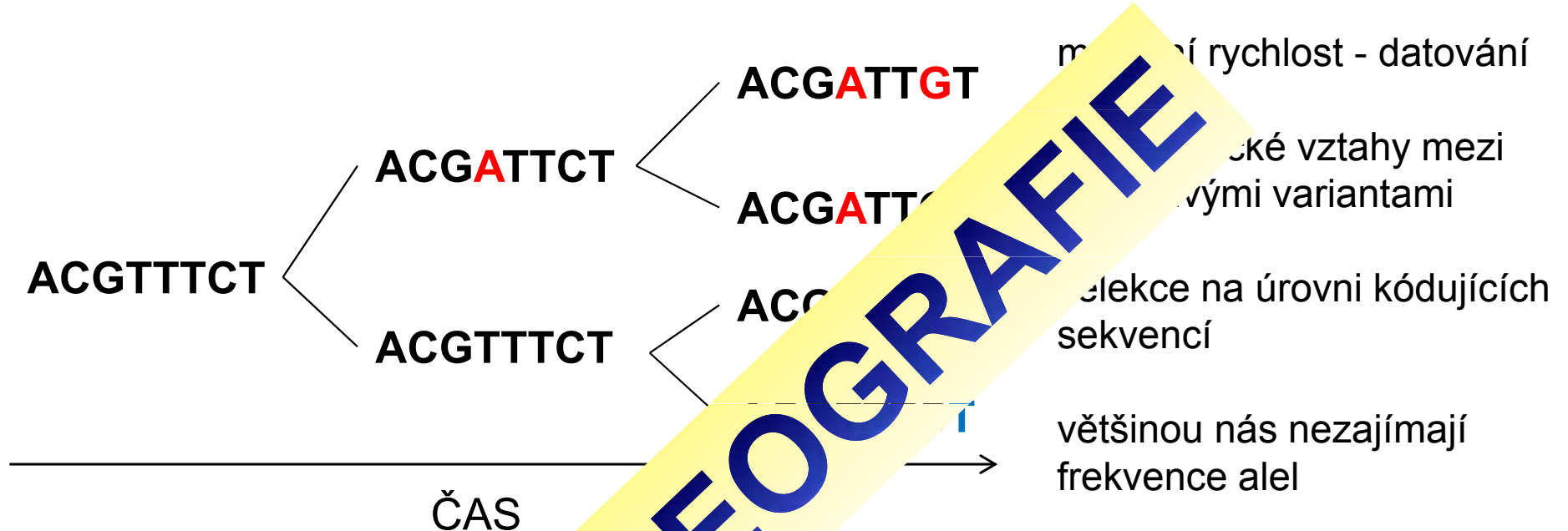


Analýza populační variability a struktury

- základy populační
genetiky

Fylogenetika vs. populační genetik

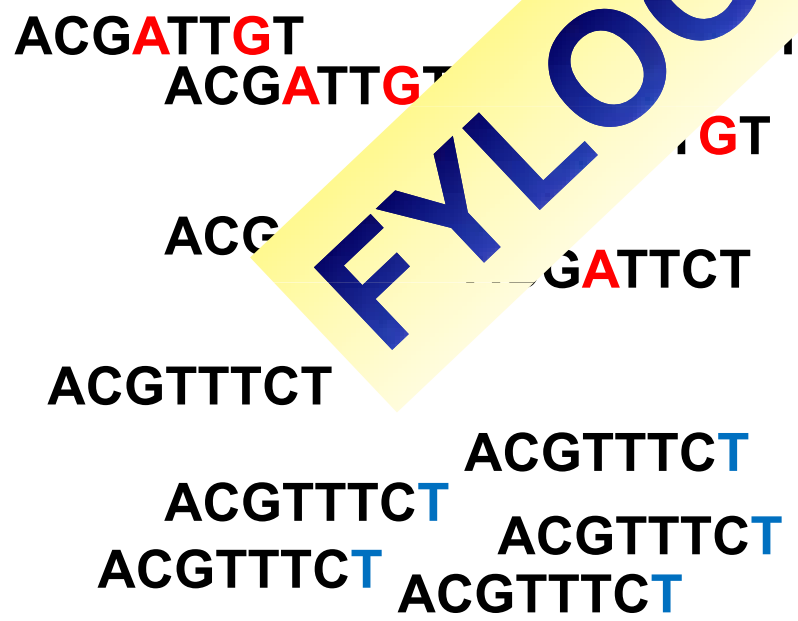


má vyšší rychlost - datování

ukládá blízké vztahy mezi

většinou nás nezajímají

frekvence alel



založená na frekvencích alel

genetický drift, populační struktura,
tok genů, efektivní velikost populace

selekce – srovnání populační
struktury na kódujících a
nekódujících znacích

FYLOGEOGRAFIE

Hierarchická populační struktura

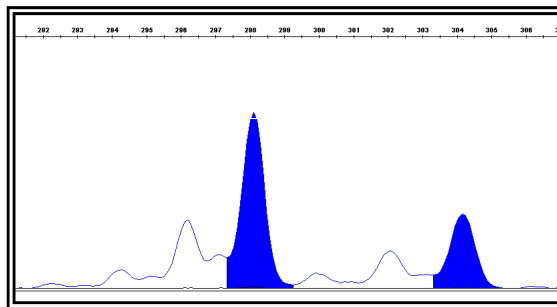
Druh → populace → subpopulace (demy)

Hlavní otázky populačně-genetické analýzy:

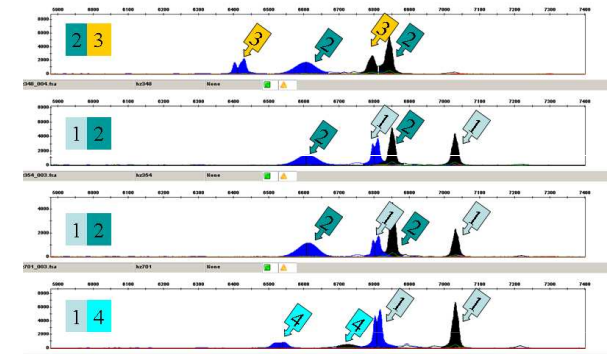
- Jak je variabilní daná populace a jaká je její efektivní velikost (neutrální genetická teorie: $H_e = 4N_e\mu / [4N_e\mu + 1]$)
- Nachází se daná populace v období demografické expanze nebo poklesu?
- Existuje mezi dvěma subpopulacemi bariéra toku genů a jak je silná? Jaká je prostorová genetická struktura?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

Populačně-genetická data

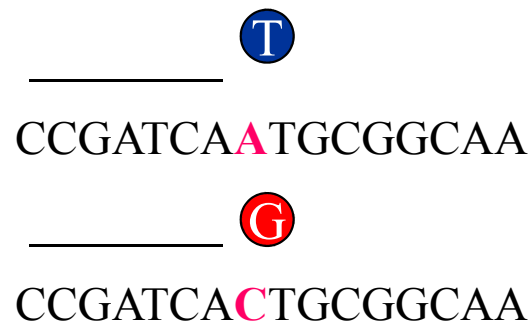
- v tomto kurzu omezena na diploidní kodominantní znaky (Mendelovská dědičnost)



mikrosatelity



jaderné sekvence
(např. SSCP)



SNPs

Velké množství populačně-genetických programů

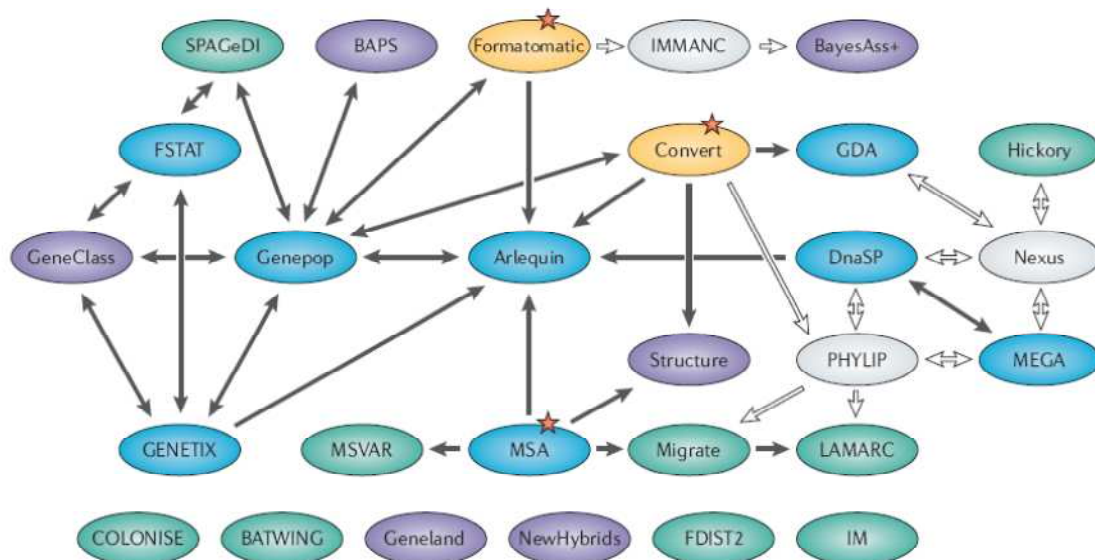
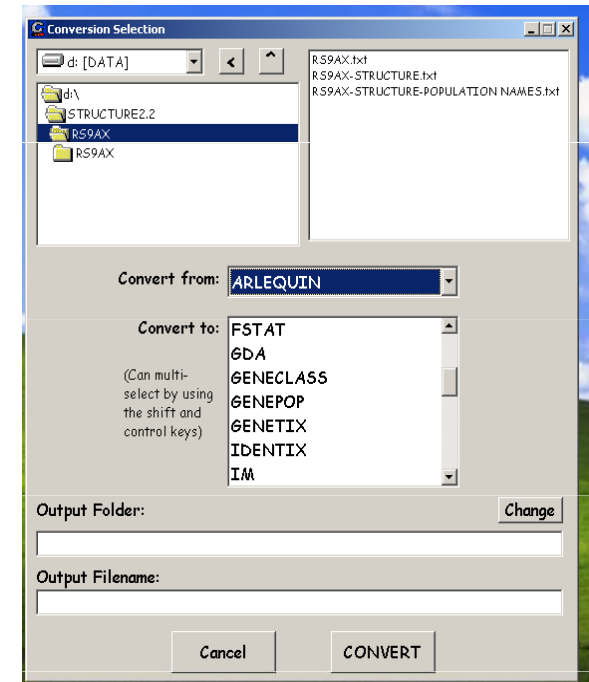
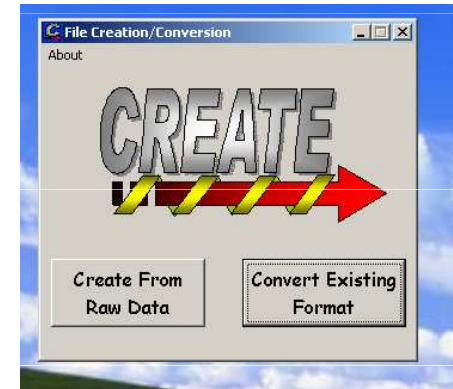


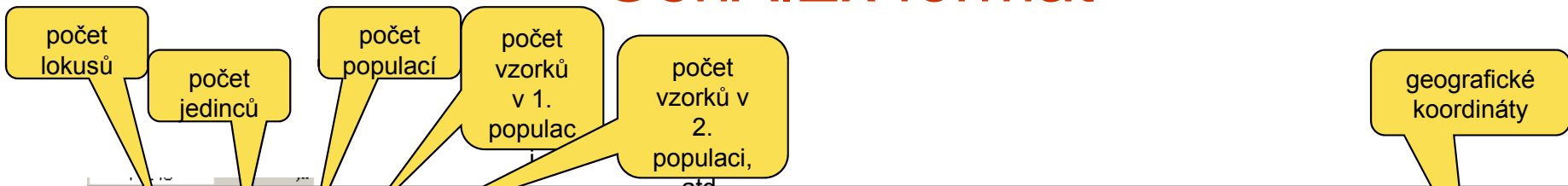
Figure 1 | **Flow chart of possible data exchange between different population genetics programs.** Although many programs have their own input-file specification, data files can still be exchanged between most programs (black arrows), avoiding tedious reformatting processes. The red stars are recommended 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

Kodominantní znaky (např. mikrosatelity) – GenAlEx formát



	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	176	126	130	215	217	122	133	169	169	220	245	178	186	249	251	287	287	205	213	162	170			48.76500	17.00750
17	TYN14	TYN	162	176	126	130	215	217	122	133	169	169	220	245	178	186	249	251	287	287	205	213	162	170			48.76500	17.00750
18	TYN15	TYN	156	176	126	130	215	217	122	133	169	169	220	245	178	186	249	251	287	287	205	213	162	170			48.76500	17.00750
19	TYN16	TYN	168	176	128	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 u jednotlivých jedinců

```
PYG - Poznámkový blok
Soubor Úpravy Formát Zobrazení Nápověda
Title line:"Genotype file for Pipistrellus data"
Ppip01
Ppip02
Ppip04
Ppip06
EF1
EF4
EF6
Paur05
NN18
NnP217
NnP219
Pop
Pop1, 1820 0505 0809 0511 0308 1321 0209 0506 0608 1214 0513
Pop1, 1111 0707 0505 1013 0508 0920 0609 0405 0606 1219 1212
Pop1, 2022 0505 0505 1010 0505 0000 0710 0505 0409 1416 1213
Pop1, 2424 0607 0505 0407 0607 0419 0710 0405 0405 1417 0512
Pop1, 1818 0505 0505 0914 1011 1717 0609 0407 0000 1214 1011
Pop1, 2426 0506 0606 1313 0708 1719 0708 0707 1014 1416 1113
Pop1, 1824 0506 0909 1010 0707 1717 1010 0505 0514 1416 1011
Pop1, 1819 0508 0512 0914 0609 0416 0408 0505 0609 1616 1112
Pop1, 0222 0406 0606 0919 0909 0409 0709 0508 0606 1819 1012
Pop1, 1122 0506 0606 1112 0608 1920 0708 0304 0506 1219 1014
Pop1, 1418 0606 1010 1014 0708 0000 0610 0609 0708 1616 1213
Pop1, 1820 0607 0000 1212 0809 0404 0808 0506 0911 1414 1011
Pop1, 1020 0407 0910 0621 0505 0419 0408 0506 0606 1416 1113
Pop1, 0722 0505 1111 0919 0709 0404 0406 0707 0505 0212 1212
Pop1, 0220 0507 0606 0409 0910 0404 0406 0506 0514 1616 1214
Pop1, 1222 0505 0910 1112 0708 1919 0404 0405 0707 1214 1113
Pop1, 2222 0406 0507 1111 0608 0414 0305 0508 0707 0214 1112
Pop1, 0618 0606 0808 1111 0709 2020 0404 0205 0707 1214 1118
Pop1, 1824 0507 0808 1212 0505 0404 0206 0505 0505 1416 0101
Pop1, 2020 0606 0000 1420 0606 2121 0809 0508 0606 1414 0112
Pop1, 2222 0508 0808 1112 0607 2020 0509 0405 0506 1414 0609
Pop1, 0219 0507 1010 0711 0909 0404 0506 0607 0611 1418 1313
Pop1, 1220 0505 0808 0521 0707 0413 0405 0307 0506 1416 0911
Pop1, 2020 0606 1111 1119 0808 0220 0607 0808 0411 1214 0114
Pop1, 2123 0506 0608 0808 0207 1717 0909 0508 0711 0916 1012
Pop1, 2123 0406 0202 0407 0610 0320 0207 0508 1010 1212 1012
Pnp1, 2020 0405 0505 0521 0507 0404 0609 0508 0808 1214 0411
Pop1, 1216 0507 1111 1010 0508 2222 0809 0307 0507 1416 0213
Pop1, 1424 0506 1111 1010 0606 1919 0707 0508 0507 1416 1216
Pop1, 1421 0306 0909 1414 0609 1113 0708 0507 0508 1414 1114
Pop
Pop2, 1620 0508 0611 0505 0508 2323 0607 0608 0710 0214 1112
Pop2, 2222 0606 0606 0911 0707 1419 0607 0506 0506 1214 0413
Pop2, 0809 0404 0508 0607 0708 0420 0408 0404 0505 1216 0317
Pop2, 1122 0508 0404 0407 0709 0404 0809 0708 0607 1216 1112
Pnp2, 2022 0506 0707 1010 0709 1920 0707 0405 0609 1014 1113
Pop2, 2022 0406 0609 0912 0307 0000 0707 0303 0606 1216 1112
Pop2, 1414 0506 0000 1111 0709 2020 0206 0307 0606 1012 1212
Pop2, 1818 0505 0710 1111 0708 2020 0709 0305 0606 1516 1213
Pop2, 2020 0405 0208 1021 0606 0412 0607 0305 0606 1212 1012
Pop2, 1820 0505 0808 0809 0709 0319 0710 0407 0000 1212 0212
Pop2, 0220 0406 0707 0909 0909 0304 0808 0208 1617 1112 0213
Pop2, 2020 0206 0505 0509 0307 0517 0308 0105 0914 1014 0213
Pop2, 2024 0607 1010 1212 0307 1920 0809 0407 0505 1414 1213
Pop2, 2024 0509 0202 1515 0206 0420 0307 0508 0707 1414 1112
Pop2, 1624 0507 0205 1115 0208 0420 0709 0205 0707 1214 1215
Pop2, 1621 0607 1010 0921 0609 2222 0708 0707 1415 1416 1113
Pop2, 1616 0506 0508 1010 0607 0517 0306 0509 0608 1117 1215
Pop2, 1420 0507 0909 1010 0708 0416 0710 0506 0506 1214 0912
Pop2, 2024 0405 1111 0910 0507 1921 0709 0105 0607 1014 0912
Pop2, 1620 0508 0611 0406 0511 0319 0610 0506 0610 0212 0211
Pop2, 1220 0505 0609 0909 0809 1717 0208 0708 0606 1416 0412
Pop2, 2222 0506 0808 1010 0608 1919 0708 0307 0506 1114 0210
Pop
Pop3, 2125 0407 0000 0606 0606 0000 0409 0708 0406 1616 0513
Pop3, 1620 0405 0609 1414 0708 1418 0203 0405 0505 1015 1011
Pop3, 1818 0205 0910 1010 0307 0505 0609 0411 0410 1115 1112
Pop3, 1823 0406 1010 0306 0810 1420 0208 0303 0809 1212 0712
```

