

TECHNICKÁ UNIVERZITA VO ZVOLENE

Lesnícka fakulta

Katedra fytológie

Prof. Ing. Dušan Gömöry, DrSc.
GENETIKA

2014

© prof. Ing. Dušan Gömöry, DrSc.

Recenzenti:

Schválené: Rektorm Technickej univerzity vo Zvolene dňa číslo EP,
ako skriptá pre FEE – študijný program Ekológia a ochrana biodiverzity.

ISBN

Obsah

Úvod	3
Biologická diverzita	4
Náplň a klasifikácia genetiky	5
Základné procesy v genetike	6
Molekulárne základy dedičnosti	6
Štruktúra nukleových kyselín	6
Replikácia DNA	9
Expresia génu	10
Opravy DNA	14
Rekombinácia a crossing-over	15
Cytologické základy dedičnosti	15
Štruktúra a bunkový cyklus prokaryotickej bunky	15
Štruktúra a bunkový cyklus eukaryotickej bunky	16
Dedičnosť fenotypových znakov	23
Mendelove zákony, autozomálna dedičnosť kvalitatívnych znakov	23
Gonozomálna dedičnosť	29
Dedičnosť kvantitatívnych znakov	30
Genetika populácií	31
Populácia a jej štruktúra	31
Príbuzenstvo a príbuzenské kríženie	33
Vývoj genetickej štruktúry panmiktickej populácie (Hardy-Weinbergov zákon)	34
Vývoj genetickej štruktúry autogamnej populácie	39
Efektívna veľkosť populácie	40
Mikroevolúcia	41
Mutácie ako zdroj dedičnej premenlivosti	42
Génové mutácie	42
Chromozómové mutácie	45
Genómové mutácie	47
Selekcia	48
Definícia selekcie, fitness	48
Mechanizmy selekcie v panmiktickej populácii	50
Stabilizačný, disruptívny, usmernený výber	52
Genetický drift	53
Náhodné procesy v populácii	53
Efekt zahrdlenia, efekt zakladateľa	55
Migrácia a tok génov	55
Mechanizmy migrácie	55
Modele migrácie	56
Reprodukčná izolácia	57
Mutačný, molekulárny a meiotický ľah	60
Interakcie medzi evolučnými mechanizmami, genetická homeostáza	60
Genetická variabilita	61
Genetické a génové markéry	62
Genetická multiplicita	68
Genetická diverzita a genotypová štruktúra	68
Genetická diferenciácia	70
Premenlivosť a jej komponenty	71

Premenlivosť a jej meranie	71
Zložky fenotypovej premenlivosti	72
Dedivost'	77
Odozva na selekciu	78
Interakcia genotyp × prostredie	80
Makroevolúcia	81
Speciácia	81
Druh, koncepcie druhu	81
Mechanizmy speciácie	83
Fylogenéza	85
Kladogenéza, anagenéza	85
Molekulárne hodiny	87
Taxonomické implikácie fylogenézy	87
Koevolúcia	88
Hybridizácia	89
Vnútrodruhová, medzidruhová, medzirodová hybridizácia	89
Homoploidná a alloploidná hybridizácia, apomixia	89
Genetické zdroje a ich zachovanie	91
Genofond a genetické zdroje	91
Metódy zachowania a záchrany genetických zdrojov	93
Inštitucionálne a právne rámce ochrany genetických zdrojov	95
Literatúra	97
Literatúra odporúčaná pre štúdium	97

ÚVOD

Skriptá z predmetu Genetika sú určené pre študentov II. ročníka odboru Ekológia a ochrana biodiverzity, ale informácie o základoch genetiky a evolučnej biológie v nich môžu nájsť aj študenti iných odborov Fakulty ekológie a environmentalistiky a Lesníckej fakulty.

Skriptá pokrývajú problematiku genetiky v rozsahu, ktorý je potrebný pre pochopenie mechanizmov, akými sa utvára biologická rozmanitosť na jej najnižšej úrovni, teda na úrovni variability genómov jedincov v rámci populácií živých organizmov (s dôrazom na diploidné, pohlavne sa rozmnožujúce eukaryotické organizmy). Podrobnejšie sa venujú populačnej a kvantitatívnej genetike, keďže tieto odbory genetiky sú dôležité pre chápanie evolúcie živých systémov a obzvlášť pre oblasť mikroevolúcie, ktorú môže činnosť človeka ovplyvniť najviac a ktorá je teda najdôležitejšia z hľadiska budúceho praktického pôsobenia absolventov v oblasti ochrany prírody.

Vzhľadom na pomerne obmedzený všeobecný rozhlásad z biológie a obzvlášť z genetiky, s ktorým prichádzajú na univerzitu mnohí absolventi stredných škôl, opakujú skriptá aj časť látky ktorá zvykla byť predmetom prijímacích skúšok. Základné informácie o cytologických a molekulárnych základoch dedičnosti sú nutné nielen pre pochopenie analýz genetických markérov ako základných nástrojoch hodnotenia genetickej variability, ale aj pre chápanie fungovania dedičnosti fenotypových znakov a procesov na populačnej úrovni.

Všade, kde je to možné, sú teoretické poznatky ilustrované príkladmi. Zmyslom predmetu **nie je naučiť sa základné informácie naspamäť, ale pochopit**, ako funguje dedičnosť živých organizmov, akými mechanizmami je utváraný genofond populácií a druhov a tým aj ako funguje evolúcia živej prírody. Dôležité pojmy a poznatky sú v texte zvýraznené podčiarknutím; **porozumenie** týmto termínom a poznatkom je bezpodmienečným predpokladom absolvovania predmetu.

BIOLOGICKÁ DIVERZITA

Základnou vlastnosťou živých systémov je premenlivosť. Organizmy sa navzájom odlišujú svojimi vlastnosťami, či už ide o jednoducho hodnotiteľné znaky ako veľkosť či tvar ich tela, o štruktúru ich tela, prejavujúcu sa usporiadáním ich orgánov, pletív či tkanív a buniek, alebo vlastnosti organických makromolekúl, z ktorých sa ich telá skladajú. Tieto vlastnosti sú čiastočne podmienené podmienkami prostredia, ktorému sú organizmy vystavené, a sčasti sú určené stavebným plánom, ktorý je jedincovi vlastný a je priamo zabudovaný v štruktúrach organizmu. V prípade pohlavného rozmnožovania ho jedinec dedí od svojich rodičov, a predstavuje teda kombináciu informácií získaných od oboch, pri nepohlavnom rozmnožovaní je obsiahnutý v zárodočnej časti, z ktorej jedinec vzniká, a je teda identický s informáciou rodičovského organizmu, z ktorej sa táto zárodočná časť oddelila. V oboch prípadoch predstavuje tento stavebný plán informáciu zdelenú od predchádzajúcej generácie, teda dedičnú informáciu.

Jedinec teda od svojich rodičov nededí znak samotný, ale len vlohu pre jeho prejavenie, ktorá sa nazýva gén. Súbor všetkých génov jedinca označujeme pojmom genotyp. Súbor všetkých znakov jedinca (kvalitatívnych a kvantitatívnych) sa nazýva fenotyp. Fenotyp nie je len výsledkom uplatnenia genetickej informácie, ale aj vplyvu vonkajších podmienok, súhrne označovaných ako prostredie. Fenotypový prejav konkrétneho znaku môže byť výsledkom spolupôsobenia viacerých génov (polygénny systém), rovnako jeden gén môže kontrolovať viacero fenotypových znakov (pleiotropia).

