

Dorota Fopp-Bayat
Mirosław Łuczyński
Małgorzata Jankun

Rola genetyki populacyjnej w zachowaniu
bioróżnorodności ryb



Publikację przygotowano w ramach projektu „Ichtiologiczna bioróżnorodność jezior – wypracowanie modelu rozwiązywania problemów na przykładzie zasobów naturalnych autochtonicznej sieci wędrownej w jeziorze Łebsko (sieci łebskiej)” (nr PL0468, akronim Fish-WILL,), działającego w ramach instrumentów finansowych: Mechanizmu Finansowego Europejskiego Obszaru Gospodarczego (EOG) oraz Norweskiego Mechanizmu Finansowego, obszaru priorytetowego „Promowanie zrównoważonego rozwoju poprzez lepsze wykorzystanie i zarządzanie zasobami”

Autorzy:

Dorota Fopp-Bayat¹,

Mirosław Łuczyński²,

Małgorzata Jankun¹

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Wydział Ochrony Środowiska i Rybactwa

¹Katedra Ichtiologii

²Katedra Biotechnologii w Ochronie Środowiska

Recenzenci:

SPIS TREŚCI

Rola genetyki w zachowaniu bioróżnorodności	5
<i>Pojęcie bioróżnorodności</i>	5
<i>Czy człowiek może zapobiec zmniejszeniu liczebności populacji oraz wymieraniu gatunków?</i>	6
<i>Przykład biologiczny działania doboru naturalnego oraz człowieka</i>	8
Podstawy genetyki populacyjnej	9
<i>Model Hardy'ego-Weinberga</i>	9
<i>Frekwencja alleli w locus</i>	12
<i>Dominacja niekompletna albo addytywne działanie genów autosomalnych</i>	12
<i>Dominacja kompletna (całkowita)</i>	14
<i>Dwa (lub więcej) geny kodujące rozmaite fenotypy.</i>	16
<i>Geny kodujące fenotypy poprzez epistazę</i>	18
<i>Geny sprzężone z płcią</i>	20
<i>Geny chromosomu Y (geny sprzężone z chromosomem Y)</i>	20
<i>Geny chromosomu X (geny sprzężone z chromosomem X)</i>	21
<i>Fenotypy występujące tylko u jednej płci.</i>	25
<i>Zastosowanie modelu Hardy'ego-Weinberga w analizie połowów ryb, pochodzących ze zmieszanych ze sobą stad (ang. mixed-stock fishery).</i>	25
Selekcja na cechy jakościowe	32
<i>Geny autosomalne</i>	32
<i>Całkowita dominacja jednego allelu nad drugim</i>	32
<i>Selekcja na fenotyp recesywny</i>	32
<i>Selekcja na fenotyp dominujący</i>	33
Testowanie tarlaków na nosicielstwo recesywnych alleli niepożądanych	37
Testowanie na nosicielstwo genów letalnych (albo wywołujących bezpłodność)	40
Selekcja	44
<i>Dominacja niekompletna lub addytywne działanie genów (Tave 1986)</i>	44
<i>Dominacja niezupełna</i>	44
<i>Addytywne współdziałanie genów</i>	46
<i>Geny sprzężone z płcią (Tave 1986)</i>	49
Przeciwdziałanie utracie różnorodności genetycznej	60
<i>Liczebność populacji efektywnej</i>	60
<i>Obliczanie N_e koniecznej do utrzymania inbrodu poniżej dopuszczalnej wartości</i>	66

<i>Obliczanie N_e koniecznej by przeciwdziałać dryfowi genetycznemu</i>	<i>69</i>
<i>Prawdopodobieństwo utrzymania allelu w populacji o zmieniającej się N_e</i>	<i>72</i>
<i>Przeciwdziałanie utracie rzadkich alleli z puli genowej populacji rozrodczej.....</i>	<i>75</i>
<i>Przeciwdziałanie zimbredowaniu stada poprzez zapewnienie równej liczby samic i samców</i>	<i>80</i>
<i>Krzyżowanie losowe</i>	<i>80</i>
<i>Krzyżowanie rodowodowe.....</i>	<i>84</i>
Zarys populacyjnej genetyki pstrąga potokowego	88
Podsumowanie.....	93

ROLA GENETYKI W ZACHOWANIU BIORÓŻNORODNOŚCI

POJĘCIE BIORÓŻNORODNOŚCI

Różnorodność biologiczna jest pojęciem, które oficjalnie zostało zatwierdzone w dokumentach wraz z „Konwencją o różnorodności biologicznej” przyjętą podczas międzynarodowej konferencji Środowisko i Rozwój (UNICED), znanej jako Szczyt Ziemi (Rio de Janeiro w 1992 roku). Konwencja zatwierdziła następującą definicję dla pojęcia różnorodności biologicznej: *„różnorodność biologiczna oznacza zróżnicowanie wszystkich żywych organizmów występujących na Ziemi e ekosystemach lądowych, morskich i słodkowodnych oraz w zespołach ekologicznych, których są częścią: dotyczy to różnorodności w obrębie gatunku, pomiędzy gatunkami oraz różnorodności ekosystemów”*. (www.ekoedu.uw.edu.pl/download/wyklady/Andrzejewski.doc).

Ochrona bioróżnorodności i jej zrównoważone użytkowanie są w świetle Konwencji ściśle ze sobą powiązane. W związku z tym przesłanki ochrony przyrody, głównie o charakterze filozoficznym, moralnym i etycznym zostały połączone z bardziej utylitarnym podejściem, mającym na celu ochronę różnorodności biologicznej, po to aby móc z niej korzystać w zrównoważony sposób. Jest to realizowane poprzez wszechstronne działania ochronne *in situ* (czyli w miejscu naturalnego występowania danego organizmu) i *ex situ* (czyli w wytworzonych przez człowieka warunkach, na przykład w obiektach hodowli ryb, czy bankach genów), a także poprzez współdziałanie wielu instytucji reprezentujących różne sektory gospodarki i organizacje pozarządowe typu Polski Związek Wędkarski czy Polski Związek Łowiecki.

Zadania związane z ochroną bioróżnorodności są bardzo obszerne i powinny dotyczyć przestrzeni całego kraju (zwłaszcza obszarów użytkowanych rolniczo i rybacko), a nie tylko z obszarów prawnie chronionych. Wymaga to stosowania nowatorskich rozwiązań, które umożliwią powiązanie interesu gospodarczego z ochroną środowiska. Niezwykle ważne jest także opracowanie programów utrzymania bądź przywrócenia bioróżnorodności na terenach użytkowanych i zagospodarowanych przez człowieka, w tym na obszarach znacznie zdegradowanych. Zgodnie z zapisami Konwencji

przedmiotem ochrony powinno być całe bogactwo przyrodnicze występujące na Ziemi. Jednak szczególny nacisk powinien być położony na te składniki różnorodności, które są zagrożone wyginieciem lub trwałym przekształceniem.

Różnorodność biologiczna (bioróżnorodność) wynika ze zmienności genetycznej, czyli bogactwa puli genowej każdej populacji, składu gatunkowego i zróżnicowania systemów ekologicznych występujących na danym obszarze i na całej Ziemi. Do bioróżnorodności zalicza się także odmiany i rasy gatunków wytworzonych przez człowieka w ramach hodowli. Różnorodność fenotypowa jest rezultatem współdziałania genotypu i warunków środowiska. Ochrona różnorodności biologicznej odbywa się na trzech poziomach: genetycznym, gatunkowym i ekologicznym. Podstawowymi zobowiązaniami stron konwencji są: zidentyfikowanie różnorodności biologicznej swojego kraju i jej ochrona.

Analiza genetyczna jest jednym z narzędzi służących identyfikowaniu zmienności i diagnozowaniu bioróżnorodności organizmów. Przy pomocy metod genetyki klasycznej, a w jeszcze większym stopniu genetyki molekularnej można identyfikować gatunki, a także rasy, odmiany i formy w obrębie jednego gatunku.

CZY CZŁOWIEK MOŻE ZAPOBIEC ZMNIEJSZENIU LICZEBNOŚCI POPULACJI ORAZ WYMIERANIU GATUNKÓW?

Jednym z problemów „spędzających sen z powiek” miłośnikom przyrody jest wymieranie gatunków. Może ono być spowodowane wieloma czynnikami. Najbardziej spektakularne wymarcia to na przykład wyginiecie dinozaurów na skutek katastrofy kosmicznej, która spowodowała nagłą i długotrwałą zmianę warunków życia na Ziemi. Działalność człowieka przyczyniła się w dużej mierze do wyginiecia wielu gatunków, jednakże gatunki wymierały też wtedy, kiedy człowieka jeszcze nie było na Ziemi. Przy rozważaniu tego zagadnienia istotnym jest wyjaśnienie pojęcia współczynnika reprodukcji, który jest iloczynem średniej liczby osobników potomnych przypadających na jednego rodzica i prawdopodobieństwa przeżycia potomka do wieku reprodukcyjnego. Gdy wartość współczynnika reprodukcji

jest większa od jeden to populacja zwiększa swą liczebność, gdy jest równa jeden to liczebność populacji nie zmienia się. Gdy natomiast wartość współczynnika reprodukcji jest mniejsza od jeden, to populacja maleje. W tym przypadku mamy do czynienia z wymieraniem populacji. Jeżeli wszystkie istniejące populacje danego gatunku zmniejszają swą liczebność to jest on zagrożony wyginięciem. W przypadku organizmów wykazujących strategię rozrodczą typu K (o niskiej płodności lecz wysokiej przeżywalności potomstwa) zbyt mała liczba osobników nie pozwoli już na uratowanie gatunku. Natomiast gatunki wykazujące strategię typu r (o dużej płodności i niskiej przeżywalności) mogą szybko zwiększyć liczebność, nawet jeśli przy życiu pozostanie tylko kilka osobników zdolnych do rozrodu.

Należy jednak zauważyć, że zbyt mała liczba osobników rodzicielskich rodzi też inny problem, wysoki współczynnik inbrodu¹. Wiąże się z tym występowanie depresji inbredowej, która przejawia się obniżeniem żywotności i płodności oraz pojawieniem się wad rozwojowych i chorób genetycznych. Tylko gatunki o pochodzeniu tetraploidalnym (na przykład ryby łososiowate) są bardziej odporne na inbred, gdyż posiadają wiele zduplikowanych loci genowych.

Określenie minimalnej wielkości populacji jest też ściśle związane z pojęciem wielkości populacji efektywnej (N_e) (patrz: Liczebność populacji efektywnej str. 60), ponieważ zdolności rozrodcze i różnorodność genetyczna potomstwa zależą od ilości i proporcji osobników obu płci. Problem minimalnej wielkości populacji, która zapewniłaby istnienie danej populacji należałoby rozpatrywać dla każdego gatunku indywidualnie.

Genetyka wraz z całą gamą metod badawczych oferuje doskonałe narzędzie do rozpoznawania bioróżnorodności zarówno międzygatunkowej jak i wewnątrzgatunkowej. Pomaga też w zrozumieniu procesów zachodzących w puli genetycznej pod wpływem człowieka a co za tym idzie umożliwia planowanie i optymalizowanie zabiegów hodowlanych i ochronnych.

W następnych rozdziałach przedstawimy przykłady zastosowania wiedzy genetycznej w gospodarowaniu zarówno stadami ryb hodowlanych jak i tych przeznaczonych do wspomagania populacji naturalnych.

¹ Więcej informacji na temat inbrodu (wsobności) można znaleźć w książce „Gospodarowanie stadami rozrodczymi naturalnych i hodowlanych populacji ryb – podstawy genetyki ilościowej” autorstwa Fopp, Łuczyński, Jankun 2010.

PRZYKŁAD BIOLOGICZNY DZIAŁANIA DOBORU NATURALNEGO ORAZ CZŁOWIEKA

Sieja, która została introdukowana do warunków stawowych w Czechach, przeżyła blisko 30 pokoleń w izolacji geograficznej. Zmienność genetyczna tej populacji zależała od tego, czy była to jednorazowa introdukcja oraz jaką ilością ryb dysponowano. Obecna populacja siei w Czechach charakteryzuje się nieco odmienną frekwencją alleli istotnych w przystosowaniu się do silnie zeutrofizowanych i cieplejszych warunków stawowych. Presja doboru naturalnego mogła spowodować niezamierzoną selekcję kierunkową prowadzącą do przesunięcia optimum termicznego osobników w tej populacji w kierunku wyższej temperatury, gdyż osobniki tolerujące wyższą temperaturę mają w warunkach stawowych większe szanse na pozostawienie liczego potomstwa w kolejnych pokoleniach. Osobniki o genotypach warunkujących małą tolerancję na podwyższoną temperaturę wykazują wysoką śmiertelność i ich udział w następnych pokoleniach jest coraz mniejszy. Podwyższona temperatura jest więc czynnikiem zwiększającym śmiertelność szczególnie w stadium ikry zapłodnionej, zaoczkowanej i wylęgu. Ma to także wpływ na proces dojrzewania gonad i średnią płodność tarlaków. Ryby hodowane obecnie w czeskich stawach prawdopodobnie znacznie lepiej znoszą silnie zeutrofizowane warunki stawowe niż jakiegokolwiek dzikie populacje z jezior na północy. Przy planowaniu chowu lub hodowli siei w stawach, najlepiej byłoby zaopatrzyć się w materiał zarybieniowy właśnie w Czechach.

PODSTAWY GENETYKI POPULACYJNEJ

MODEL HARDY'EGO-WEINBERGA

(Hallerman 2003)

Proces analizy zmienności genetycznej składa się:

- ze zbadania jednego lub więcej typów markerów genetycznych,
- ilościowego wyrażenia frekwencji fenotypów,
- wywnioskowania na tej podstawie frekwencji genotypów kodujących zbadane fenotypy.

Następnie potrzebny jest określony model, który powiąże ze sobą frekwencje genotypów z frekwencjami alleli i umożliwi wyciągnięcie wniosków na temat procesów oddziałujących na badaną populację. Użyteczność modelu polega na tym, iż pozwala on zidentyfikować kluczowe obserwacje (lub eksperymenty), które należy poczynić, aby lepiej zrozumieć stan obecny populacji oraz zaradzić ewentualnym kłopotom.

Najpowszechniej stosowanym modelem, wiążącym frekwencje genotypów z frekwencjami alleli, jest model opracowany niezależnie przez G.H. Hardy'ego (1908) oraz W. Weinberga (1908). **Model Hardy'ego-Weinberga** opiera się na kilku ważnych założeniach:

- liczebność populacji jest wielka i stała w kolejnych pokoleniach,
- kojarzenie się osobników jest losowe (populacja jest panmiktyczna, albo bardzo dobrze wymieszana),
- organizmy są diploidalne,
- pokolenia nie zazębiają się,
- rozród odbywa się drogą płciową,
- wpływy mutacji, migracji i selekcji są zaniedbywalne albo się równoważą.

W przypadku autosomalnych (tych, które nie są ulokowane na chromosomach płci) loci genowych o dwóch allelach, model Hardy'ego-Weinberga przyjmuje postać:

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

gdzie p to frekwencja częstszego allelu, A , podczas gdy q jest frekwencją rzadziej występującego allelu a , natomiast $p + q = 1$. Allele A oraz a kodominują daną cechę fenotypową, to znaczy że na podstawie fenotypów możemy odróżnić od siebie osobniki o genotypach AA , Aa oraz aa . Frekwen-

cja częstszych homozygot AA wynosi p^2 , frekwencja heterozygot Aa wynosi $2pq$, a frekwencja rzadszych homozygot aa wynosi q^2 , co w między innymi wynika z poniższego rozumowania.

Jeśli w populacji ryb rozważamy jeden gen (locus), w którym segregują dwa allele: A oraz a , wówczas w czasie rozrodu krzyżują się ze sobą haploidalne gamety, jaja i plemniki, które są nosicielami albo allelu A albo allelu a . Wyrzucone do wody gamety łączą się losowo ze sobą w zygoty o trzech możliwych genotypach: AA , Aa oraz aa , co można określić na podstawie poniższej szachownicy genetycznej:

	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

Jeśli allel A występuje w badanej populacji ryb z frekwencją p , podczas gdy allel a występuje z frekwencją q , wówczas frekwencje zygot o poszczególnych genotypach (AA , Aa oraz aa) można obliczyć również posługując się szachownicą genetyczną, w której polach w miejsce nazw alleli (A , a) oraz genotypów (AA , Aa , aa) wstawimy obserwowane w populacji frekwencje alleli (p , q) oraz wyliczone prawdopodobieństwa, iż powstaną zygoty o poszczególnych genotypach (prawdopodobieństwo, że powstaną zygoty o genotypie $AA = p \times p = p^2$; $Aa = p \times q + q \times p = 2pq$; $aa = q \times q = q^2$):

	p	q
p	$pp = p^2$	pq
q	pq	$qq = q^2$

Model Hardy'ego-Weinberga obejmuje także układy wielu alleli w danym locus, geny istniejące na chromosomie X oraz pary genów ulokowanych na tym samym chromosomie.

Model Hardy'ego-Weinberga zakłada stałość frekwencji alleli z pokolenia na pokolenie. Zgodnie z tym założeniem, model może być stosowany do przewidywania frekwencji genotypów na podstawie obecnej frekwencji alleli. Zastosowania modelu Hardy'ego-Weinberga dostarczają podstawy do oceny sił ewolucyjnych, wpływających na wachlarz genotypów w populacji. Jeśli stwierdzamy że obserwowane frekwencje genotypów są inne niż frekwencje przewidywane przez model, można stawiać hipotezy co do przyczyn tych odchyień. Idąc dalej, można zaplanować nowe obserwacje lub eksperymenty, których celem będzie wyjaśnienie procesów, które spowodowały różnice między obserwowanymi i przewidywanymi frekwencjami alleli w populacji. Rozumowanie takie opiera się na przypuszczeniu, iż w rezultacie rozmaitych mechanizmów ekologicznych jedno lub więcej założeń modelu nie jest spełnione w przypadku obserwowanej populacji.

Jednym z założeń modelu Hardy'ego-Weinberga jest losowe kojarzenie się osobników w procesie rozrodu. To założenie często nie jest spełniane wskutek najrozmaitszych zachowań rozrodczych. Wybiórcze krzyżowanie się osobników to wybór partnera rozrodczego na podstawie jego fenotypu. Dodatkowo krzyżowanie wybiórcze występuje wtedy, gdy osobniki krzyżują się z podobnymi do siebie częściej niż gdyby było to wyłącznie dziełem przypadku. Inbreeding to krzyżowanie się ze sobą osobników spokrewnionych, co stanowi szczególny przypadek pozytywnego krzyżowania się wybiórczego. Negatywne wybiórcze kojarzenie się występuje wówczas, gdy częściej niż wynikałoby to z przypadku osobniki krzyżują się z partnerami niepodobnymi do siebie fenotypowo (jak w przypadku „korzyści rzadkich samców” [rare-male advantage] *Drosophila*). Genetyczny podział populacji gatunku jest również odmianą krzyżowania wybiórczego, w którym na pulę genową gatunku składają się pule genowe grupy subpopulacji (stad), których osobniki krzyżują się panmiktycznie w ramach subpopulacji (stad).

W niektórych przypadkach wpływ doboru naturalnego na frekwencje genotypów nie jest zaniedbywalny. Dobrze znanym przykładem u człowieka jest korzystne dostosowanie heterozygot w locus B-hemoglobiny, kiedy to genotyp +s (odporny na malarię, nie anemiczny) jest lepiej dostosowany niż ++ (podatny na malarię) i genotyp ss (cierpi na anemię związaną z sierpowatością erytrocytów).

Złamanie założeń prawa Hardy'ego-Weinberga może wynikać z rozmaitych innych mechanizmów ekologicznych. W rzeczywistości, model Hardy'ego-Weinberga jest dość odporny na niewielkie odstępstwa od jego założeń, co czyni go użytecznym w zastosowaniach praktycznych. Trzeba

jednak zaznaczyć, iż jeśli obserwowane frekwencje genotypowe spełniają oczekiwania Hardy'ego-Weinberga, to nie musi to koniecznie oznaczać, że wszystkie założenia modelu są spełnione. Liczbowy przykład zastosowania prawa Hardy'ego-Weinberga w kontekście ichtiologicznym przedstawiono w rozdziale Zastosowanie modelu Hardy'ego-Weinberga w analizie połowów ryb, pochodzących ze zmieszanych ze sobą stad (*ang.* mixed-stock fishery). str.25.

FREKWENCJA ALLELI W LOCUS

Mówiąc o programach hodowlanych mamy na myśli zarówno zabiegi, których celem jest zmiana frekwencji alleli jak też zachowanie niezminionej puli genetycznej. W obu przypadkach potrzebna jest dobra charakterystyka genetyczna stada oraz zrozumienie zasad genetyki populacyjnej. Należy też pamiętać, że dobór naturalny nie przestaje działać w ośrodku hodowlanym. Człowiek wpływa na pulę genetyczną ryb zarówno w sposób świadomy jak i nieświadomy. To co dzieje się z pulą genetyczną ryb (zarówno tych hodowlanych jak i tych ze środowiska naturalnego) jest wypadkową doboru naturalnego i działalności człowieka.

Zrozumienie genetycznych podstaw danego fenotypu umożliwia zastosowanie takiego programu hodowlanego, który umożliwi pożądane zmiany frekwencji fenotypów, genotypów oraz genów (ściśle: alleli). Różne fenotypy mają często różną wartość handlową, warto więc zmieniać frekwencje alleli tak, by zwiększać frekwencję alleli kodujących pożądany fenotyp, zmniejszając jednocześnie frekwencję alleli kodujących niepożądany fenotyp. Gdy frekwencja (f) allelu pożądanego osiągnie 100 % (allel zostanie utrwalony) a niepożądany allel zostanie usunięty z populacji ($f = 0\%$), wówczas populacja będzie wiernie przekazywała pożądaną cechę fenotypową, a stado rozrodcze będzie bardziej wartościowe. W programie selekcyjnym zazwyczaj pragniemy poznać frekwencje alleli w populacji „w czasie zero”, czyli w pokoleniu rodzicielskim (P), a następnie w kolejnych pokoleniach potomnych (F_1 , F_2 , ... F_n).

DOMINACJA NIEKOMPLETNA ALBO ADDYTYWNE DZIAŁANIE GENÓW AUTOSOMALNYCH

W tym najprostszym, modelowym przykładzie, gdy gen ma dwa allele kodujące trzy fenotypy, a każdy genotyp koduje odrębny fenotyp (domi-

nacja niekompletna albo addytywne działanie genów), łatwo określić frekwencje alleli genu w populacji. Frekwencja allelu to:

$$f(\text{allelu}) = \frac{2 \left[\begin{array}{c} \text{liczba ryb o genotypie} \\ \text{homozygotycznym} \\ \text{kodowanym przez allel} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{c} \text{liczba ryb} \\ \text{o genotypie} \\ \text{heterozygotycznym} \end{array} \right]}{2 (\text{liczba ryb w populacji})}$$

Liczba ryb o fenotypie homozygotycznym jest mnożona przez dwa gdyż każda ryba ma dwie kopie allelu danego rodzaju; heterozygoty mają tylko po jednym allelu tego rodzaju. Liczba ryb w populacji jest mnożona przez dwa gdyż każda ryba jest organizmem diploidalnym i ma dwa allele w każdym locus.

Na przykład jeśli hodowca pstrągów znajduje ryby złociste oraz „palomino” i chce wiedzieć, jakie są frekwencje alleli G i G' w hodowanej populacji, powinien policzyć ile jest ryb o każdym fenotypie, zsumować allele i obliczyć ich frekwencje (w procentach). Rozważmy przykład, w którym liczby ryb o poszczególnych fenotypach (i przyporządkowanych im genotypach) były następujące:

Fenotyp	Genotyp	Liczba
normalne ubarwienie	GG	360
złociste	$G'G'$	160
palomino	GG'	480
	ogółem	1 000

Każdy normalnie ubarwiony pstrąg ma dwa allele G , każdy pstrąg palomino ma jeden allel G , pstrągi złociste nie mają alleli G . Ogólna liczba alleli w locus G jest równa podwojonej liczbie wszystkich ryb w populacji (normalnie ubarwionych + złocistych + palomino).