Genepop file format – jednoduchý ASCII kód (.txt)

- jednotlivé alely pro daný lokus jsou seřazeny podle velikosti a očíslovány
- tj. např. 128/130 je převedeno na 10/11

Vnitropopulační variabilita

Polymorfismus

- podíl polymorfních lokusů (znaků) – 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)

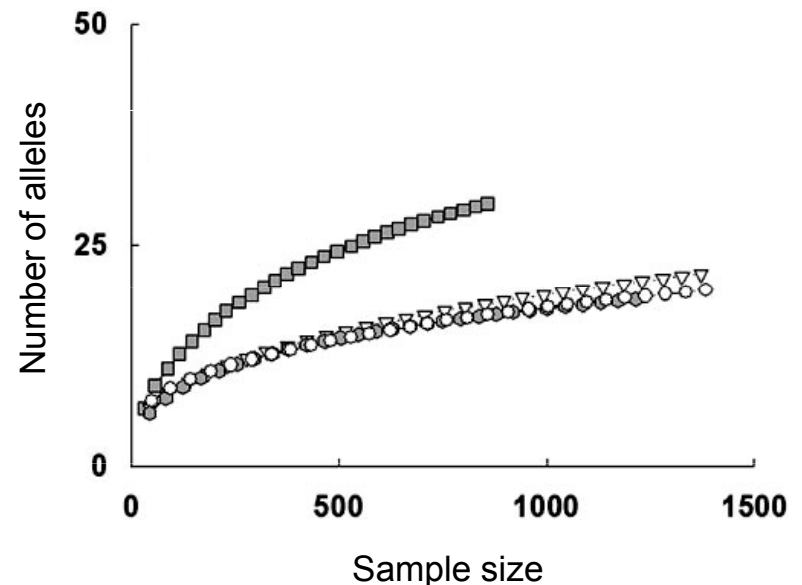
- počet alel na lokus

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)

= rozmístění alel do genotypů v rovnovážné populaci

Alela	Četnost alely
170	p
172	q

Př. Jeden lokus se 2 alelami

$$p + q = 1$$

p, q - zjistíme analýzou svých vzorků

Genotyp	Očekávaná četnost genotypu
170/170	p^2
170/172	$2pq$
172/172	q^2

= **Hardy-Weinbergova rovnováha**
($p^2 + 2pq + q^2 = 1$)

➤ četnosti genotypů zjistíme analýzou svých vzorků

➤ odchylky od očekávaných četností ⇒

test HWE (např. χ^2 test nebo exact probability test v Genepop)

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 HWWE

- 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; speciální test např. v **Genepop**)



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** – např. **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)
 - **vnitřní struktura** („Wahlundův efekt“)
 - **nulové alely** (jen na některých lokusech bude deficit heterozygotů) - FreeNA

Null alleles

- nulové alely (mutace v primerových sekvencích) → vyšší proporce „homozygotů“



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

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

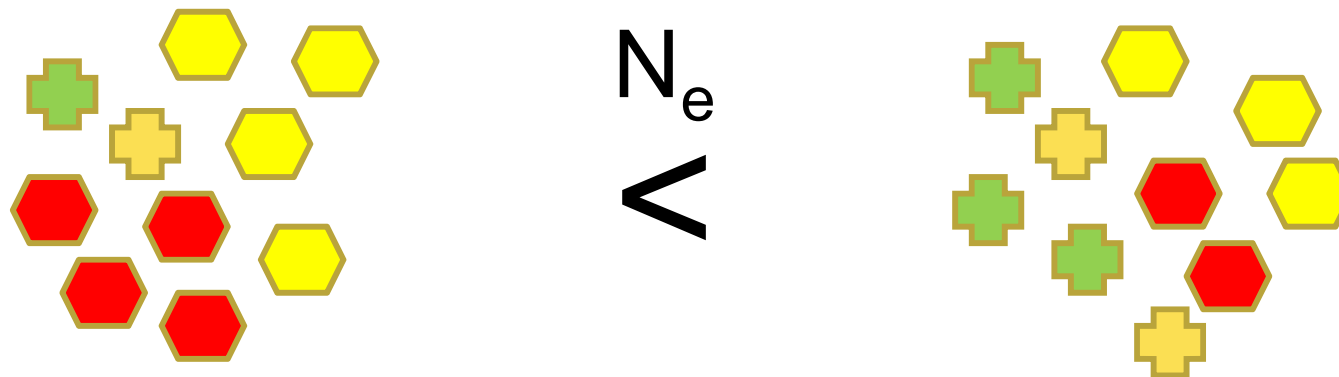
Polymorfismus = 0,75

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

Proč analyzovat genetickou variabilitu?

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
→ rychlé změny v alelických frekvencích při malém N_e

Použití údajů o genetické variabilitě

- neutrální genetická teorie:

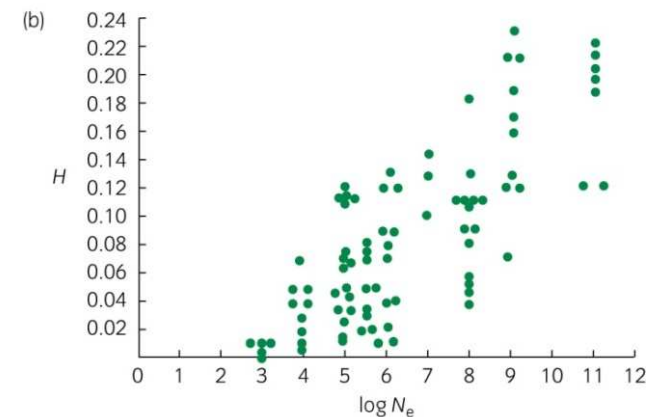
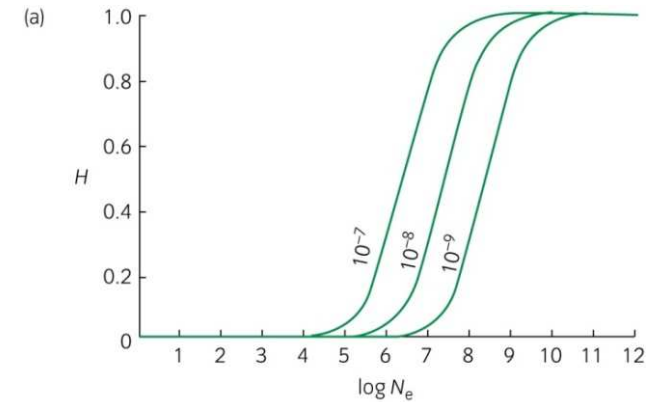
- $\theta = xN_e\mu$

počet mutací

typ genetického markeru

- $H_e = 4N_e\mu / [4N_e\mu + 1]$

- „mutation-drift equilibrium“ aj. assumptions
- srovnání různých populací a jejich N_e (H_e , AR atd.) – význam např. v ochranářském managementu



Programy pro analýzu vnitropopulační genetické variability a pro základní popis dat

- GenAlEx – konverze formátů, H_o , H_e , HWE
- Genepop – LD, HWE
- FSTAT – allelic richness
- FreeNA – null alleles

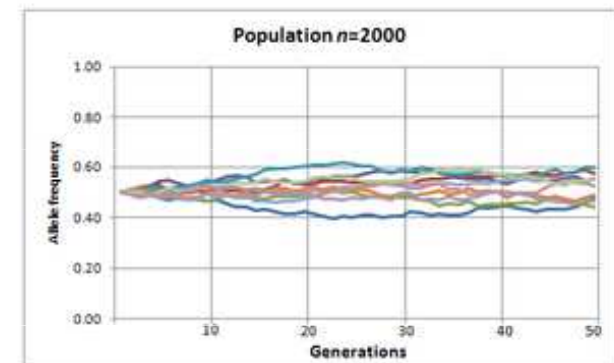
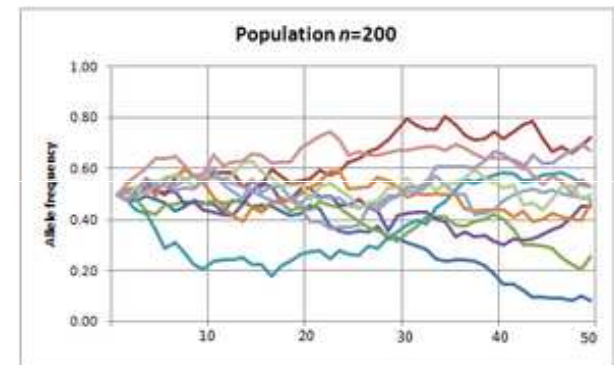
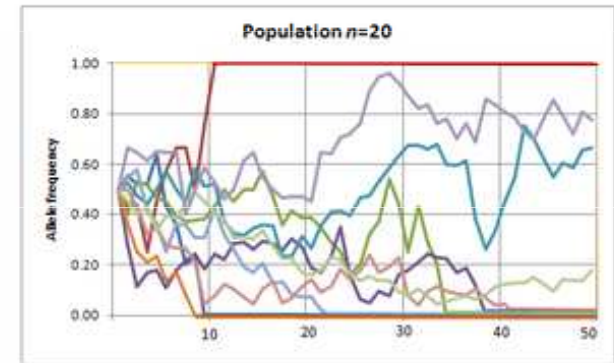
Mutation-drift equilibrium

- vznik nových alel – **mutace** (stepwise mutation model vs. infinite allele model)
- ztráta alel – **genetický drift**

Genetický drift



- Náhodné změny ve frekvencích alel
- Intenzita driftu závisí na velikosti populace
- Specifické případy – founder effect, bottleneck



Mezipopulační variabilita

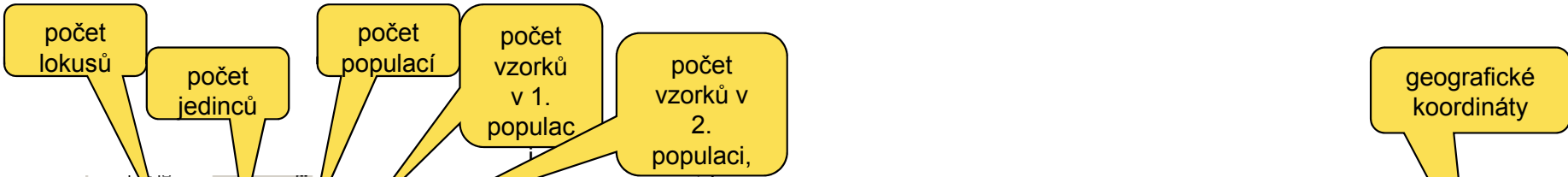


Hierarchická populační struktura

Druh → populace → subpopulace (demy)

- **klasický populačně-genetický přístup** = jednotlivé populace jsou předem známy (např. chceme zjistit úroveň genetických rozdílů mezi dvěma lokalitami = populacemi)
- **Bayesiánské shlukování** = populace nejsou definovány, při analýze jsou hledány shluky jedinců v HWE a jednotliví jedinci jsou k těmto shlukům (= populacím) přiřazováni (s určitou pravděpodobností)

Kodominantní znaky (např. mikrosatelity) – GenAEx formát



	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	166	128	128	215	215	132	132	169	169	243	243	178	178	247	249	289	289	205	209	162	170			48.76500	17.00750
17	TYN14	TYN	162	162	128	128	215	215	132	132	169	169	243	243	178	178	247	249	289	289	205	209	162	170			48.76500	17.00750
18	TYN15	TYN	156	156	128	128	215	215	132	132	169	169	243	243	178	178	247	249	289	289	205	209	162	170			48.76500	17.00750
19	TYN16	TYN	168	176	128	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