Rozdiely vlastností medzi jedincami sú niekedy dostatočné na to, aby jedince boli zaradené do odlišných taxónov rôznych hierarchických úrovni. Základnou taxonomicou kategóriou je druh. Napriek problémom s definíciou druhu a z nich vyplývajúcemu veľkému počtu definícií a koncepcí druhu je táto taxonomická úroveň považovaná za základnú a jedinú, ktorá možno definovať nespornými biologickými kritériami. Variabilitou sa teda vyznačuje akýkoľvek súbor organizmov nezávisle na úrovni organizácie. Časť tejto variability spočíva v tom, že súbor pozostáva z kvalitatívne odlišných jedincov: populácia pozostáva z nositeľov odlišných stavebných plánov (resp. ich častí, génov), spoločenstvo obsahuje organizmy patriace k odlišným druhom či vyšším taxónom, ekosystém pozostáva z organizmov s odlišnou funkciou atď. Tento typ premenlivosti sa označuje ako diverzita resp. rozmanitosť. Keďže či taxonomická príslušnosť alebo funkcia organizmu v ekosystéme sú výsledkom realizácie dedičnej informácie, bolo by technicky možné diverzitu na všetkých úrovniach zredukovať na genetickú diverzitu, z praktického hľadiska to však nie je účelné: ak by takáto redukcia mala zohľadniť nielen kvalitatívne rozdiely génov rôznych taxónov, ale aj ich funkcie (určujúce biologickú niku organizmu), bola by konštrukcia indikátorov diverzity extrémne komplikovaná.

Dôvodom záujmu o problematiku biologickej rozmanitosti je relatívny konsenzus ekológov a biológov na skutočnosti, že komplexnejšie a vnútorne variabilnejšie systémy všeobecne vykazujú tendenciu k vyššej stabilite (Odum 1953). Táto otázka je súčasťou dodnes kontroverzná a je predmetom neutíchajúcej diskusie, sčasti spôsobenej rozdielnymi náhľadmi na definíciu stability živého systému a spôsob jej merania. Jedno hľadisko však nemožno oddiskutovať – čím vyššia je vnútorná rozmanitosť systému, tým vyššia je pravdepodobnosť, že v prípade zásadných zmien prostredia sa v jeho rámci nájde aspoň jeden pravok, ktorý sa s nimi bude vedieť vyrovnať a zabezpečiť pokračovanie jeho existencie. Štúdium fosílií zreteľne ukazuje, že väčšina genetických línii, na ktorých sa prejavujúci rozdielny stavebnými plánmi tela, ktoré sa počas existencie života objavili, sa po čase z fosílneho záznamu stráca. Evolúcia života napriek tomu pokračovala a pokračuje vďaka prostej skutočnosti, že vždy existovala línia schopná prežiť zmeny podmienok a schopná neskoršej divergencie do nových životných foriem, obsadzujúcich uvoľnené alebo novo vytvorené ekologické niky. Biologická

diverzita a jej základ, teda genetická diverzita, je teda predpokladom udržania života na Zemi.

NÁPLŇ A KLASIFIKÁCIA GENETIKY

Genetika je veda o dedičnosti a premenlivosti živých organizmov. Pojem premenlivosti bol zadefinovaný v predchádzajúcej kapitole – premenlivosť je základnou vlastnosťou živých organizmov a spočíva v tom, že živé organizmy sa vyznačujú rozdielnymi vlastnosťami, sú nositeľmi rozdielnych variantov jednotlivých znakov. Táto odlišnosť sa prejavuje na všetkých taxonomických úrovniach, teda aj jedinci rovnakého druhu zdieľajúci rovnaké druhotné vlastnosti sa navzájom odlišujú individuálnymi vlastnosťami. Pod dedičnosťou rozumieme schopnosť organizmov produkovať potomstvo, ktoré na rovnaké podmienky reaguje rovnakým spôsobom, t.j. v rovnakých podmienkach prostredia sa bude vyznačovať podobnými individuálnymi vlastnosťami (kvalitatívnymi a kvantitatívnymi znakmi) ako jeho rodičia.

Prenos dedičnej informácie súvisí s procesmi na všetkých úrovniach organizácie živej hmoty. Jednotlivé oblasti genetiky sa zaobrajú práve týmito rôznymi úrovňami a rôznymi aspektmi týchto procesov. Molekulárna genetika (ako súčasť širšej oblasti molekulárnej biológie) rieši otázky účasti jednotlivých typov organických makromolekúl na dedičnosti a molekulárnej podstaty uloženia a zmnožovania dedičnej informácie a jej vzťahu k fenotypovým znakom, ktoré ovplyvňuje. Rieši teda otázky vzťahu medzi dedičnou informáciou a štruktúrou organických makromolekúl, ktoré sú jej nositeľmi, a procesov, ktoré sú nutné pre vytváranie produktov dedičnej informácie. Cytogenetika sa zaobráva bunkovými štruktúrami a procesmi v rámci života bunky, ktoré súvisia s dedičnosťou (jadro a semiautonómne organely s vlastnou dedičnou informáciou, bunkový cyklus vrátane delenia bunky). Predmetom genetiky jedinca (genetiky *sensu stricto*, teda v pôvodnom mendelovskom chápaniu) sú otázky dedičnosti fenotypových znakov, teda otázka, ako sa vonkajšie vlastnosti dedia, prenášajú z rodičov na potomstvo. Mechanizmy určujúce zmeny zastúpenia génov v rámci populácií sú predmetom populačnej genetiky, ich odraz v rozdelení a vývoji hodnôt fenotypových znakov skúma kvantitatívna genetika (niekedy sú oba odbory chápane ako totožné).

Aj keď základné princípy dedičnosti sú spoločné pre všetky živé organizmy, existujú odbory genetiky zamerané na konkrétné druhy alebo vyššie taxóny (človeka, rastliny, etc.). Súvisí to najmä s rozdielnym praktickým významom rôznych aspektov dedičnosti u rôznych organizmov. V humánnej genetike je nepochybne dôležitá otázka podstaty a prenosu jednotlivých dedičných ochorení, ktorá je naopak absolútne irelevantná v genetike baktérií alebo genetike lesných drevín.

Špecifické odbory genetiky vznikajú na rozhraní s inými vednými odbormi, predovšetkým evolučnou biológiou (evolučná genetika), ekológiou (ekologická genetika), ochranou prírody (ochranárska resp. „konzervačná“ genetika) a pod.

Samostatné odvetvie vzniklo na rozhraní molekulárnej biológie, fyziológie a genetiky, a je označované ako genomika. Predmetom genomiky je skúmanie štruktúry a funkcií genómu, teda súboru všetkých dedičných informácií v rámci živej bunky. Predmetom genomiky je skúmanie štruktúry genómu, teda „čítanie“ dedičnej informácie (sekvenovanie DNA), identifikácia génov a ďalších úsekov v genóme (štrukturálna genomika) a identifikácia funkcií génov, teda aké molekulárne a fyziologické procesy v organizme riadia (funkčná genomika). Samostatnou oblasťou je epigenomika, ktorá sa zaobráva skúmaním chemických modifikácií molekúl nesúcich dedičnú informáciu, ktoré nemenia „poradie písmen“ v ich rámci a teda ani kvalitu produktov génov, ale ovplyvňujú mieru a čas ich expresie a teda aj výsledné fenotypové znaky. V ekologických štúdiách sa v poslednej dobe široko uplatňuje metagenomika, analýza vzoriek odobratých priamo z prostredia a obsahujúcich zmes genetického materiálu spoločenstva. Aj keď sa primárne zameriava na prokaryotické spoločenstvá (napr. bakteriálne

spoločenstvo pôd), je v princípe uplatnitelná aj pri spoločenstvách vyšších organizmov.

Ako samostatný odbor sa takisto vyvinula bioinformatika, ktorá sa zaobrá spracovaním a interpretáciou obrovských objemov dát, ktoré v rámci genetického a molekulárno-biologickejho výskumu vznikajú.

