

GENETICKÉ METODY V ZOOLOGII

- **Analýza fenotypu**
- **Cytogenetické metody**
- **Elektroforéza proteinů**
- **Molekulární metody**
- **Populační genetika**
- **Rekonstrukce fylogeneze**

ANALÝZA FENOTYPU

- **Znak a stav znaku**
- **Znaky metrické × nemetrické; meristické × plastické**

znaky	proměnlivost	genetické určení
kvalitativní	diskrétní	málo genů s velkými účinky
kvantitativní – plastické	kontinuální	mnoho genů s malými účinky + negenetické vlivy
kvantitativní – meristické	kontinuální škála diskrétních znaků	mnoho genů s malými účinky + negenetické vlivy (prahové znaky)

Genové interakce ovlivňující projev znaku:

- **vazba genů**
- **mnohonásobné alelické série**
- **epistáze**
- **pleiotropie**
- **polygenní znaky**

Morfologické metody

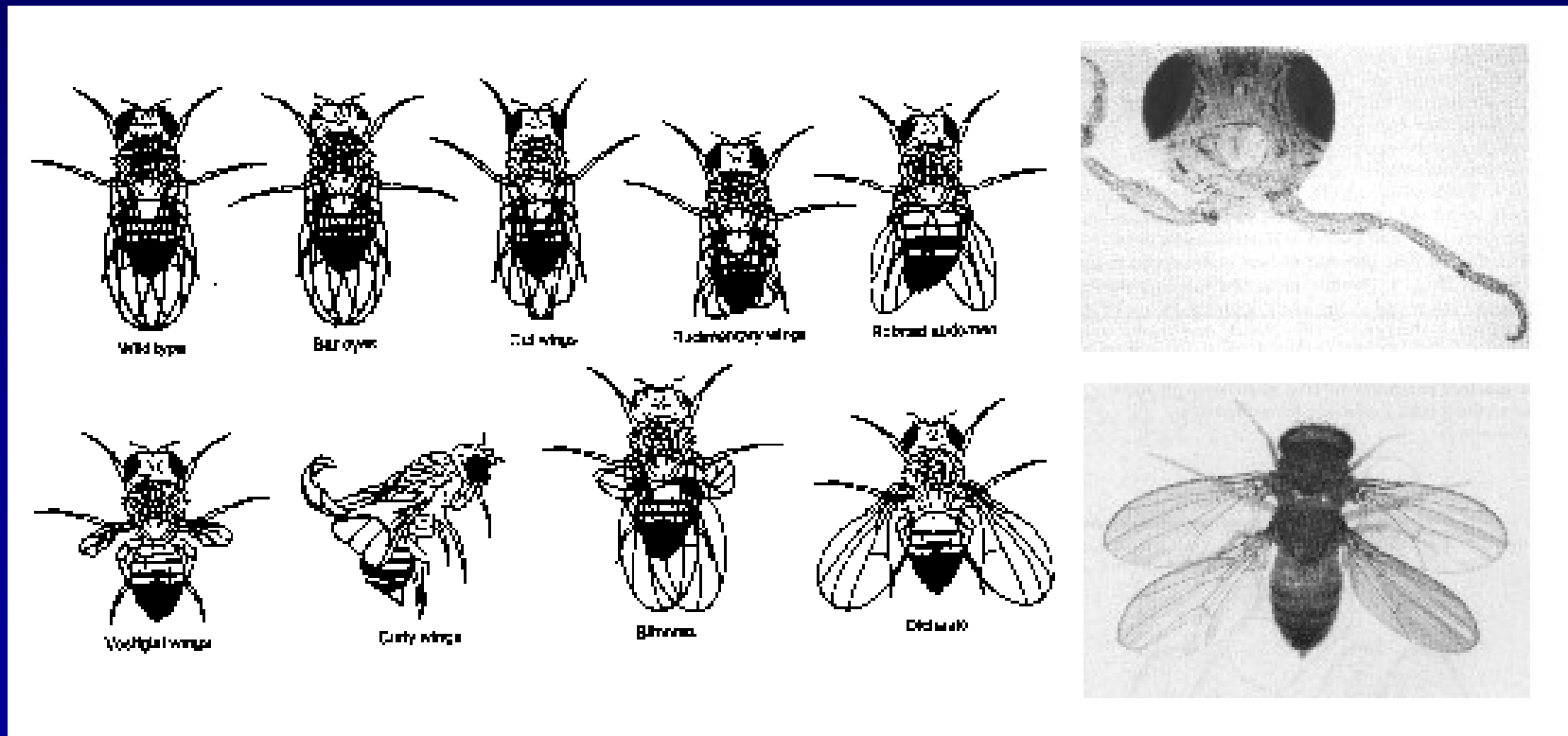
- **signální fenotypy**
- **imunologie**
- **epigenetika**
- **tradiční morfometrie**
- **morfometrie tvaru (geometrická morfometrie)**
 - **analýza obrysů**
 - **Prokrustovská analýza a význačné body**

Signální fenotypy

- mutace zbarvení
- Mendelovy pokusy, mendelovská dědičnost
- přástevník hluchavkový (*Biston betularia*), páskovka hajní (*Cepea nemoralis*), krovky brouků
- savci: asi 15 domácích a laboratorních druhů - kočka, myš, morče; kolčava, levhart, norek, kůň
 - pigmentová barviva: eumelanin, phaeomelanin, karoteny, hemoglobin, trichosiderin
- hlavní alelické série:
 - A = agouti* (podélná struktura zbarvení chlupu)
 - B = brown* (proteinová složka pigmentových granulí)
 - C = albino* (snížení počtu pigmentových skvrn)
 - D = dilute* (shlukování pigmentových skvrn)
 - E = extension* (změny množství eumelaninu)
- kočka domácí: *A-agouti*, *T-tabby*, *B-brown*, *O-orange*, *S-white spotting*, *W-white*, *L-long hairs*