genotypy, tj. velikosti fragmentů u jednotlivých jedinců

pop1

pop2

Genetická struktura populací

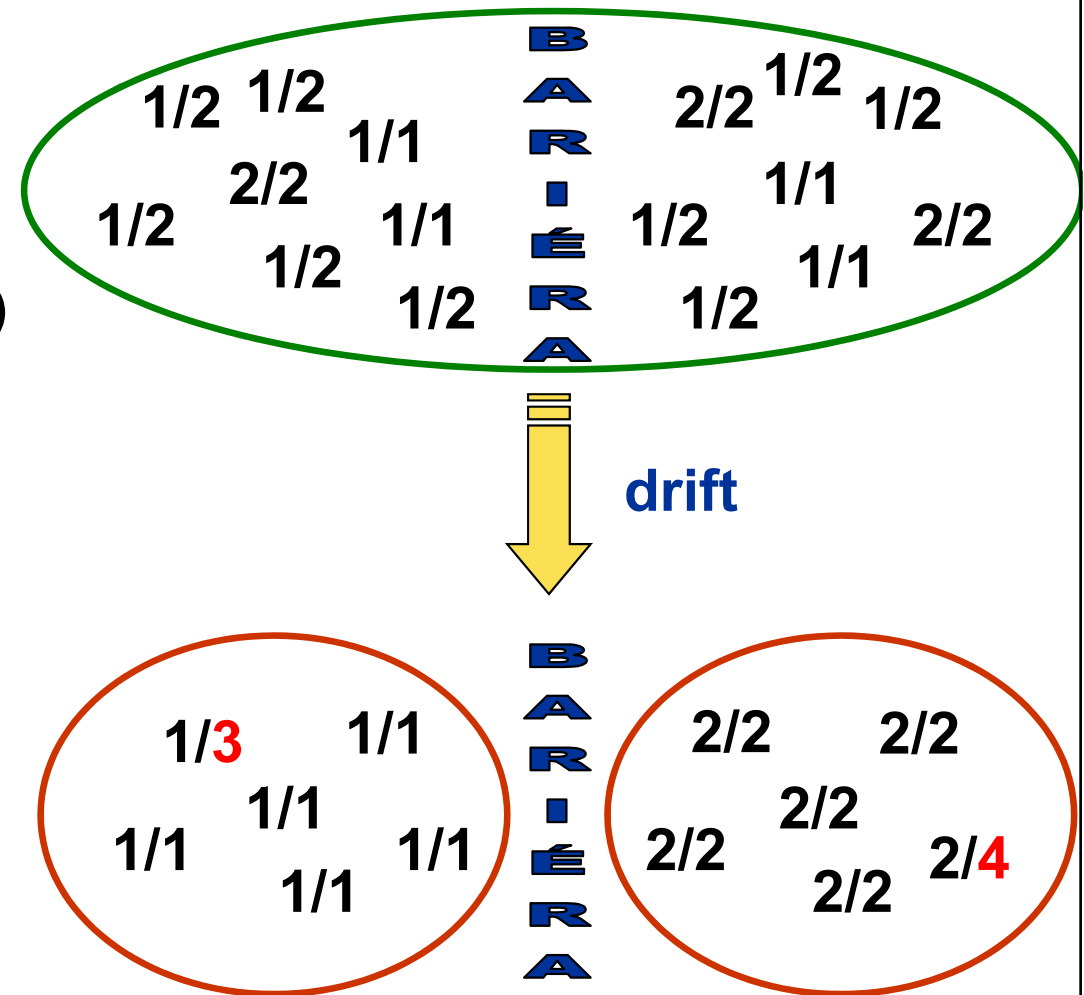
drift, mutace

- Drift**

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

- Mutace**

mohou zvýšit diferenciaci

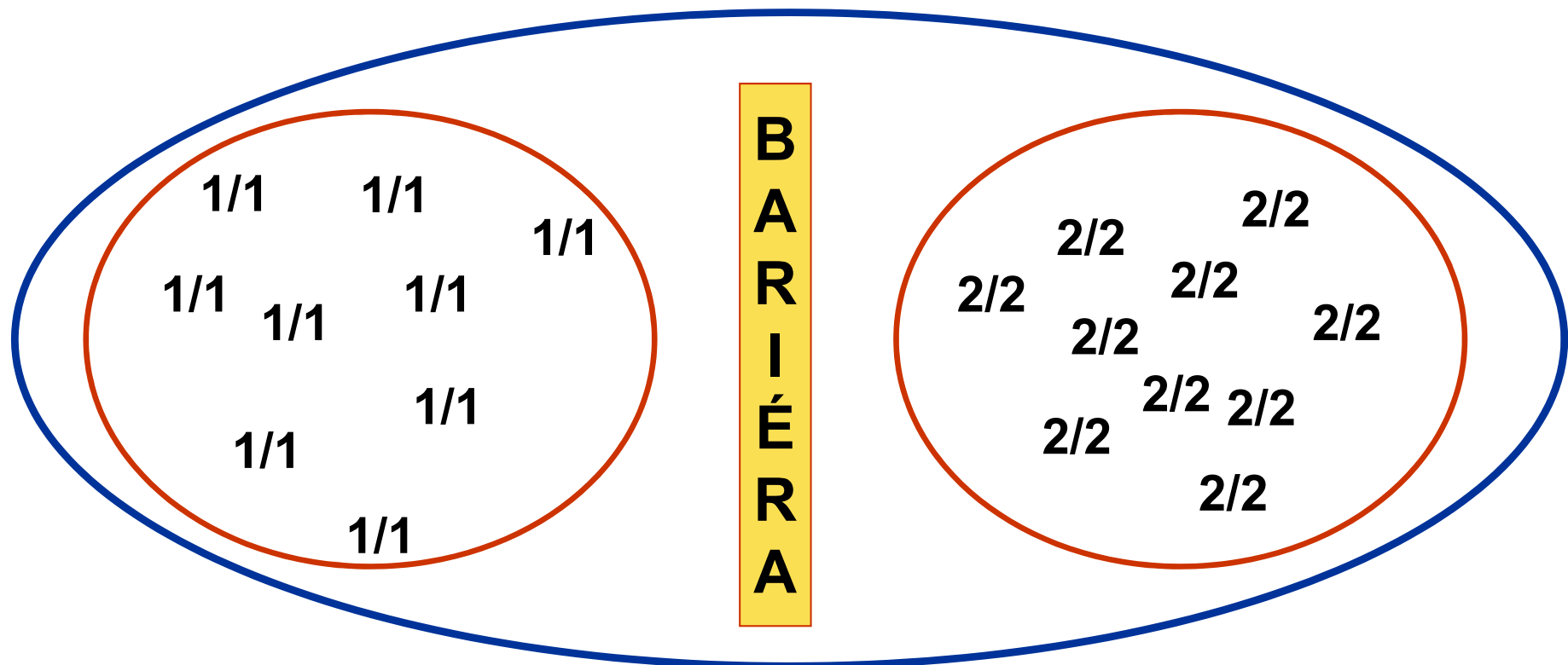


Migrace (genový tok)

- 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 - příklad

- Jezero Bunnersjöarna (severní Švédsko) – „brown trout“
- 2 alely na jednom znaku

	170/170	170/172 (= Ho)	172/172	Total	p	2pq (=He)
Přítok	50	0 (0)	0	50	1.000	0.000
Odtok	1	13 (0.26)	36	50	0.150	0.255
Celé jezero (expected)	51 (33.1)	13 (0.13) (48.9)	36 (18.1)	100	0.575	0.489

$$p^2 = 0.575^2$$

$$q^2 = 0.425^2$$



Factorial correspondence analysis

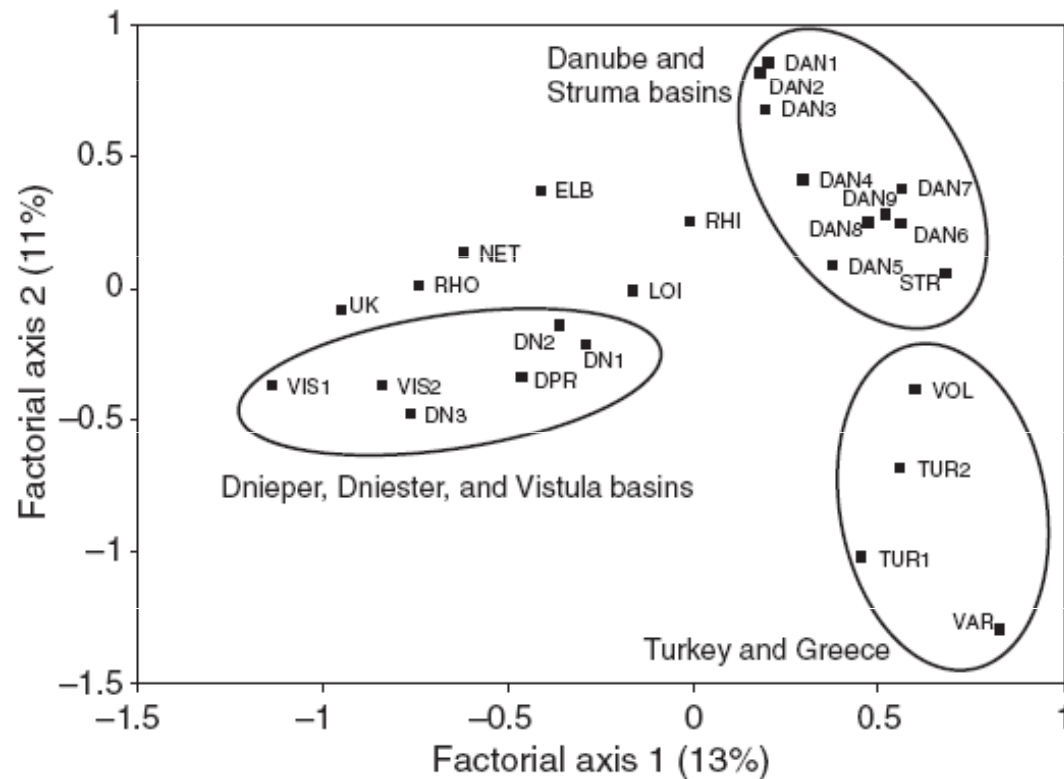
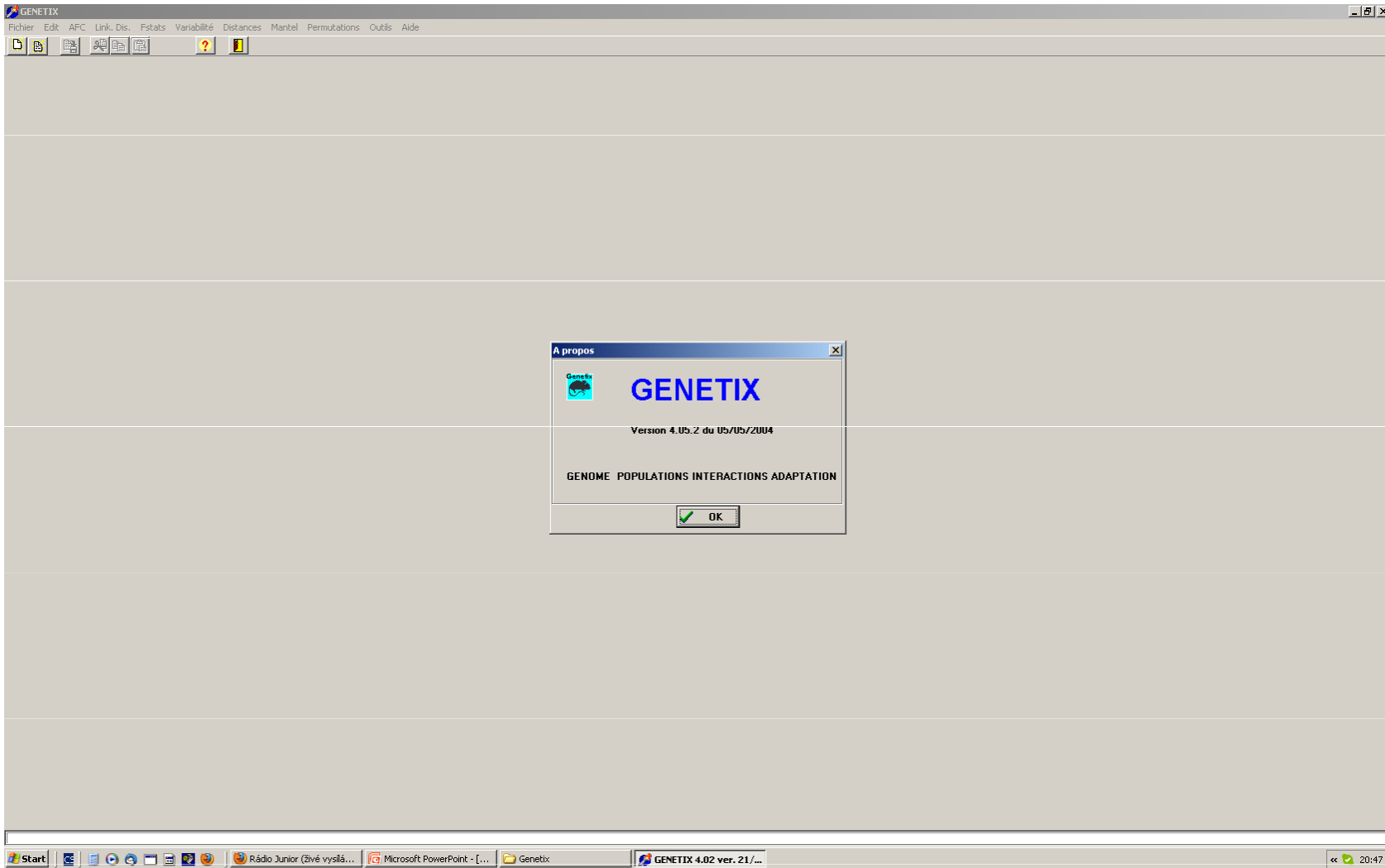


Fig. 2 A two-dimensional plot of the factorial correspondence analysis performed using GENETIX based on 12 microsatellite loci. Three geographical groups are bounded by grey lines.

- each locus as one variable, reduction of number of variables
- **Genetix** – orientační zjištění strukturovanosti populace
- individuals vs. populations

Genetix



F-statistiky



Masatoshi Nei
*1931

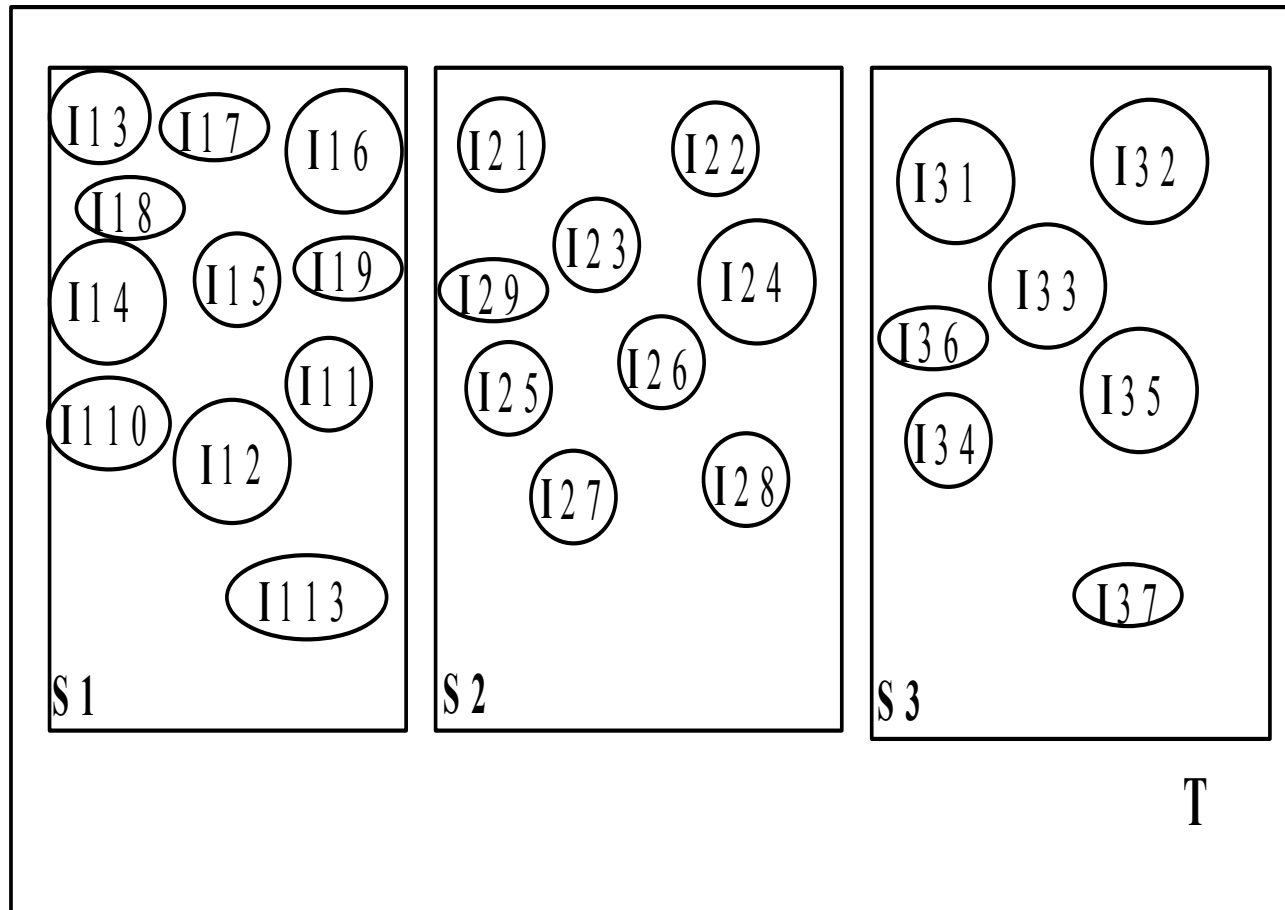


Sewall Wright
1889 - 1988

- Wright, Nei F_{IS} , F_{ST} , F_{IT}
- Popisují heterozygotnost (odchyly od HW) na různých měřítkách

Odhad vlivu populační struktury na genetický make-up populace

Celková populace



- 3 úrovně (T, S, I)
- x subpopulací ($x = 1$ až k ; zde $k = 3$)
- každá subpopulace má N_x jedinců
- 1/1, 1/2, 1/3 – odlišný symbol
- př. I1-13 = 13. jedinec z první subpopulace

Koncept heterozygotnosti

H_I – průměrná pozorovaná heterozygotnost jedince v subpopulaci

H_S - očekávaná heterozygotnost jedince v subpopulaci za předpokladu náhodného páření