ZÁKLADNÉ POJMY A PROCESY V GENETIKE

Molekulárne základy dedičnosti

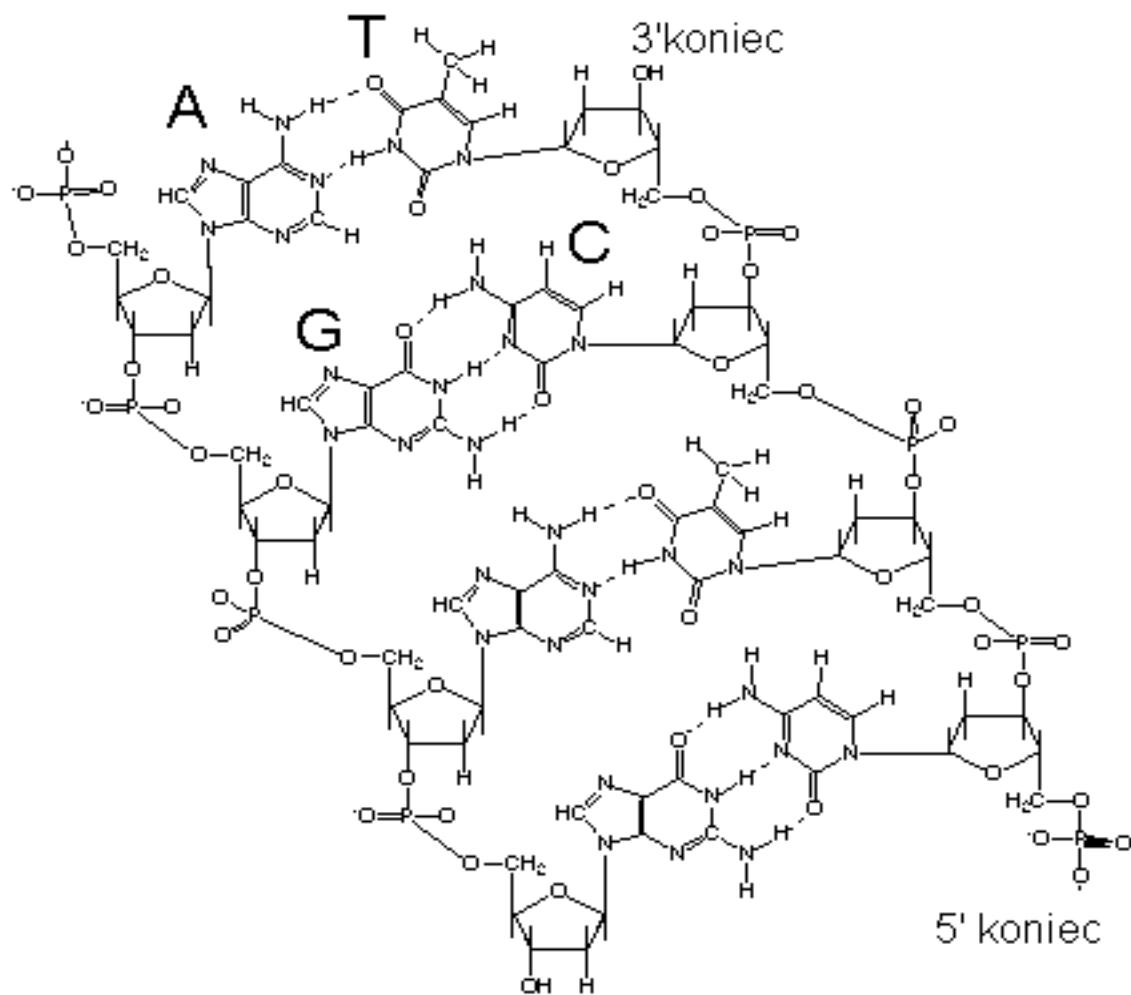
Štruktúra nukleových kyselín

Nositelom dedičnej informácie sú u všetkých živých organizmov molekuly nukleových kyselín. U prevažnej väčšiny organizmov je to kyselina deoxyribonukleová (DNA), výnimku predstavujú retrovírusy resp. RNA-vírusy (je potrebné pripomenúť, že vírusy nevykazujú všetky znaky života, mnohí biológovia ich nepovažujú za živé organizmy), v ktorých je nositeľom dedičnosti molekula kyseliny ribonukleovej (RNA). Aj v prípade retrovirusov však dedičná informácia musí byť najprv prenesená do molekuly DNA a až následne sa môže exprimovať do fenotypových znakov.

Nukleové kyseliny sú organické makromolekuly, neporovnatne väčšie než všetky ostatné organické polymery živých organizmov. Najdlhšia molekula DNA genetickej výbavy človeka má celkovú dĺžku 7 cm, sumárna dĺžka 46 molekúl DNA uložených v jadre ľudskej bunky je cca 1,8 m. DNA a RNA sú nerozvetvené molekuly, pozostávajúce zo stavebných kameňov označovaných ako nukleotidy (v prípade DNA je terminologicky správny názov 2-deoxynukleotid). Nukleotid skladá z fosforylovej pentózy (jednoduchý sacharid s 5 atómmi uhlíka; pri DNA 2-deoxyribóza, pri RNA ribóza, na pozícii 5' je naviazaný fosfátový zvyšok PO_4^-) a jednej zo štyroch heterocyklických organických báz (adenín, guanín, cytozin, pri DNA tymín, pri RNA uracil) (obr. 1). Pentózofosfátové molekuly vytvárajú kostru reťazca, na ne naviazané bázy predstavujú písmená genetickej „abecedy“, ich poradie (sekvencia) na molekule DNA predstavuje zápis genetickej informácie analogicky ako je určený zápis informácie v napísanom teste poradím písmen latinskej či inej abecedy. Označovanie nukleotidov v sekvenciach je uvedené v tab. 1. Pozície, ktoré sú tzv. konzervované, t.j. v danej sekvencii sa na nich vyskytuje vždy konkrétny nukleotid, sa označujú prvými písmenami názvu bázy (A, G, C, T, U), pozície variabilné v rámci populácie, druhu alebo inak definovanej skupiny jedincov sú označované inými písmenami (tab. 1). Vo všeobecnosti spoločné označenie pre bázy, ktoré sú derivátni purínu (dvojitý cyklus: A, G) je Pu, spoločné označenia pre deriváty pyrimidínu (jednoduchý cyklus: C, T, U) je Py. Zápis sekvencie nejakého génu alebo nekódujúceho úseku u určitej skupiny organizmov v tvare napr. 5'CGGAYTTAGVGGTCNCCTA3', znamená to, že okrem troch pozícii sú ostatné konzervované, na 5. pozícii sa vyskytuje jeden z pyrimidínových nukleotidov (C, T), na 10. pozícii sa vyskytuje adenín, cytozin alebo guanín, a na 15. pozícii sa môže vyskytovať ktorýkoľvek nukleotid (alebo nukleotid nemožno určiť). Dĺžka sekvencii DNA sa udáva v bázových pároch (bp), teda v počte dvojíc nukleotidov. Sekvencie, ktoré sú navzájom homologické, nemusia byť úplne identické, ale majú spoločný pôvod, teda vznikli diverzifikáciou rovnakej

Tab. 1 Označovanie nukleotidov v zápisе sekvencií nukleových kyselín

ozn.	Nukleotid	ozn.	nukleotid	ozn.	nukleotid
A	adenín	R	A/G	B	C/G/T
G	guanín	Y	C/T	D	A/G/T
C	cytozin	K	G/T	H	A/C/T
T	tymín	M	A/C	V	A/C/G
U	uracil	S	G/C	N	A/G/C/T
		W	A/T		



Obr. 1 Znázornenie chemickej štruktúry úseku molekuly DNA

sekvencie v genóme. Môže íst' o dve sekvencie umiestnené vo fyzicky rozdielnych molekulách DNA, ale aj o sekvencie pochádzajúce z duplikácie úseku na tej istej molekule DNA.

