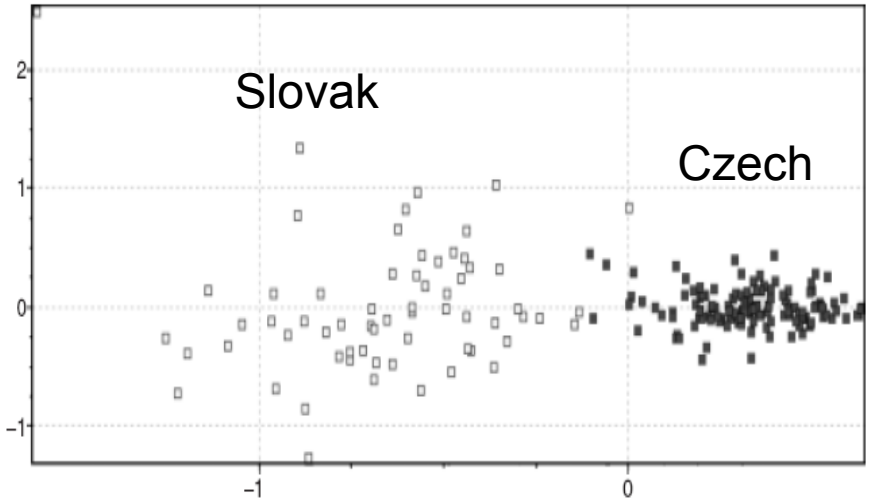


Table 3 Simulated data from five replicate runs of the MSVAR programme

Population	Model	n_0	n_1	mu	Xa (generations)	Xa (years)
CZE	EXP	**66.1**	**257.0**	**1.6×10^{-3}**	**5.9**	**17.7**
		(1.7; 245 470.9)	(12.6; 7079.5)	(5.6×10^{-5}; 4.2×10^{-2})	(0.2; 549.5)	
	LIN	**28.2**	**281.8**	**1.3×10^{-3}**	**7.2**	**21.6**
		(0.4; 93 325.4)	(13.5; 7413.1)	(4.3×10^{-5}; 3.7×10^{-2})	(0.2; 660.7)	
SVK	EXP	**147.9**	**588.8**	**1.1×10^{-3}**	**4.3**	**12.9**
		(2.6; 323 593.6)	(26.9; 14 791.1)	(4.4×10^{-5}; 2.3×10^{-2})	(0.1; 162.2)	
	LIN	**123.0**	**575.4**	**1.0×10^{-3}**	**4.7**	**14.1**
		(0.5; 363 078.1)	(29.5; 16 218.1)	(4.1×10^{-5}; 2.1×10^{-2})	(0.1; 173.8)	

n_0,estimated mode (and limits) of current effective population size; n_1, estimated mode (and limits) of past effective population size; mu, estimated mode (and limits) of mutation rate; Xa, estimated mode (and limits) of time between current and past population size in generations and years; CZE, Czech population; SVK, Slovak population; EXP, exponential model; LIN, linear model.

Hájková et al. 2006, J. Zoology

2. Analysis of population subdivision (mezipopulační variabilita)

Hierarchická populační struktura

Druh → populace → subpopulace (demy)