H_T - očekávaná heterozygotnost jedince v celé populaci za předpokladu náhodného páření

$$H_I = \sum_{x=1}^k H_x / k \quad H_x = \text{pozorovaná heterozygotnost v subpopulaci } x$$

$$H_S = 1 - \sum_{i=1}^j p_{i,x}^2 \quad p_{i,x}^2 = \text{frekvence } i\text{-té alely v subpopulaci } x \quad \bar{H}_S = \sum_{x=1}^k H_S / k \quad \text{průměrná oček. heterozygotnost v populaci (tj. průměr ze všech subpopulací)}$$

$$H_T = 2p_o q_o \quad p_o = \text{frekvence alely v celé populaci}$$

- pouze pro dvě alely na jednom lokusu (Wright 1931)
- pro více alel je výpočet složitější (Nei 1987)

F statistiky

$$F_{IS} = \frac{\overline{H}_S - H_I}{\overline{H}_S}$$

Snížení heterozygotnosti jedince kvůli nenáhodnému páření v subpopulaci (~ HWE)

$$F_{ST} = \frac{H_T - \overline{H}_S}{H_T}$$

Snížení heterozygotnosti vlivem rozdělení populace na subpopulace (Wahlundův efekt)

$$F_{IT} = \frac{H_T - H_I}{H_T}$$

Celkový koeficient inbreedingu F_{IT} - měří redukci heterozygotnosti jedince ve vztahu k celkové populaci

$$(1-F_{IT}) = (1-F_{ST})(1-F_{IS})$$

Weir & Cockerham (1984) f, θ, F

Korekce na velikost vzorku a počet subpopulací

Výpočet F statistik - příklad

Průměrná frekvence alely A v celé populaci

Lokus	Subpopulace 1 (N ₁ =40)				Subpopulace 2 (N ₂ =20)				p _{0(i)}	Pozn.
	1/1	1/2	2/2	p _{1(i)}	1/1	1/2	2/2	p _{2(i)}		
Loc I	10	20	10	0.5	5	10	5	0.5	0.5	H.-W. rovnováha
Loc II	16	8	16	0.5	4	4	12	0.3	0.4	deficit heterozygotů
Loc III	12	28	0	0.65	6	12	2	0.6	0.625	přebytek heterozygotů
Loc IV	0	0	40	0.0	20	0	0	1.0	0.5	alternativně fixované alely

Výpočet alelových frekvencí

Lokus	Pozorovaná heterozygotnost		Očekávaná heterozygotnost			Wrightova F-statistika		
	H _{1(i)}	H _{2(i)}	H _{I(i)}	H _{S(i)}	H _{T(i)}	F _{IS(i)}	F _{ST(i)}	F _{IT(i)}
Loc I	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0
Loc II	0.2	0.2	0.2	0.46	0.48	0.565	0.042	0.583
Loc III	0.7	0.6	0.65	0.4675	0.46875	-0.39	0.0027	-0.387
Loc IV	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	---	1.0	1.0
Průměr						0.058	0.261	0.300

Výpočet F_{ST} - příklad

	170/170	170/172 (= H_o)	172/172	Total	p	2pq (= H_e)
Přítok	50	0 (0)	0	50	1.000	0.000
Odtok	1	13 (0.26)	36	50	0.150	0.255
Celé jezero	51	13 (0.13)	36	100	0.575	0.489
(expected)	(33.1)	(48.9)	(18.1)			

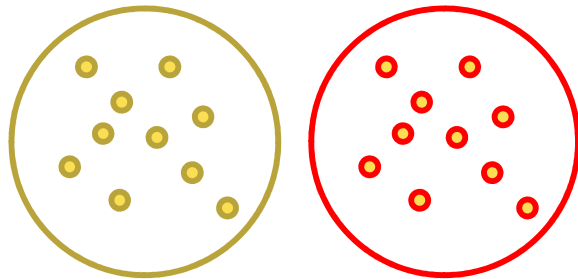
$$F_{ST} = \frac{H_T - \overline{H_s}}{H_T} = \frac{0.489 - 0.128}{0.489} = 0.728$$

V důsledku bariéry toku genů je heterozygotnost o 72.8% nižší než by byla v panmiktické populaci



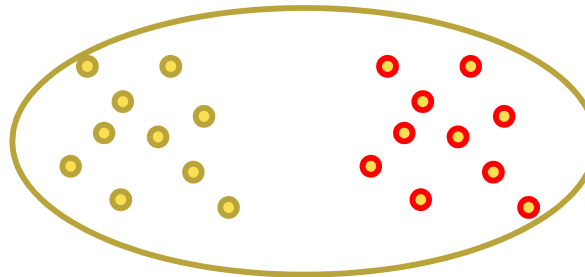
„Permutation“ test významnosti F_{ST}

1. Skutečné populace

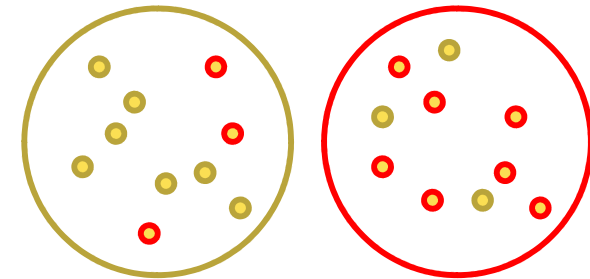


Reálné F_{ST}

2. Sloučení jedinců

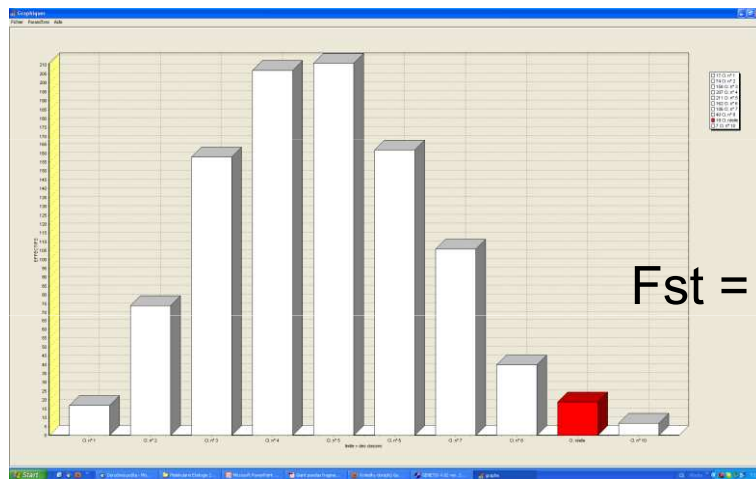


3. 1000 x náhodně vytvořené populace

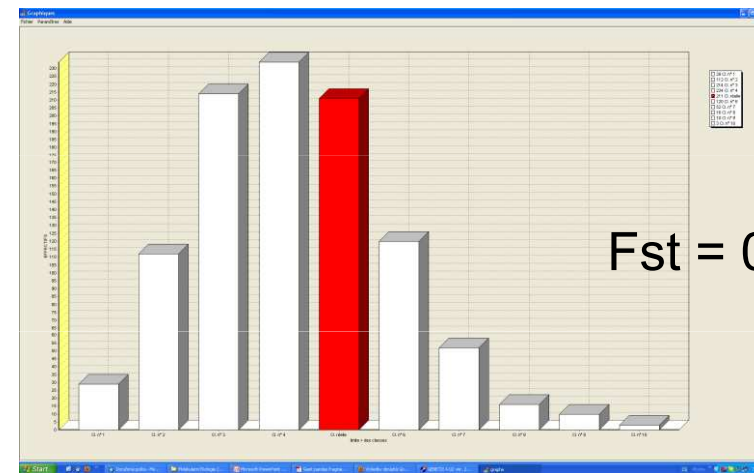


1000 x nasimulované F_{ST}
za nepřítomnosti bariéry

Global vs. pairwise indices



0,80 % simulovaných hodnot větších než skutečné F_{ST}
 $p = 0,008$ (tj. významný rozdíl)



35,40 % simulovaných hodnot větších než skutečné F_{ST}
 $p = 0,354$ (tj. nevýznamný rozdíl)

Zdroje chyb při analýze Fst

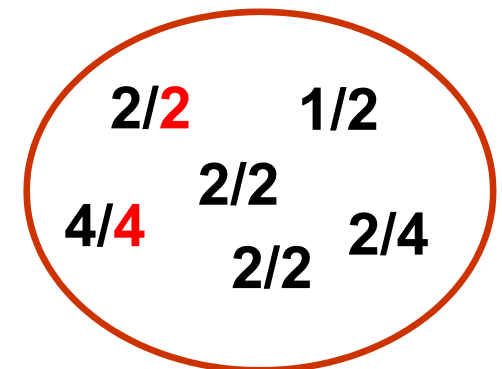
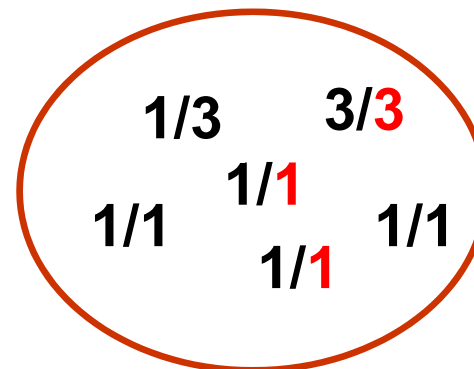
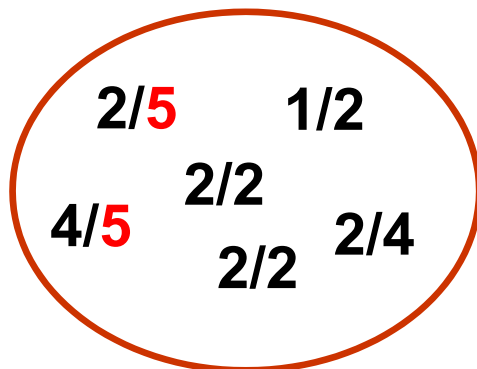
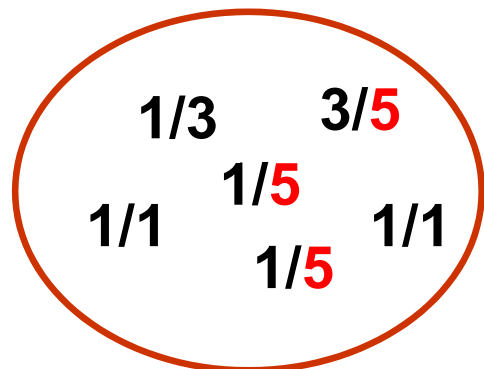
Global vs. pairwise indices

Absolutní hodnoty závisí na heterozygotnosti !!!

(např. nelze srovnávat alozymy s mikrosatelity)

Nutno standardizovat: $F_{ST}' = F_{ST}/F_{STmax}$ (Hedrick 2005)
– např. GenAlex

Nutno korigovat na přítomnost nulových alel
(většinou uměle zvyšují Fst – zvýšení homozygotnosti) - FreeNA



Programy pro analýzu F-indexů

- GenAlEx – jednoduchý výpočet (+ Hedrickova korekce)
- Genetix – permutační testy
- FSTAT – dtto
- FreeNA – korekce F_{ST} na nulové alely

F statistiky

$$F_{IS} = \frac{\overline{H}_S - H_I}{\overline{H}_S}$$

Snížení heterozygotnosti jedince kvůli nenáhodnému páření v subpopulaci (~ HWE)

$$F_{ST} = \frac{H_T - \overline{H}_S}{H_T}$$

Snížení heterozygotnosti vlivem rozdělení populace na subpopulace (Wahlundův efekt)

$$F_{IT} = \frac{H_T - H_I}{H_T}$$

Celkový koeficient inbreedingu F_{IT} - měří redukci heterozygotnosti jedince ve vztahu k celkové populaci

$$(1-F_{IT}) = (1-F_{ST})(1-F_{IS})$$

Weir & Cockerham (1984) f, θ, F

Korekce na velikost vzorku a počet subpopulací

Populační struktura - shrnutí

	Kontinuální populace (gene flow)	Izolované populace (no gene flow)
N_e	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Genetický drift	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Genetická diverzita (AR, H_e , ...)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Populační struktura (F_{ST})	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

1. vnitropopulační variabilita – deskriptivní statistiky
2. popis populačně-genetické struktury, bariéry toku genů

3. Population assignments

Klasické problémy populační genetiky

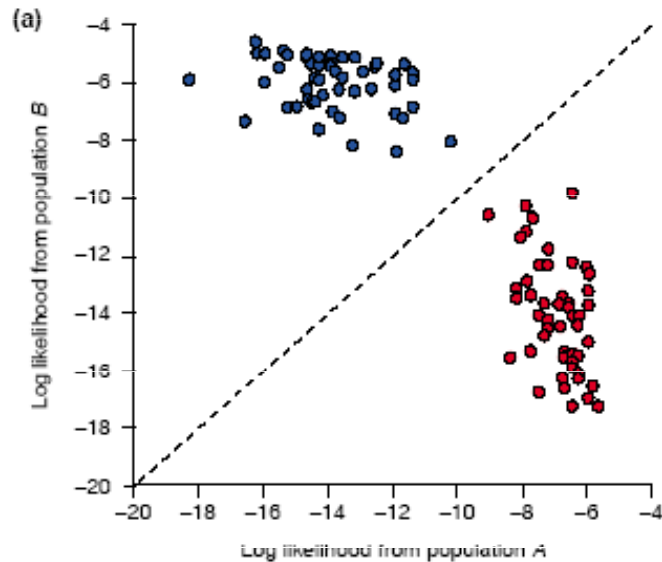
- Populace dány, jedinci předem zařazeni do populací, zajímají nás vlastnosti populací (F-statistiky) → ad (1) nebo (2)
- Populace sice definovány, ale chceme k nim přiřadit jedince neznámého původu (GeneClass2)
- Kryptická populační struktura = předem není dáno nic → chci zjistit klastry (tj. přirozené populace) a rozřadit individua do klastrů (STRUCTURE)

Population assignment tests

- program **GeneClass** (Piry et al. 2004)
- počítá pravděpodobnost, že se určitý genotyp může vyskytovat v určité předem definované populaci – identifikace recentních migrantů nebo zvířat neznámého původu (pytláctví)
- může kombinovat data z různých genetických markerů



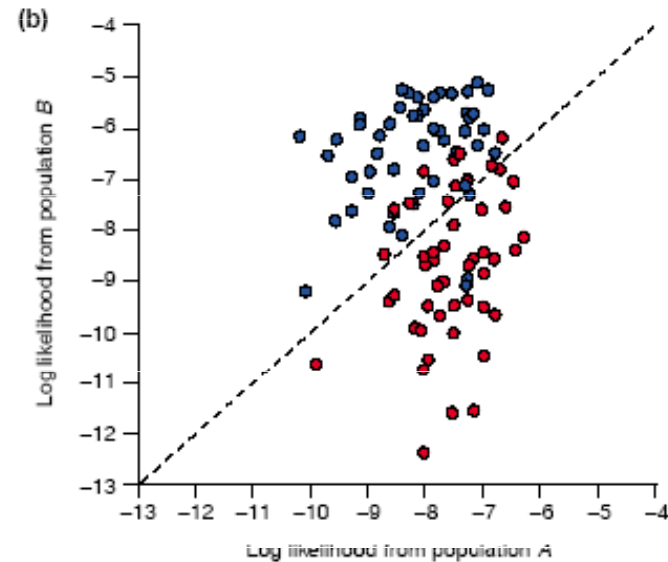
Závisí na míře genetických rozdílů mezi populacemi