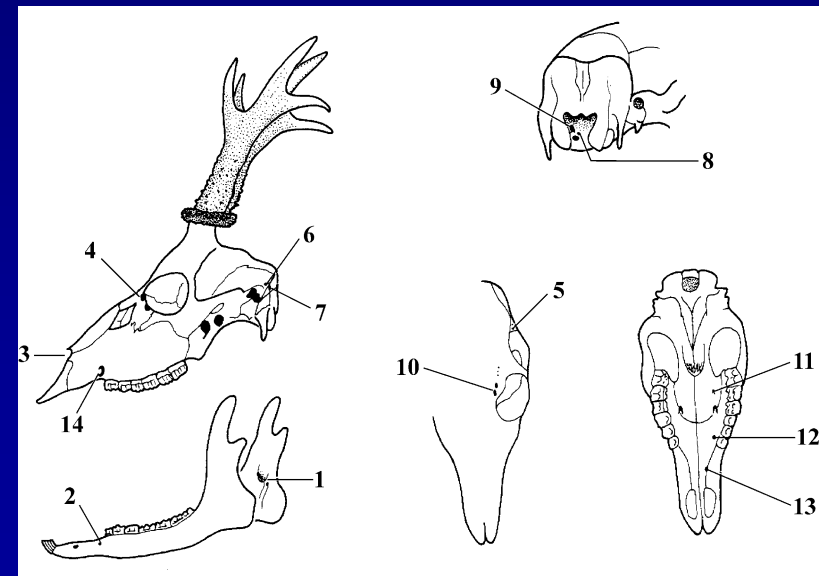
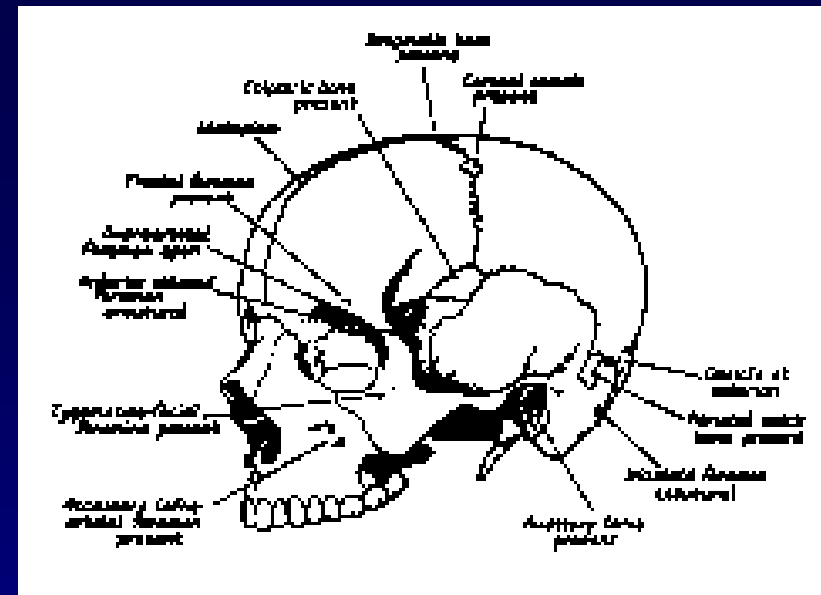
Signální fenotypy

- mutace u octomilky (*Drosophila melanogaster*)
- homeotické mutace: *Antennapedia*, *Ultrabithorax*



Epigenetické znaky

- Epigeneze = vývojové interakce nad úrovní akce genů
- výběr znaků: základním kritériem absence korelace mezi znakem a jeho velikostí



Epigenetické znaky

- **rozdíly mezi populacemi: index MMD (mean measure of divergence):**

$$MMD = 1/r \sum [(\theta_1 - \theta_2)^2 - V] \quad \theta = \arcsin(1-2p),$$

$$V = 1/(n_1 + 1/2) + 1/(n_2 + 1/2)$$

- **statistická významnost měřena jako standardní odchylka MMD: $SD = (\text{var}MMD)^{-1/2} = [4/r(1/n_1 + 1/n_2)]^{-1/2}$**
- **výstupy: symetrická matice rozdílů → korelace mezi maticemi (Mantelův test, prostorová autokorelace), shluková analýza, MST**

ANALÝZA FENOTYPU

- Vztah genotypu a fenotypu: $V_P = V_G + V_E$
 - V_P = celková fenotypová variance
 - V_G = variance genotypu
 - V_E = variance způsobená vlivem prostředí
 - $V_G = V_A + V_D + V_I$ **A** = aditivita; **D** = dominance; **I** = epistáze

Dědivost (heritabilita), h^2

= míra dědičné složky fenotypové proměnlivosti

- udává, do jaké míry lze varianci v rozložení fenotypu přičíst na vrub genetických příčin

- skutečná dědivost

v užším smyslu $H = V_A/V_P$

v širším smyslu $H = V_G/V_P$

- realizovaná dědivost $h^2 = R/S$

$R = Y_o - Y =$ selekční odpověď (s. efekt)

$S = Y_p - Y =$ selekční difference = zlepšení nad průměr populace
vzhledem k rozdílu mezi rodiči a průměrem populace

$Y_o =$ hodnota znaku u potomstva, $Y_p =$ hodnota znaku u rodičů

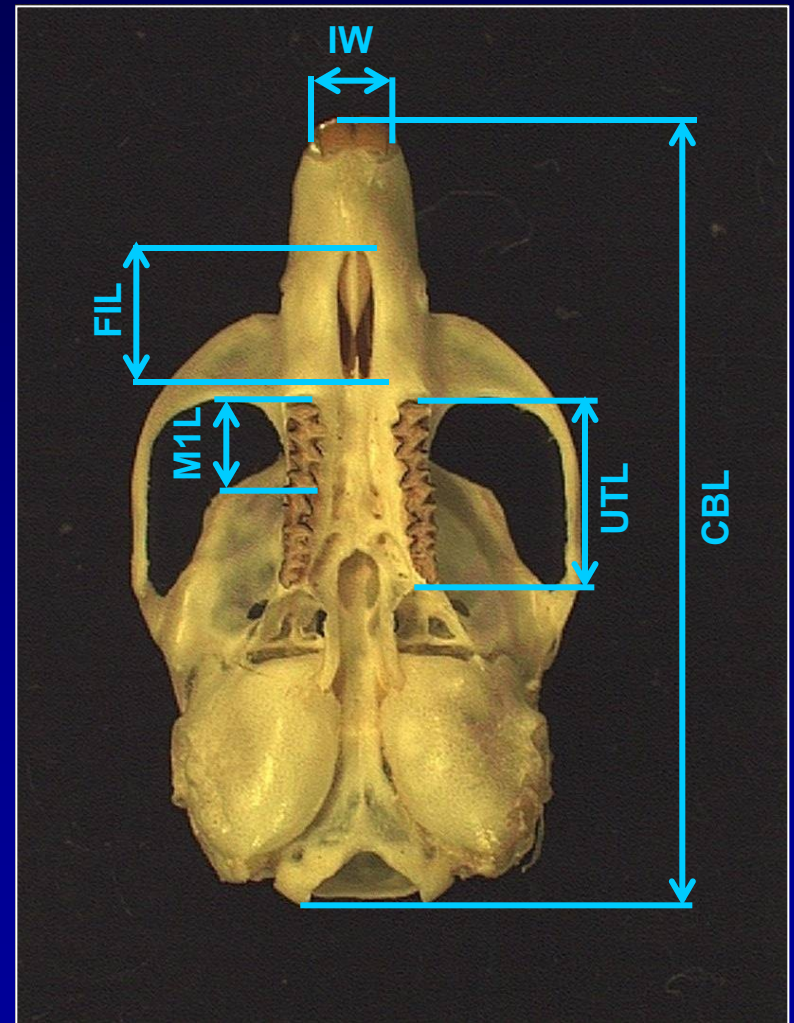
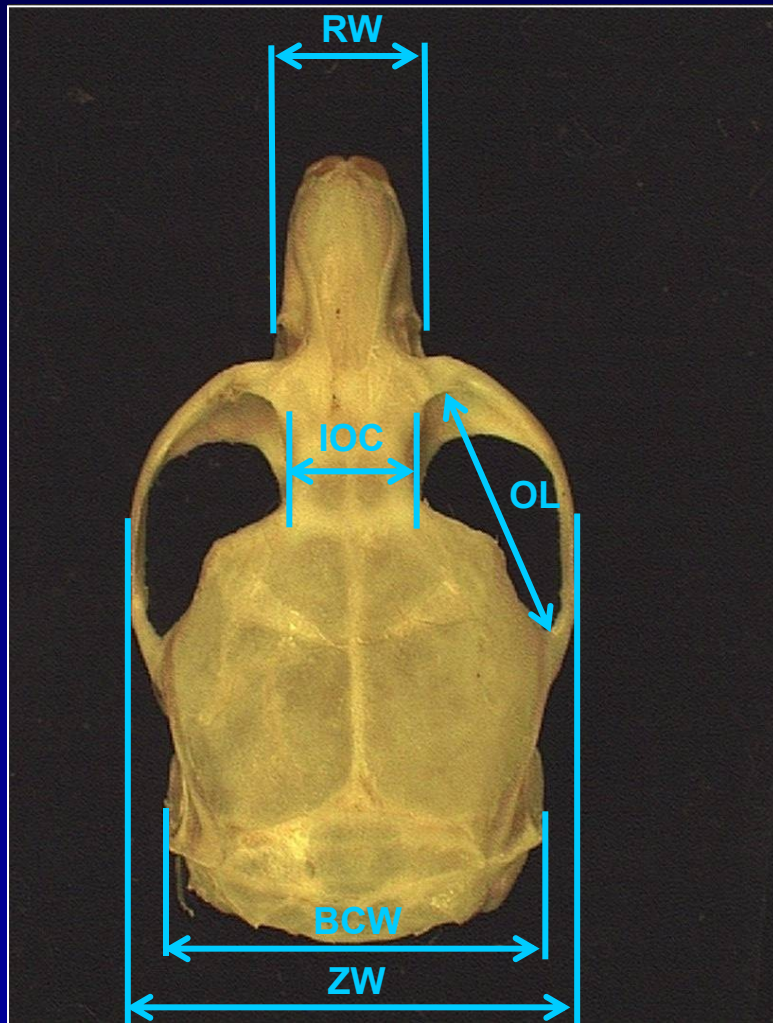
$Y =$ průměrná hodnota znaku