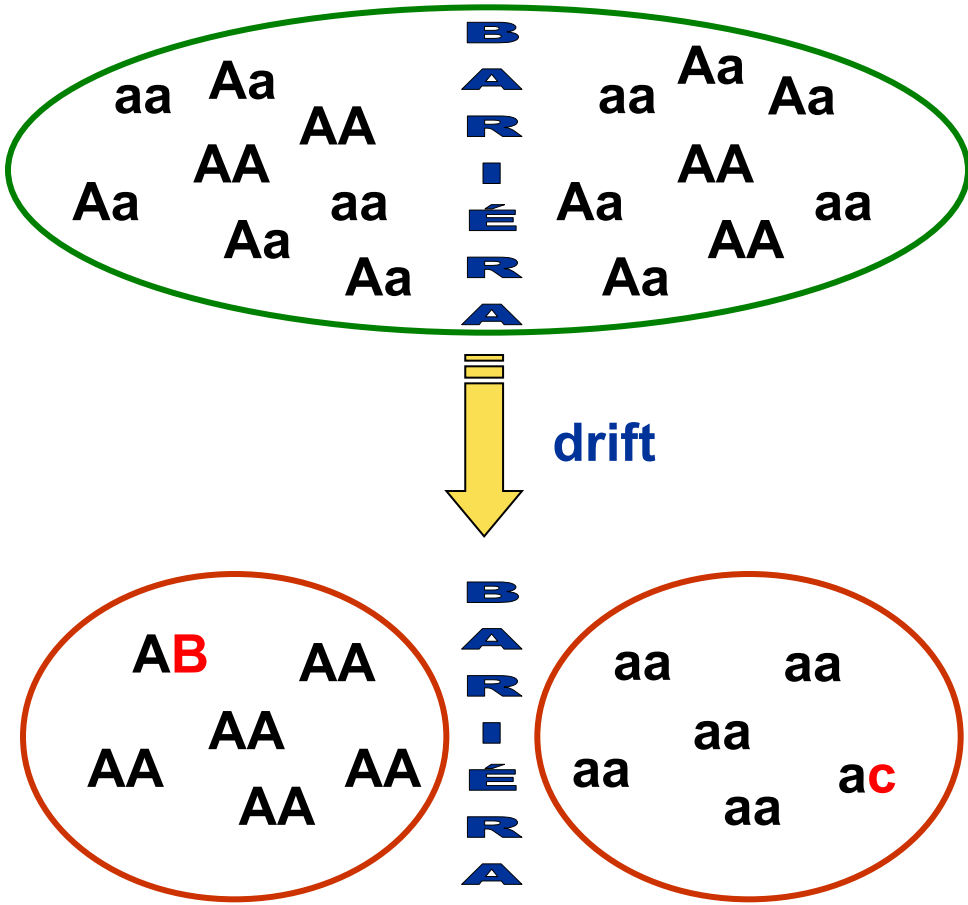
Předpoklady studia populačně-genetické struktury

- lokusy používané pro analýzu populační struktury jsou neutrální vůči selekci

- klasický populačně-genetický přístup = jednotlivé populace jsou předem známy (např. chceme zjistit úroveň genetických rozdílů mezi dvěma lokalitami = populacemi)

Genetická struktura populací
drift, mutace

- **Drift**
  → diferenciace subpopulací
  díky změnám frekvencí (až fixaci)
  alternativních alel