V molekule pentózy je báza naviazaná na pozícii 1', fosfátový zvyšok na pozícii 5' sa naväzuje na uhlík v pozícii 3' predchádzajúceho nukleotidu (obr. 1). Molekuly nukleových kyselín sú teda priestorovo orientované. Syntéza reťazca prebieha vždy v smere 5' → 3', t.j. voľné nukleotidy sa vždy naväzujú na hydroxylovú skupinu na 3' uhlíku na konci reťazca nukleovej kyseliny. Molekula DNA je vytvorená dvomi antiparalelne (protismerné) prebiehajúcimi reťazcami, ktoré sú vzájomne viazané prostredníctvom vodíkových mostíkov medzi bázami. Vzhľadom na priestorové usporiadanie elektricky nabitych funkčných skupín na molekulách báz sa vodíkové mostíky vytvárajú vždy medzi konkrétnymi dvojicami báz: adenín sa viaže s tymím dvomi vodíkovými mostíkmi, cytozin s guanínom tromi (A=T, C≡G). Oba reťazce DNA sú teda prísne komplementárne, poradie báz v jednom z nich jednoznačne určuje poradie báz v druhom. Molekula RNA je tvorená len jedným reťazcom. Ak sa tento reťazec ohne, nukleotidy na ňom sa tiež dostávajú do protismerného postavenia, čo rovnako ako pri dvojretťazcovéj DNA umožňuje vytvorenie väzieb medzi komplementárnymi bázami na rôznych miestach tohto istého reťazca (A=U, C≡G). Práve tvorbou týchto väzieb sa utvára trojrozmerný tvar molekuly RNA, ktorý je následne podmienkou jej funkčnosti. Všetky jednoreťazcové molekuly nukleových kyselín (RNA, jednoreťazcová DNA) majú veľmi silnú tendenciu k párovaniu nukleotidov – vodíkové väzby sa vytvárajú spontánne. Ak je dvojretťazcová DNA denaturovaná chemicky alebo vysokou teplotou (vodí-

kové mostíky sa narušia a reťazce sa oddelia), na opäťovnú renaturáciu postačuje obnova normálnych podmienok. Ak komplementárny reťazec alebo jeho časť nie je k dispozícii, jednoreťazcová molekula má silnú tendenciu sa prehnúť a vytvoriť vodíkové väzby medzi komplementárnymi (teda vzájomne sa doplňujúcimi) miestami v rámci rovnakého reťazca, čo v prípade RNA (bolo uvedené) je podmienkou jeho funkčnosti, naopak v prípade DNA jej funkčnosť (teda schopnosť uskladňovať a následne exprimovať genetickú informáciu) naopak ruší. Mimoriadnu schopnosť vzájomne komplementárnych reťazcov nukleových kyselín vyhľadávať a párovať sa využívajú metódy molekulárnej biológie a genetických manipulácií.

Celková genetická informácia bunky (kódujúce aj nekódujúce úseky) sa označuje termínom genóm. Veľkosť genómu a aj počet génov v jeho rámci závisí čiastočne od komplexnosti organizmu, ale čiastočne je výsledkom evolúcie genómu, organizmy s rovnakou zložitosťou stavby tela môžu mať zásadne rozdielne veľkosťi genómu (tab. 2).

Tab. 2 Veľkosť genómu vybraných organizmov

Organizmus	Veľkosť genómu (bp)	Odhadovaný počet génov
<i>Virus λ</i>	48500	50
<i>Escherichia coli</i>	$4,6 \cdot 10^6$	4300
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	$1,3 \cdot 10^7$	6200
<i>Aspergillus fumigatus</i>	$1,58 \cdot 10^7$	14000
<i>Caenorhabditis elegans</i>	$9,7 \cdot 10^7$	19000
<i>Drosophila melanogaster</i>	$1,8 \cdot 10^8$	13600
<i>Mus musculus</i>	$2,7 \cdot 10^9$	22-30000
<i>Homo sapiens</i>	$2,9 \cdot 10^9$	28-35000
<i>Protopterus aethiopicus</i> ¹	$1,3 \cdot 10^{11}$	
<i>Arabidopsis thaliana</i>	$1,25 \cdot 10^9$	25500
<i>Populus trichocarpa</i>	$4,85 \cdot 10^8$	45000
<i>Zea mays</i>	$2,2 \cdot 10^9$	42-56000
<i>Triticum aestivum</i>	$1,6 \cdot 10^{10}$	107000
<i>Pinus sylvestris</i>	$2,5 \cdot 10^{10}$	30000
<i>Psilotum nudum</i> ²	$2,5 \cdot 10^{11}$	

¹najväčší známy živočíšny genóm, ²najväčší známy rastlinný genóm

Nie všetky nukleotidy v reťazci DNA majú informačný význam. Sekvencie, ktoré sú exprimované do fenotypových znakov predstavujú u mnohobunkových eukaryotov len zlomok z celkovej dĺžky DNA (tab. 3). Súčasťou genómu sú predovšetkým rôzne typy repetitívnych sekvencií (sekvencií opakujúcich sa vo veľkom počte kópií). Ich podstatnú časť tvoria transponibilné elementy (transpozóny), ktoré predstavujú „molekulárne parazity“, pravdepodobne pôvodne vírusy (RNA vírusy pri retrotranspozónoch, DNA vírusy pri DNA transpozónoch), ktoré sa v priebehu evolúcie zabudovali do genómu hostiteľa. Sú schopné presúvať sa na nové miesta v genóme a zmnožovať sa a obsahujú gény, ktoré im presun a zmnožovanie umožňujú (počet transpozónových génov často násobne prevyšuje počet vlastných génov organizmu, vid' tab. 3). Známy je napríklad element *mariner*, ktorý sa vyskytuje u väčšiny živočíchov vrátane človeka (v ľudskom genóme sa počet kópií odhaduje na 14000 s celkovou dĺžkou 2,6 Mbp) a dokonca aj u niektorých prvakov. Ďalšiu skupinu repetitívnych sekvencií predstavujú tandemové opakovania krátkych sekvenčných motívov (minisateli a mikrosateli).

Na rozdiel od vodíkových mostíkov viažúcich navzájom reťazce nukleových kyselín sú kovalentné väzby v rámci nukleotidov resp. medzi sebou nasledujúcimi nukleotidmi podstatne energeticky náročnejšie a teda pevnejšie, nie je možné štiepiť ich inak ako enzymaticky. Enzýmy štiepiace nukleové kyseliny sa označujú ako nukleázy (DNÁza, RNÁza).