- měření dědivosti: nejčastěji jako podobnost mezi příbuznými

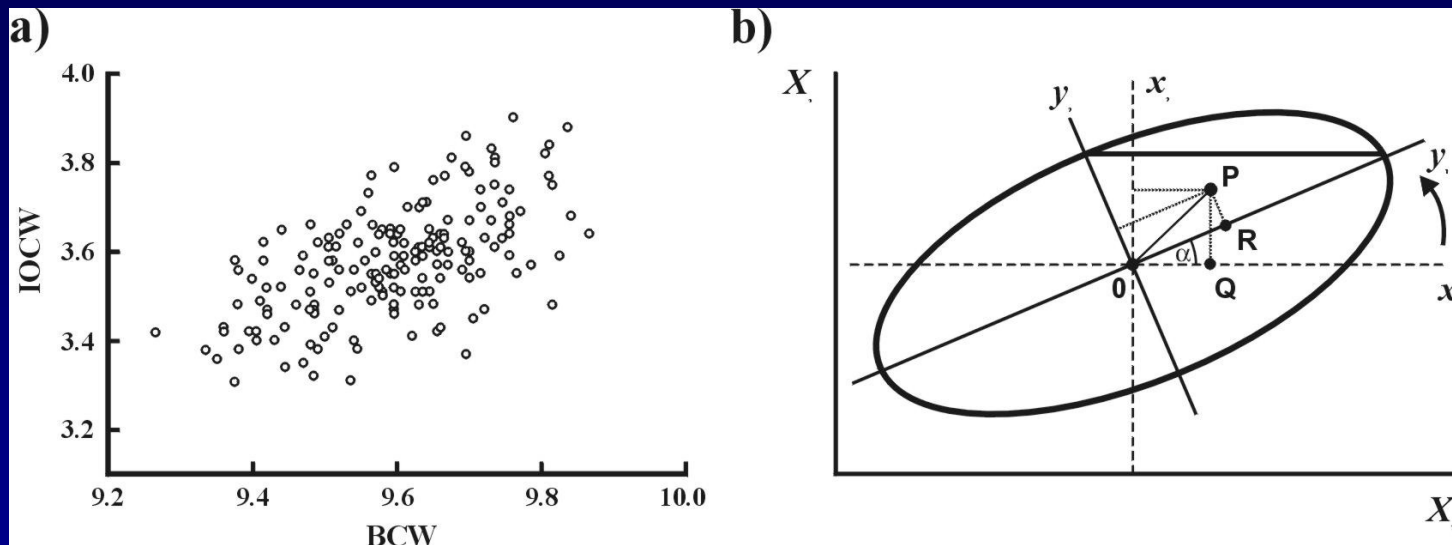
Tradiční morfometrie

- **kvantitativní (metrické i meristické) znaky**
- **polygenní genetický základ**
- **měření vzdáleností, úhlů, plochy atd.**
- **vstup: posunová měřítko (analogová, digitální), měřicí okulár, měřicí mikroskop („measurescope“)**
- **výstupy: ordinační analýza, shluková analýza, fylogenie, analýza alometrických vztahů, srovnávací analýzy**
- **systematika, studium fylogeneze, morfologie, srovnání morfologické evoluce s molekulární, behaviorální e. ...**
- **software: STATISTICA, SAS, SYSTAT, SPSS, NCSS, STATGRAPHICS, JMP, NT-SYS, MATLAB, SPLUS atd.**

Tradiční morfometrie



- Analýza hlavních komponent (Principal components analysis, PCA)



n jedinců, p proměnných

$$Z_i = a_{i1}X_1 + a_{i2}X_2 + \dots + a_{ip}X_p$$

- latentní kořen (eigenvalue, latent root)
- latentní vektor (eigenvector, latent vector)