Czyli:

$$\begin{aligned}
 f(G) &= \frac{\text{liczba alleli } G}{\text{całkowita liczba alleli w locus } G} = \\
 &= \frac{2(360 \text{ normalnie ubarwionych}) + 480 \text{ palomino}}{2(1000 \text{ pstrągów tęczowych ogółem})} = \\
 &= \frac{1200 \text{ alleli } G}{200 \text{ wszystkich alleli}} = 0,6
 \end{aligned}$$

Podobnie można obliczyć frekwencję alleli G' , która w tym przykładzie wynosi 0,4. Należy zauważyć iż $f(G) + f(G') = 0,6 + 0,4 = 1,0$.

DOMINACJA KOMPLETNA (CAŁKOWITA).

Gdy między allelami występuje dominacja całkowita, frekwencję alleli trzeba obliczać metodą pierwiastka kwadratowego, gdyż w takim przypadku trzy genotypy kodują dwa fenotypy. Ponieważ fenotyp heterozygotyczny jest niemożliwy do odróżnienia od dominującego fenotypu homozygotycznego, nie można obliczyć frekwencji alleli poprzez ich zwykłe policzenie (nie wiadomo, które ryby w populacji o dominującym fenotypie mają dwa, a które mają jeden allel dominujący). Tylko genotyp recesywny jest tym, który można rozpoznać na podstawie kodowanego przez niego fenotypu. Ponieważ frekwencja recesywnego fenotypu to kwadrat frekwencji allelu recesywnego (prawo Hardy'ego-Weinberga), pierwiastek kwadratowy z frekwencji fenotypu recesywnego to frekwencja recesywnego allelu w populacji. Frekwencję allelu dominującego oblicza się odejmując od jedności frekwencję allelu recesywnego (jeszcze raz, patrz: prawo Hardy'ego-Weinberga str.9).

Na przykład hodowca karpia zauważył pewną liczbę karpia błękitnych. Teraz chce znać frekwencje alleli kodujących błękitne i normalne ubarwienie ciała hodowanych przez niego karpia. Ubarwienie błękitne jest kodowane przez recesywny allel b , a ubarwienie normalne przez dominujący allel B . W populacji zaobserwowano:

Fenotyp	Genotyp	Liczba	Zgodnie z prawem Hardy'ego-Weinberga
karpie błękitne	bb	90	$f(b)^2$
normalnie ubarwione	BB oraz Bb	910	$f(B)^2 + 2[f(B)][f(b)]$
	ogółem	1 000	$f(b)^2 + 2[f(B)][f(b)] + f(B)^2$

$$f(b) = \sqrt{f(bb)} = \sqrt{f(\text{błękitnych karp})} = \sqrt{\frac{90 \text{ błękitnych karp}}{1000 \text{ karp ogółem}}} =$$

$$= \sqrt{0,09} = 0,3$$

By obliczyć $f(B)$ trzeba odjąć $f(b)$ od 1,0, czyli:

$$f(B) = 1,0 - 0,3 = 0,7$$

Przywołując prawo Hardy'ego-Weinberga obliczamy więc frekwencje genotypów z frekwencji alleli także w przypadku tych genów, w których jeden allel całkowicie dominuje nad drugim:

$$f(\text{genotypu homozygotycznego wobec allelu pierwszego}) = f(\text{allelu pierwszego})^2$$

$$f(\text{genotypu heterozygotycznego}) = 2[f(\text{allelu pierwszego})][f(\text{allelu drugiego})]$$

$$f(\text{genotypu homozygotycznego wobec allelu drugiego}) = f(\text{allelu drugiego})^2$$

W naszym przykładzie:

$$f(BB) = f(B)^2 = (0,7)^2 = 0,49$$

$$f(Bb) = 2[f(B)][f(b)] = 2(0,7)(0,3) = 0,42$$

$$f(bb) = f(b)^2 = (0,3)^2 = 0,09$$

Zauważmy, że $f(BB) + f(Bb) + f(bb) = 0,49 + 0,42 + 0,09 = 1,0$. Suma frekwencji genotypów musi wynosić jedność; jeśli jest inaczej, w obliczeniu jest błąd. Ponieważ populacja składa się z 1000 karp, uzyskane frekwencje oznaczają, iż w populacji jest 490 *BB* ryb normalnie ubarwionych, 420 *Bb* ryb normalnie ubarwionych oraz 90 *bb* karp błękitnych.

DWA (LUB WIĘCEJ) GENY KODUJĄCE ROZMAITE FENOTYPY.

Obliczanie frekwencji alleli dwóch lub większej liczby loci, w sytuacji gdy każdy locus koduje oddzielny fenotyp, to proste rozwinięcie metod stosowanych w przypadku pojedynczego locus. Ponieważ każdy locus koduje odrębny fenotyp, każdy fenotyp i kodujące go allele mogą zostać od siebie oddzielone, a frekwencje alleli można obliczyć niezależnie dla każdego fenotypu. Na przykład, farmer ryb tropikalnych ma w stawie następujące gupiki:

Fenotyp	Genotyp	Liczba ryb
szare, normalny kręgosłup	<i>GG, CuCu; Gg, CuCu; Gg, Cucu; GG, Cucu</i>	8316
szare, zdeformowany kręgosłup	<i>GG, cucu; Gg, cucu</i>	84
złociste, normalny kręgosłup	<i>gg, CuCu; gg, Cucu</i>	1584
złociste, zdeformowany kręgosłup	<i>gg, cucu</i>	16
	Ogółem	10 000

i chce znać frekwencje alleli *G*, *g*, *Cu* oraz *cuc*. By je obliczyć, należy obliczać frekwencje alleli w locus *G* oraz *Cu* tak, jak gdyby każdy z nich istniał niezależnie od drugiego.

Krok 1. Obliczamy frekwencje alleli w locus *G*. Przegrupujemy fenotypy tak, jakby fenotypy „złocisty” oraz „szary” były jedynymi, które istnieją:

$$\begin{array}{rclcl}
 \text{szary (GG + Gg)} & = & 8\,316 + 84 & = & 8\,400 \\
 \text{złocisty (gg)} & = & 1\,584 + 16 & = & 1\,600 \\
 \text{ogółem} & & & = & 10\,000
 \end{array}$$

i obliczmy $f(g)$:

$$\begin{aligned}
 f(g) &= \sqrt{f(gg)} = \sqrt{f(\text{złocistych gupików})} = \sqrt{\frac{1\,600 \text{ złocistych gupików}}{10\,000 \text{ gupików ogółem}}} \\
 &= \sqrt{0,16} = 0,4
 \end{aligned}$$

oraz obliczmy $f(G)$ odejmując $f(g)$ od jedności: $f(G) = 1,0 - f(g) = 1,0 - 0,4 = 0,6$

Krok 2. Obliczmy frekwencje alleli w locus *Cu*. Przegrupujmy fenotypy tak, jakby fenotypy kręgosłupa zdeformowanego oraz kręgosłupa normalnie wykształconego były jedynymi, jakie istnieją:

$$\begin{array}{rclcl}
 \text{normalny kręgosłup (CuCu + Cucu)} & = & 8\,316 + 1\,584 & = & 9\,900 \\
 \text{zdeformowany kręgosłup (cucu)} & = & 84 + 16 & = & 100 \\
 \text{ogółem} & & & = & 10\,000
 \end{array}$$

Obliczamy $f(cu)$:

$$\begin{aligned}
 f(cu) &= \sqrt{f(cucu)} = \sqrt{f(\text{gupiki o zdeformowanym kręgosłupie})} = \\
 &= \sqrt{\frac{100 \text{ gupików o zdeformowanym kręgosłupie}}{10\,000 \text{ gupików ogółem}}} = \sqrt{0,01} = 0,1
 \end{aligned}$$

Obliczając $f(Cu)$ odejmujemy $f(cu)$ od jedności: $f(Cu) = 1,0 - f(cu) = 1,0 - 0,1 = 0,9$

GENY KODUJĄCE FENOTYPY POPRZEZ EPISTAZĘ.

Jeśli hodowca karpia chce znać frekwencje alleli kodujących uluszczenie populacji swoich karpia, w której:

Fenotyp	Genotyp	Liczba ryb
pełnołuskie	SS,nn ; Ss,nn	1 370
lustrzenie	ss,nn	250
lampasowe	SS,Nn ; Ss,Nn	310
beżłuskie	ss,Nn	70
	Ogółem	2 000

musi przegrupować fenotypy tak, by mógł rozpoznać genotypy na podstawie fenotypów.

Krok 1. Obliczamy frekwencje alleli w locus *S*. Należy przegrupować fenotypy tak, by otrzymać nowe kategorie genotypów:

$$\begin{array}{lclcl}
 ss & = & \text{lustrzenie + beżłuskie} & = & 250 + 70 = & 320 \\
 SS + Ss & = & \text{pełnołuskie + lampasowe} & = & 1\,370 + 310 = & 1\,680 \\
 \text{ogółem} & & & & & = & 2\,000
 \end{array}$$

W locus *S* występuje dominacja kompletna, zatem obliczamy $f(s)$ z wykorzystaniem prawa Hardy'ego - Weinberga:

$$f(s) = \sqrt{f(ss)} = \sqrt{\frac{\text{lustrzenie + beżłuskie}}{\text{cała populacja}}} = \sqrt{\frac{320}{2000}} = \sqrt{0,16} = 0,4$$

By obliczyć $f(S)$ należy od jedności odjąć $f(s)$: $f(S) = 1,0 - f(s) = 1,0 - 0,4 = 0,6$

(Analogicznie, jak to było w przypadku karpia błękitnych patrz strona 15)

Krok 2. Obliczamy frekwencje alleli w locus N . By to wykonać, przegrupujemy cztery fenotypy tak, by otrzymać nowe kategorie genotypowe: nn oraz Nn .

$$\begin{array}{rclcl}
 nn & = & \text{pełnołuskie + lustrzenie} & = & 1\,370 + 250 & = & 1\,620 \\
 Nn & = & \text{lampasowe + bezłuskie} & = & 310 + 70 & = & 380 \\
 \text{ogółem} & & & & & = & 2\,000
 \end{array}$$

W locus N występuje dominacja niekompletna związana z obecnością genu letalnego w homozygotie NN obliczamy $f(N)$ ze wzoru:

$$\begin{aligned}
 f(N) &= \frac{2 \left[\begin{array}{l} \text{liczba ryb o fenotypie} \\ \text{homozygotycznym NN} \\ \text{kodowanym przez allel N} \\ \text{których nie obserwujemy} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{l} \text{liczba ryb} \\ \text{o genotypie} \\ \text{heterozygotycznym} \\ \text{Nn} \end{array} \right]}{2 \text{ (liczba ryb w populacji)}} \\
 &= \frac{0 \text{ [genotyp letalny NN]} + 380}{2000} = 0,19
 \end{aligned}$$

By obliczyć $f(n)$ należy odjąć wartość $f(N)$ od jedności:

$$f(n) = 1 - f(N) = 1 - 0,19 = 0,81$$

Komentarz. Niestety, czasem gdy fenotyp jest kontrolowany przez dwa (lub więcej) geny nie można obliczyć frekwencji genów (alleli). Gdy jakościowe cechy fenotypowe są kodowane przez dwa lub więcej geny, kategorie genotypowe mogą się „zazębiać” [na przykład gdy geny kodują fenotyp poprzez zduplikowaną interakcję dominującą i każdy genotyp o co najmniej jednym allelu dominującym (w którymkolwiek locus) koduje taki sam fenotyp]. Nie można wówczas przegrupować fenotypów i genotypów tak, by udało się obliczyć frekwencje alleli.

GENY SPRZĘŻONE Z PŁCIĄ

Czasem trzeba obliczyć frekwencje alleli sprzężonych z płcią by ułożyć program hodowlany, dzięki któremu w pożądanym kierunku będą się zmieniać frekwencje fenotypów sprzężonych z płcią.

GENY CHROMOSOMU Y (GENY SPRZĘŻONE Z CHROMOSOMEM Y)

W przypadku gatunków, u których stwierdzono występowanie systemu chromosomowej determinacji płci typu XY, chromosom Y mają tylko naturalne samce. Tak więc frekwencja genu sprzężonego z chromosomem Y to procent samców o danym fenotypie. Gdy gen kodujący dany fenotyp jest ulokowany na chromosomie Y, to w populacji mogą wystąpić dwa genotypy i dwa fenotypy:

Genotyp	Fenotyp
XY	samce „dzikie” (= o powszechnie występującym fenotypie)
XY _{allel}	samce o fenotypie sprzężonym z Y

a więc:

$$f(Y_{\text{allel sprzężony}}) = \frac{\text{liczba } \text{♂} \text{ o fenotypie sprzężonym z Y}}{\text{całkowita liczba } \text{♂}}$$

Na przykład, farmer osuszył staw i złowił hodowane w nim gupiki, wśród których występowały następujące osobniki:

Fenotyp	Genotyp	Liczba ryb
szare samice	XX	1650
samce „maculatus” *	XY _{Ma}	340
szare samce	XY	510
		ogółem 850 samców

* maculatus to fenotyp ubarwienia samca o czarnej plamie na płetwie grzbietowej i czerwonej plamie na ciele

Frekwencja genu Y_{Ma} w tej populacji to:

$$f(Y_{Ma}) = \frac{\text{♂ maculatus}}{\text{♂ ogółem}} = \frac{340}{850} = 0,4$$

GENY CHROMOSOMU X (GENY SPRZĘŻONE Z CHROMOSOMEM X)

Aby obliczyć frekwencję alleli genów ulokowanych na chromosomie X trzeba wykonać trzy „kroki”: (1) obliczyć frekwencję alleli u samców; (2) obliczyć frekwencję alleli u samic; (3) obliczyć ogólną frekwencję alleli na podstawie proporcji ich liczby u ryb obu płci.

Frekwencję alleli związanych z chromosomem X u samców określa procent samców, u których występuje dany fenotyp (tak jak w przypadku genów umiejscowionych na chromosomie Y). W przypadku systemu chromosomowej determinacji płci typu XY, u naturalnych samców (XY) występuje tylko jeden chromosom X, są tu więc dwa genotypy i dwa fenotypy:

Genotyp	Fenotyp
$X_{\text{allel dominujący}}Y$	samiec o dominującym fenotypie sprzężonym X
$X_{\text{allel recesywny}}Y$	samiec o recesywnym fenotypie sprzężonym z X

a więc:

$$f(X_{\text{recesywny allel sprzężony--♂}}) = \frac{\text{liczba ♂ o recesywnym fenotypie sprzężonym z X}}{\text{całkowita liczba ♂}}$$

$$f(X_{\text{dominujący allel sprzężony--♂}}) = \frac{\text{liczba ♂ o dominującym fenotypie sprzężonym z X}}{\text{całkowita liczba ♂}}$$

Frekwencje alleli sprzężonych z chromosomem X u samic określa się tak, jak w każdym przypadku genu autosomalnego o kompletnej dominacji jednego z alleli. Obecność genów sprzężonych z X u samic powoduje występowanie wśród nich trzech genotypów i tylko dwóch fenotypów:

Genotyp	Fenotyp
$X_{\text{allel dominujący}}X_{\text{allel dominujący}}$	samica o dominującym fenotypie sprzężonym z X
$X_{\text{allel dominujący}}X_{\text{allel recesywny}}$	samica o dominującym fenotypie sprzężonym z X
$X_{\text{allel recesywny}}X_{\text{allel recesywny}}$	samica o recesywnym fenotypie sprzężonym z X

a więc:

$$f(X_{\text{sprzężony allel recesywny--♀}}) = \frac{\text{liczba ♀ o recesywnym fenotypie sprzężonym z X}}{\text{ogólna liczba ♀}}$$

Frekwencję dominującego allelu sprzężonego z X u samic określamy, odejmując od jedności frekwencję allelu recesywnego sprzężonego z chromosomem X:

$$f(X_{\text{sprzężony allel dominujący--♀}}) = 1,0 - f(X_{\text{sprzężony allel recesywny--♀}})$$

Całkowitą frekwencję któregośkolwiek allelu sprzężonego z X określa się na podstawie frekwencji allelu u obu płci oraz proporcji liczby alleli u obu płci:

$$f(X_{\text{sprzężony-ogółem}}) = \frac{2(\text{liczba ♀})[f(\text{allelu ♀})] + (\text{liczba ♂})[f(\text{allelu ♂})]}{2(\text{liczba ♀}) + (\text{liczba ♂})}$$

(liczba samic jest mnożona przez dwa gdyż każda samica ma dwa chromosomy X).

Na przykład hodowca gupików znalazł w stawie ryby szare i „nigrocaudatus” (ryby o czarnym ciele). Hodowca chce znać frekwencje alleli kodujących te fenotypy. Fenotyp nigrocaudatus jest determinowany przez dominujący allel X_{NIII} , a szare ubarwienie jest kodowane przez recesywny allel X. Opis badanej populacji to:

Fenotyp	Genotyp	Liczba ryb	
samce nigrocaudatus	$X_{NIII}Y$	200	} 500 samców
samce szare	XY	300	
samice nigrocaudatus	$X_{NIII}X$ oraz $X_{NIII}X_{NIII}$	546	} 600 samic
samice szare	XX	54	

Poszukujemy więc odpowiedzi na pytanie: jakie są frekwencje alleli X_{NIII} oraz X w badanej populacji?

Krok 1. Frekwencje alleli u samców:

$$f(X_{NIII-\sigma}) = \frac{\sigma \text{ nigrocaudatus}}{\sigma \text{ ogółem}} = \frac{200}{500} = 0,4$$

oraz:

$$f(X_{-\sigma}) = \frac{\sigma \text{ szare}}{\sigma \text{ ogółem}} = \frac{300}{500} = 0,6$$

Ponieważ suma frekwencji alleli musi być równa jedności, frekwencję allelu $X_{-\sigma}$ można też obliczyć poprzez odjęcie $f(X_{NIII-\sigma})$ od jedności:

$$f(X_{-\sigma}) = 1,0 - f(X_{NIII}) = 1,0 - 0,4 = 0,6$$

Krok 2. Obliczamy frekwencję alleli u samic:

$$f(X_{\text{--}\text{♀}}) = \sqrt{\frac{\text{♀ szare}}{\text{♀ ogółem}}} = \sqrt{\frac{54}{600}} = \sqrt{0,09} = 0,3$$

natomiast $f(X_{\text{Nil--}\text{♀}}) = 1,0 - f(X_{\text{--}\text{♀}}) = 1,0 - 0,3 = 0,7$

Krok 3. Obliczamy całkowite frekwencje $f(X_{\text{Nil}})$ oraz $f(X)$ w populacji:

$$f(X_{\text{Nil--całkowita}}) = \frac{2(600 \text{ ♀})(0,7) + (500 \text{ ♂})(0,4)}{2(600 \text{ ♀}) + 500 \text{ ♂}} = \frac{1040}{1700} = 0,6118$$

natomiast:

$$f(X_{\text{--całkowita}}) = \frac{2(600 \text{ ♀})(0,3) + (500 \text{ ♂})(0,6)}{2(600 \text{ ♀}) + 500 \text{ ♂}} = \frac{660}{1700} = 0,3882$$

Ponieważ suma frekwencji alleli musi równać się jedności, $f(X_{\text{--całkowita}})$ można też obliczyć:

$$f(X_{\text{--całkowita}}) = 1,0 - f(X_{\text{Nil--całkowita}}) = 1,0 - 0,6118 = 0,3882.$$

Tak więc frekwencje alleli X_{Nil} oraz X w populacji to:

	Samce	Samice	Całkowita
$f(X_{\text{Nil}})$	0,4	0,7	0,6118
$f(X)$	0,6	0,3	0,3882
	-----	-----	-----
Całkowita	1,0	1,0	1,0000

FENOTYPY WYSTĘPUJĄCE TYLKO U JEDNEJ PŁCI.

Istnieją geny sprzężone z chromosomem X, które ujawniają się tylko u ryb jednej płci. Nie można obliczyć frekwencji występowania alleli takiego genu wśród samic, dopóki nie określi się fenotypu „nie ujawniającego istnienie allelu”. Konieczne tu jest na przykład podanie rybom metylotestosteronu (dodanie hormonu do wody lub paszy). Jeśli tego się dokona, obliczenia wykonuje się tak jak w powyższych przykładach.

ZASTOSOWANIE MODELU HARDY'EGO-WEINBERGA W ANALIZIE POŁOWÓW RYB, POCHODZĄCYCH ZE ZMIESZANYCH ZE SOBĄ STAD (ANG. MIXED-STOCK FISHERY).

Model Hardy'ego-Winberga (H-W) (patrz: str. 9) znajduje wiele zastosowań w naukach rybackich. Jednym z najważniejszych jest problem połowów ryb, pochodzących z zasobów będących mieszaniną stad (ang. *mixed-stock fisheries*) oraz szacowanie proporcji poszczególnych stad w połowach na podstawie badań molekularnych. Jeśli frekwencje genotypów próby złowionych ryb nie spełniają warunków H-W, wówczas jedną z możliwości jest to, iż mamy do czynienia z mieszaniną ryb pochodzących z różnych subpopulacji. Warunkiem prowadzenia tego typu badań jest właściwe dobranie markerów genetycznych (to znaczy loci genowych, wykazujących dominację niekompletną). Loci genowe wykazujące dominację kompletną nie nadają się do badań populacyjnych, ponieważ nie można w bezpośredni i prosty sposób obliczyć frekwencji alleli w takim locus. Nie można też skorzystać z prawa Hardy'ego-Weinberga (jak we wcześniejszych przykładach), gdyż musielibyśmy założyć, że badana populacja znajduje się w równowadze Hardy'ego-Weinberga, a właśnie to chcemy sprawdzić. Z tego względu tylko loci genowe wykazujące niekompletną dominację mogą być genetycznymi markerami w tego typu badaniach, jakie przykładowo zaprezentowano poniżej:

Określono frekwencje genotypów w locus hemoglobiny dla próby dorszy atlantyckich, łowionych przez norweską flotę rybacką. Wśród 2591 dorszy w próbie, 130 ryb było genotypu AA, 763 Aa, a 1698 aa. Jednym z celów badania było stwierdzenie, czy łwione dorsze należały do jednego czy do kilku stad. Tak więc, testowana hipoteza H_0 zakładała iż populacja jest w równowadze H-W, wobec hipotezy H_a , zakładającej iż populacja nie

pozostaje w stanie równowagi H-W. Analizę danych przeprowadzono następująco.

Krok 1. Obliczanie frekwencji alleli

$$130 + 763 + 1698 = 2591 \text{ ryb}$$

$$2591 \text{ ryb} \times 2 \text{ allele na osobnika} = 5182 \text{ allele}$$

Aby obliczyć p , frekwencję allelu A , trzeba wziąć pod uwagę że w próbie było 130 homozygotycznych ryb \times 2 allele każdej ryby + 763 heterozygotycznych ryb \times 1 allel każdej ryby = 260 + 763 = 1023 allele A . Dzieląc tę liczbę przez liczbę wszystkich alleli otrzymujemy p :

$$p = 1023 / 5182 = 0,197$$

Obliczanie q , czyli frekwencji allelu a , przeprowadza się w taki sam sposób. Obserwowano 763 heterozygotyczne ryby \times 1 allel każdej ryby + 1698 ryb homozygotycznych \times 2 allele każdej ryby = 763 + 3396 = 4159 alleli.

$$q = 4159 / 5182 = 0,803$$

Krok 2. Obliczanie frekwencji oczekiwanych na podstawie modelu H-W.

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

$$= 0,197^2 + 2(0,197)(0,803) + 0,803^2$$

$$= 0,039 + 0,316 + 0,645 = 1,000$$

Zauważmy, że ostatnie wyrażenie podaje spodziewane (oczekiwane, przewidywane) frekwencje rozmaitych genotypów: oczekiwana frekwencja AA wynosi 0,039, frekwencja Aa wynosi 0,316, natomiast aa 0,645.