5 microsatellite loci

$$F_{st} = 0.14$$

99.9% assigned correctly



5 microsatellite loci

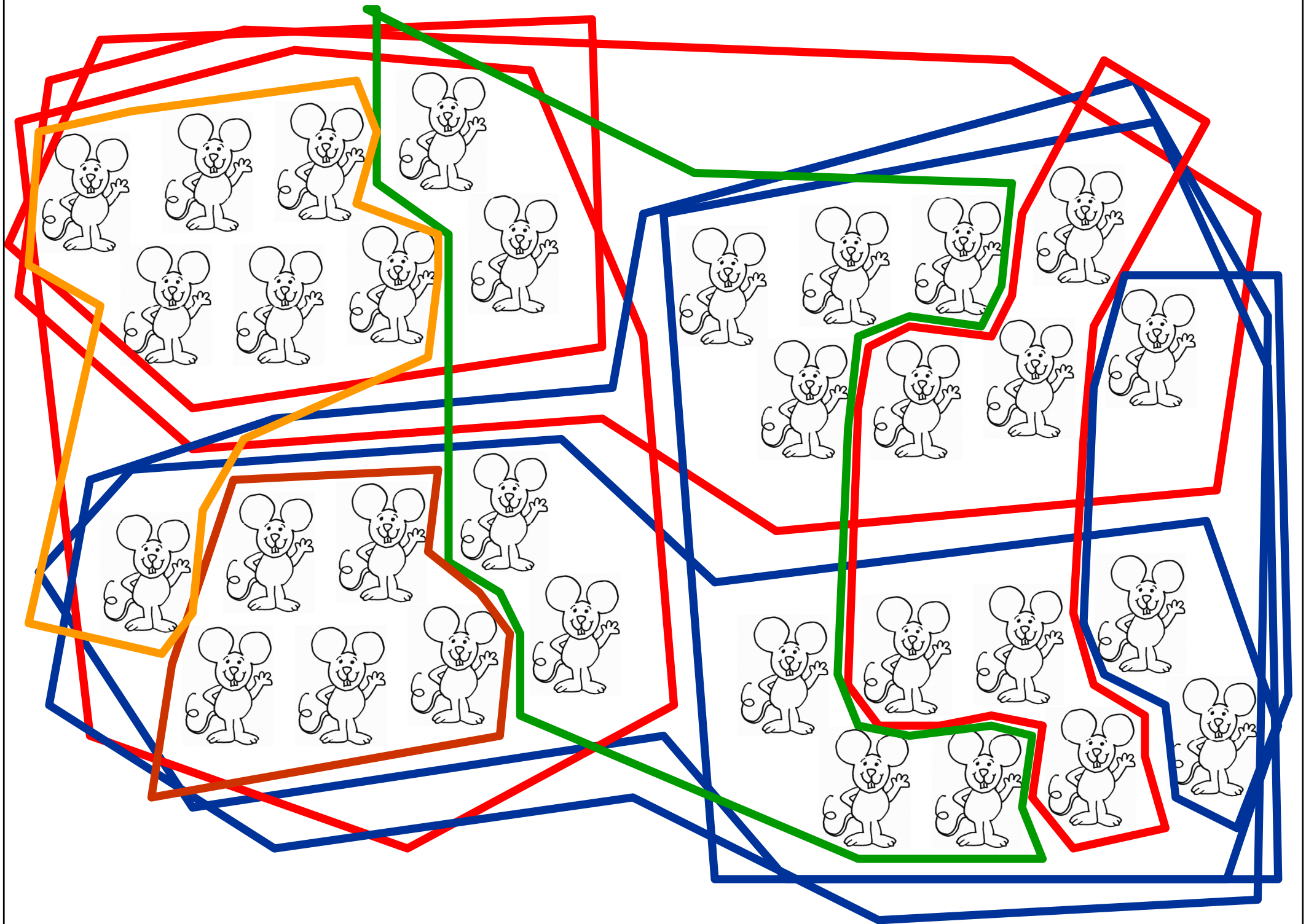
$$F_{st} = 0.04$$

90.2% assigned correctly

Příklad: Zařazení šimpanzů chovaných v zajetí do poddruhů

Individual-based assignments (= STRUCTURE)

- Kryptická populační struktura
- Neznámý počet skupin (klastřů)
- **Úroveň jedince**
- Vytvořit klastry a současně k nim přiřadit jedince
- K dispozici máme individuální genotypy (případně i souřadnice)
- Data: msat (jiné kodominantní lokusy, *SINE*), AFLP



Bayesian clustering approach

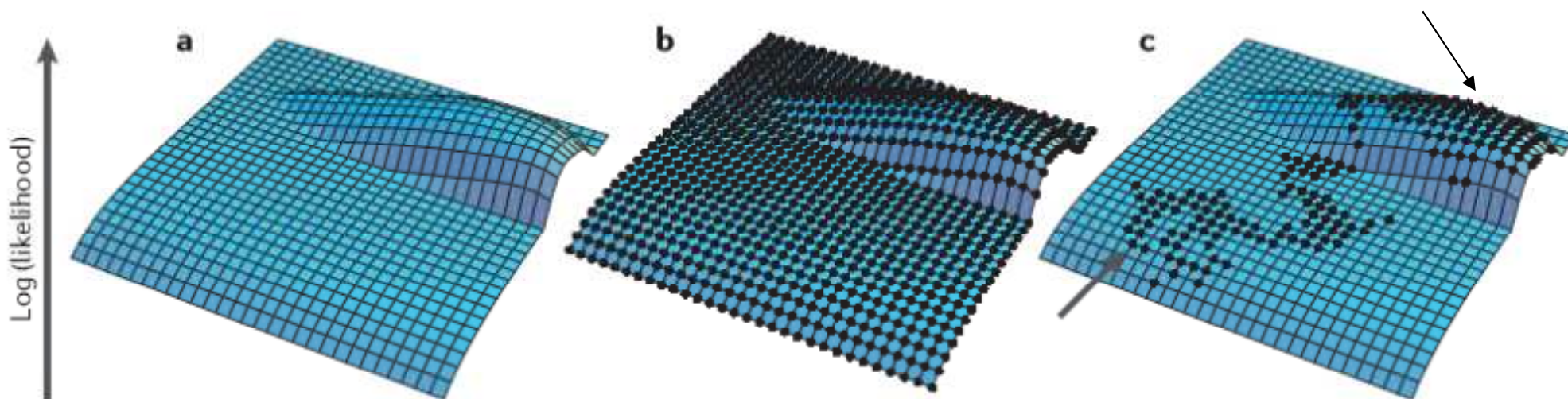
STRUCTURE - *Pritchard et al. 2000*

- Neznámý počet populací charakterizovaných různými frekvencemi alel → počet populací a frekvence zjišťují
- Současně přiřazují individua do populací
- Lokusy, které nejsou ve vazbě, HW uvnitř subpopulací (např. mikrosatelity, SNPs)
- Model se snaží vyložit HW nebo vazebnou nerovnováhu zavedením populační struktury

Bayesian clustering approach

STRUCTURE - *Pritchard et al. 2000*

- Neznámý počet populací charakterizovaných různými frekvencemi alel → počet populací a frekvence zjišťují
- Současně přiřazují individua do populací
- Lokusy, které nejsou ve vazbě, HW uvnitř subpopulací (např. mikrosatelity, SNPs)
- Model se snaží vyložit HW nebo vazebnou nerovnováhu zavedením populační struktury
- Místo přímého výpočtu – odhad pomocí Markov chain Monte Carlo



nutno opakovat několik běhů pro každý model

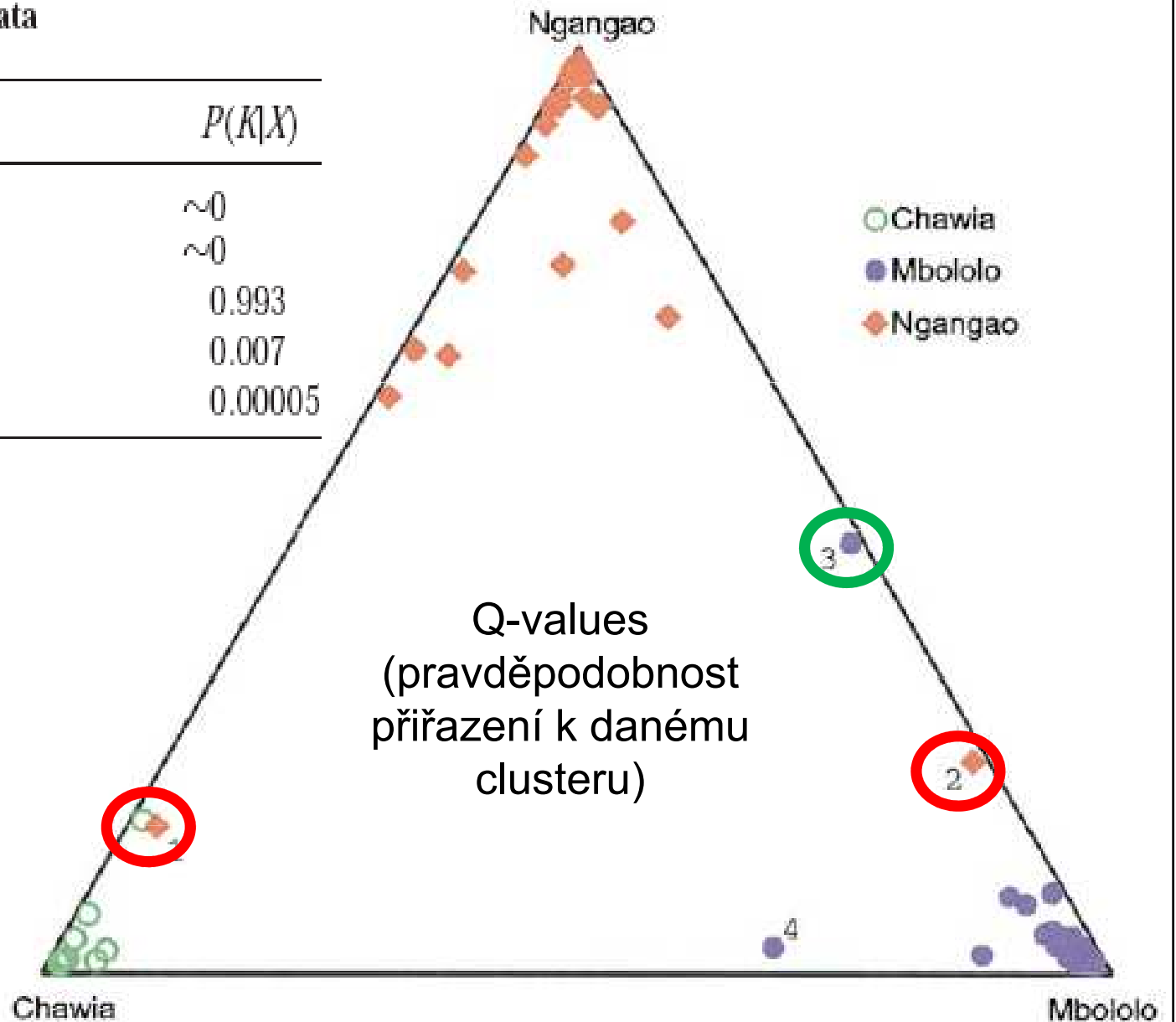
Program STRUCTURE - Bayesiánský přístup

Inferring the value of K , the number of populations,
for the *T. helleri* data

K	$\log P(X K)$	$P(K X)$
1	-3144	~ 0
2	-2769	~ 0
3	-2678	0.993
4	-2683	0.007
5	-2688	0.00005

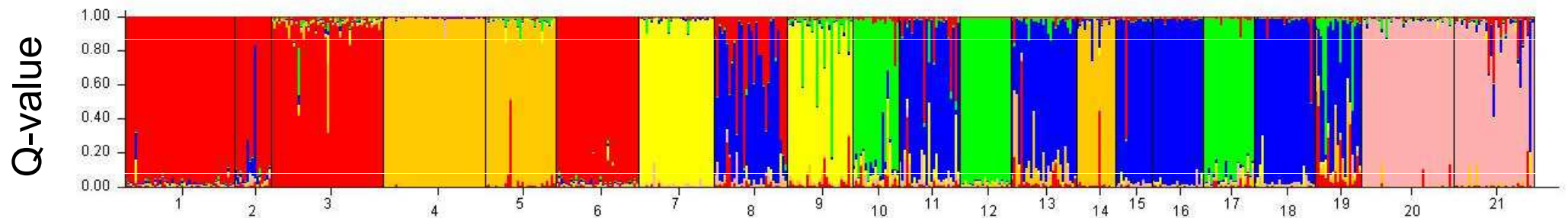
recentní migranti

hybrid?



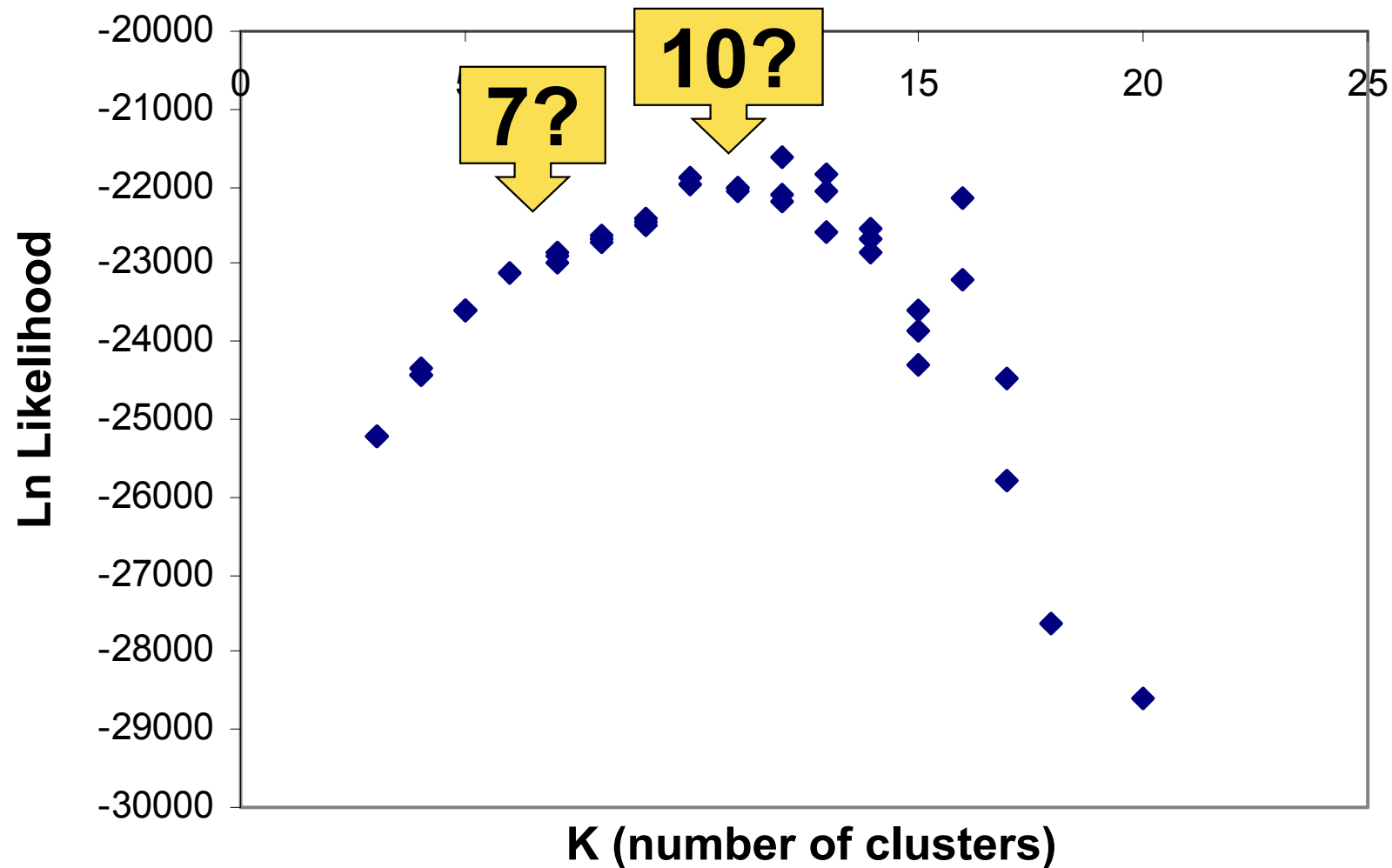
„Admixture“ model – umožňuje zařazení jedince do více klastrů