Tradiční morfometrie

Analýza fenotypu

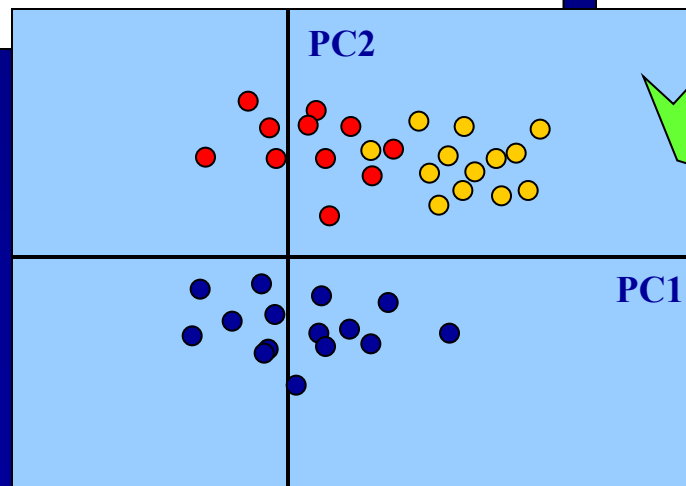
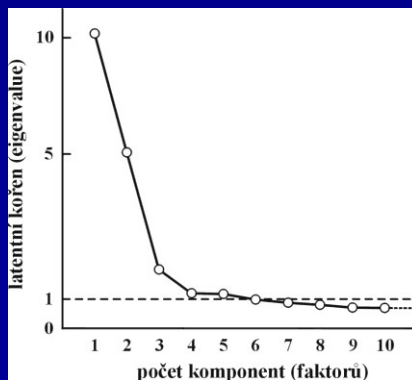
var	PC1	PC2	PC3
URW	0,3126	-0,3902	-0,0933
ZPW	0,4818	0,0162	-0,1758
CBL	0,5590	-0,6997	0,2391
OL	0,3831	-0,6762	0,3076
RL	0,4454	-0,6119	0,0486
IOCW	0,5883	-0,1422	-0,5204
BCW	0,5758	-0,2945	-0,5128
ZW	0,6409	-0,6029	-0,1885
BCH	0,3083	-0,3053	-0,3544
LFI	0,3956	-0,5874	0,2949
I1W	0,4973	-0,6556	0,0238
FP	0,5640	-0,2443	-0,1547
FPT	0,3218	-0,1715	-0,3899
PM	0,5434	-0,2574	-0,0485
LD	0,3898	-0,8068	0,2282
eigen	10,137	6,059	2,028
% var	32,701	19,544	6,542
kum %	32,701	52,245	58,793

var	PC1	PC2	PC3
LN	0,4438	-0,6583	0,2404
LAL	0,1440	0,1699	-0,6798
LM1L	0,6450	0,5211	-0,0603
LM1W	0,7188	0,3311	0,0261
LM2L	0,5420	0,4698	0,2232
LM2W	0,7936	0,2996	0,1126
LM3L	0,3572	0,4141	0,2567
LM3W	0,7147	0,3775	0,0767
LML	0,7815	0,4879	0,1092
UM1L	0,6716	0,4054	-0,0434
UM1W	0,7315	0,2869	-0,0957
UM2L	0,4596	0,4304	0,2878
UM2W	0,8023	0,2360	-0,0642
UM3L	0,6621	-0,0026	0,1481
UM3W	0,6975	0,2560	0,1133
UML	0,7739	0,4258	0,1353

Pop.	PC1	PC2	PC3
1	-0,4107	0,3434	-0,7138
1	-0,3473	0,0747	-0,4280
1	-0,4107	10,2478	-0,6631
1	-0,2454	0,5547	-0,9033
1	-10,1552	0,9977	-10,6618
1	-10,5334	10,3502	10,7457
1	-0,5520	20,1285	10,2274
2	-0,9484	0,0695	-0,4729
2	0,7837	0,7317	0,6073
2	0,0757	-0,8404	0,2365
2	-10,4157	-10,4619	-0,1617
2	-0,8787	-10,6109	10,0195
3	0,5419	-0,9804	0,5811
3	10,4301	0,3881	0,4764
3	0,6310	0,3449	-0,0335
3	0,2657	0,0851	10,2535
3	0,8796	0,6772	0,2254
3	10,7009	-0,2075	0,4952
3	-0,0263	0,3242	0,9853
3	0,9681	10,2721	-0,0680

zátěže (loadings)