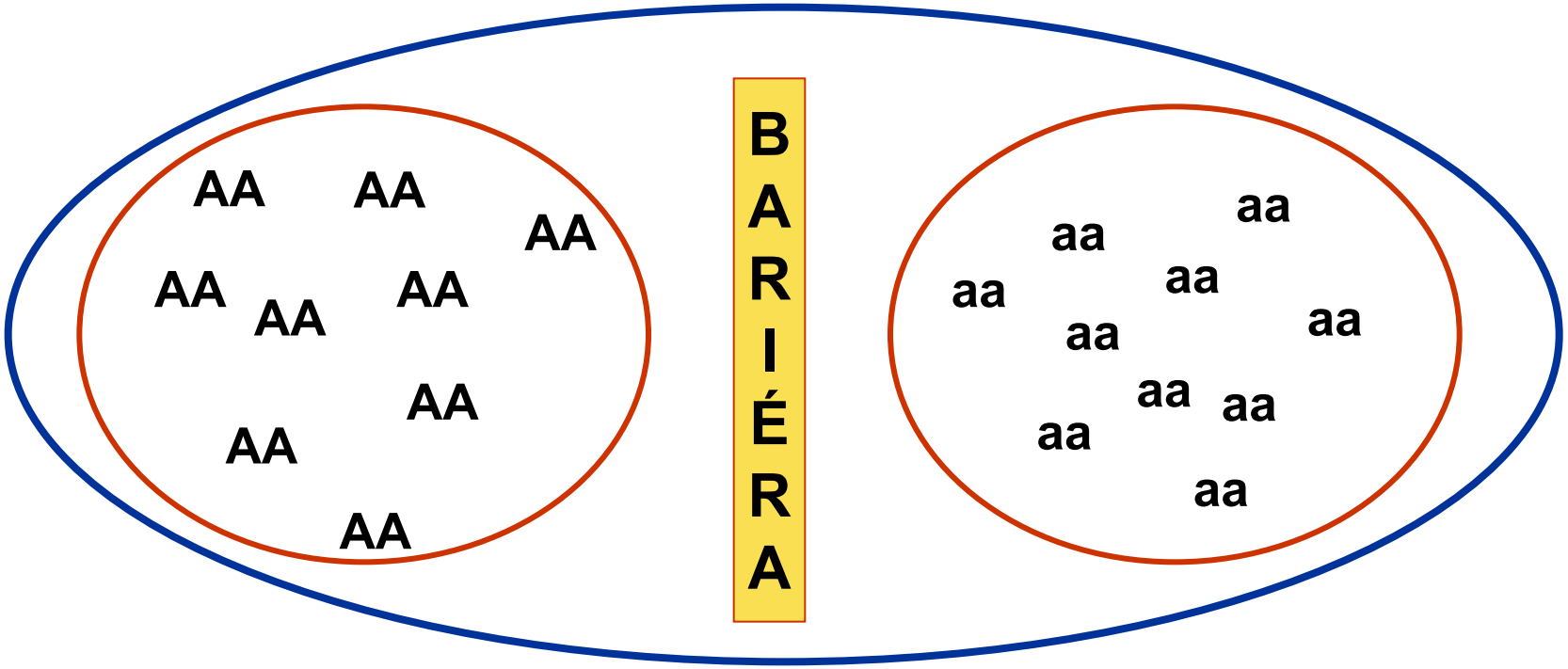


- **Mutace**
  mohou zvýšit diferenciaci
  (nebo ne – homoplázií)

Migrace (genový tok)
- působí proti diferenciaci subpopulací

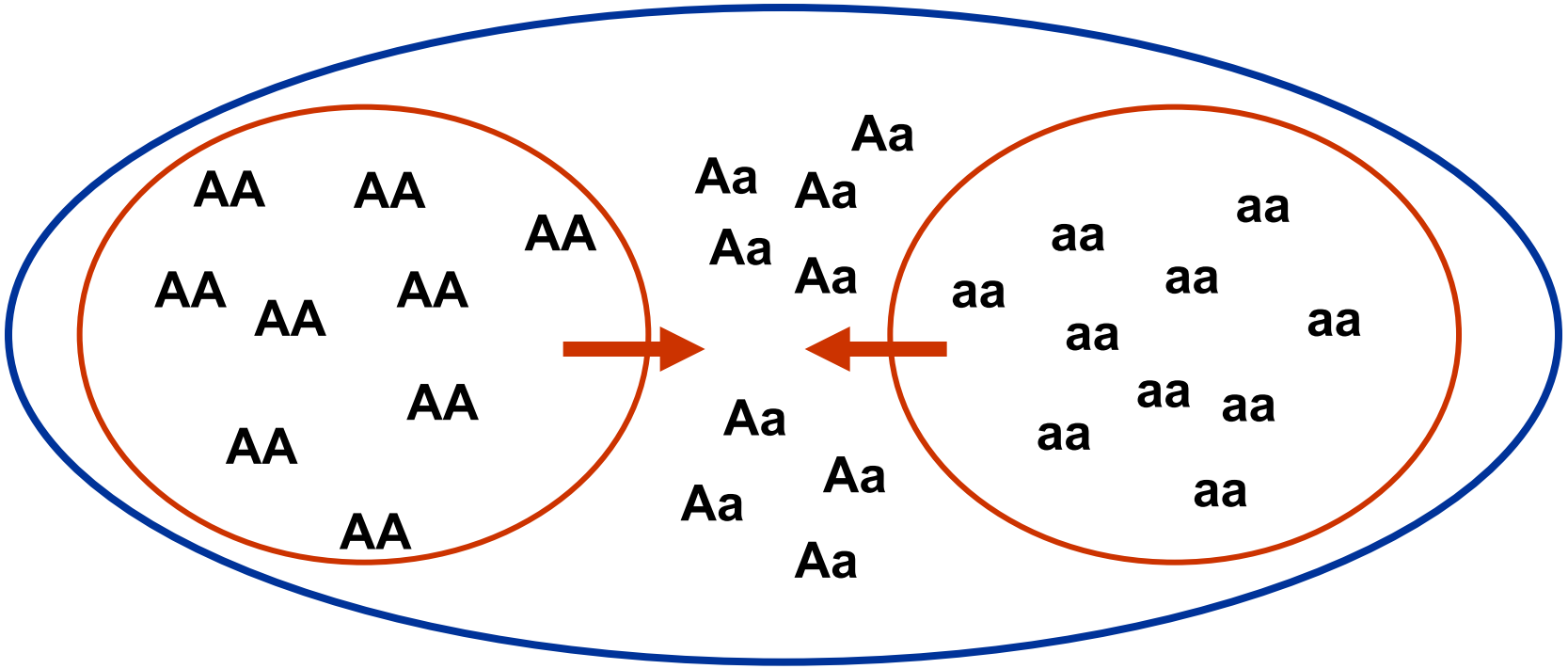
Vliv populační struktury na heterozygotnost

- Wahlundův princip
- Dvě izolované subpopulace s fixovanými alelami
- Subpopulace v HW, celkově v populaci však nedostatek heterozygotů