„Barplot“ pro $K = 7$



Proporce genomu každého jedince náležející určitému „clusteru“

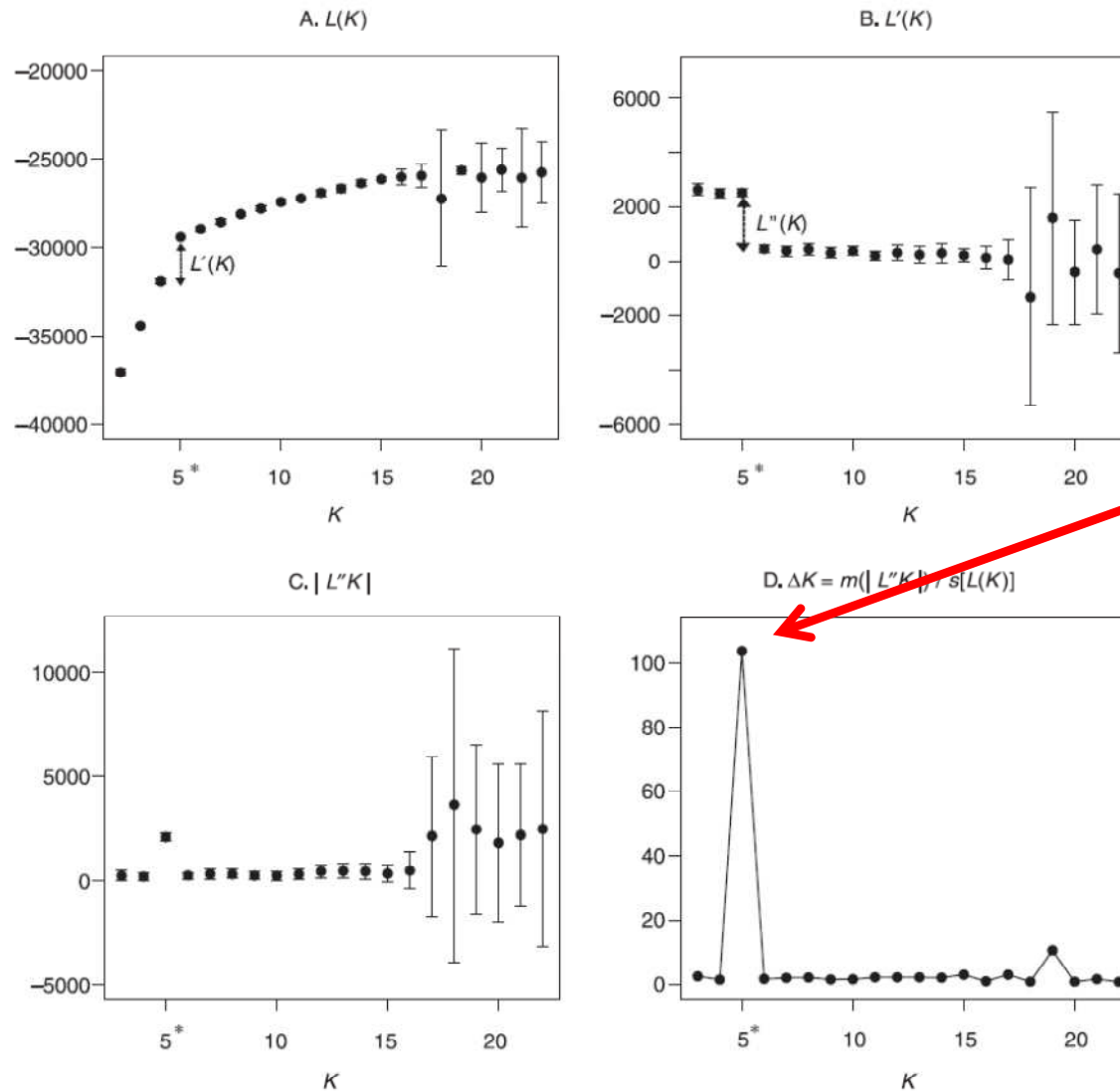
Stanovení počtu „přirozených“ subpopulací



Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study

G. EVANNO, S. REGNAUT and J. GOUDET

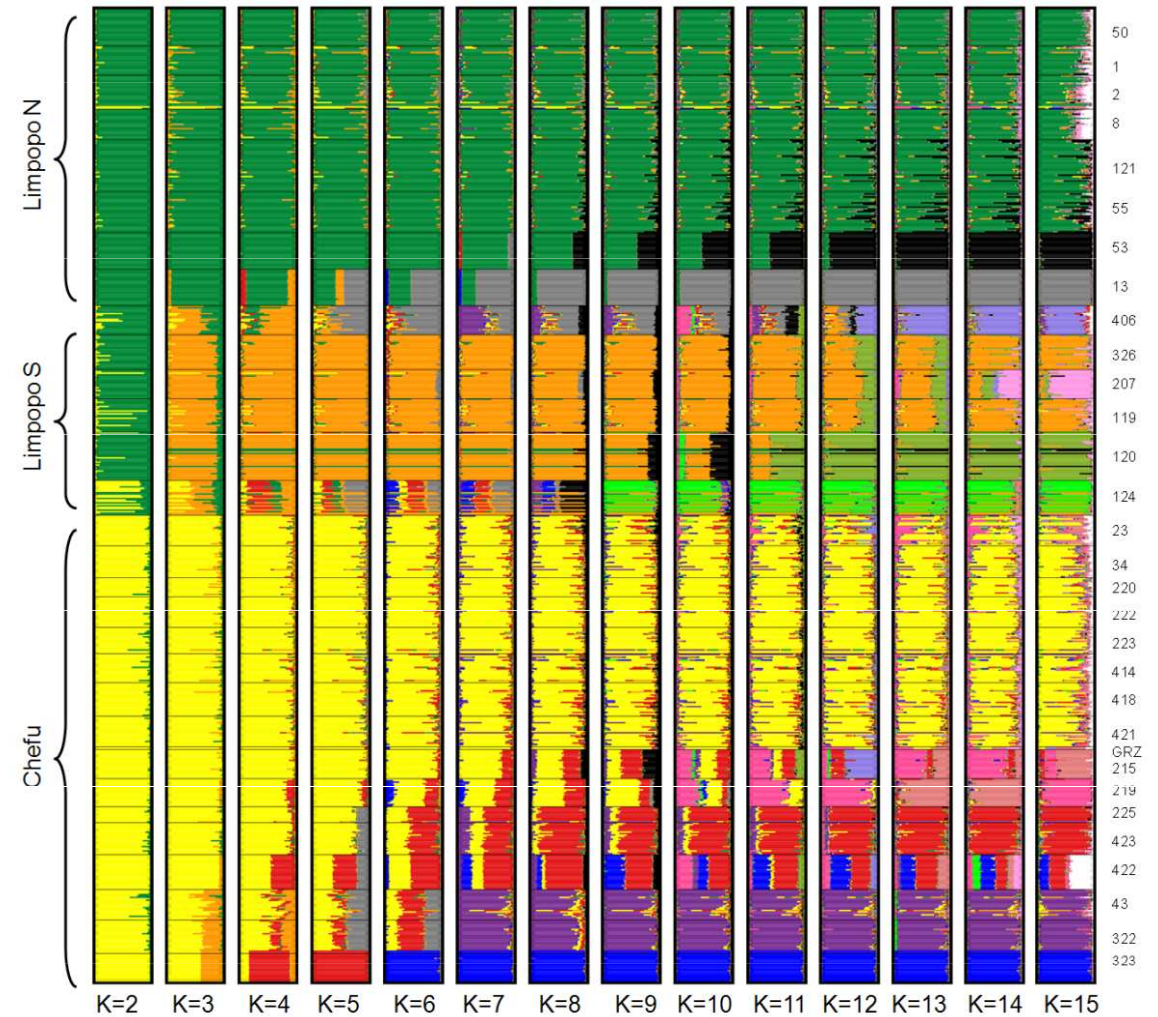
Department of Ecology and Evolution, Biology building, University of Lausanne, CH 1015 Lausanne, Switzerland



Další úpravy výsledků ze STRUCTURE

- Structure Harvester – příklad
- CLUMPP – podobnost výsledku běhů pro stejná K; permutace jednotlivých analýz pro stejná K
- DISTRUCT – vizualizace, grafická úprava barplotů

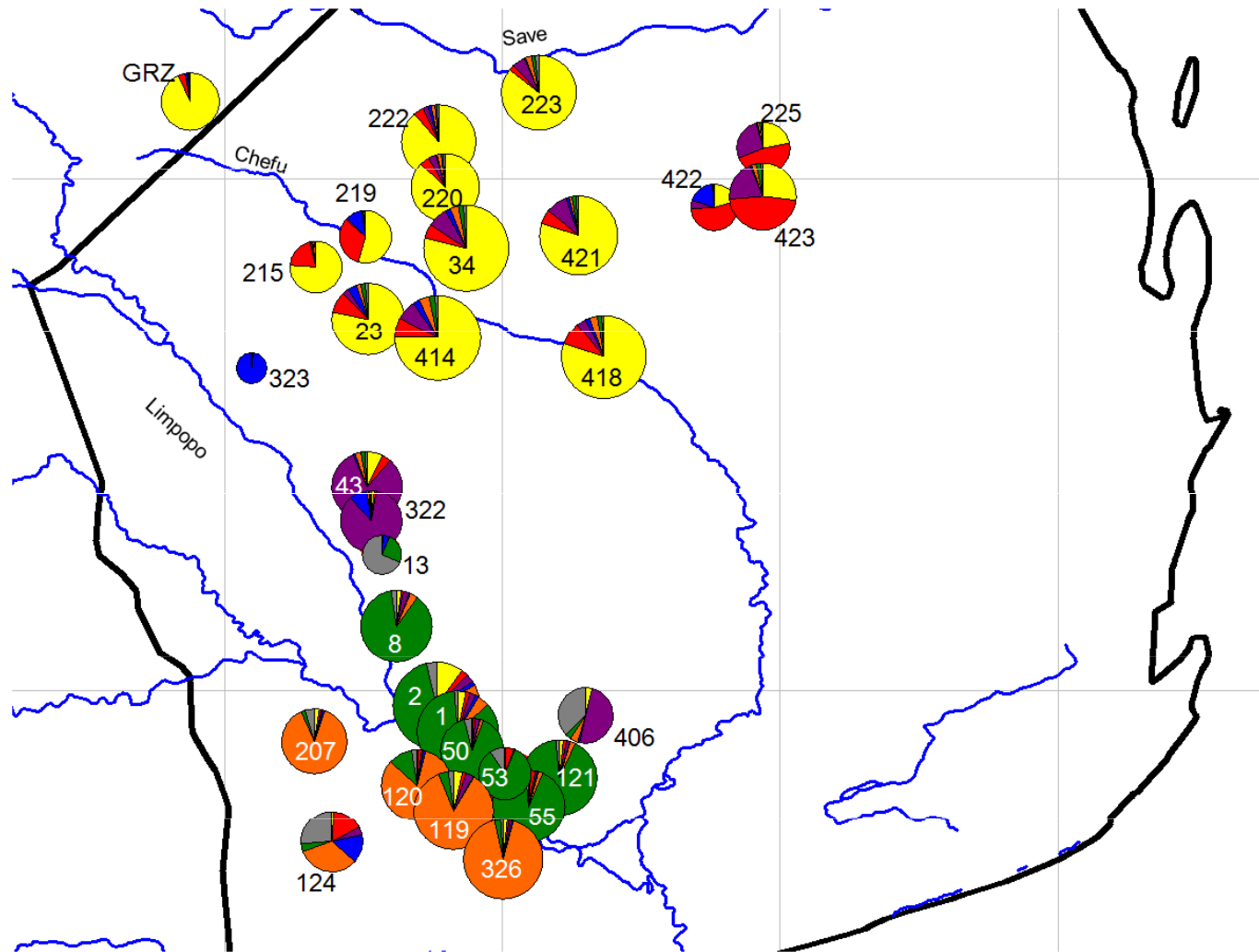
Alternativní vizualizace výsledků ze STRUCTURE



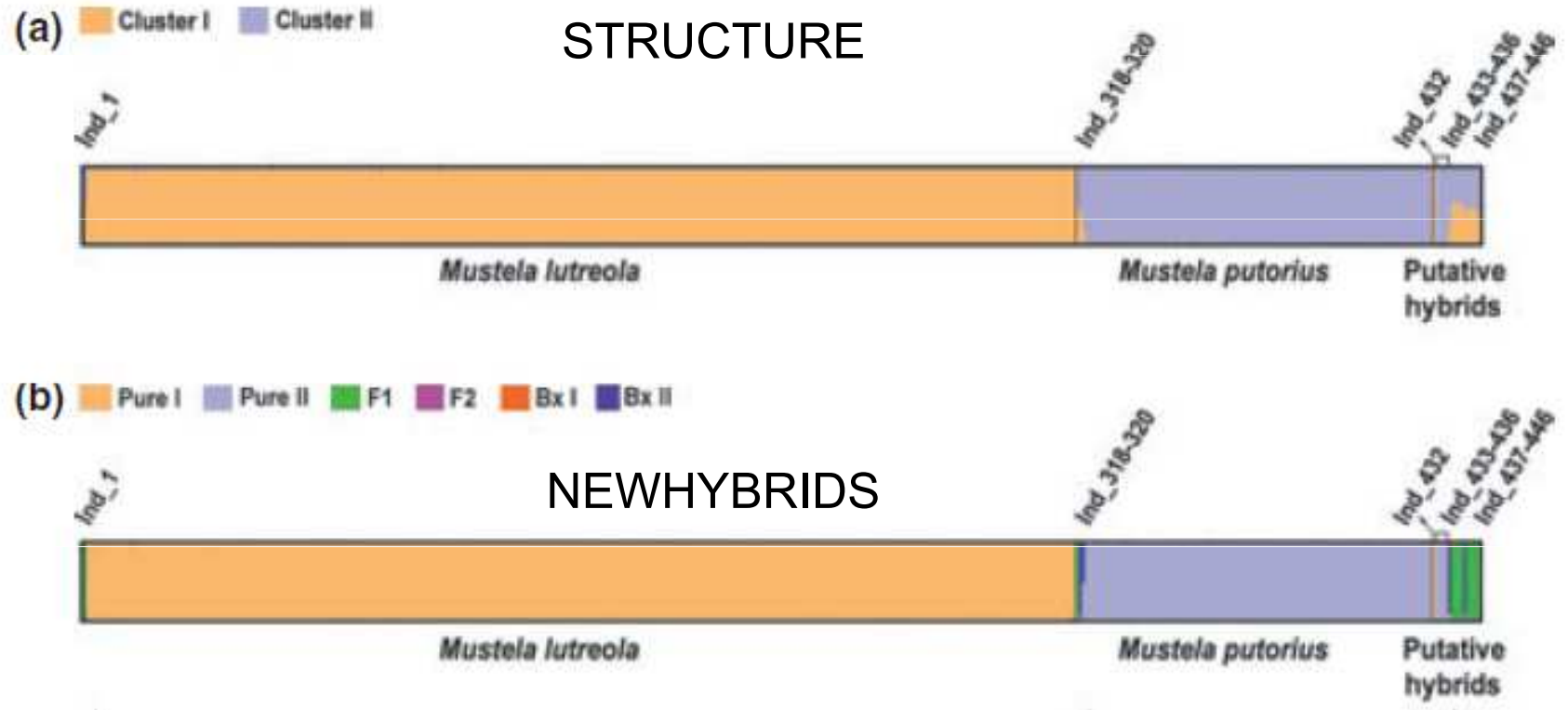
„forced clustering“

Zobrazení hierarchické struktury mezi populacemi

- Q-values pro celé populace (ne jedince)



NewHYBRIDS



4. Prostorová genetik

(„landscape genetics“; „spatial genetics“)

- **klasická populační genetik**
 - test Isolation-by-distance (např. Genepop)
 - prostorové autokorelační analýzy (např. GenAlex)
- **individual-based models**
 - vychází z Bayesian clustering approach (typu STRUCTURE) –
 - do modelování genetické informace přidává i geografické koordináty
 - např. programy BAPS, TESS, Geneland (automaticky stanovují nejlepší počet populací K)

Isolation by distance

- rozumné geografické měřítko
(závisí na schopnosti disperze)
- musí být ustanovena rovnováha mezi migrací a driftem
- island model
- IBD (isolation-by-distance) nebude
 - u velmi recentně izolovaných populací
 - u zcela izolovaných populací
 - při značné migraci