Krok 3. Obliczanie oczekiwanych liczb osobników o poszczególnych genotypach

Spodziewane liczby osobników o poszczególnych genotypach oblicza się przez pomnożenie oczekiwanych frekwencji każdego genotypu przez całkowitą liczbę osobników w próbie.

$$\text{Oczekiwana liczba } AA = 0,039 \times 2591 = 101,05 \text{ ryb}$$

$$\text{oczekiwana liczba } Aa = 0,316 \times 2591 = 818,76 \text{ ryb}$$

$$\text{oczekiwana liczba } aa = 0,645 \times 2591 = 1671,20 \text{ ryb}$$

Krok 4. Stosowanie testu χ^2 (chi²) do określenia, czy obserwacje potwierdzają spodziewania H-W.

Test χ^2 stosuje się do określania, czy obserwowane liczby osobników o danych genotypach są takie same, jakich spodziewalibyśmy się na podstawie H-W (to znaczy, czy „spełniają” oczekiwania H-W).

$$\chi^2 = (\text{liczba obserwowana} - \text{liczba spodziewana})^2 / \text{liczba spodziewana}$$

$$\text{dla } AA, \quad \chi^2 = (130 - 101,05)^2 / 101,05 = 8,29$$

$$\text{dla } Aa, \chi^2 = (763 - 818,76)^2 / 818,76 = 3,80$$

$$\text{dla } aa \chi^2 = (1698 - 1671,20)^2 / 1671,20 = 0,43$$

$$\Sigma = 12,52$$

Liczba stopni swobody, związana z tą wielkością χ^2 , równa się liczbie klas danych (w tym przykładzie trzy klasy, czyli liczby AA, Aa oraz aa) minus jeden, minus liczba parametrów oszacowanych na podstawie danych (w tym przykładzie jeden parametr, p , oszacowano na podstawie danych), czyli $3 - 1 - 1 = 1$. Zauważmy, że stopień swobody nie jest pomniejszany z powodu oszacowania na podstawie danych wielkości parametru q , gdyż kiedy już oszacowaliśmy p , wówczas q można otrzymać z zależności $q = 1 - p$. Przy jednym stopniu swobody otrzymana wyżej wartość χ^2 jest wysoce istotna ($P < 0,01$).

W konkluzji powyższego rozumowania stwierdzamy, że obserwowane w badanej próbie ryb frekwencje genotypów różnią się od spodzie-

wanych na podstawie H-W. Wniosek jest taki, iż co najmniej jedno z założeń modelu H-W zostało złamane. Pytanie, które to założenie? Tymczasowe wyjaśnienie można uzyskać dzięki następującemu, niezależnemu wnioskowaniu.

Morfologiczne badania otolitów wykazały istnienie dwóch ras dorsza atlantyckiego: przybrzeżnej i arktycznej. Liczby genotypów stada przybrzeżnego wynosiły: 23AA, 250Aa i 946aa, podczas gdy w stadzie arktycznym stwierdzono: 107AA, 513Aa i 752aa. Jakie znaczenie mają te dane dla wyjaśnienia składu całkowitych połowów dorsza?

Zacznijmy analizę od stwierdzenia, czy skład genotypowy stada przybrzeżnego spełnia oczekiwania H-W.

Krok 1. Obliczanie frekwencji alleli

$$23 + 250 + 946 = 1219 \text{ ryb albo } 2438 \text{ alleli}$$

$$p = [(23 \times 2) + (250 \times 1)] / 2438 = 0,121$$

$$q = [(250 \times 1) + (946 \times 2)] / 2438 = 0,879$$

Krok 2. Obliczanie spodziewanych frekwencji genotypów

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

$$= 0,121^2 + 2(0,121)(0,879) + 0,879^2$$

$$= 0,014 + 0,213 + 0,772$$

co przedstawia odpowiednio frekwencje AA, Aa i aa.

Krok 3. Obliczanie spodziewanych liczb osobników o poszczególnych genotypach

Oczekiwanie liczba AA = $0,014 \times 1219 = 17,07$ ryb

oczekiwana liczba Aa = $0,213 \times 1219 = 259,64$ ryb

oczekiwana liczba aa = $0,772 \times 1219 = 941,07$ ryb

Krok 4. Zastosowanie testu χ^2 do określenia zgodności wyników obserwacji ze spodziewaniami H-W

$$\text{Dla AA } \chi^2 = (23 - 17,07)^2 / 17,07 = 2,06$$

$$\text{dla Aa } \chi^2 = (250 - 259,64)^2 / 259,64 = 0,36$$

$$\text{dla aa } \chi^2 = (946 - 941,07)^2 / 941,07 = 0,03$$

$$\Sigma = 2,45$$

Wartość $\chi^2 = 2,45$ nie jest statystycznie istotna. Tak więc frekwencje genotypów ryb stada przybrzeżnego spełniają oczekiwania H-W.

Następnie należy określić, czy frekwencje genotypów w stadzie arktycznym spełniają oczekiwania H-W.

Krok 1. Obliczamy frekwencje alleli

$$107 + 513 + 752 = 1372 \text{ ryby} \times 2 = 2744 \text{ allele}$$

$$p = [(107 \times 2) + (513 \times 1)] / 2744 = 0,265$$

$$q = [(513 \times 1) + (752 \times 2)] / 2744 = 0,735$$

Krok 2. Obliczanie spodziewanych frekwencji genotypów

$$\begin{aligned}
 (p + q)^2 &= p^2 + 2pq + q^2 = 1 \\
 &= 0,265^2 + 2(0,265)(0,735) + 0,735^2 \\
 &= 0,070 + 0,390 + 0,540
 \end{aligned}$$

Krok 3. Obliczanie spodziewanych liczb osobników o poszczególnych genotypach

$$\text{Oczekiwana liczba AA} = 0,070 \times 1372 = 96,04 \text{ ryb}$$

$$\text{oczekiwana liczba Aa} = 0,390 \times 1372 = 535,08 \text{ ryb}$$

$$\text{oczekiwana liczba aa} = 0,540 \times 1372 = 740,88 \text{ ryb}$$

Krok 4. Zastosowanie testu χ^2 do określenia zgodności wyników obserwacji ze spodziewaniami H-W

$$\text{Dla AA } \chi^2 = (107 - 96,04)^2 / 96,04 = 1,25$$

$$\text{dla Aa } \chi^2 = (513 - 535,08)^2 / 535,08 = 0,91$$

$$\text{dla aa } \chi^2 = (752 - 740,88)^2 / 740,88 = 0,17$$

$$\Sigma = 2,33$$

Wartość $\chi^2 = 2,33$ nie jest statystycznie istotna. Tak więc frekwencje genotypów ryb stada arktycznego spełniają oczekiwania H-W.

O czym świadczą wyniki wspólnie wykonanej przez nas analizy? Odchylenie od równowagi H-W sugeruje, że w połowach dorsza atlantyckiego łowi się mieszaninę ryb dwóch stad: przybrzeżnego i arktycznego. Frekwencje genotypów ryb wewnątrz każdego stada pozostają w zgodności z oczekiwaniami H-W, sugerując że każde stado jest (w swoich „ra-

mach”) panmiktyczne. Takie podejście jest podstawą w rozważaniach połowów ryb będących mieszaniną stad (mixed-stock fisheries). Świadomość, iż połowy dotyczą zasobów ryb będących mieszaniną różnych stad ma poważne (często: zasadnicze) znaczenie dla prowadzenia prawidłowego gospodarowania zasobami przyrodniczymi ryb.

SELEKCJA NA CECHY JAKOŚCIOWE

Ryby o różnych fenotypach często mają różną wartość handlową, a populacja jest wtedy tym cenniejsza im wierniej przekazuje potomstwu pożądane cechy (fenotypy). Wyeliminowanie alleli odpowiedzialnych za wytwarzanie niepożądanych cech i utrwalenie poprzez selekcję alleli kodujących cechy pożądane to istotne aspekty pracy hodowlanej.

GENY AUTOSOMALNE

Selekcja jakościowych fenotypów autosomalnych może być łatwa albo trudna, zależnie od sposobu działania danych genów. Jeśli pożądany fenotyp jest determinowany tylko przez homozygotę, łatwo jest uzyskać populację wiernie przekazującą daną cechę poprzez eliminowanie niepożądanych fenotypów. Zadanie staje się trudne jeśli pożądany fenotyp jest determinowany przez więcej niż jeden genotyp. Jeśli pożądany fenotyp występuje tylko u heterozygot, metodą selekcji nie można uzyskać populacji wiernie przekazującej swoją cechę—w takiej sytuacji 100 % heterozygot można uzyskać jedynie poprzez hybrydyzację (krzyżowanie) dwóch różnych homozygot.

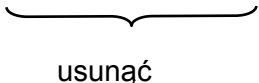

CAŁKOWITA DOMINACJA JEDNEGO ALLELU NAD DRUGIM

Geny autosomalne o całkowitej dominacji jednego allelu nad drugim determinują dwa fenotypy: dominujący i recesywny. Dzięki selekcji łatwo można utrwalić fenotyp recesywny. Nie można utrwalić tą metodą fenotypu dominującego, tak by otrzymać populację wiernie przekazującą pożądaną cechę.

SELEKCJA NA FENOTYP RECESYWNY

Dzięki selekcji, w ciągu jednego pokolenia ryb można utrwalić fenotyp recesywny i wyeliminować niepożądany fenotyp dominujący. Należy po prostu usunąć wszystkie osobniki o fenotypie dominującym. Gdy tego się dokona, jedynymi rybami jakie pozostają w hodowli są te o fenotypie recesywnym, czyli homozygotyczne wobec allelu recesywnego.

Na przykład hodowca sumików kanałowych chce otrzymać populację wiernie przekazującą cechę albinizmu. Może tego dokonać w ciągu jednego pokolenia poprzez usunięcie ze stada ryb normalnie ubarwionych. Jednokrotne usunięcie normalnie ubarwionych ryb usunie z populacji wszystkie allele + („dzikie”), gdyż albinosy są homozygotami recesywnymi (aa). W ten sposób hodowca otrzyma populację wiernie przekazującą cechę albinizmu:


Fenotyp:	normalnie ubarwione	normalnie ubarwione	albinotyczne
Genotyp	++	+a	aa
	 usunąć		 nie ma alleli + ; allel a został utrwalony, a populacja będzie wiernie przekazywała cechę albinizmu

SELEKCJA NA FENOTYP DOMINUJĄCY

Metodą selekcji nie można utrwalić fenotypu dominującego (usuwając fenotyp recesywny), nie można więc też poprzez selekcję wyeliminować z populacji ryb allelu recesywnego. Jest to niekorzystne, gdyż liczne niepożądane fenotypy są determinowane przez recesywne allele autosomalne.

Geny w których jedno allele całkowicie dominują nad innymi determinują dwa rodzaje fenotypów dominujących: homozygotyczne i heterozygotyczne. Fenotypowo ryby takie są identyczne, więc nie można oddzielić homozygotycznych ryb dominujących od ryb heterozygotycznych. W rezultacie allele recesywne są „ukryte” i nie mogą zostać wyeliminowane w trakcie selekcji.

Na przykład jeśli hodowca sumika kanałowego ma w stadzie rozrodzonym ryby albinotyczne, a chciałby uzyskać populację wiernie przekazującą cechę normalnego ubarwienia, przekona się iż selekcjonując ryby przeciw fenotypowi albinotycznemu nie wyeliminuje całkowicie allelu a:

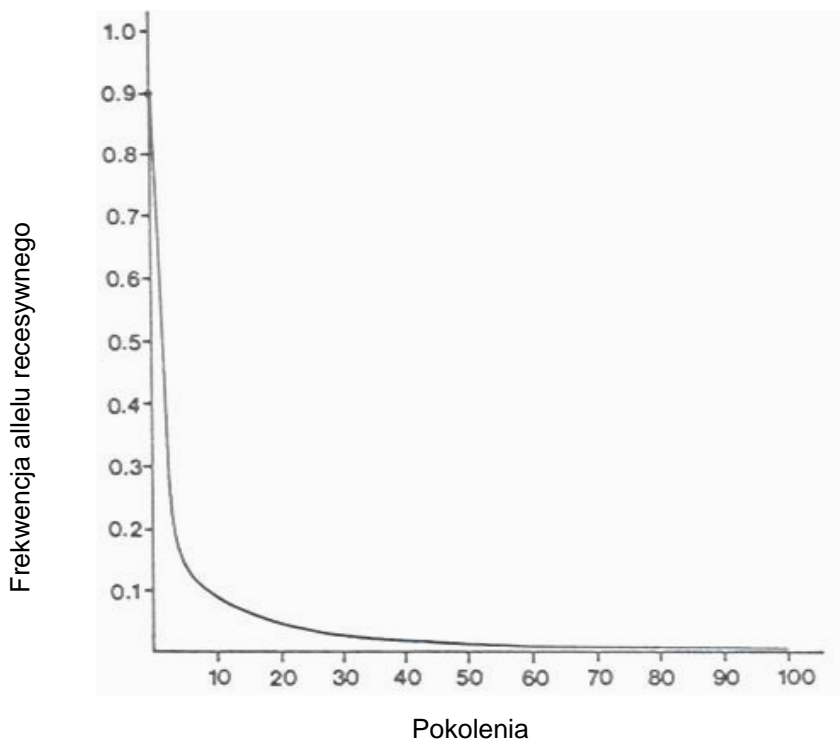
Fenotyp:	normalnie ubarwione	normalnie ubarwione	albinotyczne
Genotyp	++	+a	aa ↓ usunąć
			
	<p>w populacji utrzymuje się zarówno allel + jak i allel a; populacja nie będzie więc wiernie przekazywać cechy normalnego ubarwienia; będą istniały zarówno ryby normalnie ubarwione jak i albinotyczne</p>		

Skuteczność prób wyeliminowania allelu recesywnego poprzez usuwanie z hodowli fenotypów recesywnych określa wzór:

$$q_n = \frac{q_0}{1 + (Nq_0)}$$

gdzie q_0 to początkowa frekwencja allelu recesywnego, q_n to frekwencja recesywnego allelu po n pokoleniach, a N to liczba pokoleń. Wyniki takiego programu ilustruje Rysunek 1.

Jeśli wyjściowa frekwencja allelu recesywnego jest wysoka, to kilka pierwszych pokoleń selekcji gwałtownie obniża frekwencję allelu. Ale gdy frekwencja jest niska tempo zmian staje się bardzo powolne i frekwencja allelu asymptotycznie zbliża się do zera. Jednocześnie ze spadkiem frekwencji alleli recesywnych wzrasta odsetek tych alleli ukrytych w heterozygotycznym fenotypach dominujących:



Rysunek 1. Zmiany frekwencji allelu recesywnego podczas programu selekcyjnego przeciw fenotypom recesywnym. Wyjściowa frekwencja allelu wynosiła 0,9.

Frekwencje alleli		Frekwencje genotypów			Procent <i>a</i> w heterozygotach
<i>f</i> (+)	<i>f</i> (<i>a</i>)	<i>f</i> (++)	<i>f</i> (+ <i>a</i>)	<i>f</i> (<i>aa</i>)	
0,1	0,9	0,01	0,18	0,81	10 %
0,5	0,5	0,25	0,50	0,25	50 %
0,9	0,1	0,81	0,18	0,01	90 %

Tak więc gdy $f(a) = 0,9$ to można usunąć 90 % alleli *a*, ale gdy $f(a) = 0,1$ wówczas można usunąć już tylko 10 % alleli recesywnych.

Ponieważ selekcja nie jest w stanie usunąć recesywnego allelu, powstaje pytanie: ile pokoleń musi trwać selekcja by zredukować frekwencję allelu do akceptowalnego poziomu? Na przykład jak wiele pokoleń selekcji przeciw albinotycznym sumom kanałowym potrzeba do zredukowania frekwencji allelu a do takiego poziomu, by populacja przekazywała cechę normalnego ubarwienia z wiernością 99,99 %? Można to obliczyć następująco:

$$N = \frac{1}{q_n} - \frac{1}{q_0}$$

gdzie N to liczba pokoleń, q_n to planowana frekwencja allelu recesywnego, a q_0 to frekwencja allelu recesywnego w momencie rozpoczęcia selekcji.

Na przykład w populacji sumików kanałowych jest 9 % ryb albinotycznych. Hodowca chce zredukować frekwencję albinosów do poziomu 0,01 % populacji (czyli uzyskać populację sumów kanałowych, które przekazują cechę normalnego ubarwienia z wiernością 99,99 %). Ile pokoleń musi trwać selekcja by osiągnąć ten cel?

Krok 1. q_0 , początkową frekwencję allelu a określa się z równania (zgodnie z prawem Hardy'ego-Weinberga):

$$q_0 = \sqrt{f(\text{albinosów})} = \sqrt{0,09} = 0,3$$

Krok 2. q_n to planowana frekwencja allelu, którą również obliczamy z równania:

$$q_n = \sqrt{f(\text{planowana frekwencja albinosów})} = \sqrt{0,0001} = 0,01$$

Krok 3. Liczbę pokoleń selekcji koniecznej do zredukowania $f(a)$ z 0,3 do 0,01 obliczamy z równania:

$$N = \frac{1}{0,01} - \frac{1}{0,3} = 96,67 \approx 97 \text{ pokoleń.}$$

Czas ten jest dłuższy niż spodziewana długość życia hodowcy, a więc selekcja nie jest dobrą metodą na usuwanie ze stada ryb alleli recesywnych w celu uzyskania populacji wiernie przekazującej cechę kodowaną przez allel dominujący. Mimo tak wyraźnej nieskuteczności metoda ta jest często stosowana w mylnym spodziewaniu, że „zadziała”.

TESTOWANIE TARLAKÓW NA NOSICIELSTWO RECESYWNYCH ALLELI NIEPOŻĄDANYCH

Ponieważ selekcionując przeciw fenotypom recesywnym nie można wyeliminować niepożądanych alleli recesywnych, konieczna tu jest inna metoda, tak zwane testowanie reproduktorów na nosicielstwo niepożądanych alleli recesywnych. Technika ta umożliwia identyfikację i odrzucenie heterozygot (i jednocześnie „ukrytych” alleli recesywnych). Testowanie reproduktorów polega na obserwacji ich potomstwa, a badany tarlak zostaje skrzyżowany z rybą o znanym genotypie. Otrzymujemy wówczas odpowiedź na pytanie: czy testowana ryba to osobnik homozygotyczny dominujący (którego pragniemy zatrzymać w hodowli) czy jest to osobnik heterozygotyczny dominujący (którego należy usunąć z hodowli)?

Reproduktor o fenotypie dominującym (homozygota dominująca czy heterozygota?) krzyżowany jest z rybą o fenotypie recesywnym. Osobniki o fenotypie recesywnym zawsze wiernie przekazują daną cechę fenotypową i wytwarzają wyłącznie gamety recesywne. W tej sytuacji ryba o fenotypie dominującym jest tą, która określa fenotyp ryb potomnych.

Wracając do przykładu albinizmu suma kanałowego, testowanie tarlaków może rozwiązać następujący problem:

normalnie ubarwiony sum kanałowy X albinotyczny sum kanałowy

(+?)

(aa)

chcemy wiedzieć, czy ? (nieznany allel) to + czy a.

Aby odpowiedzieć na to pytanie musimy założyć, że normalnie ubarwiony sum to heterozygota (gdyby był homozygotą niepotrzebne byłoby testowanie). A więc hipoteza zero (robocza) brzmi: normalnie ubarwio-

ny sum jest heterozygotyczny. Teraz trzeba zbadać uzyskane potomstwo testowanych ryb by zdecydować, czy testowana ryba jest homozygotyczna czy heterozygotyczna:

tylko normalnie ubarwione potomstwo (stosunek 1:0) oznacza że $\chi^2 = +$

normalnie ubarwione i albinotyczne potomstwo (1:1) oznacza że $\chi^2 = a$

Gdy znamy już stosunek frekwencji fenotypów potomstwa, to na tej podstawie albo uznajemy, że testowany tarlak jest heterozygotą (tak brzmiała hipoteza robocza) i usuwamy reproduktora z hodowli, albo odrzucamy hipotezę zerową i zatrzymujemy rybę w stadzie rozrodczym.

Pozostaje kwestia zdecydowania, jaki jest stosunek fenotypów wśród potomstwa. Jeśli wśród potomstwa jest chociaż jedna ryba albinotyczna, to znaczy że testowany normalnie ubarwiony sum kanałowy jest heterozygotą i powinien zostać usunięty z hodowli. Nie trzeba wówczas rozważać czy stosunek fenotypów jest statystycznie identyczny ze stosunkiem 1:1.

Gdy wśród potomstwa nie ma albinosów, powstaje pytanie jak wielka powinna być liczba zbadanego potomstwa by można było zdecydować, że testowany normalnie ubarwiony sum jest homozygotą a nie heterozygotą? Prawdopodobieństwo powstania albinotycznego potomstwa w wyniku takiego krzyżowania wynosi 0,5 (w przypadku heterozygotycznego tarlaka połowa ryb potomnych powinna być albinotyczna), ale to nie oznacza, że co druga ryba powinna być albinotyczna. (Podobnie wygląda prawdopodobieństwo posiadania córek i synów, ale jest wielu hodowców ryb którzy mają cztery córki i ani jednego syna...).

Stosunki fenotypowe określane są przez prawdopodobieństwa. Tak więc żeby odrzucić hipotezę zerową i zdecydować iż testowany tarlak był homozygotą, liczba ryb potomnych, które należy zbadać gdy wśród potomstwa występują tylko fenotypy dominujące, określona jest przez wybierany przez nas poziom ufności: 95, 99 czy 99,9999 %. Oznacza to że odrzucamy hipotezę roboczą przy $P = 0,05$; 0,01 albo 0,000001. Im wyższy poziom ufności tym cenniejszy jest reproduktor, ponieważ można zakładać z większą pewnością iż normalnie ubarwiony tarlak suma nie jest nosicielem allelu a i że będzie wiernie przekazywał swoją cechę normalnego ubarwienia.

Prawdopodobieństwo z jakim akceptujemy albo odrzucamy hipotezę roboczą decyduje o tym, jaka jest szansa że podejmiemy złą decyzję, twierdząc iż reproduktor jest homozygotyczny. $P = 0,05$; 0,01 albo

0,000001 oznacza, iż szansa podjęcia niewłaściwej decyzji o tym że reproduktor był homozygotyczny wynosi odpowiednio 1 na 20; 1 na 100 albo 1 na 1 000 000. Jeśli stosując $P = 0,05$ zakwalifikujemy 20 reproduktorów jako homozygoty, istnieje możliwość jednej pomyłki, czyli jeden z 20 tarlaków mógłby być w rzeczywistości heterozygotą. Jeśli zastosujemy $P = 0,01$, taka pomyłka może się wydarzyć raz na 100 decyzji, a jeśli zastosować $P = 0,000001$ to raz na 1 000 000 decyzji.

Ponieważ połowa potomstwa krzyżówki testowej powinna być normalnie ubarwiona, prawdopodobieństwo uzyskania normalnie ubarwionych ryb potomnych wynosi 0,5. Prawdopodobieństwo (P) uzyskania więcej niż jednej normalnie ubarwionej ryby potomnej bez uzyskania albinosa wynosi:

$$P = (0,5)^N$$

gdzie 0,5 to prawdopodobieństwo uzyskania normalnie ubarwionego potomstwa a N to liczba normalnie ubarwionego potomstwa. Wzór ten umożliwia uzyskanie liczby normalnie ubarwionych ryb potomnych, które powinno się otrzymać nie obserwując ani jednej ryby albinotycznej, by z prawdopodobieństwem P można było odrzucić hipotezę zerową (hipoteza zerowa: normalnie ubarwiony testowany reproduktor to heterozygota).