Tab. 3 Charakteristika genómu smreka obyčajného (*Picea abies* Karst.) (Nystedt et al. 2013)

Charakteristiky genómu	
Veľkosť haploidného genómu	19,6 Gbp
Karyotyp	2n = 24
Obsah párov GC	37,9%
Podiel repetitívnych sekvencií	
LTR retrotranspozóny, z toho	
<i>Gypsy</i>	35%
<i>Copia</i>	16%
ostatné	7%
LINE retrotranspozóny	1%
DNA transpozóny	1%
Ostatné	10%
Podiel sekvencií génov	2,4%
Anotácia genómu	
Počet génov	28354
Podiel génov s intrónmi s dĺžkou >5 kbp	8,4%
Priemerná dĺžka exónov	312 bp
Priemerná dĺžka intrónov	1017 bp
Priemerná hustota génov	1,418 Mbp ⁻¹
Transpozónové gény	284587
Nekódujúce lokusy	
dlhé nekódujúce RNA (lncRNA)	
špecifické	13031
konzervované	9686
mikro RNA (miRNA)	2719

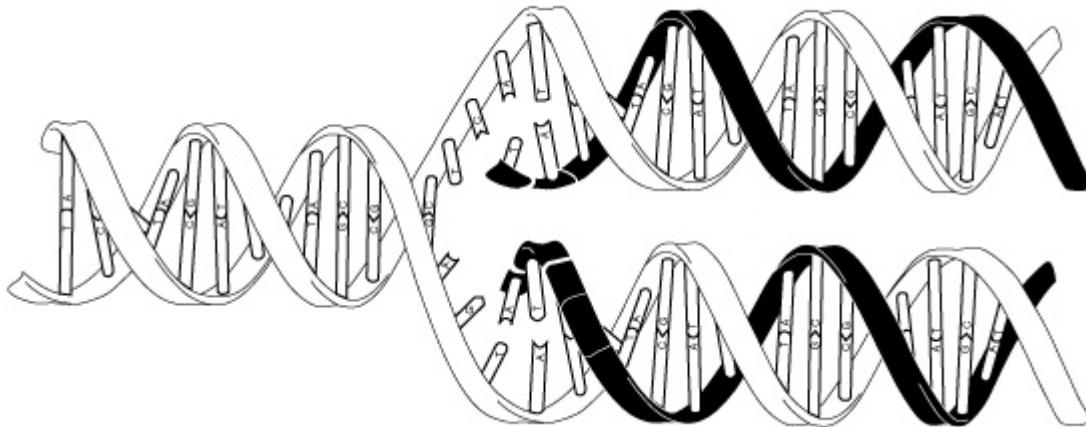
DNA môže existovať vo viacerých priestorových konformáciách, v živých bunkách je najčastejšie prítomná ako pravotočivá špirála, v ktorej sú molekuly fosforylovanej deoxyribózy orientované pozdĺž oboch vlákien, vytvárajúcich kostru tejto špirály, a nukleotidy sú usporiadane v rovine kolmej na os špirály.

Pre kopírovanie a expresiu dedičnej informácie potrebuje bunka molekulárny aparát. Jeho podstatnú časť tvoria dva typy biokatalytických molekúl: RNA a proteíny. Komplexy RNA a bielkovín sú spravidla obrovské a tvoria často útvary viditeľné svetelným mikroskopom (napr. ribozómy). Spravidla zabezpečujú fundamentálne funkcie ako je zostrih DNA a preklad (viď nižšie). Dielčie katalyticke funkcie vykonávajú špecializované proteíny – enzýmy. Ich názvy končia príponou -áza. S procesmi, súvisiacimi s dedičnosťou, je spojená najmä aktivita nukleáz (enzýmy štiepiace DNA), polymeráz (enzýmy katalyzujúce syntézu reťazca nukleových kyselín), ligáz (enzýmy spájajúce prerušené miesta reťazcov DNA), helikáz (enzýmy rušiace špirálovú štruktúru DNA a štiepiace vodíkové mostíky medzi reťazcami DNA alebo v DNA-RNA komplexoch) a ďalších.

Replikácia DNA

Ked'že DNA predstavuje kompletný „návod“ pre všetky bunečné funkcie a (v prípade mnohobunkových organizmov) z neho vyplývajúci stavebný plán pre organizmus, musia všetky bunky obsahovať jeho identickú verziu. Mnohobunkové organizmy rastú primárne prostredníctvom delenia buniek (a jednobunkové organizmy sa touto cestou množia), preto sa pred rozdelením musia všetky molekuly DNA v materskej bunke identicky nakopírovať tak, aby dcérské bunky mohli dostanť po jednej kópii. Tento proces kopírovania sa označuje termínom replikácia. Výsledkom replikácie DNA nie je dvojica molekúl originál – kópia, ale dve

molekuly tvorené jedným originálnym aj jedným novo syntetizovaným reťazcom; tento mechanizmus sa označuje ako semikonzervatívna replikácia. Proces replikácie riadi enzym DNA-polymeráza, ktorý súčasne zabezpečuje viacero funkcií. DNA-polymeráza najprv preruší nízkoenergetické vodíkové väzby, spájajúce oba reťazce pôvodnej molekuly DNA a následne katalyzuje tvorbu kovalentných väzieb medzi nukleotidmi, ktoré sa spájajú do dopĺňaných nových reťazcov. Oba pôvodné reťazce sú navzájom komplementárne (A=T, G≡C) a do novovytváraných reťazcov sa takisto môže zaradiť len nukleotidy, ktoré sú komplementárne k pôvodným. Preto týmto spôsobom vznikajú dve úplne identické molekuly, v ktorých vždy jeden reťazec je pôvodný a druhý je novo doplnený, obe sú teda spoločne originálom a spoločne kópiou. Ako bolo spomenuté v predchádzajúcej podkapitole, syntéza molekuly DNA prebieha vždy v smere 5'→3', teda voľné nukleotidy sa môžu pripájať výlučne odštiepením hydroxylovej skupiny na 3' uhlíku posledného nukleotidu. Pôvodné reťazce sú však orientované protismernie. Preto môže syntéza jedného z nových reťazcov prebiehať kontinuálne (*leading strand*), ale druhý reťazec je syntetizovaný v krátkych fragmentoch (Okazakiho fragmenty), ktoré sú následne spájané enzymom ligázou (*lagging strand*).



Obr. 2 Schéma semikonzervatívnej replikácie DNA. Biely – pôvodný reťazec, čierny – novo doplnený reťazec (<http://www.genome.gov>, upravené)

Expresia génu

Gén predstavuje len úsek na molekule DNA. Ešte od čias T.H. Morgana, ktorý formuloval chromozómovú teóriu dedičnosti, sa tradovala predstava, že gény sú usporiadane za sebou bez vzájomného prekryvu. Gén bol teda považovaný nielen za funkčnú jednotku dedičnosti, ale aj za základnú štrukturálnu jednotku dedičnej matérie. Novší výskum túto predstavu spochybnil: u vírusov sa preukázalo, že gény sa môžu prekrývať, dokonca jeden gén môže byť umiestnený v rámci iného. U eukaryotov (ku ktorým patria všetky makroskopické organizmy, teda rastliny, huby a živočíchy) gény spravidla nie sú súvislé. V ich rámci sa striedajú kódujúce úseky (exóny), ktoré sú prestriedané nekódujúcimi úsekmi (intrónmi). Súčasťou génu je aj regulačná oblasť, predradená pred 5' koncom génu, ktorá určuje, kedy sa gén má začať exprimovať, a neprekladaná oblasť za 3'-koncom. Mechanizmy regulácie aktivity génov sú pri vyšších organizmoch zložité, podielajú sa na nich napr. hormóny a iné látky.