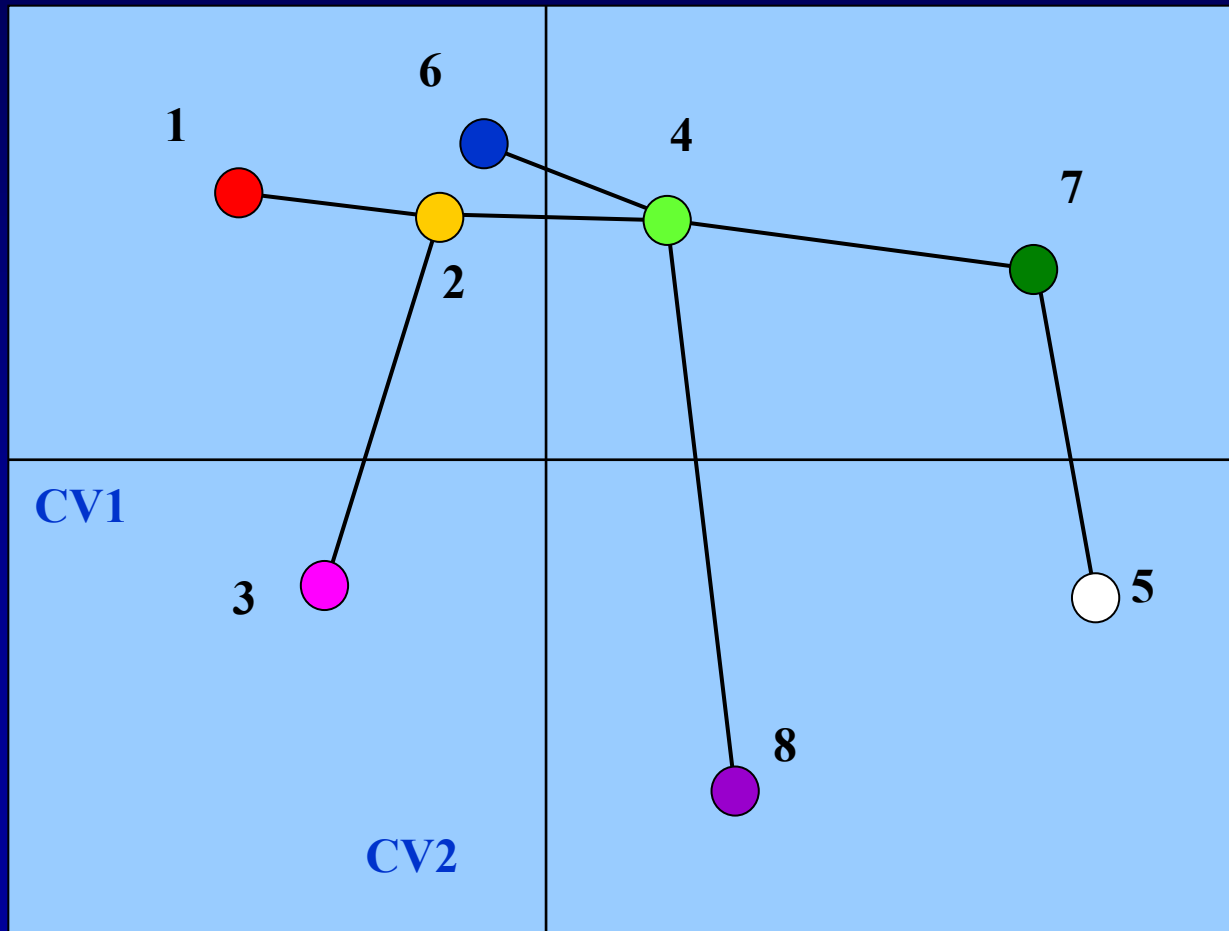
latentní kořeny



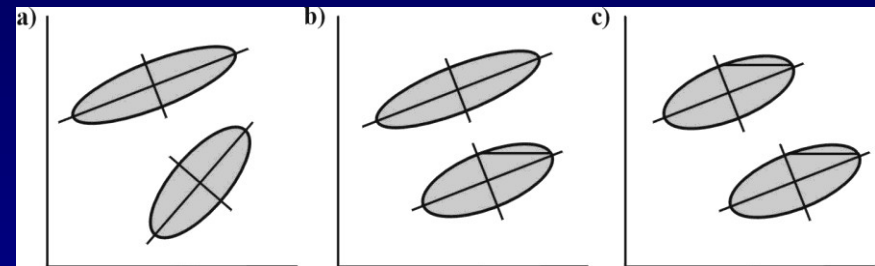
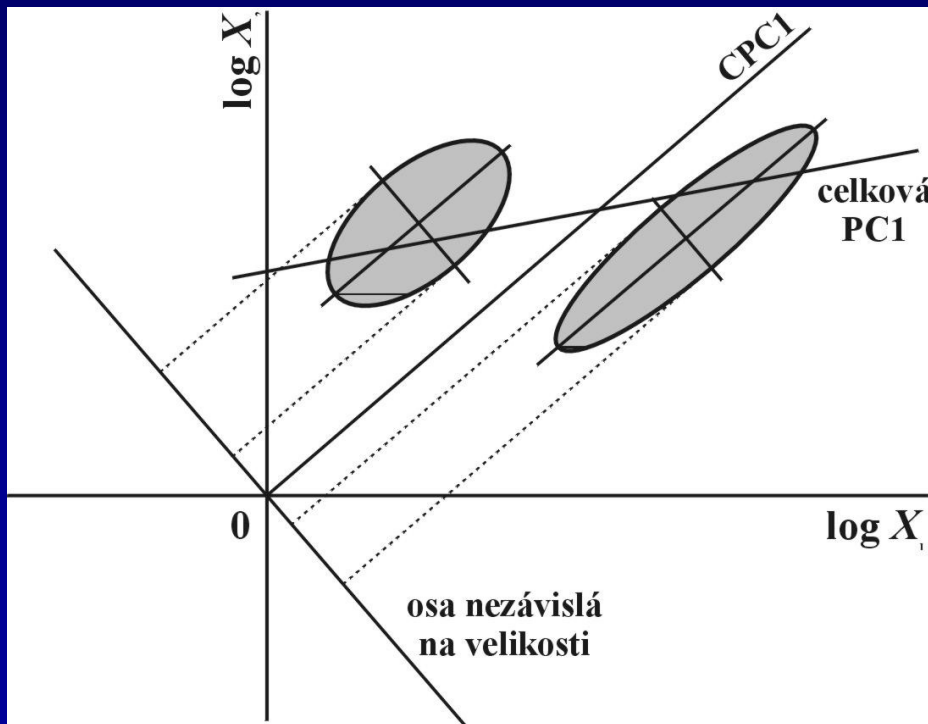
PC skóre

- Kaiserovo kritérium
- suťový graf

Minimum spanning tree, MST

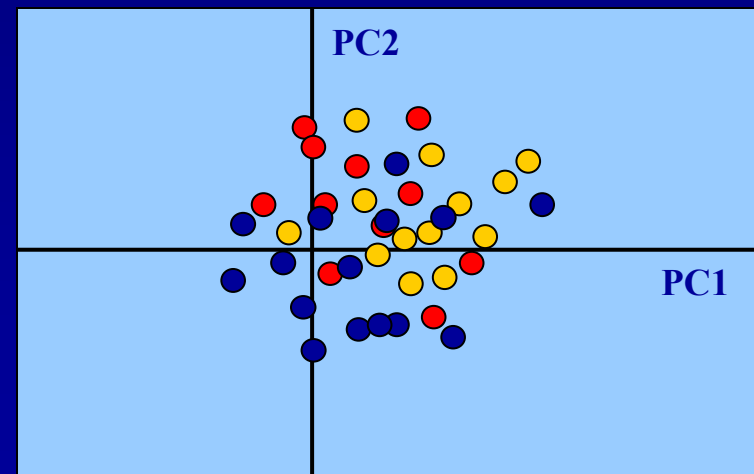


- **Problém více vzorků: MGPCA (multiple-group PCA), CPCA (common PCA)**
- **Problém velikosti: Burnabyho metoda, vyřazení PC1**