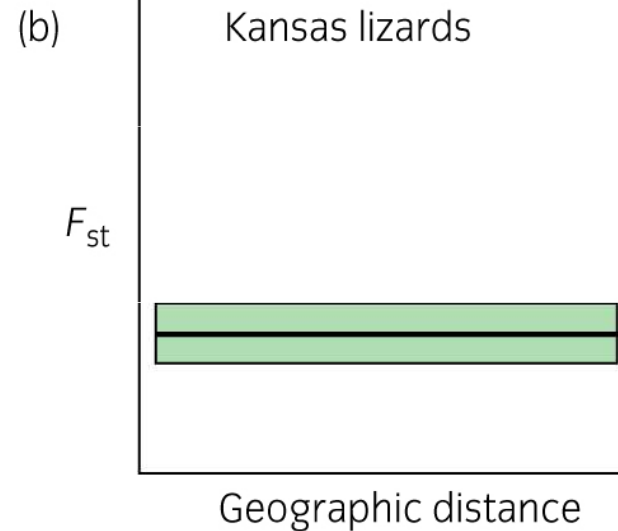
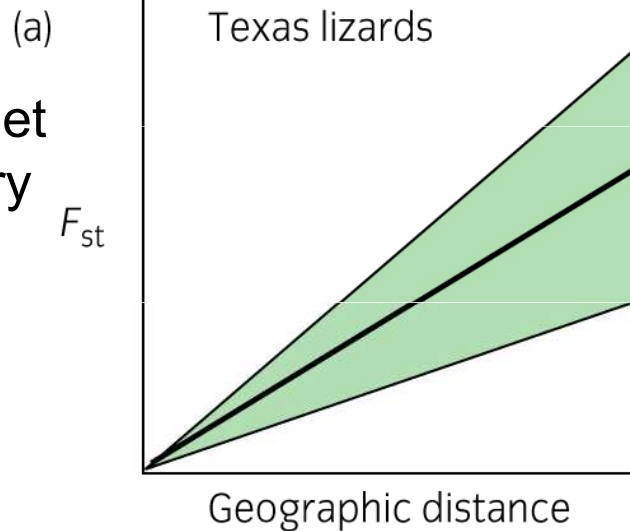
Isolation by distance

Crotaphytus collaris

Hutchinson & Templeton 1999

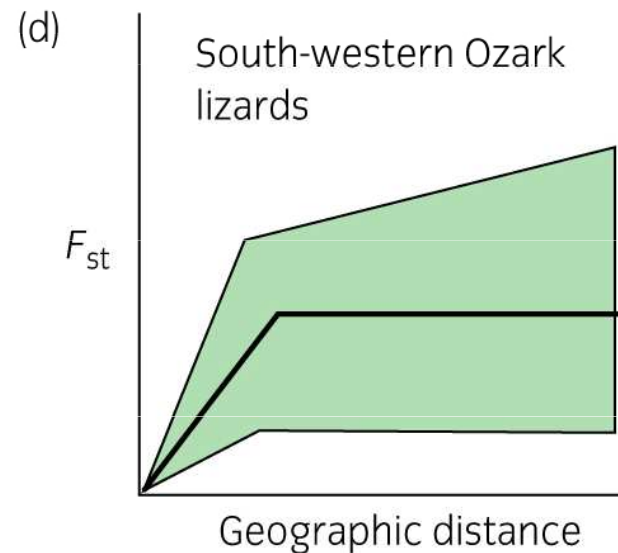
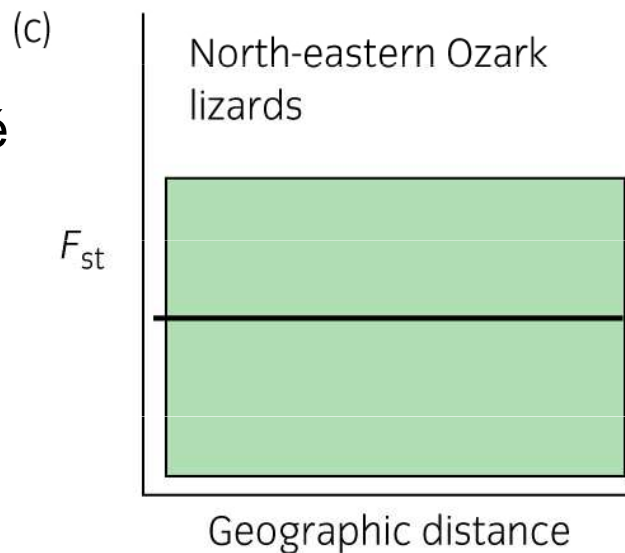


desítky tisíc let
nejsou bariéry
rovnováha
mezi driftem
a migrací



postglaciálně
nejsou bariéry
vliv migrace

postglaciálně
fragmentace
vliv driftu



postglaciálně
vzrůstající
fragmentace
vliv driftu
na velkých
měřítkách
rovnováha
na malých
měřítkách

Detekce IBD

- korelace mezi maticí genetických a geografických vzdáleností
- Mantelův test
- např. Genepop

Příklad: IBD u netopýrů rodu *Pipistrellus*

(výpočet geografických vzdáleností v GenAlex)

Mechanisms of radiation in a bat group from the genus *Pipistrellus* inferred by phylogeography, demography and population genetics

P. HULVA,* A. FORNŮSKOVÁ,† A. CHUDÁRKOVÁ,* A. EVIN,‡ B. ALLEGRINI,§ P. BENDA*¶ and J. BRYJA†

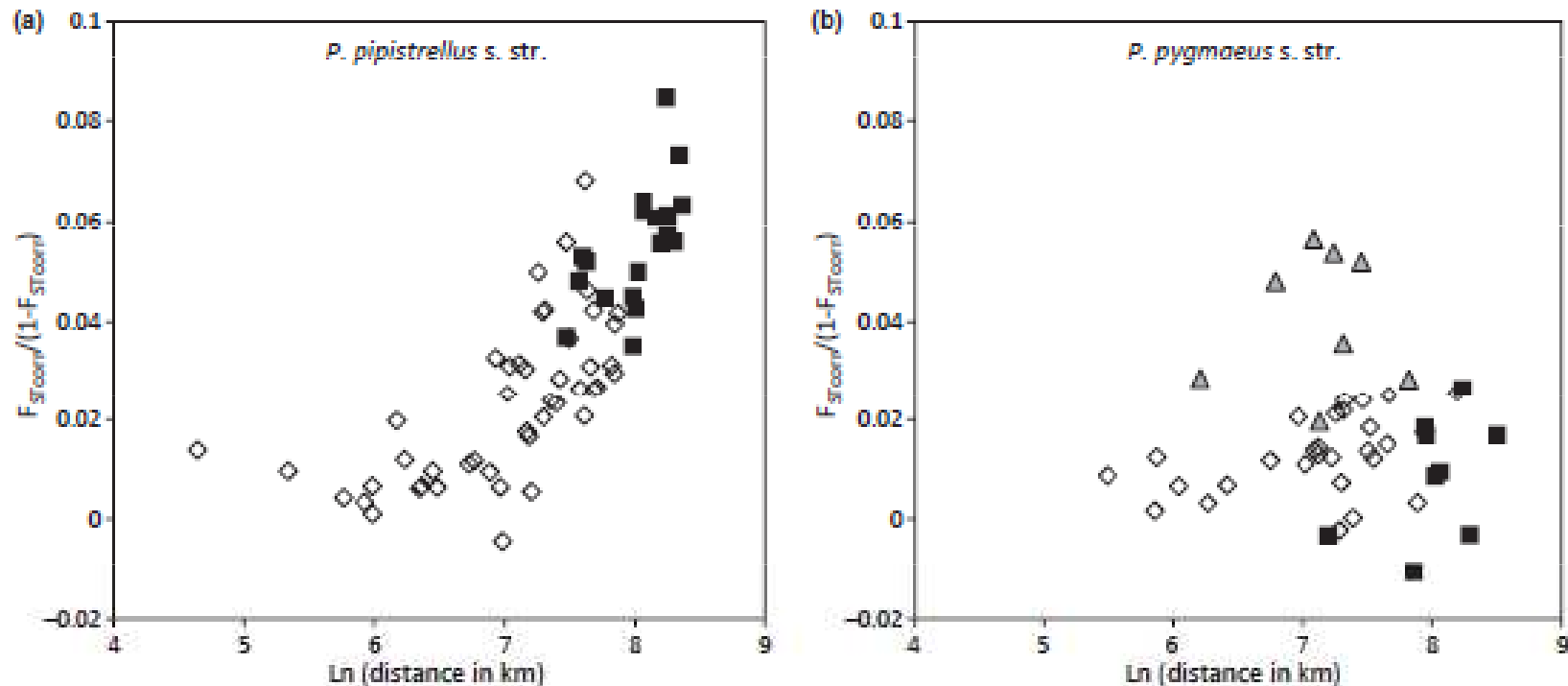
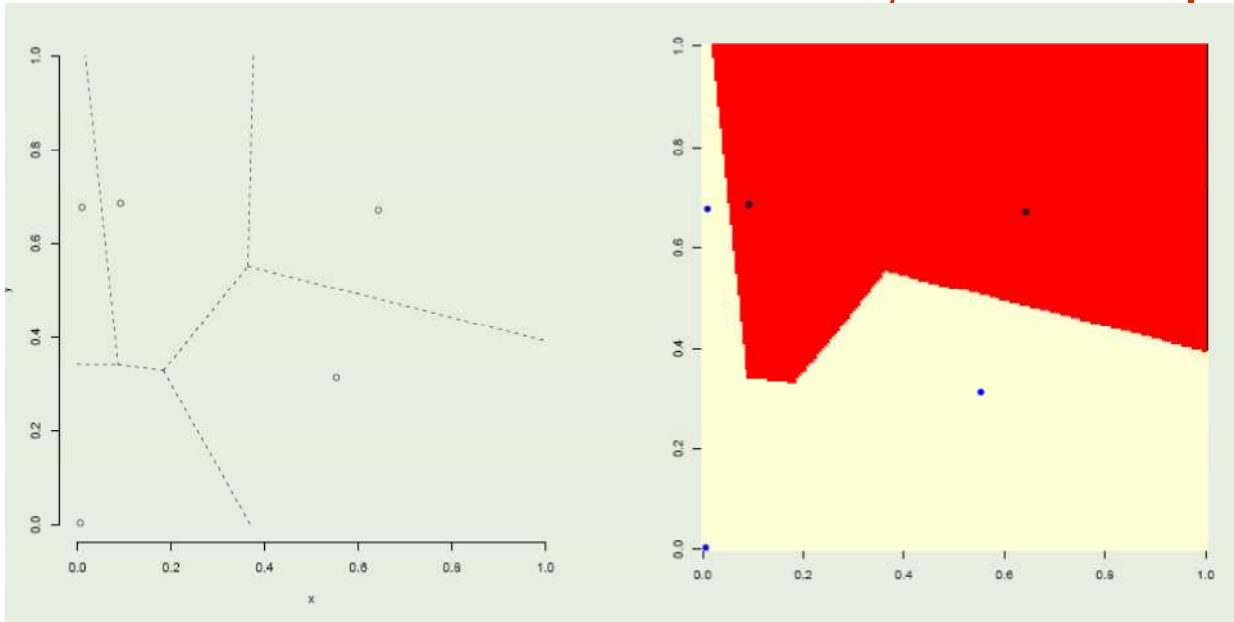


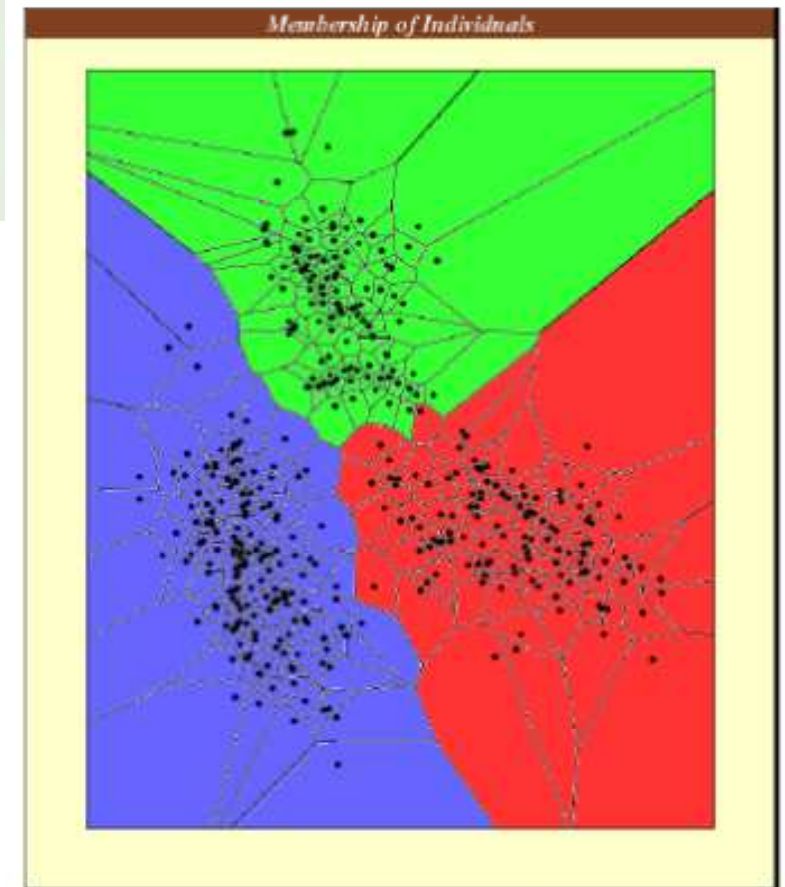
Fig. 5 Correlation between genetic $F_{STcorr}/(1-F_{STcorr})$ and geographic (\ln scale) distances for *Pipistrellus pipistrellus* s.str. (a) and *Pipistrellus pygmaeus* s.str. (b). Black squares, population pairs including Iran (both species) and central Asia (only *P. pipistrellus* s.str.). Grey triangles, population pairs including Corsica.

Spatial models – individual-based approach

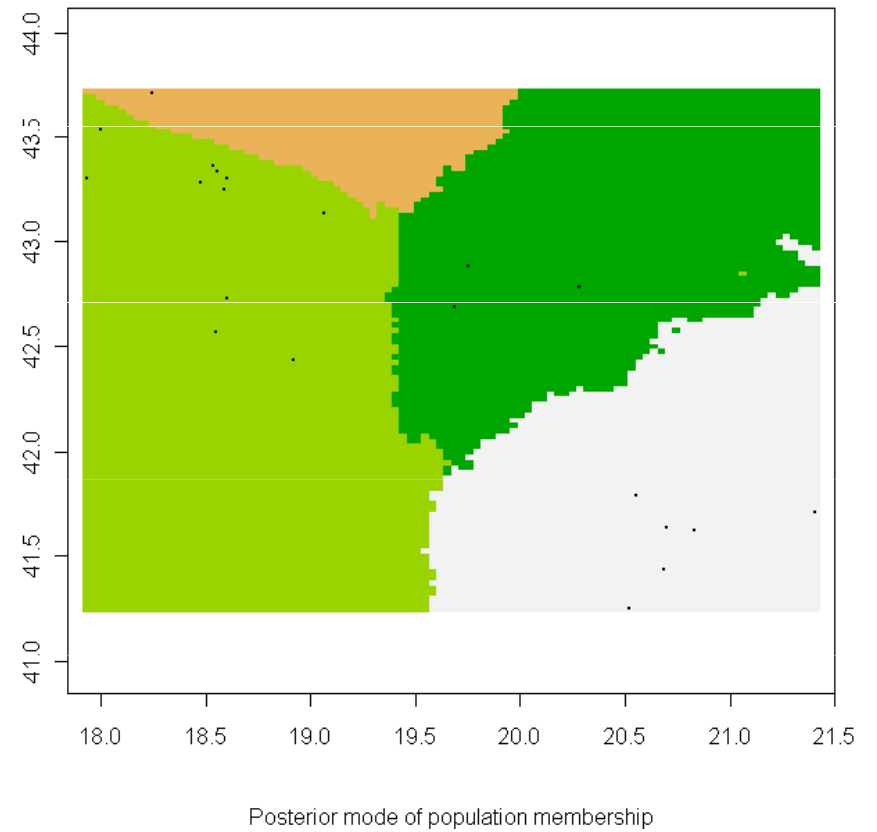
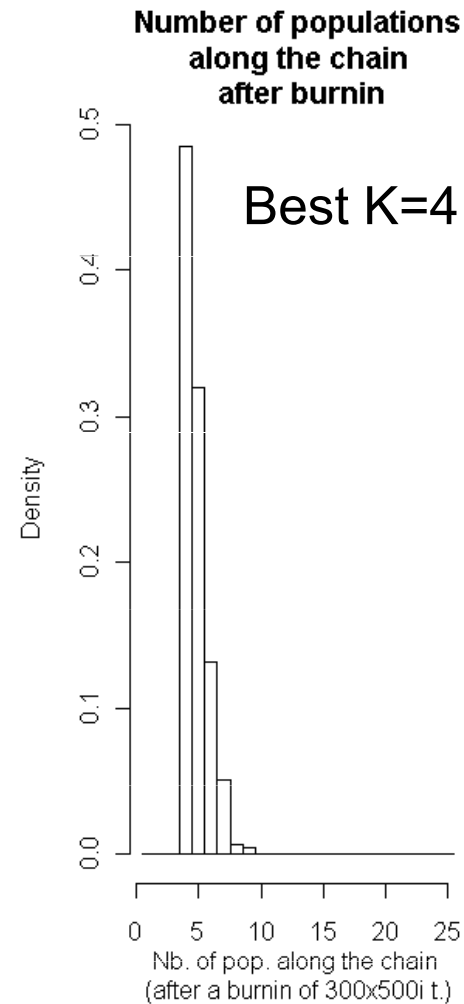
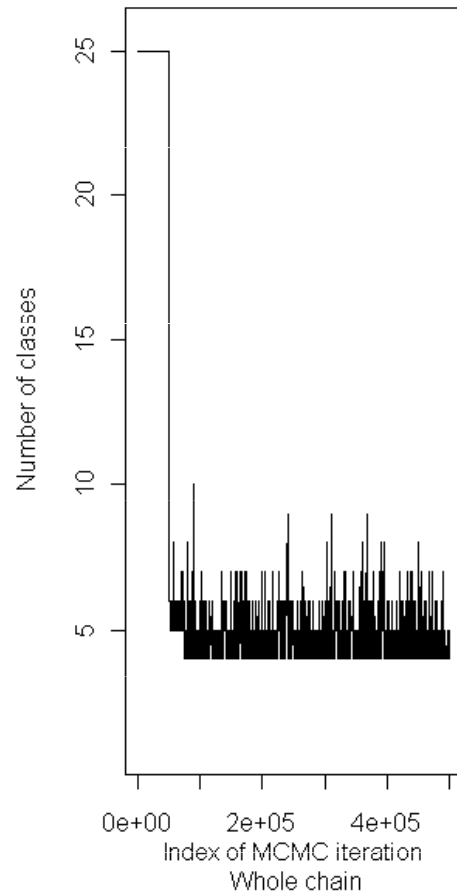
tesselation, Voronoi polygons