Proces od informácie uloženej v DNA po hotový produkt, ktorý určuje fenotypový znak kontrolovaný génom, sa označuje termínom expresia. Expresia génu prebieha cez dve štadiá (obr. 3). Prvým je transkripcia (prepis), t.j. prenos dedičnej informácie z DNA do molekuly RNA. Transkripcia prebieha tam, kde sú umiestnené molekuly DNA, t.j. v jadre, mitochondriach, u rastlín aj v chloroplastoch, a zabezpečuje ju enzym RNA-polymeráza, ktorý je komplexom 5 polypeptidov, z ktorých každý má pri prepise inú funkciu. Pri transkripcii sa

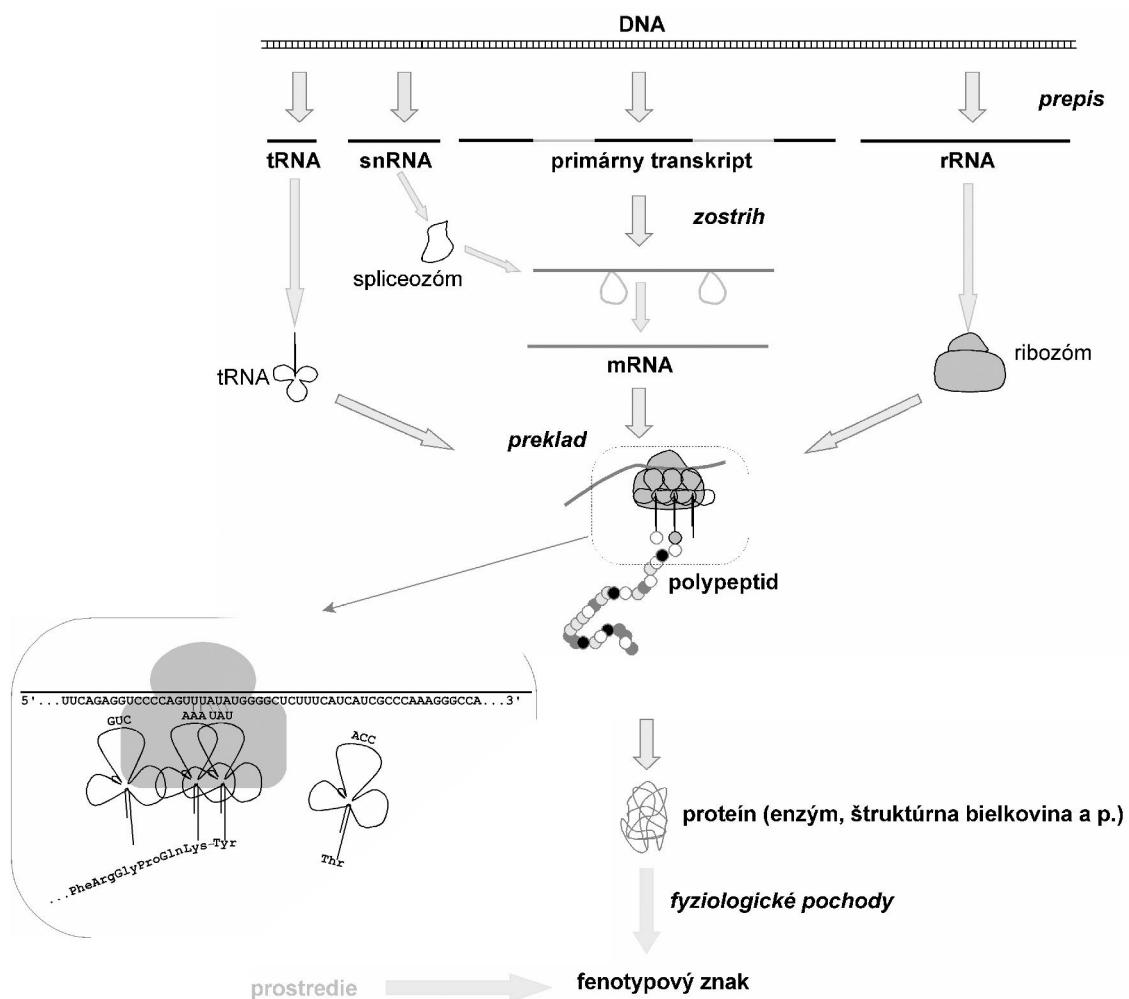
reťazce DNA od seba odpoja (ako už bolo spomenuté, sú navzájom viazané len vodíkovými mostíkmi, takže na ich rozpojenie nie je potrebná veľká energia) a k jednému z nich (antikódujúci reťazec) začne RNA-polymeráza pripájať komplementárne nukleotidy. Poradie nukleotidov v RNA je teda presne rovnaké ako v druhom (kódujúcom) reťazci DNA s tým rozdielom, že na mieste tymínu v kódujúcom reťazci DNA obsahuje reťazec RNA uracil. Produktom transkripcie je tzv. primárny transkript, ktorý najmä je pri eukaryotoch predmetom ďalších úprav. Primárny transkript obsahuje prepísané exóny aj intróny. Zmes primárnych transkriptov v jadre eukaryotickej bunky sa označuje ako heterogénna jadrová RNA (*heterogeneous nuclear RNA*; hnRNA).

Iniciáciu transkripcie umožňuje viazanie sa transkripcného faktora na sekvenciu v regulačnej oblasti génu s priemernou dĺžkou okolo 10 bp (5–30 bp). Táto dĺžka sekvencie viažucej transkripcný faktor sa optimalizovala s ohľadom na potrebu špecifity (transkripcný faktor sa musí viazať výlučne v regulačnej oblasti génu, za reguláciu ktorého zodpovedá, inak by spúšťal expresiu iných génov, než je jeho úlohou) a stability (nízkej frekvencie mutácií). S narastajúcou dĺžkou viažucej sekvencie narastá špecifita (znižuje sa pravdepodobnosť, že sa rovnaká sekvencia náhodne vyskytne v genóme viackrát), ale klesá stabilita (narastá možnosť zmeny sekvencie v dôsledku mutácie a teda znemožnenia viazania transkripcného faktora).

Zložitým procesom zostrihu sú intróny z primárneho transkriptu vystrihnuté a exóny pospájané. 5'-koniec je ukončený molekulou 7-metylguanozínu a na 3'-koniec sa pripája polyadenylový reťazec (rádovo desiatky adenozínových nukleotidov), ktorý je „identifikačným znakom“ mediátorovej RNA (messenger RNA; mRNA). U prokaryotov (baktérie, archebaktérie) DNA spravidla neobsahuje intróny, takže produktom transkripcie je priamo mRNA. Zostrih vykonáva útvar označovaný ako spliceozóm (z angl. *splicing* = zostrih), ktorý je zložitým komplexom proteínov a ďalšieho typu molekúl RNA, ktoré sa označujú ako malá jadrová RNA (*small nuclear RNA*; snRNA). Transkripciou sa vytvárajú aj iné funkčné molekuly RNA: transferová (transfer RNA; tRNA), ribozómová (ribosomal RNA; rRNA) a malá jadrová (small nuclear RNA; snRNA). Transkripciou vlastných úsekov DNA alebo z vystrihnutých intrónov vznikajú malé reťazce, označované ako mikroRNA (microRNA; miRNA), ktoré môžu interferovať s mRNA a zohrávajú úlohu pri regulácii aktivity génov.

Druhým štádiom expresie génu je translácia (preklad), t.j. prenos dedičnej informácie z mRNA do molekuly polypeptidu, ktorá tvorí základ bielkovej (proteílovej) molekuly. Molekula mRNA je prenesená cez pory jadrovej membrány do cytoplazmy, kde sa na ňu viazia na membrány endoplazmatického retikula. Ribozóm je bunkový útvar, tvořený z cca 2/3 nukleovou kyselinou (pri eukaryotoch ide o 5 rôznych molekúl rRNA) a z 1/3 proteínnimi (~50 molekúl), s dvomi podjednotkami. Veľkosť týchto podjednotiek je kvantifikovaná na základe sedimentačnej rýchlosťi v Svedbergových jednotkách ($1S=10^{-13}s^{-1}$); sedimentačná rýchlosť závisí od veľkosti a tvaru, teda Svedbergove jednotky nie sú aditívne (súčet veľkostí podjednotiek nedáva veľkosť ribozómu). Mitochondrie a chloroplasty majú vlastné ribozómy, ktorých veľkosť je rovnaká ako u prokaryotov; preklad génon týchto organel prebieha priamo v nich. Pri preklade ribozóm funguje analogicky ako čítacia hlavica, ktorá číta a „prekladá“ genetickú informáciu z mRNA, ktorá sa cez ňu presúva. Po nasunutí trojice (triplet resp. kodón) nukleotidov mRNA sa na ňu pripojí molekula transferovej RNA. tRNA má štruktúru podobnú ďatelinovému trojlístku (3 unikátné sekvencie tvoriace oblúk „listov“ prestriedané vzájomne komplementárnymi sekvenciami tvoriacimi „stopky lístkov“ a „hlavnú stopku“). Na hlavnej stopke je viazana aminokyselina a na strednom liste trojlístka je rozoznávacia sekvencia – antikodón. Trojrozmerná štruktúra je uzavretejšia (obr. 4). Keďže vodíkové mostíky sa môžu vytvoriť len medzi komplementárnymi nukleotidmi, na kodón v mRNA sa môže napojiť len taká tRNA, ktorá má komplementárny antikodón.