Na przykład hodowca chce przetestować normalnie ubarwionego sumy kanałowego i pragnie osiągnąć 95 % poziom ufności co do tego, iż prawidłowo określi genotyp ryby ($P = 0,05$). W tym celu skrzyżował testowaną samicę z albinotycznym samcem. Jeśli wśród potomstwa będzie choć jedna ryba albinotyczna, to znaczy że testowana samica jest heterozygotą i powinna zostać usunięta z hodowli. Jeśli wśród potomstwa nie ma albinosów, trzeba obliczyć ile normalnie ubarwionych osobników potomnych trzeba odnotować by odrzucić hipotezę zerową i zdecydować z $P = 0,05$ iż testowana samica jest homozygotą:

$$0,05 = (0,5)^N$$

po zlogarytmowaniu:

$$\log 0,05 = \log (0,5)^N$$

$$\log 0,05 = N (\log 0,5)$$

$$N = \frac{\log 0,05}{\log 0,5} = \frac{-1,30103}{-0,30103} = 4,32$$

Zaokrąglamy N do 5 (nie można mieć 0,32 żywej ryby) co oznacza, że pojawienie się pięciu normalnie ubarwionych ryb potomnych w sytuacji, gdy nie ma wśród potomstwa ani jednego albinosa, wystarcza by odrzucić hipotezę zerową na poziomie $P = 0,05$ i przyjąć, iż testowana samica jest homozygotyczna. Ponieważ zaokrąglaliśmy N do pięciu, jeśli obserwujemy pięć ryb normalnie ubarwionych i ani jednego albinosa to w rzeczywistości prawdopodobieństwo iż testowana samica jest homozygotą wynosi 96,88 %, a prawdopodobieństwo iż testowana samica jest heterozygotą wynosi 3,12 %. Może się wydawać że prawdopodobieństwo 96,88 % jest imponujące, ale nie w przypadku programu hodowlanego, w którym dąży się do uzyskania populacji wiernie przekazującej daną cechę. Prawdopodobieństwo 96,88 % oznacza, że 3,12 % testowanych reproduktorów zakwalifikowanych jako ++ to w rzeczywistości mogą być ryby o genotypie +a.

Ryby są organizmami o tak wysokiej płodności, że nie ma powodu by nie zredukować ryzyka niewłaściwego zakwalifikowania testowanych reproduktorów do poziomu 0,000001. By to osiągnąć wystarczy zaobserwować w potomstwie testowanych reproduktorów 20 normalnie ubarwionych osobników. Przy takim prawdopodobieństwie tylko jeden testowany reproduktor na milion byłby mylnie zaklasyfikowany jako ++ będąc w rzeczywistości +a. Jeśli zwiększyć liczbę kolejno obserwowanych normalnie ubarwionych osobników potomnych do 50, wówczas prawdopodobieństwo zostałoby zredukowane do $P = 8,9 \times 10^{-16}$ (genotyp tarlaka zostanie błędnie zaklasyfikowany jako ++ rzadziej niż raz na tysiąc trylionów testowanych ryb). Oczywiście taka populacja będzie wiernie przekazywała daną cechę fenotypową.

TESTOWANIE NA NOSICIELSTWO GENÓW LETALNYCH (ALBO WYWOŁUJĄCYCH BEZPŁODNOŚĆ)

Testowanie reproduktorów na nosicielstwo niepożądanych alleli jest w przypadku ryb na tyle łatwe, że można przeprowadzać testowanie na nosicielstwo genów letalnych albo wywołujących bezpłodność. Gdy allel recesywny powoduje śmierć albo sterylność fenotypu recesywnego, nie można tego fenotypu użyć do krzyżowania testującego inne reproduktory na nosicielstwo takiego allelu recesywnego. W tym przypadku tarlak, z którym krzyżuje się rybę testowaną to heterozygota, o której wiadomo iż w jej potomstwie występują obydwa fenotypy. Jak poprzednio hipotezą roboczą jest założenie, iż ryba której genotyp chcemy poznać jest heterozygotą. Jeśli w potomstwie wystąpią fenotypy recesywne, hipoteza zerowa jest ak-

ceptowana, a testowana ryba jest uznawana za heterozygotę i usuwana z hodowli. Jeśli potomstwo składa się wyłącznie z osobników normalnie rozwiniętych, trzeba podjąć decyzję co do poziomu ufności, z którym decydujemy się odrzucić hipotezę zerową i uznać testowane reproduktory za homozygoty. Prawdopodobieństwo otrzymania normalnie rozwiniętego potomstwa wynosi w tym przypadku 0,75, ponieważ poprzez skojarzenie dwóch heterozygot otrzymuje się na każde 3 dominujące osobniki potomne 1 recesywny osobnik potomny (75 % potomstwa dominującego). Prawdopodobieństwo (P) uzyskania więcej niż jednego osobnika potomnego i ani jednego osobnika martwego albo bezpłodnego wynosi:

$$P = (0,75)^N$$

gdzie 0,75 to prawdopodobieństwo otrzymania normalnie rozwiniętych osobników potomnych, a N to liczba normalnie rozwiniętych osobników.

Krótkość (krępość) ciała to wynik anomalii rozwoju kręgosłupa *Poeciliopsis prolifica*. Jest to przykład fenotypu recesywnego, który jest niemal bezpłodny w przypadku samców, gdyż ryby takie mają między innymi zdeformowany gonofor i większość samców nie może kopulować. Allel St determinuje normalną budowę kręgosłupa, natomiast allel st determinuje fenotyp recesywny.

Jeśli hodowca znajdzie wśród swych *P. prolifica* „krępa” rybę i chce usunąć z hodowli wszystkie heterozygotyczne samice, jedynym sposobem jest zastosowanie testowania reproduktorów na nosicielstwo allelu st . Krzyżując testowane ryby z heterozygotycznymi samcami:

$$\begin{array}{ccc} \text{normalna } \text{♀} & \text{X} & \text{heterozygotyczny normalny } \text{♂} \\ (St ?) & & (St st) \end{array}$$

chcemy się dowiedzieć, czy ? (nieznany allel) to St czy st .

Jak poprzednio, hipotezą zerową jest to, że samica jest heterozygotą. By określić genotyp samicy trzeba zbadać uzyskane potomstwo:

potomstwo normalne oraz krępe (stosunek 3 : 1) oznacza że ? = st

potomstwo normalne i brak ryb krępych (stosunek 1 : 0) oznacza że ? = St

Jeśli wśród potomstwa znajdzie się choć jedna ryba krępa, akceptujemy hipotezę zerową, identyfikując samicę jako heterozygotyczną i usuwa-

jąc ją z hodowli. Jeśli potomstwo składa się wyłącznie z osobników normalnie rozwiniętych wówczas trzeba kierować się prawdopodobieństwami by zaakceptować lub odrzucić hipotezę roboczą. Na przykład gdybyśmy chcieli mieć 95 % poziom ufności ($P = 0,05$) co do tej decyzji, należy obliczyć ile normalnie rozwiniętych ryb potomnych musi się pojawić przy braku ryb krępych by można było odrzucić hipotezę zerową i zidentyfikować samicę jako homozygotę.

Jak poprzednio, N obliczamy stosując rachunek logarytmiczny:

$$\begin{aligned}
 0,05 &= (0,75)^N \\
 \log 0,05 &= \log (0,75)^N \\
 \log 0,05 &= N (\log 0,75) \\
 N &= \frac{\log 0,05}{\log 0,75} = \frac{-1,30103}{-0,1249387} = 10,41
 \end{aligned}$$

Zaokrąglamy N do 11, a więc trzeba otrzymać próbę 11 normalnie rozwiniętych ryb przy braku ryb krępych by odrzucić hipotezę zerową i zakwalifikować testowaną samicę jako rybę homozygotyczną. W rzeczywistości, ponieważ N zostało zaokrąglone w górę, przy 11 rybach potomnych normalnie rozwiniętych i braku ryb krępych istnieje prawdopodobieństwo równe 95,78 % że samica jest homozygotą oraz prawdopodobieństwo 4,22 % że samica jest heterozygotą. Oznacza to również, że 4,22 % potomstwa samicy testowanej na nosicielstwo allelu *st* i zakwalifikowanego jako *StSt* może być w rzeczywistości *Stst*. Jak poprzednio, prawdopodobieństwo pomyłki może zostać zmniejszone a gwarancja poprawności kwalifikacji zwiększona bez wielkiego wysiłku. W Tabeli 1 zestawiono liczby ryb potomnych w sytuacji, gdy wśród potomstwa obserwujemy tylko ryby o fenotypie dominującym. Liczby te umożliwiają ustalenie rozmaitych poziomów prawdopodobieństwa, które z kolei potrzebne są do odrzucenia hipotezy zerowej, brzmiącej: testowana ryba jest heterozygotyczna.

Tabela 1. Liczba osobników potomnych o fenotypie dominującym, w sytuacji gdy tylko ten fenotyp jest obserwowany wśród potomstwa. Liczba ta jest konieczna do odrzucenia przy różnych prawdopodobieństwach (P) hipotezy roboczej, brzmiącej: testowany reproduktor jest heterozygotą.

P^b	Liczba potomstwa ^a	
	homozygotyczny partner testu	heterozygotyczny partner testu
0,05	5	11
0,01	7	17
0,001	10	25
0,0001	14	33
0,00001	17	41
0,000001	20	48
0,0000006	21	50
$3,2 \times 10^{-13}$	42	100
$8,9 \times 10^{-16}$	50	121
$7,9 \times 10^{-31}$	100	241

^a Liczba ryb którą należy zaobserwować, by uzyskać prawdopodobieństwa równe lub nieco mniejsze od tych, które są zestawione w Tabeli (niektóre liczby zaokrąglono do najbliższej liczby całkowitej).

^b Prawdopodobieństwa niewłaściwego zakwalifikowania ryb jako homozygotycznych.

SELEKCJA

DOMINACJA NIEKOMPLETNA LUB ADDYTYWNE DZIAŁANIE GENÓW (TAVE 1986)

Geny autosomalne wykazujące niekompletną dominację lub współdziałanie addytywne tworzą układy trzech genotypów oraz kodują odpowiadające im trzy fenotypy. Ponieważ każdy genotyp ujawnia się jako odrębny fenotyp, dzięki selekcji można utrwalić allel dominujący albo recesywny oraz odpowiadające im fenotypy (fenotyp dominujący albo recesywny) podczas zaledwie jednego pokolenia. Jednorazowe odrzucenie wszystkich niepożądanych fenotypów spowoduje odrzucenie wszystkich niechcianych alleli. Jedynym fenotypem, którego nie można utrwalić metodą selekcji, jest fenotyp heterozygotyczny.

DOMINACJA NIEZUPEŁNA

Selekcja dokonana podczas jednego pokolenia umożliwia uzyskanie populacji wiernie przekazującej cechę (*ang.* true-breeding population), niezależnie od tego, czy pożądaný fenotyp jest fenotypem dominującym czy recesywnym.

Selekcja na fenotyp recesywny; ponieważ pożądaný fenotyp jest recesywną homozygotą, jednorazowe odrzucenie innych fenotypów spowoduje odrzucenie niepożądanych alleli dominujących i spowoduje powstanie populacji wiernie przekazującej daną cechę.

Selekcja na fenotyp dominujący; selekcja jest równie skuteczna gdy chcemy utrwalić fenotyp dominujący. Przy niekompletnej dominacji pomiędzy allelami genu, homozygotyczny fenotyp dominujący i fenotyp heterozygotyczny to dwa odrębne fenotypy. W takim razie jednorazowe odrzucenie fenotypów heterozygotycznych oraz homozygotycznych fenotypów recesywnych utrwali dominujący allel i spowoduje powstanie populacji wiernie przekazującej fenotyp dominujący.

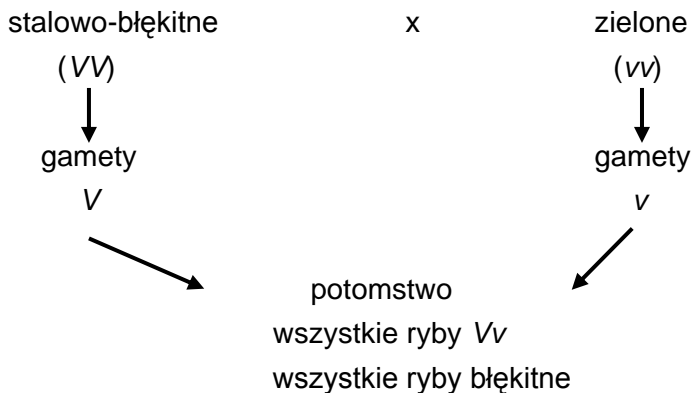
Selekcja na fenotyp heterozygotyczny; metodą selekcji nie można uzyskać populacji wiernie przekazującej fenotyp heterozygotyczny. Na przykład, jeśli producent ryb tropikalnych chce uzyskać populację bojownika

syjamskiego, wiernie przekazującą cechę błękitnego ubarwienia ciała (genotyp heterozygotyczny Vv), przekona się że metodą selekcji nie może tego osiągnąć:

Fenotyp:	stalowo-błękitny	błękitny	zielony
Genotyp:	VV	Vv	vv
	↓ odrzucić	↓ są tu allele V oraz v ;	↓ odrzucić

populacja nie może wiernie przekazywać cechy ubarwienia błękitnego (genotyp Vv), gdyż w wyniku krzyżowania błękitnych reproduktorów (Vv) będzie powstawało potomstwo składające się z osobników stalowo-błękitnych (VV), błękitnych (Vv) oraz zielonych (vv)

Jeśli hodowca pragnie uzyskiwać 100 % błękitnych bojowników syjamskich, musi krzyżować reproduktory stalowo-błękitne z zielonymi:

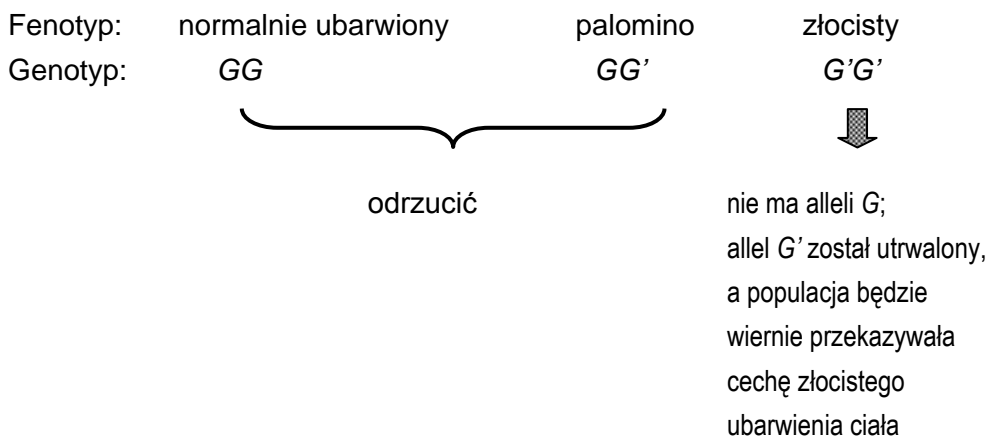


ADDYTYWNE WSPÓLDZIAŁANIE GENÓW

Selekcja na albo przeciw fenotypom kodowanym przez geny o współdziałaniu addytywnym jest identyczna jak opisana dla fenotypów kodowanych przez geny, których allele współdziałają na zasadzie niekompletnej dominacji (dominacji niezupełnej).

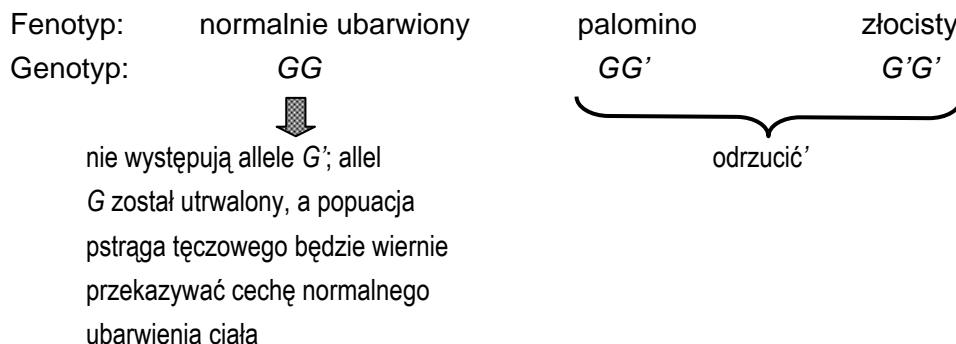
Selekcja na fenotypy homozygotyczne; selekcja na którykolwiek z fenotypów homozygotycznych jest równie skuteczna, a procedura zmierzająca do uzyskania populacji wiernie przekazującej cechę fenotypową jest identyczna jak w przypadku fenotypów kontrolowanych przez geny autosomalne o niezupełnej dominacji jednego allelu nad drugim.

Na przykład, hodowca chce uzyskać zarówno populację pstrąga tęczowego wiernie przekazującą cechę ubarwienia złocistego oraz populację wiernie przekazującą cechę ubarwienia normalnego. Obydwa cele hodowca może osiągnąć podczas pojedynczego aktu selekcji w jednym pokoleniu ryb. Aby uzyskać populację pstrąga tęczowego wiernie dziedziczącą złociste ubarwienie ciała, hodowca musi odrzucić wszystkie pstrągi normalnie ubarwione i wszystkie pstrągi o ubarwieniu palomino. Zabieg ten wyeliminuje wszystkie allele G . Kiedy to zostanie wykonane, jedynymi rybami jakie pozostaną w hodowli będą złociste pstrągi tęczowe, a te krzyżują się wiernie gdyż wszystkie są homozygotami $G'G'$:



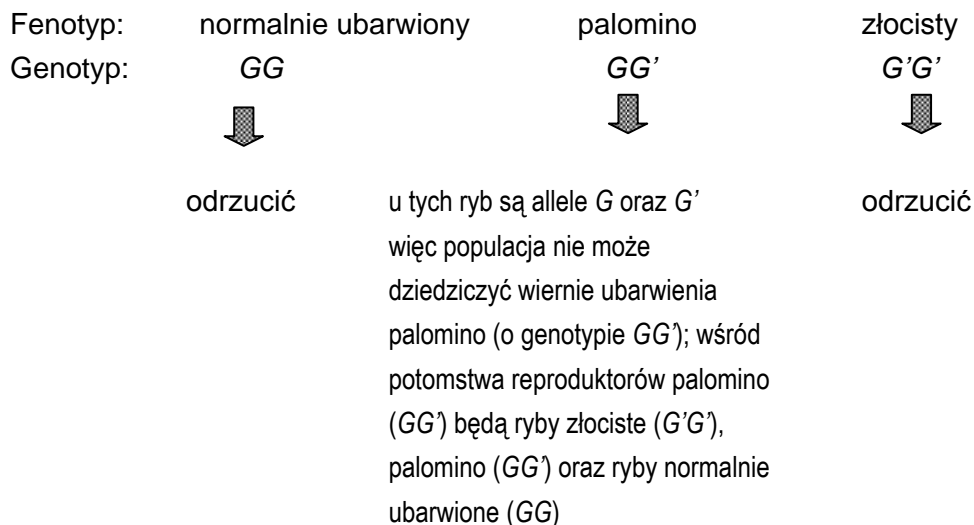
Odwrotnie, aby uzyskać populację pstrąga tęczowego wiernie dziedziczącą cechę normalnego ubarwienia ciała, hodowca musi odrzucić wszystkie reproduktory złociste i palomino. Jednorazowe odrzucenie ryb o tych fenotypach wyeliminuje allele G' . Kiedy to zostanie już wykonane,

jedynymi reproduktorami które pozostaną będą normalnie ubarwione pstrągi tęczowe, a te będą wiernie przekazywać cechę swego ubarwienia gdyż wszystkie są homozygotami GG:

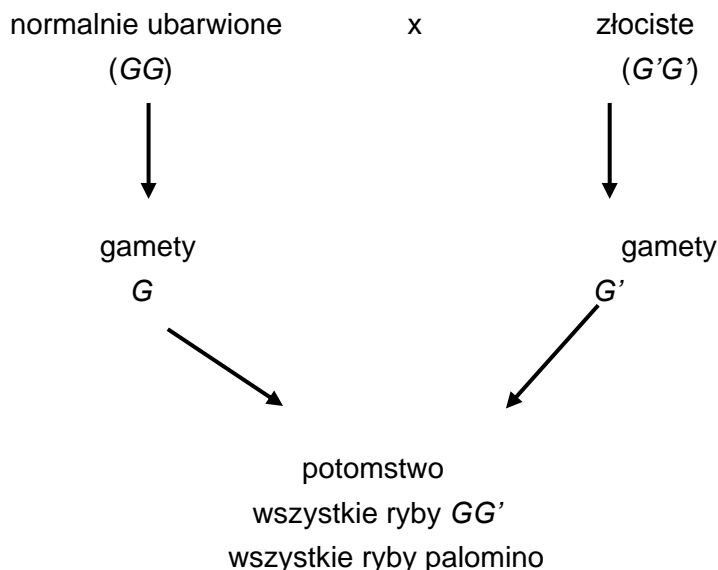


Selekcja na fenotyp heterozygotyczny; jak wykazano wcześniej, selekcja nie może doprowadzić do wytworzenia populacji wiernie przekazującej cechę fenotypową kodowaną przez genotyp heterozygotyczny.

Na przykład, hodowca pstrąga tęczowego rozumie, że prowadząc selekcję nie może uzyskać populacji wiernie przekazującej ubarwienie palomino:



Jeśli hodowca chce uzyskać 100 % ryb palomino, musi normalnie ubarwione pstrągi tęczowe skrzyżować ze złocistymi:



Dwa (lub więcej) geny autosomalne; selekcja na jakościowe fenotypy kontrolowane przez dwa (lub więcej) geny autosomalne jest podobna do opisanej w przypadku cech jakościowych kontrolowanych przez pojedyncze geny autosomalne. Jeśli pożądany fenotyp jest homozygotą recesywną we wszystkich loci, wówczas selekcja utrwali pożądane allele podczas jednego pokolenia i wytworzona zostanie populacja wiernie przekazująca daną cechę. W innych przypadkach trudno będzie wytworzyć populację wiernie przekazującą daną cechę, i trzeba będzie sięgnąć po testowanie potomstwa by można było usunąć niepożądane allele recesywne. Jeśli pożądany fenotyp jest determinowany przez genotyp, w którym jeden (lub więcej) locus musi być w stanie heterozygotycznym, wówczas nie jest możliwym uzyskanie metodą selekcji populacji wiernie przekazującej daną cechę fenotypową (jak w przypadku sytuacji, w której pragnęlibyśmy utworzyć populację karpia, wiernie przekazującą cechę bezłuskości).

GENY SPRZĘŻONE Z PŁCIĄ (TAVE 1986)

Tak jak w przypadku fenotypów kontrolowanych przez geny autosomalne, fenotypy sprzężone z płcią często mają różne walory ekonomiczne, a wartość handlowa całej populacji może zależeć od zdolności produkowania pożądaných fenotypów sprzężonych z płcią. Selekcja „na” albo „przeciw” allelom sprzężonym z płcią może być łatwa lub nie, zależnie o sposobu ekspresji genu i od tego, czy gen jest położony na chromosomie X czy na chromosomie Y.

Geny sprzężone z chromosomem Y; eliminacja lub utrwalenie allelu sprzężonego z Y jest łatwe, gdyż w takim przypadku istnieją tylko dwa genotypy i dwa fenotypy. Każdy samiec posiadający pożądaný allel ujawnia pożądaný fenotyp, a każdy samiec posiadający niepożądaný allel ujawnia niepożądaný fenotyp. W konsekwencji, jednokrotne odrzucenie samców o niepożądanym fenotypie utwali pożądaný allel i umożliwi otrzymanie populacji wiernie przekazującej (dziedziczącej; *ang.* breeding true) daną cechę.