Wahlundův princip (isolate breaking)

- Pokles homozygotnosti při sloučení subpopulací



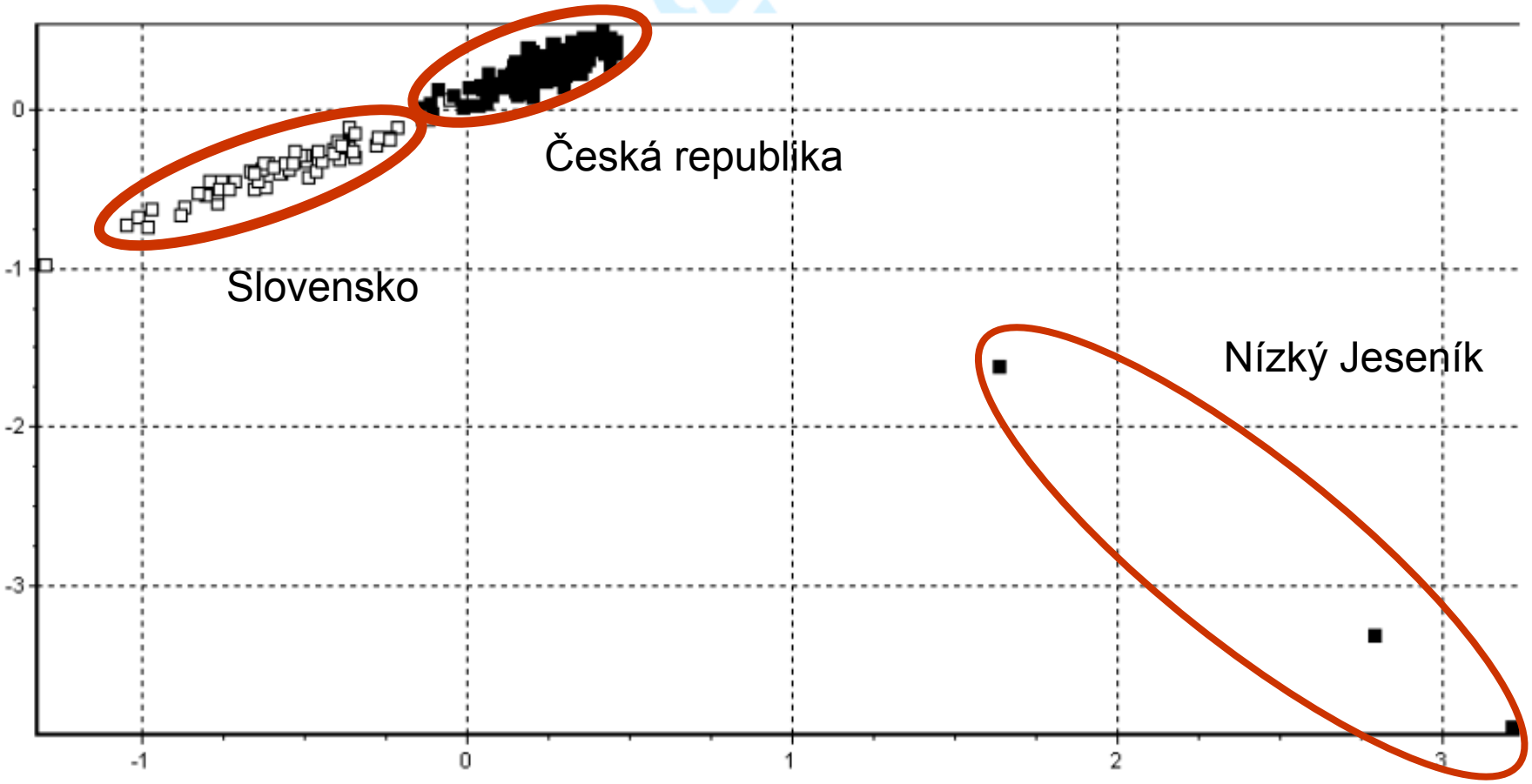
Wahlundův princip - příklad

- Jezero Bunnersjöarna (severní Švédsko) – brown trout
- 2 alely na alozymovém markeru

	A/A	A/B	B/B	Total	p	2pq
Přítok	50	0	0	50	1.000	0.000
Odtok	1	13	36	50	0.150	0.255
Celé jezero (expected)	51 (33.1)	13 (48.9)	36 (18.1)	100	0.575	0.489

Ryman et al. 1979

Jak zjišťovat strukturovanost populací?



Factorial correspondence analysis
(Genetix)