Ribozóm následne katalyzuje pripojenie aminokyseliny na jej stopke na vznikajúci reťazec polypeptidu. Poradie trojíc nukleotídov (kódónov) v mRNA teda určuje poradie aminokyselin v polypeptide, tzv. primárnu štruktúru vznikajúcej bielkoviny. Znaky genetického kódu sú štyri (A, C, G, U) a ich trojica predstavuje kodón, genetický kód teda poskytuje $4^3 = 64$ možných kombinácií. Esenciálnych aminokyselin je len 21. Genetický kód je teda redundantný, viaceré triplety môžu kódovať rovnakú aminokyselinu, pričom ich počet sa môže pohybovať od 1 (napr. UGG – tryptofán) po 6 (UUPu, CUN – leucín). U mnohých tripletov rozhoduje o naviazanej aminokyseline len prvá dvojica báz (od 3'-konca), tretia báza už nemá informačný význam (tab. 4). Jeden triplet (AUG, kódovuje zaradenie metionínu) je iniciačný, t.j. signalizuje začiatok translácie. Preklad u eukaryotov vždy začína od tripletu AUG, ktorý sa nachádza najbližšie k 5'-koncu mRNA, preto polypeptidy vždy začínajú metionínom, aj keď niekedy je táto aminokyselina pri posttranslačných úpravách z reťazca odštiepená. Tri triplety (UAA, UAG, UGA) sú terminačné, signalizujú ukončenie translácie a odpojenie produkované molekuly polypeptidu od ribozómu.



Obr. 3 Schéma procesov spojených s expresiou génu eukaryotov

Čítanie reťazca mRNA je nepretržité, ak teda dôjde k vysnutiu alebo vypadnutiu (inzercia/delécia) jedného alebo niekoľkých nukleotídov, zmenia sa od miesta mutácie všetky triplety a teda aj všetky aminokyseliny zaradené do polypeptidu. Ak dôjde k bodovej mutácii (zámena jedného nukleotídu za iný), zmení sa len jedna zaradená aminokyselina, aj to len v prípade, že mutácia nie je synonymná (t.j. že pôvodný a mutovaný triplet kódujú rôzne

aminokyseliny). Na jednu molekulu mRNA je neviazaných spravidla niekoľko ribozómov súčasne, takže paralalne prebieha syntéza viacerých identických polypeptidových molekúl, a často (najmä pri prokaryotoch) súčasne začína aj degradácia mRNA.



Obr. 4 Dvojrozmerná a trojrozmerná štruktúra tRNA. Antikodón (rozoznávacia sekvencia tRNA) sa nachádza na strednej slučke (spodná časť obrázka), aminokyselina je viazaná na „stopku“ molekuly (www.explorebio.wikispaces.com, upravené).

Tab. 4 Genetický kód (kodóny, zodpovedajúce aminokyseliny, ich trojpísmenové a jednopísmenové skratky)

	Báza												
	2.												
1.	U			C			A			G			3.
U	UUU	Fenylalanín	Phe (F)	UCU	Serín	Ser (S)	UAU	Tyrozín	Tyr (Y)	UGU	Cysteín	Cys (C)	U
	UUC	Fenylalanín		UCC	Serín		UAC	Tyrozín		UGC	Cysteín		C
	UUA	Leucín		UCA	Serín		UAA	term		UGA	Term		A
	UUG	Leucín		UCG	Serín		UAG	term		UGG	Tryptofán		G
C	CUU	Leucín	Leu (L)	CCU	Prolín	Pro (P)	CAU	Histidín	His (H)	CGU	Arginín	Arg (R)	U
	CUC	Leucín		CCC	Prolín		CAC	Histidín		CGC	Arginín		C
	CUA	Leucín		CCA	Prolín		CAA	Glutamín		CGA	Arginín		A
	CUG	Leucín		CCG	Prolín		CAG	Glutamín		CGG	Arginín		G
A	AUU	Izoeúcín	Ile (I)	ACU	Treonín	Thr (T)	AAU	Asparagín	Asn (N)	AGU	Serín	Ser (S)	U
	AUC	Izoeúcín		ACC	Treonín		AAC	Asparagín		AGC	Serín		C
	AUA	Izoeúcín		ACA	Treonín		AAA	Lyzín		AGA	Arginín		A
	AUG	Metionín (ini)		ACG	Treonín		AAG	Lyzín		AGG	Arginín		G
G	GUU	Valín	Val (V)	GCU	Alanín	Ala (A)	GAU	Kys. asparágová	Asp (D)	GGU	Glycin	Gly (G)	U
	GUC	Valín		GCC	Alanín		GAC	Kys. asparágová		GGC	Glycin		C
	GUA	Valín		GCA	Alanín		GAA	Kys. glutámová		GGA	Glycin		A
	GUG	Valín		GCG	Alanín		GAG	Kys. glutámová		GGG	Glycin		G

ini – iniciačný kodón začína transláciu, term – terminačný (STOP) kodón ukončuje transláciu

kyslý zvyšok
 bázický zvyšok
 polárny zvyšok
 nepolárny zvyšok

term
 terminačný kodón

Genetický kód je univerzálny, teda funguje rovnako pri všetkých organizmoch. Bolo sice identifikovaných množstvo výnimiek (napr. v mitochondriách stavovcov triplet UGA nie je terminačný ale kóduje tryptofán, naopak triplety AGA a AGG fungujú ako stop kodóny), ovšem tieto výnimky platia vždy pre celú taxonomickú skupinu a uplatňujú sa zákonite

triplet UGA kóduje Trp v mitochondriách vždy a v jadre nikdy). Na úrovni translácie teda nemôžu vznikať z rovnakej predlohy rozdielne produkty, sekvencia mRNA je vždy prekľadaná rovnakým spôsobom. Variabilita však môže vznikať na úrovni zostrihu – z rovnakého primárneho transkriptu môžu byť vytvorené rôzne alternatívne molekuly mRNA z dôsledku zaradenia resp. vynechania konkrétnych exónov, čo vedie k vytvoreniu viacerých rozdielnych produktov (polypeptidov), odrážajúcich sa na rozdielom fenotype buniek.

Ako bolo spomenuté, genetická informácia určuje primárnu štruktúru polypeptidu, t.j. poradie aminokyselín. Medzi aminokyselinami v rámci reťazca za však vytvárajú chemické väzby rôznych typov, ktorými sa vytvára definitívny trojrozmerný tvar bielkovinnej molekuly. Veľmi pevná je kovalentná väzba medzi dvomi molekulami cysteínu (disulfidický mostík). Rovnako sa môže vytvárať iónová väzba medzi miestami na reťazci nabitými záporne (aminokyseliny s karboxylovým zvyškom $-COOH$, ktoré vo vodnom roztoku odštepujú vodík a sú teda nabité záporne $-COO^-$, napr. kyselina glutámová alebo asparágová) a miestami nabitými kladne (aminokyseliny s aminoskupinou $-NH_2$, ktoré vo vodnom roztoku prijímajú vodík a sú teda nabité kladne $-NH_3^+$, napr. arginín, histidín). Ďalším typom väzieb sú hydrofóbne interakcie medzi aminokyselinami s nepolárnym alkylovým zvyškom (napr. leucín, alanín, valín, izoleucín, glycín). Možnosti pre tvorbu týchto väzieb, sú určené práve primárnu štruktúrou, ktorá teda určuje vlastnosti bielkovinnej molekuly (tvar, veľkosť, elektrický náboj vo vodnom prostredí) a tým aj jej funkčnosť.