Na przykład, jeśli producent gupików chciałby wyeliminować fenotyp makulatus (*ang.* maculatus) z jednego stawu, ale jednocześnie chciałby utrwalić ten fenotyp w innym stawie, mógłby osiągnąć ten cel podczas jednego pokolenia (gupików)

eliminacja fenotypu makulatus (genotypu XY_{Ma})

Fenotyp:	samce makulatus	szare samce
Genotyp:	XY_{Ma}	XY
	↓	↓
	usunąć	nie ma samców o genotypie XY_{Ma} więc zostaje utrwalony allel Y i wszystkie samce będą wiernie przekazywać cechę szarego ubarwienia ciała



utrwalenie fenotypu makulatus u samców (fenotyp ten nie może zostać utrwalony u samic gdyż normalne samice gupika nie mają chromosomu płci Y)

Fenotyp:	szare samce	samce makulatus
Genotyp:	XY	XY_{Ma}
	↓	↓
	usunąć	nie ma samców o genotypie XY więc zostaje utrwalony allel Y_{Ma} i wszystkie samce będą wiernie przekazywać cechę ubarwienia makulatus

Geny sprzężone z chromosomem X; efektywność utrwalania fenotypów sprzężonych z chromosomem X (*ang.* X-linked phenotypes) metodą selekcji jest podobna do obserwowanej w przypadku alleli autosomalnych. Można łatwo utrwalić recesywny fenotyp związany z chromosomem X poprzez selekcje przeciw dominującym fenotypom sprzężonym z chromosomem X, ale trudne jest utrwalenie fenotypów dominujących sprzężonych z chromosomem X poprzez selekcjonowanie przeciw fenotypom recesywnym sprzężonym z chromosomem X.

Selekcjonowanie na fenotyp recesywny sprzężony z chromosomem płci X; recesywne fenotypy sprzężone z chromosomem X mogą być utrwalone podczas jednego pokolenia selekcji poprzez odrzucenie dominujących fenotypów sprzężonych z chromosomem X. Ponieważ każda ryba która ma niepożądany dominujący allel sprzężony z chromosomem X przejawia także niepożądany fenotyp, wszystkie niechciane allele sprzężone z chromosomem X mogą zostać usunięte z populacji podczas jednego pokolenia.

Na przykład, hodowca chce otrzymać populację gupików, które będą wiernie przekazywać cechę przezroczystej płetwy ogonowej. Cel ten chce osiągnąć podczas jednego pokolenia hodowli poprzez odrzucenie gupików o fenotypie kaudalis (*ang. caudalis phenotype*):

Fenotyp:	samica kaudalis	samica kaudalis	samiec kaudalis	samica o przezroczystej płetwie ogonowej	samiec o przezroczystej płetwie ogonowej
Genotyp:	$X_{Cp}X_{Cp}$	$X_{Cp}X_{ch}$	$X_{Cp}Y$	$X_{ch}X_{ch}$	$X_{ch}Y$
					
	odrzuć			nie ma alleli X_{Cp} natomiast allele X_{ch} zostały utrwalone, a populacja będzie wiernie przekazywać cechę gupików o przezroczystej płetwie ogonowej	

Selekcja na dominujący fenotyp sprzężony z chromosomem X; Tak jak w przypadku alleli autosomalnych, nie jest możliwym utrwalenie metodą selekcji fenotypu dominującego sprzężonego z chromosomem X. Po prostu nie ma możliwości odrzucenia w procesie selekcji wszystkich recesywnych alleli istniejących na chromosomach X, gdyż dominujące allele sprzężone z X maskują istnienie alleli recesywnych u samic heterozygotycznych. Inna rzecz, że selekcja przeciw recesywnym allelom sprzężonym z chromosomem X jest skuteczniejsza niż selekcja przeciw autosomalnym (nie sprzężonym z chromosomami płci) allelom recesywnym, gdyż umożliwia ona usunięcie z hodowli wszystkich samców posiadających recesywny allel na swoim jedynym chromosomie X. Jednak frekwencja allelu recesywnego będzie się co najwyżej zbliżać asymptotycznie do zera.

Na przykład, jeśli hodowca gupików pragnie utrwalić fenotyp kaudalis, przekona się że selekcja przeciwko rybom o przezroczystym ogonie nie doprowadzi do wyeliminowania allelu X_{ch}

Fenotyp:	samica kaudalis	samica kaudalis	samiec kaudalis	samica o przezroczystej płetwie ogonowej	samiec o przezroczystej płetwie ogonowej
----------	--------------------	--------------------	--------------------	--	--

Genotyp:	$X_{Cp}X_{Cp}$	$X_{Cp}X_{ch}$	$X_{Cp}Y$	$X_{ch}X_{ch}$	$X_{ch}Y$
----------	----------------	----------------	-----------	----------------	-----------

w populacji utrzymują się zarówno allele X_{Cp} jak i allele X_{ch} więc powstawać będą zarówno samce o fenotypie kaudalis jak i o przezroczystym ogonie; natomiast wszystkie samice będą miały pigmentację kaudalis

odrzuć

Ponieważ allel X_{ch} utrzymuje się w genotypie heterozygotycznych samic kaudalis, jest on w tej konfiguracji „ukryty” i hodowca nie jest w stanie wyeliminować go z populacji na drodze selekcji.

Skuteczność selekcji przeciwko recesywnemu fenotypowi sprzężonemu z chromosomem płci X, której celem jest wyeliminowanie z populacji recesywnego allelu sprzężonego z chromosomem X, można określić dzięki poniżej przedstawionym równaniom.

W pierwszym pokoleniu selekcji, jej skuteczność przeciwko recesywnemu allelowi sprzężonemu z chromosomem X w przypadku samic jest identyczna jak w selekcji przeciwko recesywnemu fenotypowi autosomalnemu. Samice o fenotypie recesywnym są odrzucane, ale samice heterozygotyczne pozostają w populacji. Z drugiej strony selekcja przeciwko fenotypowi recesywnemu sprzężonemu z chromosomem X w przypadku samców jest skuteczna, gdyż wszystkie samce które są nosicielami niepożądanego recesywnego allelu sprzężonego z chromosomem X ujawniają niepożądany fenotyp sprzężony z chromosomem X i są odrzucane w procesie selekcji. W wyniku takiej selekcji frekwencja recesywnego allelu sprzężonego z chromosomem X u samców spada do zera. Całkowita frekwencja tego allelu w populacji jest funkcją jego frekwencji u każdej z płci oraz względnej liczebności osobników obu płci

1. frekwencja allelu u samic

$$f(X_{q1-\text{♀}}) = \frac{X_{q0}}{1 + X_{q0}}$$

gdzie $X_{q1-\text{♀}}$ to frekwencja recesywnego allelu sprzężonego z chromosomem X po jednym selekcji trwającej jedno pokolenie, a X_{q0} to wyjściowa frekwencja recesywnego allelu sprzężonego z chromosomem X w populacji.

2. frekwencja allelu u samców

$$f(X_{q1-\text{♂}}) = 0$$

3. całkowita frekwencja allelu w populacji

$$f(X_{q1-\text{całkowita}}) = \frac{2(\text{♀})(X_{q1-\text{♀}})}{2(\text{♀}) + (\text{♂})}$$

gdzie ♀ to liczba samic a ♂ to liczba samców.

Od tego momentu selekcja będzie zmniejszać frekwencję recesywnych alleli sprzężonych z chromosomem X o połowę w każdym pokoleniu. Dzieje się tak ponieważ jedynymi reproduktorami, które są jednocześnie nosicielami recesywnego allelu sprzężonego z chromosomem X, są samice. Kiedy więc takie samice przystępują do rozrodu, recesywny allel sprzężony z chromosomem X trafia w stosunku 50:50 do powstających samców i samic. Samce będące nosicielami tego allelu ujawniają recesywny fenotyp sprzężony z chromosomem X i mogą zostać odrzucone w procesie selekcji, lecz allele te pozostaną w genomach samic, gdyż wszystkie samice będące nosicielami allelu recesywnego są heterozygotyczne w tym locus. Tak więc w każdym pokoleniu połowa alleli recesywnych zostanie usunięta z populacji. Po pierwszym pokoleniu poddanemu selekcji, skutki selekcji przeciwko recesywnemu fenotypowi sprzężonemu z chromosomem X określane są jako

$$X_{qn} = X_{q1} (0,5^N)$$

gdzie X_{qn} to frekwencja allelu recesywnego sprzężonego z chromosomem X po n pokoleniach selekcji, X_{q1} to frekwencja allelu recesywnego sprzężonego z chromosomem X po pierwszym pokoleniu selekcji, a N jest liczbą pokoleń selekcji po pierwszym pokoleniu, w którym zaczęto prowadzić selekcję.

Na przykład, jeśli hodowca gupików ma w jednym ze stawów zarówno gupiki kaudalis jak i o przezroczystych płetwach ogonowych, a chciałby dochować się populacji, której potomstwo zawierałoby 100 % samic kaudalis i 99,99 % samców kaudalis [pamiętamy, że nie mogą powstać samice o przezroczystych płetwach ogonowych ($X_{ch}X_{ch}$) gdyż wszystkie samce $X_{ch}Y$ zostały odrzucone zanim doszły do pierwszego rozrodu]. Liczba pokoleń, podczas których należy prowadzić selekcję przeciwko by osiągnąć ten cel, wynika z następujących obliczeń:

Fenotyp	Genotyp	Liczba ryb
samce o przezroczystych ogonach	$X_{ch}Y$	450
samce kaudalis	$X_{cp}Y$	50
		} 500 samców
samice o przezroczystych ogonach	$X_{ch}X_{ch}$	405
samice kaudalis	$X_{cp}X_{cp}$ i $X_{cp}X_{ch}$	95
		} 500 samic

Krok 1. Obliczamy $f(X_{ch-0})$, frekwencję allelu przed rozpoczęciem programu selekcji

najpierw by obliczamy $f(X_{ch-0})$ wśród samców

$$f(X_{ch-0-\text{♂}}) = \frac{\text{♂ o przezroczystych ogonach}}{\text{ogólna liczba ♂}} = \frac{450}{500} = 0,9$$

następnie obliczamy $f(X_{ch-0})$ wśród samic

$$f(X_{ch-0-\text{♀}}) = \sqrt{\frac{\text{♀ o przezroczystych ogonach}}{\text{ogólna liczba ♀}}} = \sqrt{\frac{405}{500}} = \sqrt{0,81} = 0,9$$

wreszcie obliczamy całkowitą frekwencję allelu w populacji

$$f(X_{ch-0-\text{całkowita}}) = \frac{2(500\text{♀})(0,9) + (500\text{♂})(0,9)}{2(500\text{♀}) + 500\text{♂}} = \frac{1350}{1500} = 0,9$$

Krok 2. Obliczanie $f(X_{ch-1})$, frekwencji allelu po jednym pokoleniu prowadzonej selekcji

frekwencja [$f(X_{ch-1})$] allelu wśród samic po jednym pokoleniu selekcji

$$f(X_{ch-1-\text{♀}}) = \frac{f(X_{ch-0})}{1 + f(X_{ch-0})} = \frac{0,9}{1 + 0,9} = 0,4736$$

frekwencja [$f(X_{ch-1})$] allelu wśród samców po jednym pokoleniu selekcji

$$f(X_{ch-1-\text{♂}}) = 0$$

frekwencja [$f(X_{ch-1})$] allelu w całej populacji po pierwszym pokoleniu selekcji

$$f(X_{ch-1-\text{całkowita}}) = \frac{2(50\text{♀})(0,4736) + 50\text{♂}(0)}{2(50\text{♀}) + 50\text{♂}} = \frac{47,36}{150} = 0,3157$$

Uwaga: 50-tki zastosowane w powyższym równaniu odzwierciedlają zakładany stosunek liczebności ryb obu płci jako 50:50

Krok 3. Obliczanie pożądanej frekwencji allelu [$f(X_{ch-n})$]

Populacja, którą zamierza uzyskać hodowca, będzie w kolejnych pokoleniach składała się z 0 % samic o przezroczystym ogonie i z 0,01 % samców o przezroczystym ogonie.

Obliczamy $f(X_{ch-n-\sigma})$ wśród samców

Po pierwszym pokoleniu selekcji, $f(X_{ch}) = 0$ u samców, które przystąpiły do rozrodu. Pewna liczba samców o przezroczystym ogonie pojawi się w każdym następnym pokoleniu, a powstaną one w rezultacie obecności w stadzie rozrodczym heterozygotycznych samic. Tak więc, $f(X_{ch-n-\sigma}) = 0$.

Po jednym pokoleniu prowadzonej selekcji, allele X_{ch} wśród samic zostaną rozdzielone w stosunku 50:50 pomiędzy ich córki i synów. Ponieważ wszyscy synowie posiadający ten allel ujawnią kodowany przez niego fenotyp, frekwencja allelu X_{ch} wśród samic może zostać określona dzięki pomnożeniu przez dwa pożądanej frekwencji fenotypowej u samców

$$f(X_{ch-n-\sigma}) = 2 (0,0001) = 0,0002$$

obliczamy całkowitą $f(X_{ch-n})$

$$f(X_{ch-n-\text{całkowita}}) = \frac{2 (50 \text{♀}) (0,0002)}{2 (50 \text{♀}) + 50 \text{♂}} = \frac{0,02}{150} = 0,0001333$$

Uwaga: 50-tki zastosowane w powyższym równaniu odzwierciedlają zakładany stosunek liczebności ryb obu płci jako 50:50

Krok 4. Obliczenie liczby pokoleń selekcji po selekcji w pierwszym pokoleniu, która jest potrzebna do zredukowania $f(X_{ch})$ z 0,3157 do 0,0001333

$$f(X_{ch-n}) = f(X_{ch-1})(0,5^N)$$

$$0,0001333 = (0,3157)(0,5^N)$$

po zlogarytmowaniu w celu obliczenia N

$$\frac{0,0001333}{0,3157} = (0,5^N)$$

$$0,0004222 = (0,5^N)$$

$$\log 0,0004222 = \log (0,5^N)$$

$$\log 0,0004222 = (N)(\log 0,5)$$

$$\frac{\log 0,0004222}{\log 0,5} = N$$

$$N = \frac{-3,3744444}{-0,30103} = 11,21$$

Zaokrąglamy N do 12. A więc po upływie 13 pokoleń (pierwsze pokolenie selekcji plus 12 następných pokoleń) nastąpi spadek $f(X_{ch})$ z 0,9 do

0,0001333. Podczas gdy selekcja przeciwko fenotypowi recesywnemu jest znacznie bardziej skuteczna jeśli odrzuca się allele recesywne sprzężone z chromosomem X niż gdy odrzuca się recesywne allele autosomalne, w żadnym z tych dwu przypadków nie jest możliwe uzyskanie dzięki selekcji takiej populacji, która będzie wiernie przekazywała cechę determinowaną przez taki allel.

Testowanie potomstwa; jedynym sposobem wyeliminowania alleli recesywnych sprzężonych z chromosomem X jest testowanie potomstwa samic i usuwanie z hodowli tych samic, które okażą się heterozygotami. Fenotyp testowego samca (partnera testu) nie jest istotny, gdyż to samica dostarcza chromosomu X swoim synom, i to właśnie jej synowie są badani w procedurze testu na nosicielstwo alleli sprzężonych z chromosomem płci X. Tak jak w przypadku testowania potomstwa na nosicielstwo genów autosomalnych, zakłada się że samica jest heterozygotą, i tak brzmi hipoteza zerowa testu. Kiedy już to założenie zostało sformułowane, w teście potomstwa układa się następujące krzyżowanie:

dominująca ♀ x ♂ jakiegokolwiek fenotypu
 $(X_{Dom}X_?)$ $(X_{nieważne\ jak\ Y})$

Chcemy się dowiedzieć: czy $X_?$ (nieznany allel) jest dominującym czy recesywnym allelem sprzężonym z chromosomem X? Aby odpowiedzieć na to pytanie należy zbadać synów testowanej samicy. Nie trzeba badać jej córek, gdyż

- jeśli wśród potomstwa testowanej samicy są tylko dominujący synowie (stosunek 1:0), to znaczy że $X_?$ jest allelem dominującym sprzężonym z chromosomem X,
- jeśli wśród potomstwa testowanej samicy są synowie dominujący i recesywni (stosunek 1:1) to znaczy że $X_?$ jest allelem recesywnym sprzężonym z chromosomem X.

Jeśli pojawi się choć jeden syn o recesywnym fenotypie sprzężonym z chromosomem X, samica może zostać uznana za heterozygotę i powinna zostać odrzucona z hodowli. Jeśli wśród potomstwa testowanej samicy nie pojawi się ani jeden syn o recesywnym fenotypie sprzężonym z chromosomem X należy ustalić pożądany poziom ufności aby przyjąć prawdopodobieństwo, z jakim zaakceptujemy albo odrzucimy hipotezę zerową (czyli założenie, że testowana samica jest heterozygotą).

Prawdopodobieństwo uzyskania syna o dominującym fenotypie sprzężonym z chromosomem X wynosi 0,5, a prawdopodobieństwo (P) uzyskania N następujących po sobie synów o dominującym fenotypie sprzężonym z chromosomem X bez towarzyszących im synów tego samego krzyżowania o recesywnym fenotypie sprzężonym z chromosomem X wynosi:

$$P = (0,5)^N$$

gdzie 0,5 to prawdopodobieństwo uzyskania dominującego syna a N to liczba dominujących synów.

PRZECIWDZIAŁANIE UTRACIE RÓŻNORODNOŚCI GENETYCZNEJ

LICZEBNOŚĆ POPULACJI EFEKTYWNEJ

W utrzymaniu bioróżnorodności populacji naturalnych i stad hodowlanych zasadniczą rolę odgrywa liczebność populacji efektywnej (N_e). Niezamierzone krzyżowanie w pokrewieństwie i dryf genetyczny zdarzają się w populacjach hodowlanych ze względu na ich ograniczoną liczebność.

Krzyżowanie ze sobą osobników spokrewnionych i mała liczebność populacji może szybko doprowadzić do drastycznego obniżenia poziomu zmienności genetycznej, ujawnienia szkodliwych alleli a co za tym idzie spadku produktywności i wzrostu kosztów. Problem ten jest jeszcze poważniejszy w przypadku ryb przeznaczonych do zarybień i dorybień populacji naturalnych. Ryby z przyjaznych warunków wylęgarnianych są wpuszczane do środowiska naturalnego, gdzie trwa walka o byt. Zatem wpływ inbrodu² i obniżenia zmienności genetycznej jest znacznie większy na populacje przeznaczone do środowiska naturalnego niż takie, które nigdy nie opuszczają ośrodka hodowlanego.

Z genetycznego punktu widzenia idealna byłaby populacja o nieskończonej liczebności. Oczywiście nie ma możliwości utrzymania takiej populacji w warunkach hodowlanych. W populacjach o ograniczonej liczebności stan genetyczny można dokładniej opisać nie poprzez całkowitą liczbę osobników lecz przez liczebność populacji efektywnej.

Zależy ona od kilku czynników: liczby osobników biorących udział w rozrodzie, proporcji płci, systemu krzyżowania i zmian w liczebności stada w kolejnych sezonach rozrodczych.

Liczebność populacji efektywnej (N_e) jest to pewna wystandaryzowana wielkość, od której zależy siła dryfu genetycznego (patrz str. 63).

Przy danej średniej liczebności populacji, liczebność populacji efektywnej jest tym mniejsza im:

- większe są wahania liczebności z pokolenia na pokolenie
- mniejsza jest efektywna liczba samców biorących udział w rozrodzie

² Więcej informacji na temat inbrodu (wsobności) można znaleźć w książce „Gospodarowanie stadami rozrodczymi naturalnych i hodowlanych populacji ryb – podstawy genetyki ilościowej” autorstwa Fopp, Łuczyński, Jankun 2010.

- populacja jest bardziej rozczłonkowana
- populacja jest bardziej lepka (osobniki szukają partnera do rozrodu w najbliższym otoczeniu)

Jej wartość zależy przede wszystkim od liczby samic i samców biorących udział w rozrodzie, co opisuje następujący wzór:

$$N_e = \frac{4fm}{f+m}$$

gdzie:

f – liczba samic

m – liczba samców

N_e może wzrosnąć tylko dzięki zwiększeniu liczby tarłaków lub utrzymaniu stosunku płci 50:50

Liczebność populacji efektywnej jest jedną z najważniejszych wskaźników dla właściwego gospodarowania populacją. Wskazuje na stabilność genetyczną populacji, bo jest odwrotnie sprzężona z inbredem i dryfem genetycznym. Gdy N_e maleje inbred i zmiany w frekwencji alleli będące skutkiem dryfu genetycznego są silniejsze.

Poziom inbredu, jaki może powstać przy kojarzeniu osobników w małej populacji oblicza się ze wzoru:

$$F_t = 1 - \left(1 - \frac{1}{2N_e}\right)^t$$

gdzie:

F_t - współczynnik inbredu w pokoleniu t

t - liczba pokoleń

N_e - liczebność populacji efektywnej

Im wyższa jest wartość współczynnika inbredu tym szybciej wzrasta nadwyżka homozygot w populacji. Inbred nie ma wpływu na frekwencję alleli A i a, natomiast ma znaczny wpływ na frekwencje poszczególnych genotypów AA, Aa, i aa.

Zmiana częstości w genotypów pokoleniu t wygląda następująco:

$$AA \quad p_0^2 + p_0q_0F_t$$

$$Aa \quad 2p_0q_0 - 2p_0q_0F_t$$

$$aa \quad q_0^2 + p_0q_0F_t$$

gdzie:

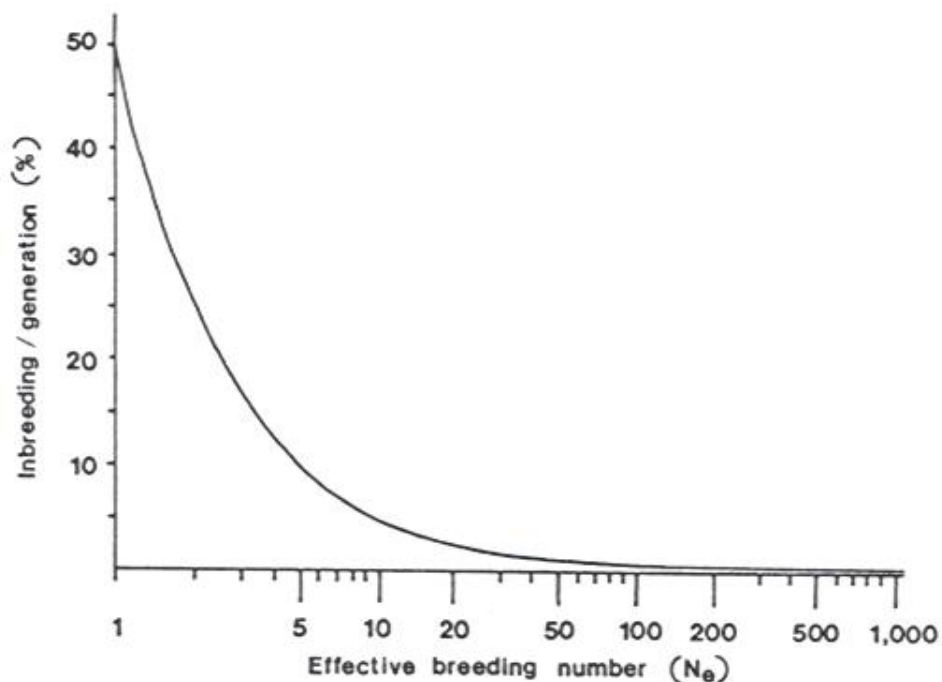
F_t - współczynnik inbredu w pokoleniu t

p_0 i q_0 - frekwencje alleli A i a w pokoleniu rodzicielskim. Wyjściowa frekwencja alleli wynika z reguły Hardy'ego- Weinberga.

Jak widać skutek jest taki, że wzrasta frekwencja genotypów homozygotycznych, natomiast maleje frekwencja heterozygot. Tendencja ta ma charakter trwały i nasila się w kolejnych pokoleniach. Skutkiem jest wzrost homozygotyczności populacji, co prowadzi do nadmiernej ekspresji wszelkich szkodliwych alleli recesywnych, które w coraz większym stopniu ujawniają się w układach homozygotycznych. W pierwszej kolejności prowadzi to do obniżenia płodności tarlaków oraz większej śmiertelności wczesnych stadiów rozwojowych ryb. Zwiększa się liczba osobników z wadami rozwojowymi oraz obniża się tempo wzrostu.