- do modelu se jako další proměnné zadávají prostorové souřadnice
- počet klastrů je většinou odhadován jako jeden z parametrů modelu (vs. STRUCTURE)



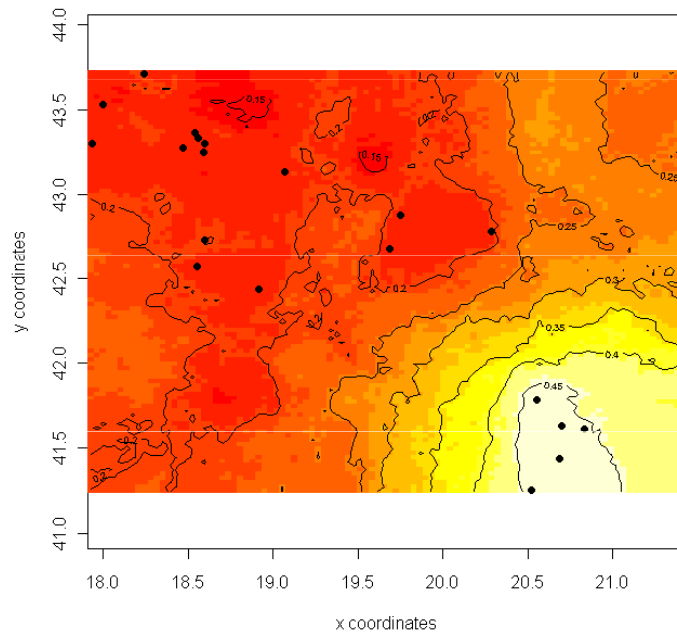
Př.: Geneland



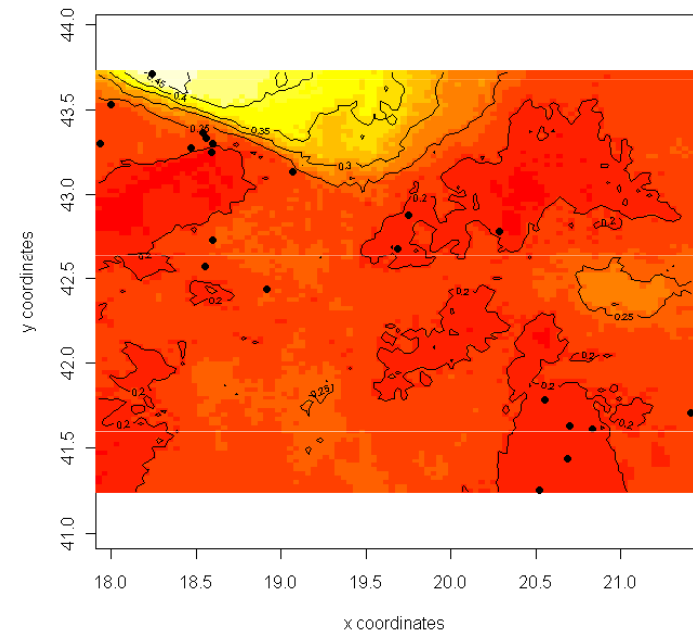
R platform

Posterior probability maps

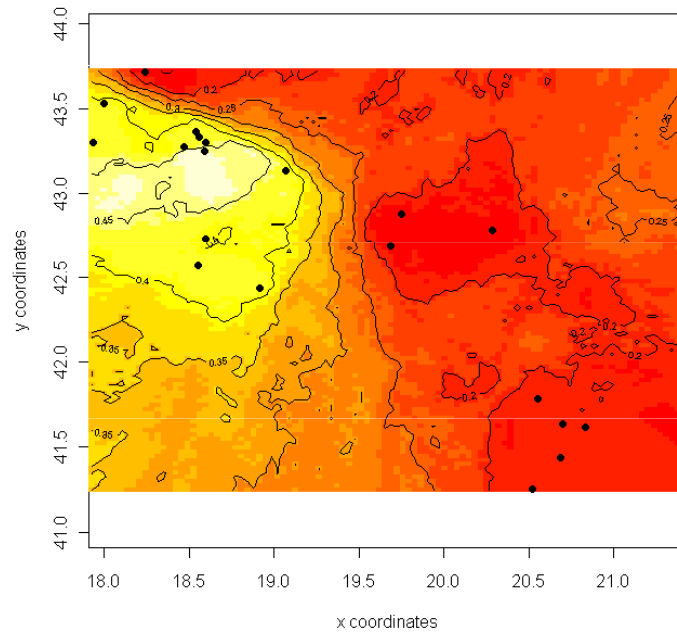
Map of posterior probability to belong to class 4



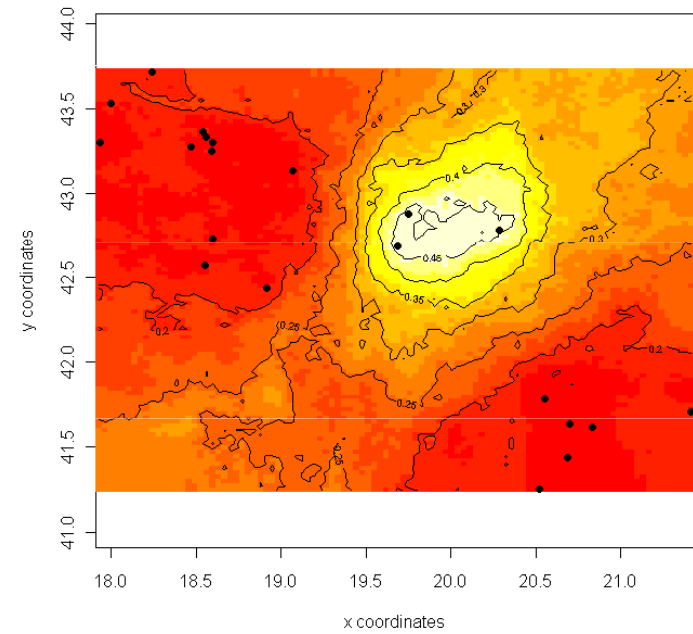
Map of posterior probability to belong to class 3



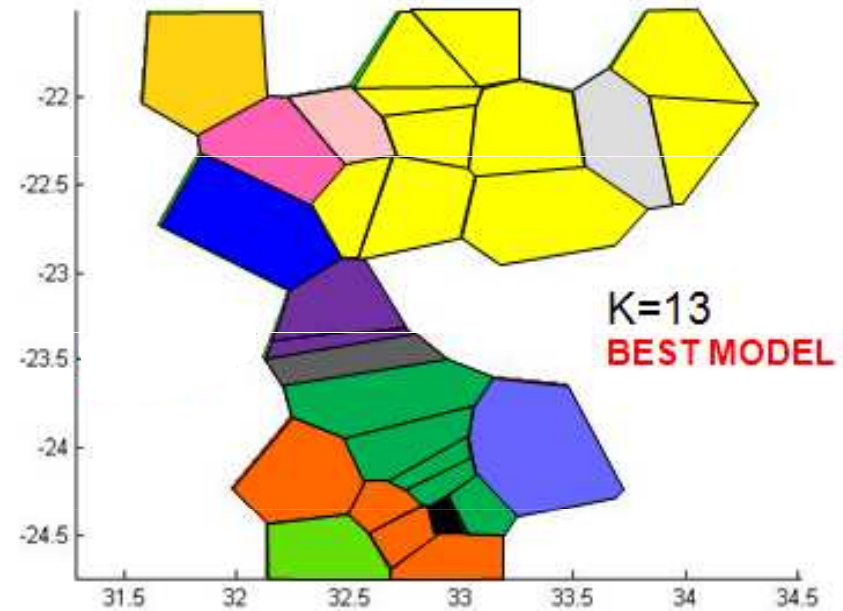
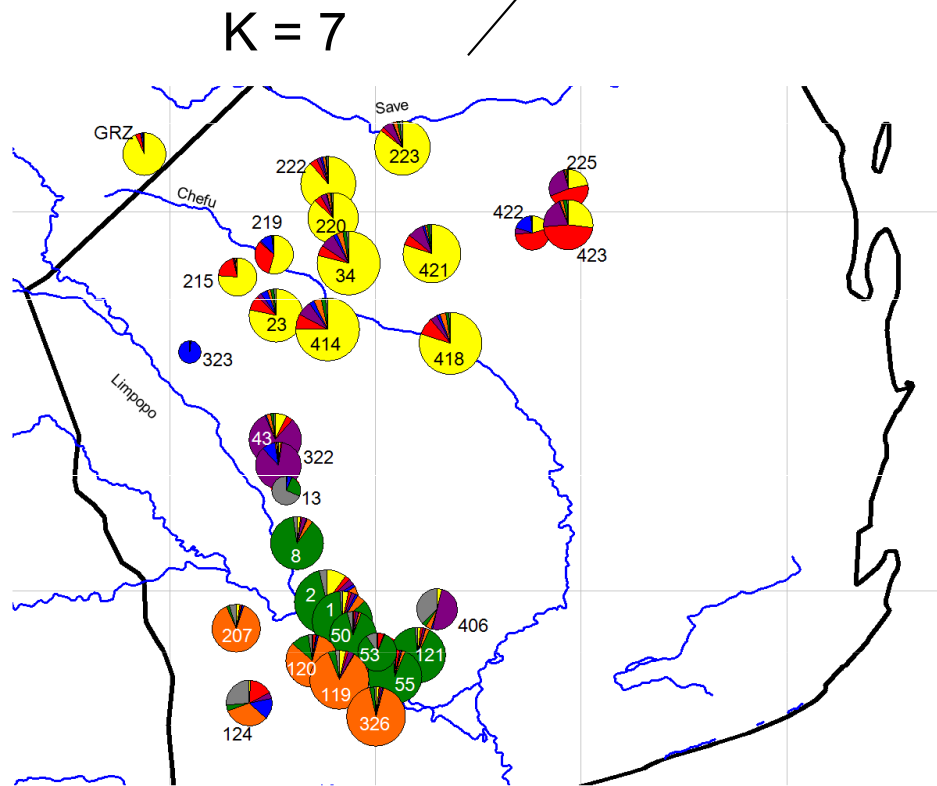
Map of posterior probability to belong to class 2



Map of posterior probability to belong to class 1



STRUCTURE vs. BAPs



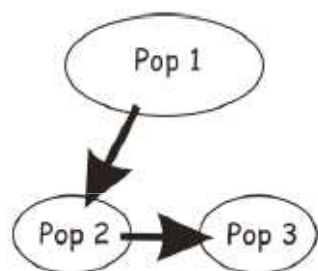
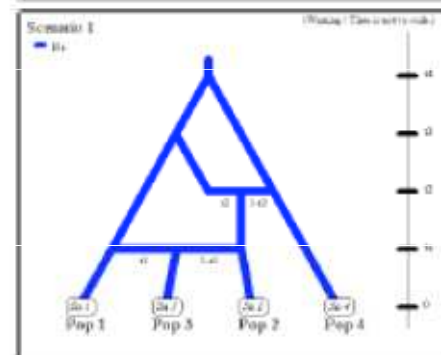
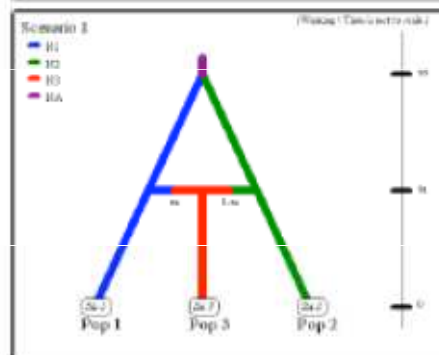
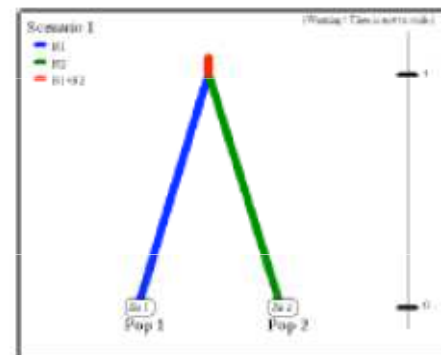
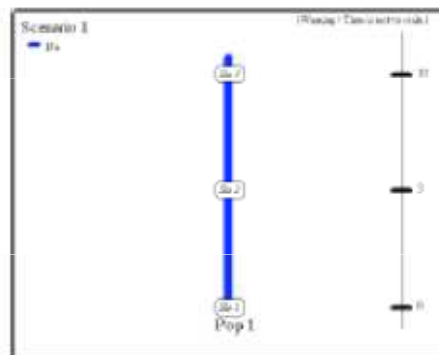
Robustní podpora genetické struktury

Srovnání vlastností jednotlivých „individual-based assignment“ programů

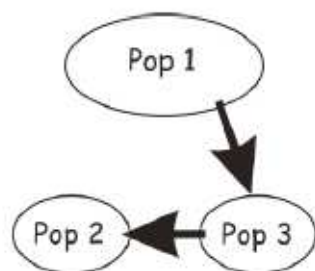
	Structure	Partition	BAPS	Geneland
Estimate K	●	●	●	●
Spatial	●	●	●	●
Admixture	●	●	●	●
Inbreeding	●	●	●	●
Linked loci	●	●	●	●
Corr. freq.	●	●	●	●
Co-dom. markers	●	●	●	●
Null alleles	●	●	●	●

Jak ta struktura vznikla?

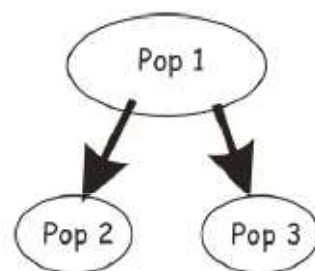
- ABC
(Approximate Bayesian Computation)
- Program DIYABC
- Různé scénáře
- Mikrosatelitová data



Scenario 1



Scenario 2



Scenario 3