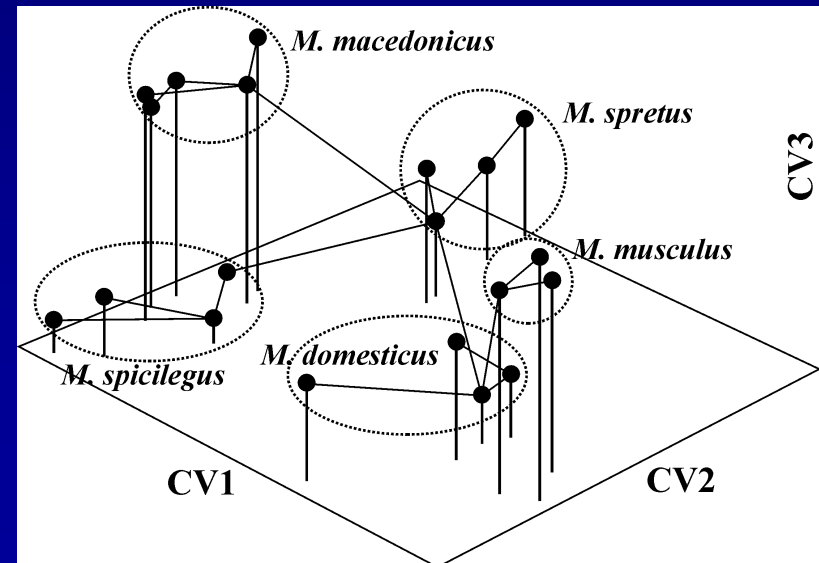
CPCA

MGPCA



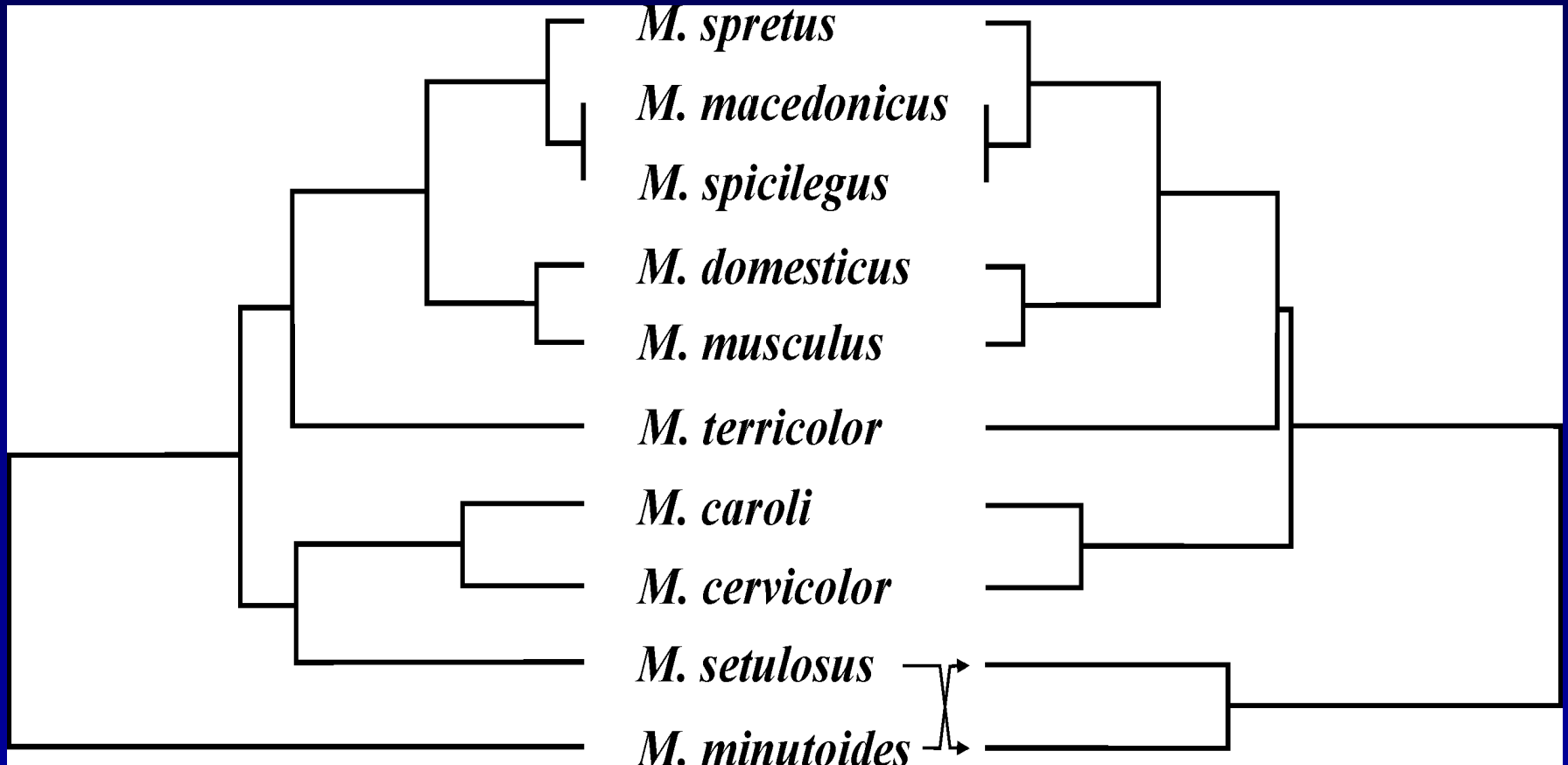
Tradiční morfometrie

- Analýza hlavních koordinát (Principal coordinates analysis, PCOA):
matice distancí/podobností
- Faktorová analýza (Factor analysis, FA):
speciální model; společné faktory + specifický faktor
- Diskriminační analýza (Discriminant function analysis, DFA) a
kanonická analýza (Canonical a., CVA):
Mahalanobisovy (generalizované) vzdálenosti
MANOVA (Wilk's Lambda, Pilai's trace), Hotellingův T^2 test
kroková DFA
- Korespondenční analýza (CA):
abundance n druhů na p stanovištích
(kontingenční tabulka),
„reciproční průměrování“
- Shluková analýza (Cluster analysis)
Eukleidovské, manhattanské distance

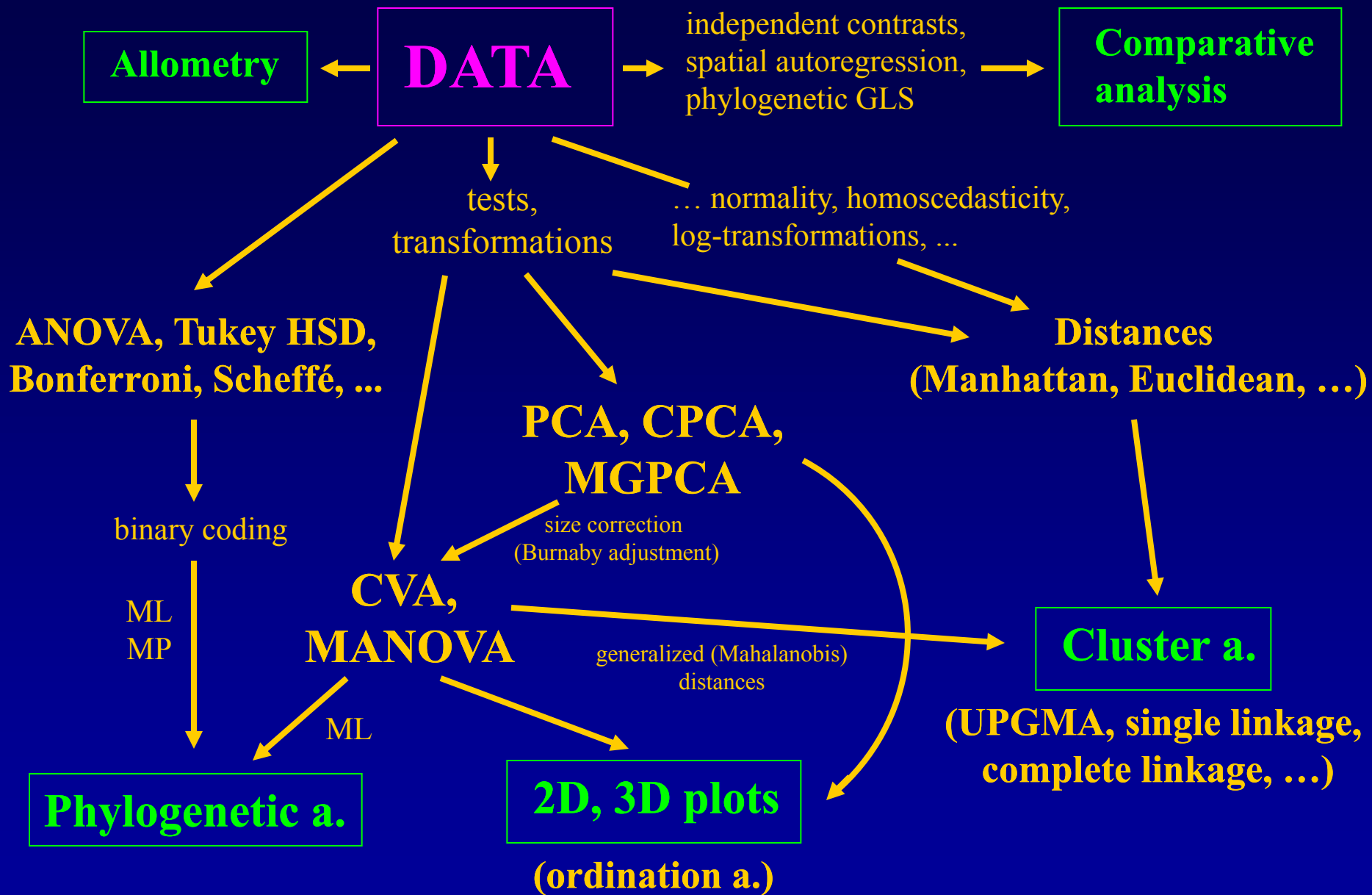


Tradiční morfometrie

Shluková analýza (Cluster analysis)