Stopień inbredu jest odwrotnie proporcjonalny do liczebności populacji efektywnej (Rysunek 2). Z poniższego wzoru oblicza się średnią wartość inbredu dla każdej ryby z populacji.

$$F = \frac{1}{2N_e}$$



Rysunek 2. Zależność między liczebnością populacji efektywnej (N_e) a poziomem chowu wsobnego.

Dryfem genetycznym nazywamy przypadkowe wahania częstości allelu, genu w populacji wynikające z losowego charakteru przekazywania genów przez rodziców potomstwu. Efekt dryfu genetycznego jest łatwiej obserwowalny w małych, izolowanych populacjach. Dryf genetyczny jest jednym z neutralnych mechanizmów ewolucji. Dryf genetyczny może prowadzić do specjacji, czyli powstawania nowych gatunków.

Dryf genetyczny to losowe zmiany w frekwencji alleli spowodowane niewłaściwym pobraniem próby. Może to być zjawisko naturalne, spowodowane oddzieleniem grupy ryb przez czynniki środowiskowe (powódź, trzęsienie ziemi, budowa przestawy) lub spowodowane przez człowieka, który kieruje się swoim widzimisię. Ryby wybrane przez hodowcę często nie są reprezentatywne dla całej populacji. Niektóre allele mogą się u nich nie pojawić choć są w populacji wyjściowej. Im mniejsza próba tym większe prawdopodobieństwo błędu, niepełnego lub nawet fałszywego obrazu populacji wyjściowej.

Jeśli pobrana próba jest grupą, z której powstanie nowa populacja to będzie ona inna genetycznie ze względu na dryf genetyczny spowodowany zmianą frekwencji alleli w nowej grupie w porównaniu z wyjściową. Widocznym efektem dryfu genetycznego jest utrata jednych alleli a utrwalenie się innych. Rzadkie allele bardzo łatwo mogą zostać stracone, ale te bardziej pospolite też są podatne na utratę.

Generalnie skutkiem małej N_e jest wzrost homozygotyczności, więc jej zmniejszanie powoduje nieodwracalne zmiany w puli genetycznej ponieważ zostają utracone allele – różnorodność. Jest to szczególnie niebezpieczne jeśli populacja wyjściowa jest już w dużym stopniu homozygotyczna na skutek chowu wsobnego. Skutkiem najczęściej jest spadek kondycji, żywotności, tempa wzrostu ponieważ populacja nie jest w stanie dostosowywać się do zmieniających się warunków środowiska, bo nie ma odpowiednich genów. Jej potencjał genetyczny w postaci zmienności został ujednoczony. Takie właśnie ujednoczone populacje z ośrodków hodowlanych bardzo trudno przystosowują się do warunków naturalnych. Linie hodowlane są bardzo dobre w stabilnych warunkach, w których zostały wyselekcjonowane, natomiast to zmiennych warunków potrzebna jest różnorodność genetyczna.

$$N_{eF} = \frac{N_e}{1 + F}$$

gdzie N_{eF} to liczebność populacji efektywnej, która uległa inbredowi

F to współczynnik inbredu

Nawet pojedyncze obniżenie liczebności N_e jest powodem inbredu. Ten z kolei powoduje obniżenie N_e w przyszłych pokoleniach. Pokolenia z najmniejszą N_e mają największy wpływ na całkowitą wartość N_e . Skutki redukcji N_e w jednym pokoleniu nie mogą zostać naprawione poprzez zwiększenie N_e w następnych pokoleniach, bo niektóre allele całkowicie zniknęły. Redukcje N_e często zachodzą podczas przeprowadzki np. z węgarni do innego ośrodka. Ze względu na koszty często przenosi się tylko niewielką część ryb, lub zakłada hodowlę z małej grupki tarlaków, szczególnie jeśli są to gatunki o dużej płodności. Takie zjawisko nazywa się wą-

skim gardłem (ang. *bottleneck*). Dramatyczne obniżenie N_e ma swoje skutki w postaci wysokiego poziomu homozygotyczności, co może wpływać na produkcję. N_e w dłuższym okresie jest średnią harmoniczną N_e z każdej generacji. Poprzez t pokoleń N_e może być obliczona z wzoru:

$$\frac{1}{N_e} = \frac{1}{t} \left(\frac{1}{N_{e1}} + \frac{1}{N_{e2}} + \dots + \frac{1}{N_{et}} \right)$$

gdzie N_e to całkowita liczebność populacji efektywnej;

$N_{e1}, N_{e2}, \dots, N_{et}$ to liczebności populacji efektywnych w kolejnych pokoleniach

Wąskie gardło może spowodować, że populacja nie odbuduje swojej zmienności genetycznej nawet przez setki pokoleń jeśli nie skorzysta ze świeżej krwi.

Dobrze jest wiedzieć jaka była N_e populacji którą gospodarujemy lub kupujemy.

Ostatnim czynnikiem redukującym N_e jest liczebność rodziny. Wpływ tego czynnika opisuje następujący wzór:

$$N_{eUR} = \frac{8N_e}{V_{kf} + V_{km} + 4}$$

gdzie:

N_{eUR} – liczebność populacji efektywnej przy nierównej liczbie potomstwa tarlaków

V_{kf} i V_{km} – zmienność liczby potomstwa samic i samców

Jeśli wszystkie tarlaki produkują równą liczbę potomstwa N_e oblicza się jak poprzednio. Oczywiście w rzeczywistości nigdy tak nie jest. Ma to nega-

tywny wpływ na N_e . Redukcja N_e do 20 na pokolenie w ciągu 40 lat u pstrąga tęczowego spowodowała zimbredowanie populacji na poziomie 40-60%. Dane elektroforetyczne dotyczące polimorfizmu białek enzymatycznych wykazały, że dryf genetyczny obrabował tę populację z wielu cennych alleli.

Jak przeciwdziałać skutkom obniżania wartości N_e ?. Przede wszystkim należy utrzymywać N_e na najwyższym możliwym poziomie w każdym pokoleniu. Kupując stado dobrze jest znać jego historię i pokrewieństwo. Wiedzieć potomstwem ilu tarlaków są kupowane ryby. Przy 2000 narybku uzyskanego od jednej pary N_e wynosi tylko 2. Przewidywany inbred w tej grupie będzie na poziomie 25% ale skutki utraty alleli przy zakładaniu stada (efekt założyciela) są znacznie bardziej szkodliwe. Jak duża powinna być N_e aby rozsądnie gospodarować stadem. FAO zaleca od min 50 przy krótkich programach hodowlanych do min 500 przy długoterminowych.

OBLICZANIE N_e KONIECZNEJ DO UTRZYMANIA INBREDU PONIŻEJ DOPUSZCZALNEJ WARTOŚCI

Aby obliczyć liczebność populacji efektywnej (N_e) konieczną do utrzymania inbrodu na takim poziomie, który nie spowoduje obniżenia produktywności stada rozrodczego, trzeba dwóch informacji:

1. poziomu inbrodu, powyżej którego następuje obniżenie produktywności stada,
2. czasu trwania programu hodowlanego, wyrażonego liczbą pokoleń ryb.

Brak konkretnych informacji o dopuszczalnym poziomie inbrodu u ryb powoduje, iż trzeba tu użyć hipotetycznych wartości, obowiązujących w hodowli zwierząt gospodarskich. I tak, inbred (F) na poziomie 5 % uznaje się za wartość bardzo bezpieczną (spadek produktywności stada wskutek zimbredowania bardzo mało prawdopodobny), podczas gdy inbred na poziomie 10 % za wartość stosunkowo liberalną (istnieje pewna możliwość spadku produktywności stada z powodu jego zimbredowania).

Po określeniu obu danych należy obliczyć najmniejszą stałą (w kolejnych pokoleniach ryb) wartość liczebności populacji efektywnej (N_e),

która zapewni wystąpienie zakładanego poziomu zimbredowania (F) po zakładanej liczbie pokoleń.

Jeśli założyc $F = 5\%$ jako krytyczną wielkość zimbredowania, która powinna wystąpić nie wcześniej niż po 15 pokoleniach chowu, N_e oblicza się następująco:

Krok 1. Oblicza się F /pokolenie, które spowoduje $F = 0,05$ w pokoleniu 15:

$$F/\text{pokolenie} = \frac{0,05}{15 \text{ pokoleń}} = 0,0033333/\text{pokolenie}$$

Krok 2. Oblicza się N_e która spowoduje, iż $F = 0,0033333/\text{pokolenie}$:

$$F = \frac{1}{2N_e}$$

czyli:

$$0,0033333 = \frac{1}{2N_e}$$

stąd:

$$(0,0033333)(2) = \frac{1}{N_e}$$

$$N_e = \frac{1}{(0,0033333)(2)} = 150$$

Maksymalne stałe wartości N_e , które zapewnią utrzymanie $F = 5\%$ albo $F = 10\%$ po określonej liczbie pokoleń, zamieszczone są w Tabeli 3:

Tabela 3. Efektywna liczebność reproduktorów (N_e), pozwalająca na utrzymanie $F = 5\%$ oraz $F = 10\%$ po określonej liczbie pokoleń (Tave 1986)

Liczba pokoleń	N_e	
	$F = 5 \%$	$F = 10 \%$
1	10	5
2	20	10
3	30	15
4	40	20
5	50	25
6	60	30
7	70	35
8	80	40
9	90	45
10	100	50
20	200	100
30	300	150
40	400	200
50	500	250
60	600	300
70	700	350
80	800	400
90	900	450
100	1000	500

OBLICZANIE N_E KONIECZNEJ BY PRZECIWDZIAŁAĆ DRYFOWI GENETYCZNEMU

Dużo trudniej jest przeciwdziałać dryfowi genetycznemu niż utrzymać inbred na takim poziomie, by nie spowodował spadku produktywności. Po prostu każda zmiana frekwencji allelu, powstająca w wyniku losowego łączenia się gamet, jest dryfem genetycznym. Jeśli w rezultacie losowego łączenia się gamet frekwencja allelu zmienia się z 0,500 na 0,499 to jest to już dryf genetyczny. Nie jest to jednak tak istotne jak utrata allelu (alleli) z populacji, więc kluczowe pytanie brzmi: jak wielka musi być N_e by nie dopuścić do utraty rzadkich alleli?

Prawdopodobieństwo iż populacja (stado) utraci allel rzadki (=allel o niskiej frekwencji) jest znacznie wyższe niż to, że utracony zostanie allel o wysokiej frekwencji. Należy więc podjąć dwie decyzje:

- a – na ile ważny jest dany allel, czyli jak rzadkie allele pragniemy zachować w populacji (na przykład $f = 0,1$ czy $0,01$ czy $0,00001$?).
- b – jaki zakładamy poziom prawdopodobieństwa? (na przykład $P = 0,05$ oznacza że prawdopodobieństwo utrzymania allelu w populacji wynosi 95 %, $P = 0,01$ że 99 %, itd.).

Gdyby zakładać utrzymanie bardzo rzadkiego allelu ($f \sim 0,000001$) ze 100 % gwarancją, wówczas potrzebna byłaby tak wielka N_e że ryby nie pomieściłyby się w ośrodku hodowlanym. Trzeba więc szukać kompromisu między tym co idealne a tym co mogłoby spowodować problemy hodowlane. Potrzebną N_e można określić obliczając, ile ryb potrzeba by allel q , występujący z daną częstotliwością, utrzymać w populacji z określonym prawdopodobieństwem. Prawdopodobieństwo (P) utraty allelu z losowej próby wynosi:

$$P = \left(1,0 - q\right)^{2N_e}$$

gdzie P to prawdopodobieństwo utraty allelu w jednym pokoleniu (albo w jednym transferze stada rozrodczego z jednego gospodarstwa do drugiego) a q to frekwencja allelu q . Wykładnikiem jest $2N_e$ gdyż ryby są diploidalne i w każdym locus mają dwa allele. Tabela 4 zawiera prawdopodobieństwa utraty allelu przy różnych N_e i dla różnych frekwencji genu. Na przykład trzeba N_e równej 150 by uzyskać $P = 0,04904$ w przypadku allelu o $f = 0,01$ (= 4,9 % prawdopodobieństwo utraty allelu).

Prawdopodobieństwo utraty allelu wskutek dryfu genetycznego działającego w ciągu szeregu pokoleń (lub transferów) to iloczyn prawdopodobieństw obliczonych dla każdego pokolenia (transferu) (Tabela 4). Na przykład jeśli utrzymywać N_e na stałym poziomie 150 przez 10 pokoleń, to prawdopodobieństwo że allel o $f = 0,01$ zostanie utracony po 10 pokoleniach oblicza się:

Krok 1. Prawdopodobieństwo utraty allelu w jednym pokoleniu:

$$P = \left[1,0 - q\right]^{2N_e} = \left[1,0 - 0,01\right]^{2(150)} = 0,04904$$

Krok 2. Prawdopodobieństwo utrzymania allelu w jednym pokoleniu oblicza się odejmując prawdopodobieństwo utraty allelu (P) od 1,0:

$$\text{prawdopodobieństwo utrzymania allelu} = 1,0 - 0,04904 = 0,95096$$

Krok 3. Prawdopodobieństwo utrzymania allelu po 10 pokoleniach to iloczyn prawdopodobieństw utrzymania allelu w kolejnych pokoleniach, czyli w tym przypadku:

$$\text{Prawdopodobieństwo utrzymania allelu} = (0,95096)^{10} = 0,60481$$

Krok 4. Prawdopodobieństwo utraty allelu (P) po 10 pokoleniach otrzymuje się po odjęciu od jedności prawdopodobieństwa utrzymania allelu:

$$P = 1,0 - 0,60481 = 0,39519$$

Tak więc, jeśli utrzyma się N_e równe 150 przez 10 pokoleń to istnieje prawdopodobieństwo 60,5 % utrzymania po 10 pokoleniach allelu, którego $f = 0,01$ (mimo że prawdopodobieństwo utrzymania tego allelu podczas każdego pojedynczego pokolenia wynosiło 95,1 %).

Tabela 4. Prawdopodobieństwo utraty allelu podczas jednego pokolenia (lub transferu) wskutek dryfu genetycznego, podane dla ośmiu frekwencji alleli i różnych liczebności populacji efektywnej (N_e) (Tave 1986).

N_e	Frekwencja allelu							
	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,05	0,01	0,001
2	0,06250	0,12960	0,24010	0,40960	0,65610	0,81451	0,96060	0,99601
3	0,01562	0,04666	0,11765	0,26214	0,53144	0,73509	0,94148	0,99402
4	0,00391	0,01680	0,05765	0,16778	0,43047	0,66342	0,92274	0,99203
5	0,00098	0,00605	0,02825	0,10737	0,34868	0,59874	0,90438	0,99004
6	0,00024	0,00218	0,01384	0,06872	0,28243	0,54036	0,88638	0,98807
7	0,00006	0,00078	0,00678	0,04398	0,22877	0,48768	0,86875	0,98609
8	0,00002	0,00028	0,00332	0,02815	0,18530	0,44013	0,85146	0,98412
9	4×10^{-6}	0,00010	0,00163	0,01801	0,15009	0,39721	0,83451	0,98215
10	1×10^{-6}	0,00004	0,00080	0,01153	0,12158	0,35849	0,81791	0,98019
14		6×10^{-7}	0,00005	0,00193	0,05233	0,23783	0,75472	0,97273
15			0,00002	0,00124	0,04239	0,21464	0,73970	0,97043
20			6×10^{-7}	0,00013	0,01478	0,12851	0,66897	0,96077
25				0,00001	0,00515	0,07694	0,60501	0,95121
30				2×10^{-6}	0,00180	0,04607	0,54716	0,94174
31				1×10^{-6}	0,00146	0,04158	0,53627	0,93985
35					0,00063	0,02758	0,49484	0,93236
40					0,00022	0,01652	0,44752	0,92308
45					0,00008	0,00989	0,40473	0,91389
50					0,00003	0,00592	0,36603	0,90479
55					9×10^{-6}	0,00354	0,33103	0,89578
60					3×10^{-6}	0,00212	0,29938	0,88687
66					9×10^{-7}	0,00115	0,26537	0,87628
70						0,00076	0,24487	0,86930
75						0,00046	0,22145	0,86064
80						0,00027	0,20028	0,85208
85						0,00016	0,18113	0,84359
90						0,00010	0,16381	0,83520
95						0,00006	0,14814	0,82688
100						0,00004	0,13398	0,81865
125						3×10^{-6}	0,08106	0,77870
135						1×10^{-6}	0,06630	0,76328
150							0,04904	0,74071
175							0,02967	0,70456
200							0,01795	0,67019
225							0,01086	0,63748

230	0,00982	0,63114
250	0,00657	0,60638
275	0,00398	0,57679
300	0,00240	0,54865
325	0,00146	0,52188
350	0,00088	0,49641
375	0,00053	0,47219
400	0,00032	0,44915
425	0,00019	0,42723
450	0,00012	0,40639
475	0,00007	0,38656
500	0,00004	0,36770
685	1×10^{-6}	0,25393
1498		0,04991
2302		0,00999
6880		1×10^{-6}

PRAWDOPODOBIEŃSTWO UTRZYMANIA ALLELU W POPULACJI O
ZMIENIAJĄCEJ SIĘ N_e

W przypadku fluktuacji liczebności populacji efektywnej (N_e), całkowite prawdopodobieństwo utrzymania allelu w populacji jest iloczynem prawdopodobieństw obliczonych dla poszczególnych pokoleń. Obliczmy na przykład prawdopodobieństwo utrzymania allelu o $f = 0,01$ po 10 pokoleniach, w których N_e wynosiły:

230, 100, 200, 50, 30, 200, 10, 20, 25, 230.

Krok 1. Obliczamy dla każdego pokolenia prawdopodobieństwo utraty allelu (P) i prawdopodobieństwo utrzymania w populacji allelu, którego $f = 0,01$:

N_e	Prawdopodobieństwo	
	utruty allelu	utrzymania allelu
	zgodnie z równaniem $P = (1,0 - q)^{2N_e}$	$1,0 - P$
230	$P = (1,0 - 0,01)^{2(230)} = 0,00982$	0,99018
100	$P = (1,0 - 0,01)^{2(100)} = 0,13398$	0,86602
200	$P = (1,0 - 0,01)^{2(200)} = 0,01795$	0,98205
50	$P = (1,0 - 0,01)^{2(50)} = 0,36603$	0,63397
30	$P = (1,0 - 0,01)^{2(30)} = 0,54716$	0,45284
200	$P = (1,0 - 0,01)^{2(200)} = 0,01795$	0,98205
10	$P = (1,0 - 0,01)^{2(10)} = 0,81791$	0,18209
20	$P = (1,0 - 0,01)^{2(20)} = 0,66897$	0,33103
25	$P = (1,0 - 0,01)^{2(25)} = 0,60501$	0,39499
230	$P = (1,0 - 0,01)^{2(230)} = 0,00982$	0,99018

Krok 2. Obliczamy prawdopodobieństwo utrzymania allelu w puli genowej populacji po 10 pokoleniach hodowli. Jest to iloczyn prawdopodobieństw utrzymania allelu w poszczególnych pokoleniach:

$$\begin{aligned} \text{prawdopodobieństwo utrzymania allelu} &= (0,99018)(0,86602)(0,98205)(0,63397) \times \\ &\times (0,45284)(0,98205)(0,18209)(0,33103)(0,39499)(0,99018) = 0,00560 \end{aligned}$$

Krok 3. Obliczamy prawdopodobieństwo utraty z puli genowej populacji allelu po 10 pokoleniach hodowli, odejmując od jedności prawdopodobieństwo utrzymania allelu:

$$P = 1,0 - 0,00560 = 0,99440$$

Przykład ten ilustruje, jak szkodliwie wpływa na pulę genową populacji (zwiększając intensywność dryfu genetycznego) przejściowy, nawet jednopokoleniowy spadek N_e . Takie „wąskie gardło” (*ang. bottleneck*) może mieć bardzo długotrwały wpływ na genetyczne parametry populacji reproduktorów.

N_e populacji, której hodowlę rozpoczęto zaczynając od 10 tarłaków.

Jeśli stado hodowlane założono importując do ośrodka 10 tarlaków, a następnie przez 9 pokoleń stale utrzymywano stado 230 reproduktorów, to prawdopodobieństwo utraty allelu z puli genowej populacji po dziesiątym pokoleniu hodowli, jeśli wyjściowa frekwencja allelu wynosiła $f = 0,01$, jest następujące:

Krok 1. Obliczamy prawdopodobieństwo utraty allelu (P) i prawdopodobieństwo utrzymania w populacji allelu, którego $f = 0,01$, dla każdego pokolenia:

N_e	Prawdopodobieństwo	
	utraty allelu	utrzymania allelu
	zgodnie z równaniem $P = (1,0 - q)^{2N_e}$	$1,0 - P$
10	$P = (1,0 - 0,01)^{2(10)} = 0,81791$	0,18209
230	$P = (1,0 - 0,01)^{2(230)} = 0,00982$	0,99018

Krok 2. Obliczamy prawdopodobieństwo utrzymania allelu po 10 pokoleniach; jest to iloczyn prawdopodobieństw utrzymania allelu w kolejnych pokoleniach:

$$\text{prawdopodobieństwo utrzymania allelu} = (0,18209)[(0,99018)^9] = 0,16661.$$

Krok 3. Obliczamy prawdopodobieństwo utraty allelu (P) po 10 pokoleniach; w tym celu odejmujemy od jedności prawdopodobieństwo utrzymania allelu:

$$P = 1,0 - 0,16661 = 0,83339.$$

Całkowite prawdopodobieństwo utraty allelu z puli genowej populacji informuje o prawdopodobieństwie utraty allelu wskutek dryfu genetycznego po danej liczbie pokoleń. Jeśli allel raz zostanie utracony, liczebność N_e po tym fakcie może być największa, a frekwencja allelu i tak będzie równa zero. Raz utracony, allel może zostać wprowadzony do puli genetycznej populacji albo wskutek mutacji (niezmiernie mało prawdopodobne) albo poprzez import nowych tarlaków. To wyjaśnia, dlaczego wąskie gardło (w tym często zdarzająca się mała liczebność stada założycielskiego) na zawsze drastycznie zmniejsza zmienność genetyczną populacji.

PRZECIWDZIAŁANIE UTRACIE RZADKICH ALLELI Z PULI GENOWEJ POPULACJI ROZRODCZEJ

Żeby zminimalizować wpływ dryfu genetycznego, eliminującego z puli genowej populacji rzadkie allele, hodowca musi kierować się jakimiś zaleceniami. Wypracowanie takich zaleceń wymaga trzech założeń. Są to:

1. **frekwencja rzadkich alleli**, które zamierza się utrzymać w puli genowej populacji rozrodczej. Niektórzy (biologowie i genetycy populacyjni, pracujący nad ochroną i restauracją naturalnych populacji ryb) zalecają dążenie do utrzymania w populacji alleli o $f = 0,01$ argumentując, iż allele takie są składnikiem polimorfizmu genetycznego, a więc w tym przypadku celem jest utrzymanie loci polimorficznych w stanie polimorficznym. Inni (producenci ryb towarowych oraz ryb--przynęt wędkarskich) zalecają utrzymanie w populacji alleli o $f = 0,05$, gdyż ich zdaniem allele rzadsze tylko nieznacznie wzbogacają ogólną zmienność genetyczną i nie mają znaczenia dla produktywności towarowej gospodarstwa rybackiego. W dodatku większość rzadkich alleli została już utracona w procesie udomowienia (z wyjątkiem tych, które warunkowały lepsze dostosowanie ryb w warunkach hodowlanych i w rezultacie szybko upowszechniły się w puli genowej populacji),
2. **prawdopodobieństwo (P) utraty allelu z populacji**. W praktyce biologicznej generalnie stosuje się dwa poziomy prawdopodobieństwa: $P = 0,05$ oraz $P = 0,01$ (oznaczają one, że istnieje 5 % albo 1 % prawdopodobieństwo utraty allelu z puli genowej populacji, albo, inaczej mówiąc, 95 % albo 99 % prawdopodobieństwo utrzymania allelu w populacji),

3. **liczba pokoleń ryb**, które zostaną objęte programem hodowlanym zanim P osiągnie zakładany poziom. Kiedy ten wskaźnik zostanie określony, należy po prostu obliczyć „wstecz” stałą wartość N_e / pokolenie, która zagwarantuje uzyskanie zakładanego P dla rozważanych alleli podczas określonej liczby pokoleń.

Na przykład: hodowca chce z $P = 0,01$ utrzymać w populacji allel (1 % prawdopodobieństwo utraty allelu, czyli 99 % prawdopodobieństwo utrzymania allelu w populacji) po 10 pokoleniach, gdy frekwencja występowania allelu wynosi $f = 0,01$.

Pytanie: Jaką N_e / pokolenie należy utrzymać by osiągnąć ten cel?

Krok 1. Obliczamy prawdopodobieństwo/pokolenie utrzymania w populacji allelu, którego wielkość spowoduje że po 10 pokoleniach prawdopodobieństwo utrzymania allelu pozostanie na poziomie 0,99 ($P = 0,01$):

$$0,99 = (\text{prawdopodobieństwo/pokolenie})^{10}$$

czyli:

$$\text{prawdopodobieństwo/pokolenie} = (0,99)^{1/10} = 0,9989955$$

Krok 2. Obliczamy P /pokolenie (P), odejmując od 1,0 prawdopodobieństwo utrzymania allelu:

$$P = 1,0 - 0,9989955 = 0,0010045$$

Krok 3. Obliczamy N_e potrzebną by uzyskać $P = 0,0010045$ z równania:

$$P = (1,0 - q)^{2N_e}$$

czyli:

$$0,0010045 = (1,0 - 0,01)^{2N_e}$$

aby dokonać obliczenia N_e należy to równanie zlogarytmować:

$$\log 0,0010045 = \log (0,99)^{2N_e}$$

$$\log 0,0010045 = (2N_e)(\log 0,99)$$

$$\frac{\log 0,0010045}{\log 0,99} = 2N_e$$

$$2N_e = \frac{-2,9980377}{-0,0043648} = 686,867$$

$$N_e = \frac{686,867}{2} = 343,43 \approx 344$$

Tak więc trzeba stałej N_e równej 344 / pokolenie by uzyskać $P = 0,01$ (1 % prawdopodobieństwo utraty allelu i jednocześnie 99 % prawdopodobieństwo utrzymania w populacji allelu) po 10 pokoleniach, jeśli wyjściowa frekwencja allelu wynosiła $f = 0,01$. Stałe liczebności N_e potrzebne do uzyskania $P = 0,05$ i $0,01$ dla alleli o frekwencjach $f = 0,05$ i $0,01$ po rozmaitej liczbie pokoleń są zestawione w Tabeli 5.

Tabela 5. Efektywna liczebność populacji na pokolenie (N_e) potrzebna do zapewnienia $P = 0,01$ oraz $0,05$ po rozmaitej liczbie pokoleń dla alleli o $f = 0,05$ oraz $0,01^a$ (Tave 1986).

Liczba pokoleń	$f = 0,05$		$f = 0,01$	
	$P = 0,05$	$P = 0,01$	$P = 0,05$	$P = 0,01$
1	30	45	150	230
5	45	61	229	309
10	52	68	263	344
15	56	72	283	364
20	59	75	297	378
25	61	77	308	390
30	63	78	318	399
35	64	80	325	406
40	65	81	332	413
45	67	82	338	419
50	68	83	343	424
75	72	87	363	444
100	74	90	377	458

^a efektywne liczebności populacji rozrodzkiej zostały zaokrąglone do kolejnej liczby całkowitej.

Nie ma uniwersalnej N_e , którą można by zalecić do realizacji każdego rybackiego programu hodowlanego. Większość producentów ryb towarowych powinno utrzymywać N_e pomiędzy 68 a 90. Stała N_e równa 68 jest wystarczająca w krótkotrwałych programach hodowlanych (≤ 10 pokoleń), gdyż taka liczebność populacji efektywnej zapewnia $P = 0,01$ dla allelu o $f = 0,05$ po 10 pokoleniach. Stała $N_e = 90$ powinna wystarczyć w długotrwałej pracy hodowlanej (≥ 10 pokoleń), gdyż zapewnia $P = 0,01$ dla allelu o $f = 0,05$ po 100 pokoleniach.

Hodowcy którzy utrzymują standardowe (wzorcowe) linie hodowlane powinni próbować utrzymać N_e pomiędzy 263 a 344/pokolenie. Stała N_e równa 263 powinna wystarczyć w przypadku krótkotrwałych programów (≤ 10 pokoleń), gdyż zapewnia $P = 0,005$ /pokolenie i po 10 pokoleniach P wyniesie 0,05. N_e równa 344 jest bardziej odpowiednia w przypadku programów długotrwałych (≥ 10 pokoleń), gdyż zapewnia $P = 0,001$ /pokolenie i dla allelu o $f = 0,01$ po 10 i 51 pokoleniach hodowli ryb P wyniesie odpowiednio 0,01 i 0,05.

W przypadku programów hodowlanych, w których wyniku ryby będą uwalniane do środowiska naturalnego (oraz w programach typu „ocean ranching”), efektywna liczebność populacji reproduktorów powinna wynosić co najmniej 424/pokolenie. Tak wysoka N_e jest zalecana z dwóch powodów: po pierwsze jednym z najważniejszych (jeśli nie najważniejszym) celów programu powinno być zachowanie jak największej zmienności genetycznej populacji. Hodowane ryby mają być wypuszczane do naturalnego środowiska i nikt nie wie, które allele wzmacniają ich przeżywalność albo które allele najlepiej „preadaptują” je do nieustannych zmian środowiskowych. Utrata zmienności genetycznej w wyniku dryfu genetycznego może być głównym powodem, dla którego tak trudno jest odtworzyć naturalne zasoby ryb na drodze programów hodowlanych. Po drugie, planując program hodowlany ichtiolog musi uwzględnić długotrwałe gospodarowanie zasobami stada rozrodczego, przy czym 50 pokoleń to rozsądne minimum, jako że program trwa wówczas od około 50 do ponad 200 lat. Stała $N_e = 424/\text{pokolenie}$ zapewnia $P = 0,01$ i $0,05$ w przypadku alleli o $f = 0,01$ odpowiednio po 50 i po 257 pokoleniach.

Idealna N_e dla takich programów to 685/pokolenie, ponieważ gwarantuje ona, że allel którego $f = 0,01$ nie zostanie utracony z puli genowej populacji rozrodczej. Stała $N_e = 685$ zapewni $P = 1 \times 10^{-6}$ /pokolenie dla alleli o $f = 0,01$.

Oczywiście w przypadku tego rodzaju programów byłoby idealnie, gdyby można było utrzymać allele rzadsze niż 0,01, jednak N_e konieczna dla utrzymania takich alleli byłaby tak olbrzymia, iż niemal nieosiągalna. Na przykład N_e konieczna do utrzymania w populacji allelu o $f = 0,001$ przy $P = 0,05$ dla jednego pokolenia wynosi 1498. Jak widać, praktycznie nie jest możliwe utrzymanie w populacji allelu rzadszego niż 0,01.

Trudno sobie wyobrazić by udało się w ośrodku hodowlanym utrzymać wymaganą minimalną N_e na stałym poziomie we wszystkich kolejnych pokoleniach programu. Fluktuacje N_e wskutek chorób, zaburzeń przebiegu tarła itp. zredukują czasami N_e do poziomu niższego niż zakładany. Jeśli program zakłada utrzymanie w populacji alleli o $f = 0,05$, wówczas dopuszczalnym wąskim gardłem byłoby $N_e = 30$, gdyż zapewniałoby ono $P = 0,05$ w ciągu jednego pokolenia. Lepiej byłoby utrzymać wąskie gardło na poziomie nie niższym niż $N_e = 45$, co zapewnia $P = 0,01$ w ciągu jednego pokolenia. Jeśli program zakłada utrzymanie alleli o $f = 0,01$, wówczas dopuszczalnym minimum byłoby $N_e = 150$, co zapewnia $P = 0,05/\text{pokolenie}$ dla allelu o $f = 0,01$. Jeśli N_e spadłoby poniżej 150, wówczas P przekroczy $0,05/\text{pokolenie}$ i prawdopodobieństwo utrzymania allelu w populacji spadnie poniżej 95 % na pokolenie.

Zalecane liczebności populacji efektywnej, które miałyby zabezpieczyć stado rozrodcze przed szkodliwymi skutkami dryfu genetycznego, to

oczywiście tylko wskazówki. Najważniejsza jest tu znajomość przedstawionych procedur: jeśli znamy procedury możemy dążyć do utworzenia własnej wizji N_e na podstawie postawionych sobie celów hodowlanych i znajomości uwarunkowań technicznych i ekonomicznych.

Co można zrobić gdy N_e populacji niebezpiecznie spadła (albo wiadomo że zdarzył się taki spadek w przeszłości)? Jediną radą jest nabycie nowego stada rozrodczego. Jeśli do tego dojdzie, trzeba się upewnić czy N_e stada nie przeszła przez „wąskie gardło”. Mimo pozornej prostoty tej recepty, „lekarstwo” jest zazwyczaj trudne do przełknięcia. Wielu ichtiologów obawia się wprowadzenia nowego stada rozrodczego z powodu możliwości zawleczenia nowych (dla gospodarstwa) chorób. Choroby są widoczne i zrozumiałe, natomiast dryfu genetycznego nie widać. Co więcej, ośrodki rozradzające gatunki zagrożone wyginięciem albo gatunki restaurowane, często po prostu nie mają skąd wziąć kolejnej partii reproduktorów.

Kiedy nie stosuje się żadnego programu selekcyjnego (selekcja bez selekcji) można używać dwóch systemów krzyżowania: losowego lub liniowego. W akwakulturze używa się głównie krzyżowania losowego.

PRZECIWDZIAŁANIE ZINBREDOWANIU STADA POPRZEZ ZAPEWNIENIE RÓWNEJ LICZBY SAMIC I SAMCÓW

KRZYŻOWANIE LOSOWE

Jeśli sytuacja wymaga zwiększenia N_e (generalnie jest to zawsze korzystne) a hodowca obawia się importowania reproduktorów (na przykład z powodu ewentualności zawleczenia czynników chorobotwórczych), należy przede wszystkim zadbać o to, by do tarła brać takie same liczby samic i samców.

Zależność między liczbą samców i samic i stopniem zinbredowania określana jest wzorem:

$$F = \frac{1}{8 \text{ (liczba samic)}} + \frac{1}{8 \text{ (liczba samców)}}$$

gdzie liczba samic i samców to liczby reproduktorów, które rzeczywiście dały początek nowemu pokoleniu (pozostawiły po sobie żywotne potomstwo).

Gdy populacje rozrodcze są niewielkie (o niskiej liczebności) to zachwiana równowaga między liczbą samic i samców może drastycznie zwiększyć stopień zimbredowania (F)(Rysunek 3).

Przykład:

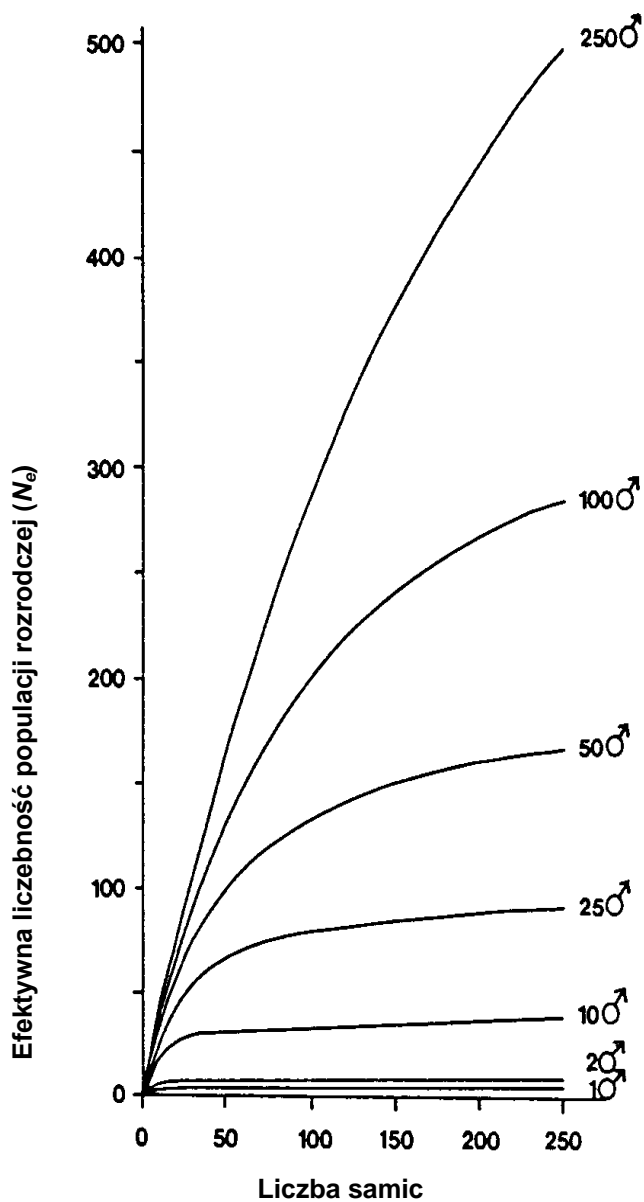
populacja I składa się z 25 samic i z 25 samców (ogółem 50 tarlaków)

$$F = 1/8(25) + 1/8(25) = 1 \% \text{ na pokolenie,}$$

populacja II składa się z 250 samic i z 10 samców (ogółem 260 tarlaków)

$$F = 1/8(250) + 1/8(10) = 1,3 \% \text{ na pokolenie}$$

Populacja II to ponad 5 razy więcej osobników niż populacja I, ale N_e populacji I wynosi 50, podczas gdy w populacji II „tylko” 38,5. W rezultacie zimbredowanie (F) populacji II jest o 30 % większe niż populacji I (wyłącznie z powodu nierównej liczebności osobników obu płci). Tabela 6 dostarcza danych o stopniu zimbredowania, wywoływanym podczas jednego pokolenia wskutek wzięcia do rozrodu rozmaitych liczb reproduktorów obu płci.



Rysunek 3. Efektywna liczebność populacji uzyskiwana w rezultacie losowego krzyżowania rozmaitych kombinacji liczb samic i samców. W obliczeniach założono, iż każdy reproduktor pozostawia po sobie tę samą liczbę potomstwa następnego pokolenia (Tave 1986).

Tabela 6. Procent zimbredowania podczas jednego pokolenia w populacji o losowym krzyżowaniu się reproduktorów ^a (Tave 1986).

Liczba samic	Liczba samców																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250	∞
1	25,00	18,75	16,67	15,62	15,00	14,58	14,29	14,06	13,89	13,75	13,12	13,00	12,75	12,67	12,62	12,60	12,58	12,57	12,56	12,56	12,55	12,50
2	18,75	12,50	10,42	9,38	8,75	8,33	8,04	7,81	7,64	7,50	6,88	6,75	6,50	6,42	6,38	6,35	6,33	6,32	6,31	6,31	6,30	6,25
3	16,67	10,42	8,33	7,29	6,67	6,25	5,95	5,73	5,56	5,42	4,79	4,67	4,42	4,33	4,29	4,27	4,25	4,24	4,23	4,22	4,22	4,17
4	15,62	9,38	7,29	6,25	5,62	5,21	4,91	4,69	4,51	4,38	3,75	3,62	3,38	3,29	3,25	3,22	3,21	3,20	3,19	3,18	3,18	3,12
5	15,00	8,75	6,67	5,62	5,00	4,58	4,29	4,06	3,89	3,75	3,12	3,00	2,75	2,67	2,62	2,60	2,57	2,56	2,56	2,56	2,55	2,50
6	14,58	8,33	6,25	5,21	4,58	4,17	3,87	3,65	3,47	3,33	2,71	2,58	2,33	2,25	2,21	2,18	2,17	2,15	2,15	2,14	2,13	2,08
7	14,29	8,04	5,95	4,91	4,29	3,87	3,57	3,35	3,17	3,04	2,41	2,29	2,04	1,95	1,91	1,89	1,87	1,86	1,85	1,84	1,84	1,79
8	14,06	7,81	5,73	4,69	4,06	3,65	3,35	3,12	2,95	2,81	2,19	2,06	1,81	1,73	1,69	1,66	1,65	1,63	1,62	1,62	1,61	1,56
9	13,89	7,64	5,56	4,51	3,89	3,47	3,17	2,95	2,78	2,64	2,01	1,89	1,64	1,56	1,51	1,49	1,47	1,46	1,45	1,44	1,44	1,39
10	13,75	7,50	5,42	4,38	3,75	3,33	3,04	2,81	2,64	2,50	1,88	1,75	1,50	1,42	1,38	1,35	1,33	1,32	1,31	1,31	1,30	1,25
20	13,12	6,88	4,79	3,75	3,12	2,71	2,41	2,19	2,01	1,88	1,25	1,12	0,88	0,79	0,75	0,72	0,71	0,70	0,69	0,68	0,68	0,62
25	13,00	6,75	4,67	3,62	3,00	2,58	2,29	2,06	1,89	1,75	1,12	1,00	0,75	0,67	0,62	0,60	0,58	0,57	0,56	0,56	0,55	0,50
50	12,75	6,50	4,42	3,38	2,75	2,33	2,04	1,81	1,64	1,50	0,88	0,75	0,50	0,42	0,38	0,35	0,33	0,32	0,31	0,31	0,30	0,25
75	12,67	6,42	4,33	3,29	2,67	2,25	1,95	1,73	1,56	1,42	0,79	0,67	0,42	0,33	0,29	0,27	0,25	0,24	0,23	0,22	0,22	0,17
100	12,62	6,38	4,29	3,25	2,62	2,21	1,91	1,69	1,51	1,38	0,75	0,62	0,38	0,29	0,25	0,22	0,21	0,20	0,19	0,18	0,18	0,12
125	12,60	6,35	4,27	3,22	2,60	2,18	1,89	1,66	1,49	1,35	0,72	0,60	0,35	0,27	0,22	0,20	0,18	0,17	0,16	0,16	0,15	0,10
150	12,58	6,33	4,25	3,21	2,58	2,17	1,87	1,65	1,47	1,33	0,71	0,58	0,33	0,25	0,21	0,18	0,17	0,15	0,15	0,14	0,13	0,08
175	12,57	6,32	4,24	3,20	2,57	2,15	1,86	1,63	1,46	1,32	0,70	0,57	0,32	0,24	0,20	0,17	0,15	0,14	0,13	0,13	0,12	0,07
200	12,56	6,31	4,23	3,19	2,56	2,15	1,85	1,62	1,45	1,31	0,69	0,56	0,31	0,23	0,19	0,16	0,15	0,13	0,12	0,12	0,11	0,06
225	12,56	6,31	4,22	3,18	2,56	2,14	1,84	1,62	1,44	1,31	0,68	0,56	0,31	0,22	0,18	0,16	0,14	0,13	0,12	0,11	0,11	0,06
250	12,55	6,30	4,22	3,18	2,55	2,13	1,84	1,61	1,44	1,30	0,68	0,55	0,30	0,22	0,18	0,15	0,13	0,12	0,11	0,11	0,10	0,05
∞	12,50	6,25	4,17	3,12	2,50	2,08	1,79	1,56	1,39	1,25	0,62	0,50	0,25	0,17	0,12	0,10	0,08	0,07	0,06	0,06	0,05	0,00

^a Podano wartości zimbredowania przy założeniu, iż każdy reproduktor pozostawia po sobie taką samą liczbę żywego potomstwa. Wartości zaokrąglano do najbliższej setnej.

KRZYŻOWANIE RODOWODOWE.

Efektywną liczebność populacji N_e można maksymalizować, zmieniając system kojarzenia tarlaków z losowego na krzyżowanie rodowodowe. Krzyżowanie rodowodowe polega na tym, że każda samica pozostawia po sobie jedną córkę, a każdy samiec jednego syna, które wejdą w skład stada rozrodczego następnego pokolenia. Samiec kojarzony z wieloma samicami pozostawia po sobie tyluż synów co samiec skojarzony tylko z jedną samicą--jednego syna, itd. Synowie i córki są wybierani losowo z każdej rodziny. Taki system kojarzenia może podwoić N_e bez zwiększania liczebności populacji rozrodczej, gdyż w tym przypadku N_e jest określana wzorem:

$$N_e = \frac{16 (\text{♀})(\text{♂})}{3(\text{♀}) + (\text{♂}) \text{ albo } (\text{♀}) + 3(\text{♂})}$$

Jeśli w stadzie jest więcej samic, podstawia się mianownik $3(\text{♀}) + (\text{♂})$; jeśli jest więcej samców wówczas podstawia się mianownik $(\text{♀}) + 3(\text{♂})$. Efektywna liczebność populacji rozrodczej zwiększa się w wyniku stosowania krzyżowania rodowodowego, gdyż hodowca „sztucznie” zwiększa zmienność genetyczną, zapewniając iż genom każdego reproduktora jest reprezentowany wśród ryb następnego pokolenia.

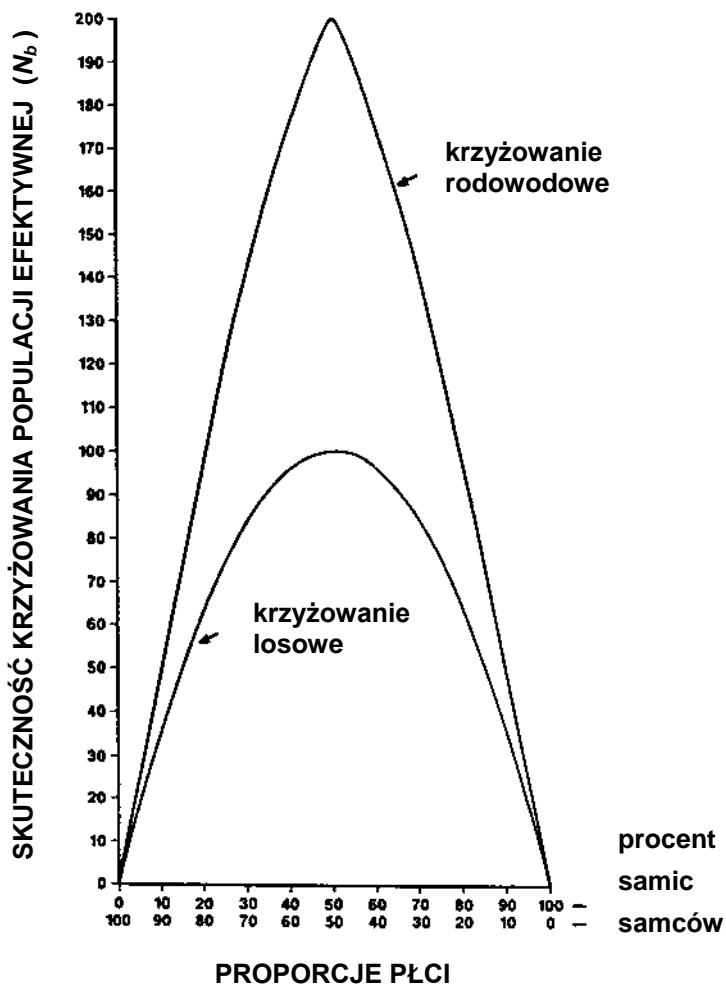
Jedynym problemem jest fakt, iż hodowca musi zidentyfikować każdą rybę indywidualnie. Mimo iż znamy dziś liczne systemy znakowania ryb, większość ośrodków hodowlanych nie jest w stanie poznać wszystkich reproduktorów albo izolować od siebie rodziny ryb do czasu, gdy ryby mogą zostać poznakowane.