Analýza fenotypu

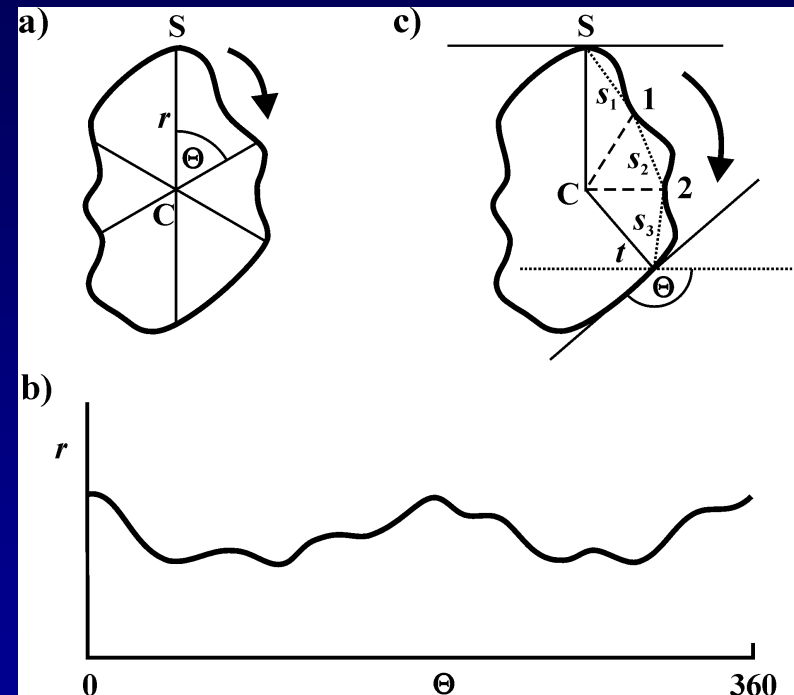


Morfometrie tvaru

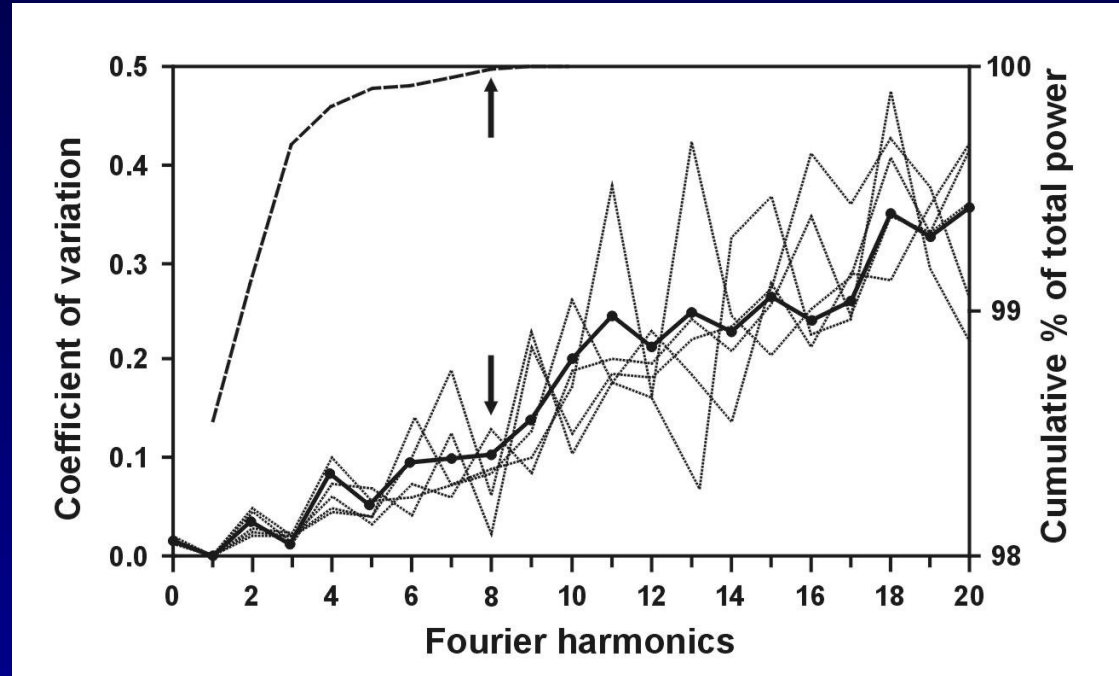
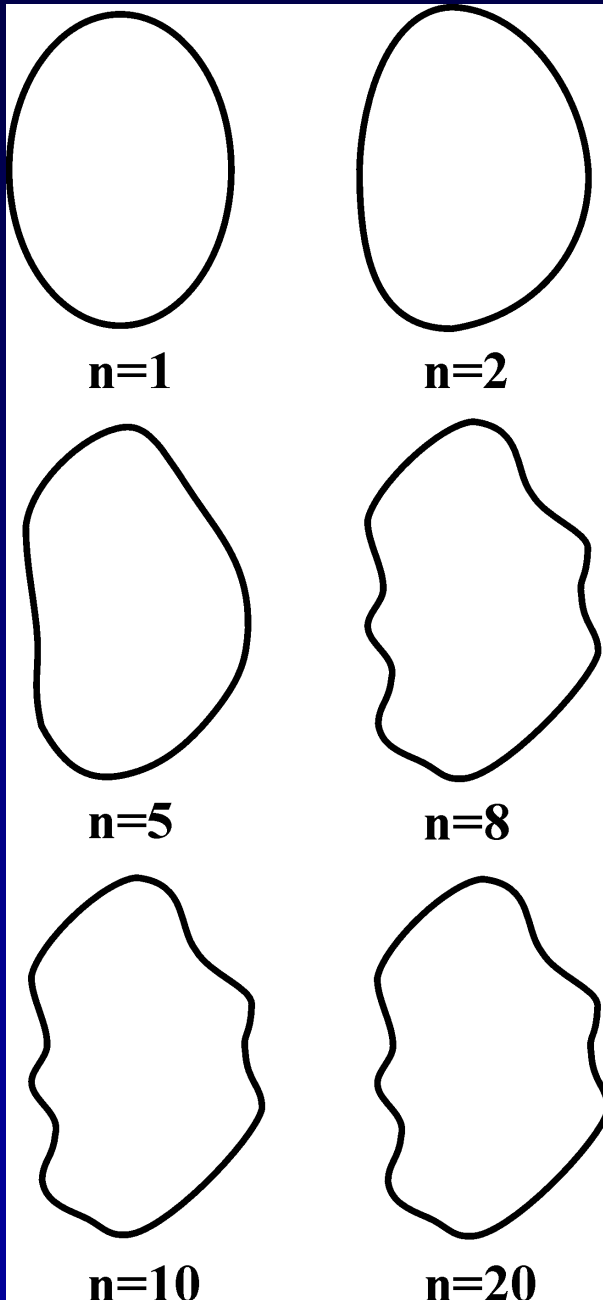
- **tradiční morfometrie po korekci vektoru velikosti**
 - (Burnaby, odstranění PC1)
- **zkoumání uzavřených struktur (obrysů):**
 - polynomials
 - cubic splines, parametric cubic splines
 - Fourier analysis, elliptic Fourier
- **metody založené na význačných bodech (landmarks):**
 - GLS (Prokrustes), GRF, GARF
 - TPS, TPSRW
 - edgels