Gdy nie można wymienić populacji reproduktorów ani zwiększyć jej liczebności, jedynym sposobem zwiększenia produktywności jest albo zmiana stosunku liczebności ryb obu płci, albo przestawienie się na system krzyżowania rodowodowego. Miarą korzyści wynikających z takiego postępowania jest skuteczność krzyżowania populacji efektywnej (ang. *effective breeding efficiency*):

$$N_b = \frac{N_e}{N}$$

Gdzie N_b to skuteczność krzyżowania populacji efektywnej a N to liczebność populacji reproduktorów.

Wobec ograniczeń określonych daną liczebnością populacji N , N_b umożliwia określenie efektywności z jaką przyjęta proporcja płci tarlaków maksymalizuje N_e w porównaniu do innych proporcji liczebności obu płci. Rysunek 4 ilustruje N_b przy wszystkich możliwych proporcjach liczebności płci zarówno dla programu krzyżowań losowych jak i rodowodowych. Na przykład, jeśli hodowca pstrągów bierze do tarła 90 samic oraz 10 samców pstrąga tęczowego i krzyżuje je losowo, to N_b wynosi 36 %. Zmieniając proporcje płci na 70 samic i 30 samców zwiększy N_b do 84 %. Tak więc proporcja płci 70:30 jest 2,3 razy bardziej efektywna w maksymalizowaniu N_e , a zimbredowanie będzie wynosiło tylko 42 % obserwowanego przy poprzedniej proporcji płci. Wskaźniki te dowodzą że hodowca może zastosować inną niż 50:50 proporcję płci by optymalizować produkcję narybku, z tym że jeśli stara się poprawić proporcje płci wówczas może uzyskać konkretną, wymierną poprawę N_e .



Rysunek 4. Skuteczność krzyżowania populacji efektywnej (N_b) przy rozmaitych liczebnościach samic i samców, krzyżowanych w systemem losowym oraz w systemie rodowodowym (Tave 1986).

Skuteczność krzyżowania populacji efektywnej może dostarczyć hodowcy narzędzia do oceny, czy działa właściwie w ramach ograniczeń narzuconych przez warunki ośrodka hodowlanego. Na przykład, jeśli stosowane jest krzyżowanie losowe to proporcje płci 55:45 wywołują N_b równe 99 %. W tej sytuacji może nie warto inwestować wysiłku w zmianę proporcji płci na 50:50 by uzyskać N_b równe 100 %. Parabola na Rysunku 4 wskazuje, iż działania w celu zmiany proporcji płci bardziej niezrównoważonych niż 60:40 spowodują znaczną poprawę sytuacji, podczas gdy działania w celu zmiany proporcji płci mniej niezrównoważonych niż 60:40 dadzą znacznie mniejszy postęp w optymalizacji procesu krzyżowania.

Rysunek 4 ilustruje także korzyści wynikające z przestawienia się na program krzyżowania rodowodowego. Proporcje płci 79:21 przy krzyżowaniu rodowodowym zapewniają wyższe N_b niż proporcja płci 50:50 przy krzyżowaniu losowym. Tak więc w ramach danej liczebności populacji, stosowanie krzyżowania rodowodowego umożliwi osiągnięcie wyższego N_b niż osiągalne w przypadku krzyżowania losowego. W krzyżowaniu rodowodowym można nawet osiągnąć N_b równe 200 % (przy proporcji ryb obu płci 50:50).

Trzeba tu przypomnieć, że wszystko co można osiągnąć manewrując proporcjami płci w stadzie reproduktorów to przeciwdziałanie pogłębianiu się zinebredowania i dryfu genetycznego. Zabiegi te oczywiście nie rekonstruują uszkodzonej puli genetycznej. Jedyną radą w przypadku wystąpienia problemów wynikających z ograniczeń liczebności stada lub wąskiego gardła jest nabycie nowego stada rozrodczego i zastąpienie nim dotychczasowego stada reproduktorów, albo przekrzyżowanie nabytego stada z dotychczasowym.

ZARYS POPULACYJNEJ GENETYKI PSTRĄGA POTOKOWEGO

Jak wszystkie łososiowate, pstrąg potokowy należy do gatunków bardzo wrażliwych na niekorzystne zmiany środowiska. Zanieczyszczenia wód oraz ograniczenia dostępności odpowiednich tarlisk spowodowały, iż dla podtrzymania liczebności populacji tego gatunku w wielu krajach uruchomiono intensywne programy zarybieniowe.

Ryby łososiowate wykazują wyraźną genetyczną strukturę populacji. W licznych badaniach udowodniono, iż poszczególne stada zasiedlające odrębne systemy wodne, rzeki, a nawet ich części, niejednokrotnie charakteryzowały się unikatowymi pulami genetycznymi. Stada te z jednej strony wykazywały wysoki stopień polimorfizmu genetycznego, jednocześnie poszczególne stada charakteryzowały się wyraźną odrębnością genetyczną. Przypuszcza się, iż większość naturalnych stad pstrąga potokowego powstała w rezultacie genetycznego różnicowania się poszczególnych grup ryb, w miarę jak gatunek zasiedlał zamieszkiwane obecnie wody w okresach następujących po kolejnych zlodowaceniach. W większości przypadków silnie wyrażona genetyczna odrębność poszczególnych stad pstrąga wiąże się z faktem ich adaptacji do lokalnych warunków środowiskowych. W tej sytuacji jednym z największych zagrożeń z genetycznego punktu widzenia jest mimowolne niszczenie odrębności genetycznej poszczególnych stad poprzez ich dorybienie materiałem pochodzącym z wieloletniego chowu w wylęgarniach i ośrodkach zarybieniowych. Materiał taki często od tarlaków złowionych w różnych rzekach lub pozyskanych z innych wylęgarni, jest, więc często genetycznie „homogenizowany”. Poza tym są to zazwyczaj ryby do pewnego stopnia udomowione, gorzej od ryb dzikich przystosowane do lokalnych warunków środowiskowych, gdyż w większości przypadków ich genotypy są odmienne od optymalnych dla lokalnego stada ryb.

Obecnie coraz mocniej uświadamiamy sobie możliwe konsekwencje szeroko zakrojonych „manipulacji genetycznych”, którym podlegają liczne populacje ryb łososiowatych, łososiowatych, które powodowane są mimowolnie przez człowieka podczas realizacji intensywnych programów zarybieniowych. Przede wszystkim systematyczne dorybienie stada może pro-

wadzić do całkowitej wymiany dzikich ryb lokalnych przez pochodzące z ośrodka zarybieniowego. Przykładem negatywnego wpływu „dorybiania” było wpuszczanie do dorzecza troci pomorskich. Działania te, w połączeniu z przegrodzeniem Wisły i pogorszeniem się warunków środowiska, spowodowały obniżenie średniej masy troci poławianych w Wiśle oraz dominację troci wstępujących do Wisły w lecie.

Jeśli dodatkowo ryby pochodzące z jednego dużego ośrodka zarybieniowego używane są do dorybiania licznych stad lokalnych, wówczas ich pula genetyczna ujednocila pule genetyczne zarybianych stad w taki sam sposób, w jaki następuje wymieszanie pul genetycznych wskutek intensywnej wymiany (migracji) osobników pomiędzy stadami. W licznych badaniach udowodniono, iż stosunkowo znikoma intensywność migracji pomiędzy poszczególnymi stadami łososiowatych, wyrażająca się przeciętną wymianą jednego osobnika na populację na pokolenie, może skutecznie obniżać genetyczną odrębność stad, między którymi taka migracja zachodzi.

Należy przypuszczać, iż dorybianie stosunkowo nielicznymi genetycznie ujednorodnionymi rybami hodowlanymi przyczyni się do ujednoczenia pul genetycznych dorybianych stad naturalnych. Może to zagrozić dalszemu istnieniu unikatowości genetycznej poszczególnych populacji. Wreszcie jednym z najistotniejszych jest fakt, iż ryby chowane w ośrodkach zarybieniowych przystosowują się do zupełnie innych warunków środowiskowych niż te, które panują w wodach naturalnych. Mimowolna selekcja, której doświadczają kolejne pokolenia ryb hodowlanych, zawsze powoduje pewien stopień ich udomowienia. Poza wieloma innymi czynnikami, jak liczebność efektywna tarlaków, nierównowaga liczebności samic i samców branych do rozrodu, nierzadko mogą być przypadki świadomego lub mimowolnego wybierania do rozrodu ryb największych i dojrzewających w wygodnym dla hodowcy terminie. Wszystkie te i wiele innych zjawisk stwarzają potencjalne zagrożenia dla jakości puli genetycznej oraz dla stopnia przystosowania ryb hodowlanych do warunków panujących w wodach naturalnych.

Jednym z kluczowych problemów jest stwierdzenie, na ile ryby pochodzące z ośrodków hodowlanych krzyżują się w procesie rozrodu z tarlakami należącymi do lokalnych, dziko żyjących stad. W wyniku licznych badań wykazano, iż stopień krzyżowania się ryb udomowionych z dzikimi wykazuje wielkie wahania. Opisano przypadki całkowitych niepowodzeń na-

wet intensywnych zarybień, co oznacza iż ryby pochodzące z chowu były całkowicie nieprzystosowane do lokalnych warunków środowiskowych. W rezultacie badania puli genetycznej lokalnej populacji nie wykazało domieszki genów charakterystycznych dla populacji hodowlanej. Z drugiej strony niejednokrotnie wykazano rozmaity (aż do masowego) stopień krzyżowania się ryb hodowlanych z lokalnymi rybami dziko żyjącymi. W wielu przypadkach krzyżowanie się ryb lokalnych z tymi, które pochodzą z zarybienia a więc z rybami częściowo udomowionymi, może oznaczać generalne „rozcieńczenie” lokalnej, unikatowej puli genetycznej stada i ogólne obniżenie jego przystosowania do warunków środowiskowych (rys.2).

Reasumując, „wymieszanie” pul genowych populacji naturalnych i hodowlanych może doprowadzać do zniszczenia unikatowości genetycznej lokalnej populacji, do utraty zmienności genetycznej dorybianych stad a także do utraty szczególnych kombinacji genotypowych, które potencjalnie mogłyby decydować o przystosowaniu lokalnych populacji ryb do warunków środowiskowych panujących w zasiedlanych przez nie rzekach. Zabiegi restytucyjne powinny uwzględniać genetyczną niepowtarzalność poszczególnych populacji ryb i przede wszystkim winny być ukierunkowane na poprawę warunków środowiskowych. Tam gdzie zarybianie jest rzeczywiście niezbędne, należy dążyć do dorybiania populacji materiałem, który jest potomstwem lokalnych ryb dziko żyjących.

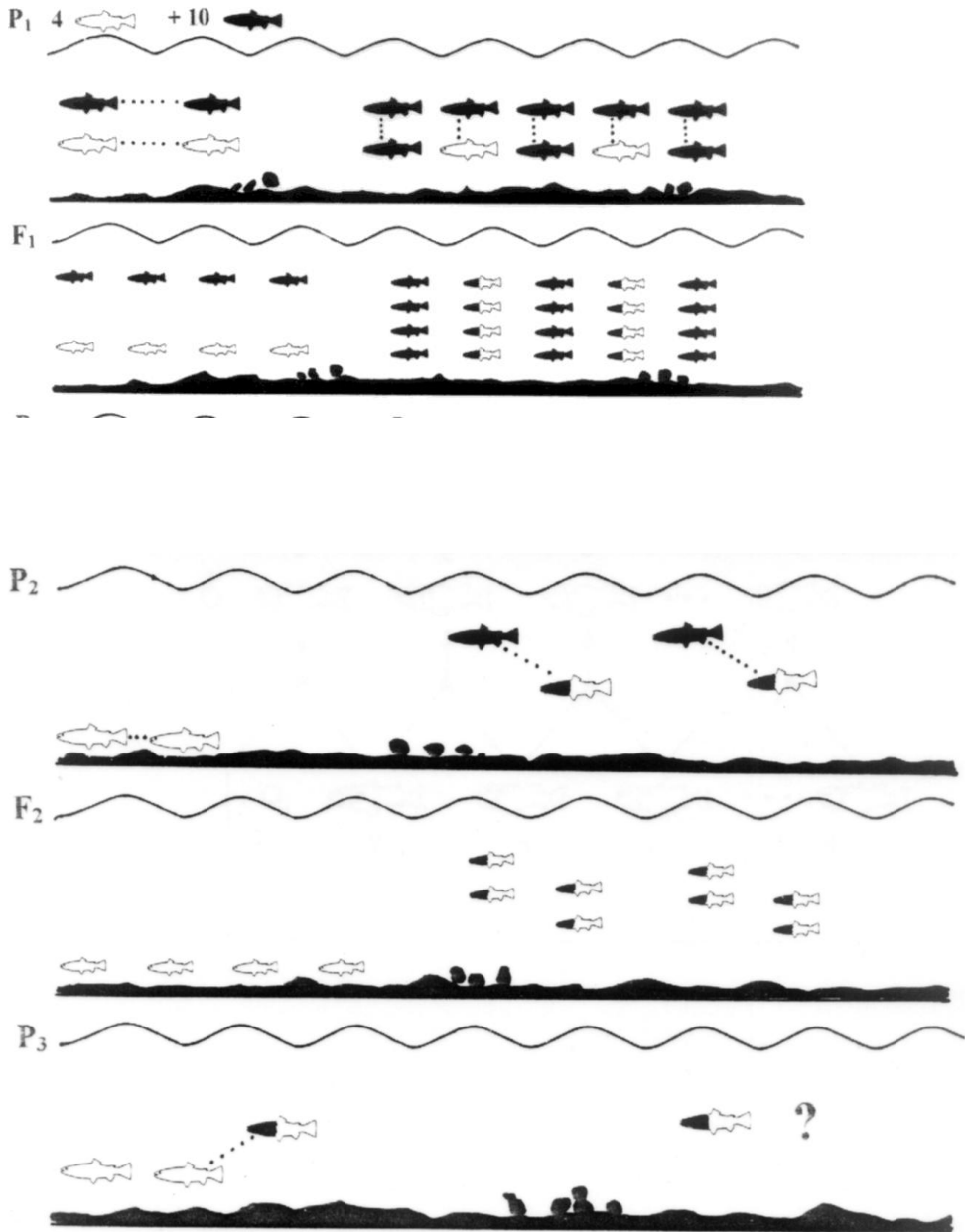
Rysunek 5 ilustruje potencjalne skutki wprowadzania do naturalnego środowiska ryb hodowlanych od dłuższego czasu w warunkach hodowlanych, więc w pewnym stopniu udomowionych³. Reproduktry linii introdukowanej przystępują do rozrodu, a niektóre z nich krzyżują się z rybami lokalnymi, w rezultacie, czego powstaje trzecia kategoria genetyczna: hybrydy między rybami lokalnymi a introdukowanymi. W modelu tym, w wyniku rozrodu 4 ryb rodzicielskich (P) rozwija się w każdym przypadku 8 ryb potomnych (F). Ryby lokalne są dobrze przystosowane do warunków naturalnych i charakteryzują się wysoką przeżywalnością, dzięki czemu liczebność ich populacji utrzymywał się przed dorobieniem na stałym poziomie (4 $P_1 \rightarrow 8F_1 \rightarrow 4 P_2 \rightarrow$ itd). Ryby udomowione są źle przystosowane do warunków naturalnych, a ich przeżywalność jest tak niska, iż z ośmiu sztuk

³ Więcej informacji na temat udomowienia można znaleźć w książce „Gospodarowanie stadami rozrodczymi naturalnych i hodowlanych populacji ryb – podstawy genetyki ilościowej” autorstwa Fopp, Łuczyński, Jankun 2010.

narybku wyrasta tylko jeden tartak ($4 P_1 \rightarrow 8F_1 \rightarrow 1 P_2 \rightarrow \text{itd}$). Przystosowanie i przeżywalność hybrydów między rybami lokalnymi a introdukowanymi przyjmuje wartości pośrednie między charakterystycznymi dla organizmów rodzicielskich ($4 P_1 \rightarrow 8F \rightarrow 2 P_2 \rightarrow \text{itd}$). Jednokrotnie dorobienie („populacji” 4 osobników lokalnych 10 osobnikami introdukowanymi) doprowadziło do utworzenia się w okresie rozrodu par ryb rodzicielskich (linie kropkowane), przy czym część ryb lokalnych wytarła się z introdukowanymi partnerami z wytworzeniem hybrydowego potomstwa F_1 . Wobec zróżnicowanego przystosowania i przeżywalności ryb o różnych genotypach, z czterech sztuk narybku- potomstwa ryb dzikich, wyrosły dwa tarlaki o genotypie lokalnym, z ośmiu sztuk hybrydów rozwinęły się dwa tarlaki o genotypie hybrydowym, a z 16 sztuk narybku o genotypie hodowlanym rozwinęły się również tylko dwa tarlaki. Po odbyciu drugiego tarła (P_2) rozwinęły się już tylko nieliczne osobniki potomne (F_2), a cała populacja, której liczebność przed dorobieniem była ustabilizowana na niskim, ale stałym poziomie, została zagrożona całkowitym wyginięciem już po odbyciu trzeciego tarła (P_3). Trzeba podkreślić, iż dla celów poglądowych różnice przystosowań ryb o różnych genotypach zostały w tym modelu drastycznie uwypuklone.

Rysunek 5. Uproszczony model potencjalnych skutków dorybienia dzikożyjącej populacji naturalnej (ryby lokalne) materiałem udomowionym (ryby introdukowane), pochodzącym ze stada rozrodczego chowanego przez wiele pokoleń w ośrodku hodowlanym. Szczegółowy opis w tekście.

Lokalne		$4 P_1 \rightarrow 8 F_1 \rightarrow 4 P_2 \dots$
Introdukowane		$4 P_1 \rightarrow 8 F_1 \rightarrow 1 P_2 \dots$
Hybrydy		$4 P_1 \rightarrow 8 F_1 \rightarrow 2 P_2 \dots$



PODSUMOWANIE

Można sformułować pewne ogólne zalecenia dla hodowców ryb w zależności od cech prowadzonej hodowli. W hodowlach komercyjnych należy dbać przede wszystkim o to, aby stopień zimbredowania stada tarłowego nie przekroczył niebezpiecznego poziomu. Należy utrzymywać taką wielkość populacji efektywnej (N_e) stada tarłowego, które pozwoli uniknąć objawów depresji inbredowej. Korzystne może być też utrzymywanie 2-3 hodowlanych linii wsobnych i krzyżowanie ich ze sobą wartościowej ryby towarowej o współczynniku inbredu $F=0^4$.

W przypadku hodowli nastawionych na produkcję materiału zarybieniowego do wód otwartych (reintrodukcja oraz wspieranie wymierających populacji naturalnych określonego gatunku) wymagania w stosunku do stada tarłowego są znacznie bardziej restrykcyjne. Nie wystarczy tylko utrzymanie zimbredowania stada poniżej pewnego poziomu, ale również niezbędne jest przeciwdziałanie skutkom dryfu genetycznego. Stawia to hodowcom znacznie większe wymagania w stosunku do wielkości populacji efektywnej (N_e). Podejmując wyzwanie związane z restytucją (reintrodukcją) jakiegoś gatunku ryb w wodach otwartych, najlepiej byłoby utworzyć od razu minimum dwa niezależne stada tarłowe tego gatunku dwóch różnych ośrodkach hodowlanych. Materiał założycielski powinien pochodzić najlepiej z dwóch różnych źródeł. W każdym stadzie tarłowym należy dbać o właściwą, optymalną wartość N_e . Takie założenia na samym początku programu restytucji danego gatunku dają w przyszłości możliwość ewentualnej rekonstrukcji uszkodzonej na przykład przez choroby, puli genetycznej któregoś ze stad tarłowych, poprzez powtórne wprowadzenie utraconych alleli genów z drugiego stada. Przykład pstrąga potokowego pokazuje również, jak wielką ostrożność należy wykazywać w przypadku „wspierania” naturalnej populacji poprzez dorybianie materiałem wyhodowanym w ośrodku hodowlanym. Zabiegi takie zamiast pomóc mogą nawet zaszkodzić rodzimej populacji ryb.

Literatura (zbiorcza)

Davis, R.H., Jr. 1976. Evaluation of growth of inbred lines and their F_1 hybrids in brook trout, *Salvelinus fontinalis*, brown trout, *Salmo trutta*, and rain-

⁴ Więcej informacji na ten temat można znaleźć w książce „Gospodarowanie stadami rozrodczymi naturalnych i hodowlanych populacji ryb – podstawy genetyki ilościowej” autorstwa Fopp, Łuczynski, Jankun 2010.

bow trout, *Salmo gairdneri*. Doctoral Dissertation, Pennsylvania State University, University Park, PA, USA.

Dunham, R.A., R.O. Smitherman. 1983. Response to selection and realized heritability for body weight in three strains of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, grown in earthen ponds. *Aquaculture* 33: 89-96.

Dunham, R.A., R.O. Smitherman. 1985. Improved growth rate, reproductive performance, and disease resistance of crossbred and selected catfish from AU-M and AU-K lines. Circular 279. Alabama Agricultural Experimental Station, Auburn University, Alabama, U.S.A.

Gjedrem, T. 1979. Selection for growth rate and domestication in Atlantic salmon. *Z. Tierz. Züchtungsbiol.* 96: 56-59.

Hallerman, E.M. [editor]. 2003. Population Genetics: Principles and Applications for Fisheries Scientists. American Fisheries Society; Bethesda, Maryland. 458 stron.

Hartl, D.L. 1980. Principles of Population Genetics. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, 488 stron.

Hartl, D.L., A.G. Clark. 1989. Principles of Population Genetics. Sinauer Association, Inc., Sunderland, Massachusetts. 682 strony.

Hulata, G., G. Wohlfarth, S. Rothbard. 1983. Progeny-testing selection of tilapia broodstocks producing all-male hybrid progenies – preliminary results. *Aquaculture* 33: 263-268.

Kapuscinski, A.R., L.D. Jacobson. 1987. Genetic guidelines for fisheries management. Minnesota Sea Grant. Minneapolis, University of Minnesota, 66 stron.

Kincaid, H.L., W.R. Bridges, B. von Limbach. 1977. Three generations of selection for growth rate in fall-spawning rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society* 106: 621-628.

Kincaid, H.L. 1976a. Effects of inbreeding of rainbow trout populations. *Transactions of the American Fisheries Society* 105: 273-280.

Kincaid, H.L. 1976b. Inbreeding in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 33: 2420-2426.

Kincaid, 1983. Inbreeding in fish populations used for aquaculture. *Aquaculture* 33: 215-227.

King, R.C. 1968. A Dictionary of Genetics. Oxford University Press, New York, London, Toronto, 283 strony.

Kirpichnikov, V.S. 1972. Methods and effectiveness of breeding the Ropshian karp. Communication I. Purposes of breeding, initial forms, and system of crosses. *Sov. Genet.* 8: 996-1001.

Luczynski, M., R. Rösch. 1993. Genetics in trout culture: Present state and nearest development [Genetik in der Forellenzucht: Stand der Technik und Entwicklungen. *Arbeiten aus der Fischereiforschungsstelle Baden-Württemberg*, 48 p.

Millenbach, C. 1950. Rainbow brood-stock selection and observations on its application to fishery management. *Progressive Fish-Culturist* 12: 151-152.

Nowicki, B., B. Kosowska. 1995. *Genetyka i podstawy hodowli zwierząt*. PWRiL Warszawa, 408 stron.

Reagan, R.E., G.B. Pardue, E.J. Eisen. 1976. Predicting selection response for growth of channel catfish. *Journal of Heredity* 67: 49-53.

Tave, D., R.O. Smitherman. 1980. Predicted response to selection for early growth in *Tilapia nilotica*. *Transactions of the American Fisheries Society* 109: 439-445.

Tave, D. 1984. Genetics of dorsal fin ray number in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Copeia* 1984: 140-144.

Tave, D. 1986. *Genetics for Fish Hatchery Managers*. AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, 299 stron.