Analýza obrysů

- **Fourierova analýza:**
 - úhel θ (součet = 360°)
 - měření poloměru r
 - výpočet harmonických složek (harmonics)
 - první složka = kružnice
 - pro každou složku 2 F. koeficienty
- **Eliptická Fourierova a.:**
 - série bodů podél kontury
 - pro každý bod souřadnice x, y
 - pro každou složku 4 F. koeficienty
 - první složka = elipsa



Analýza obrysů

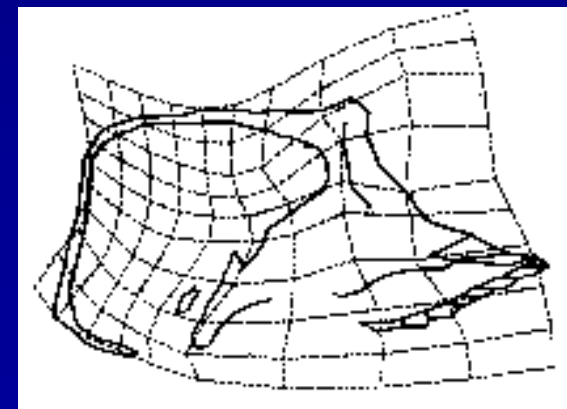
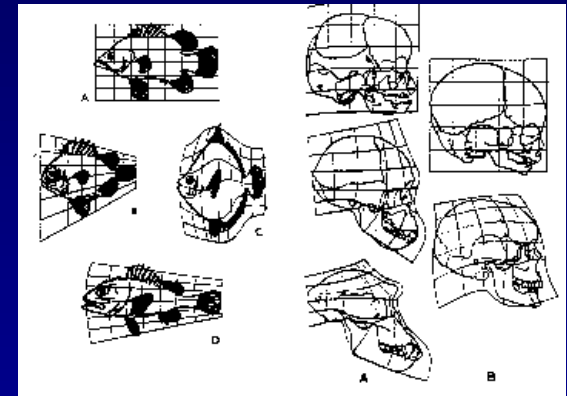


- výstup: data → F.a. → center, rotate, scale → F. harmonics as variables
- linear discriminant function
- mean shape (reverse F.a.)
- PCA of outline shapes

Metody založené na význačných bodech

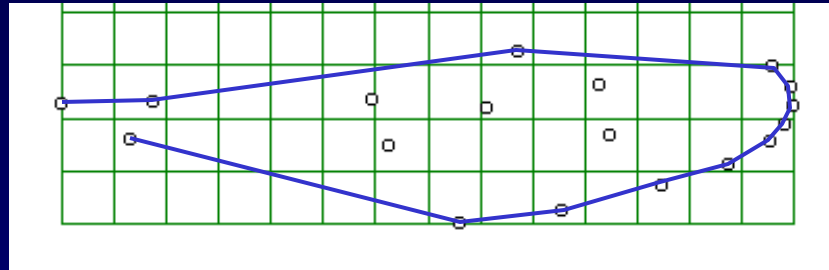
- Procrustes (Generalized Least Squares, GLS), Gen. Resistant Fit, GRF, Gen. Affine Resistant Fit, GARF)
posun (center), rotace, izometrická změna velikosti (scaling) - jednotková centroidová velikost

- Geometrická (nová) morfometrie:
 - spojení transformace koordinát D'Arcyho Thompsona se statistickým aparátem tradiční morfometrie
- Thin-Plate Spline (TPS), Thin-Plate Spline Relative Warps (TPSRW)
- struktury bez význačných bodů: edgels
- software: TPSplin (TPS), TPSRelw (TPSRW), TPSRegr, TPSTree, TPSSmall, TpsPLS
- TPSDig, MTV, MorphoSys (digitalizace)
- edgewarp (edgels)

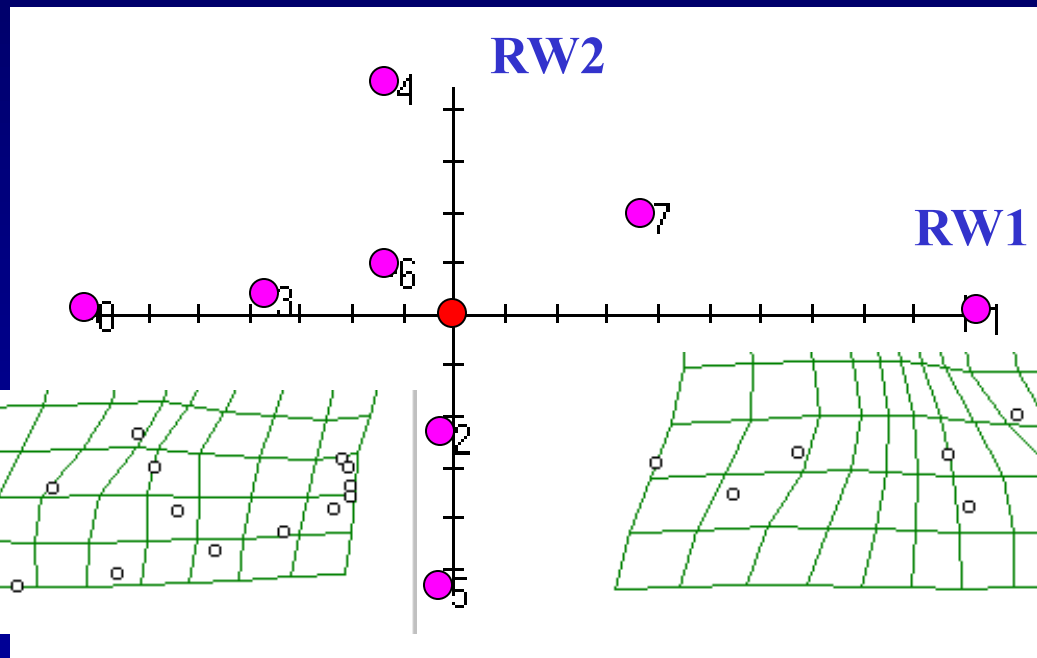


Metody založené na význačných bodech

TPSRW



konsensus



RW1+

RW1-