Viaceré polypeptidy podliehajú ďalším úpravám, vedúcim k syntéze výsledného proteínu. Mnohé proteíny sú oligomérne (skladajú sa z dvoch alebo viacerých polypeptidov, ktoré môžu byť produkтом rovnakého génu alebo rozdielnych génov), alebo sú funkčné len po naviazaní ďalších organických molekúl (sacharidov – glykoproteíny, lipidov – lipoproteíny atď.) katiónov kovov a pod. Alternatívny zostrih a posttranslačné úpravy vysvetľujú obrovskú rozmanitosť proteínov v živých organizmoch, ktorá výrazne prevyšuje počty identifikovaných génov a ich variantov.

Bielkoviny majú v živých organizmoch rozdielne funkcie. Zrejme najvýznamnejšia je funkcia enzymatická (biokatalytická) – enzýmy riadia všetky biochemické procesy. Proteíny riadia prenos látok cez bunkové membrány, podieľajú sa na stavbe buniek rôznych typov, slúžia ako zásobné látky a pod. Od genotypu jedinca teda závisí jeho proteínová výbava, ktorá cez riadenie biochemických procesov a stavbu tela (za spolupôsobenia negenetických vplyvov – prostredia) určuje utváranie fenotypových znakov (obr. 3).

Opravy DNA

DNA ako nositeľ dedičnej informácie môže byť poškodená ako v dôsledku bežných metabolických procesov, tak aj v dôsledku vonkajších faktorov. Väčšina poškodení vzniká v dôsledku chemickej modifikácie báz: oxidácie najmä reaktívnymi formami kyslíka, alkylácie (najčastejšie metylácia), hydrolýzy (deaminácia, depurinácia, depyrimidinácia), adície organických skupín. Reaktívne formy kyslíka môžu spôsobiť aj zlom reťazca. Časť mutácií vniká v dôsledku chybného párovania báz pri replikácii. K vonkajším faktorom vyvolávajúcim poškodenia DNA patria krátkovlnné elektromagnetické žiarenia (v princípe každé žiarenie s kratšou vlnovou dĺžkou, než má viditeľné svetlo, je mutagénne, teda UV, rtg, γ žiarenie), korpuskulárne žiarenia, vysoké teploty, niektoré rastlinné a hubové alkaloidy, ľažké kovy a celý rad umelo vyrábaných látok (polycyklické aromatické uhl'ovodíky, alkylačné činidlá atď.). Za prirodzené biologické „mutagény“ v istom zmysle možno považovať niektoré vírusy.

Bunky si vytvárajú reparačné mechanizmy, schopné vyhľadávať a opravovať poškodenia DNA. Existuje celý rad týchto mechanizmov, závisiacich od typu poškodenia: excízne mechanizmy opravujú chybné alebo chybne zaradené bázy (vystrihnutie bázy, nukleotidu, opravy párovania), existujú opravy jednoreťazcových a dvojretťazcových zlomov a pod. (vid'

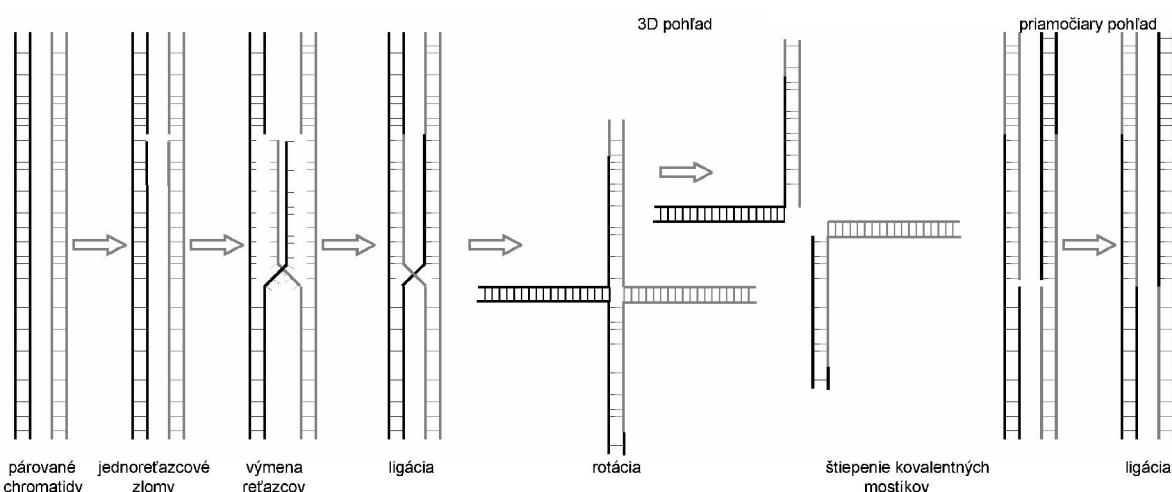
podkapitola *Génové mutácie*).

Schopnosť bunky opravovať poškodenia DNA samozrejme nie je neobmedzená, takže v bunkových liniach (klonoch) vznikajúcich bunečným delením sa poškodenia nutne hromadia. Po prekročení únosnej úrovne bunka vstupuje do senescencie (teda prestáva sa deliť), je programované zlikvidovaná apoptózou (programovaná smrť bunky), alebo, v horšom prípade, začne sa deliť nekontrolované a stáva sa rakovinnou bunkou.

Rekombinácia a crossing-over

Molekuly DNA tvoriace chromatidy homologických chromozómov sa pri bunkovom delení môžu prekrížiť a vymeniť si navzájom svoje časti; tento mechanizmus sa označuje termínom crossing-over (viď *Štruktúra a bunkový cyklus eukaryotickej bunky*) a vďaka nemu sa môže rekombinovať aj gény, umiestnené na rovnakej molekule DNA. Existuje viacero modelov rekombinácie, najčastejšie akceptovaný je Hollidayov model (obr. 5). Podľa neho sú po spárovaní homologických nesesterských chromatíd najprv endonukleázami vytvorené jednoreťazcové zlomy na oboch molekulách DNA. Následne helikáz a proteíny viažuce sa na jednoreťazcovú DNA narušia vodíkové mostíky medzi reťazcami. Proteíny Rec-A donútia prerušené reťazce vymeniť si navzájom pozície a spárovať sa s príslušným komplementárnym reťazcom nesesterskej chromatidy. Pokial' k prerušeniu reťazcov nedošlo na presne identických miestach v oboch nesesterských chromatidách, nukleotidy na nespárovanom úseku sú vystrihnuté exonukleázou a reťazce sú reparované DNA polymerázou. Vymenené reťazce sú následne zacelené s pôvodnou molekulou DNA ligázou. V tomto štádiu chromatidy vytvárajú útvar v tvare X, ktorý je následne rozpojený prerušením kovalentných väzieb v rámci protíahlých templátových reťazcov endonukleázou a zacelením takto vytvorených zlomov ligázou.

Ďalší z možných mechanizmov rekombinácie je založený na dvojreťazcových zlomoch; existuje viac variantov tohto mechanizmu, ktoré sú ovšem komplikovanejšie.



Obr. 5 Schéma mechanizmu rekombinácie založeného na jednoreťazcových zlomoch

Cytologické základy dedičnosti

Štruktúra a bunkový cyklus prokaryotickej bunky

Bunka prokaryotov (archeí a baktérií) je relatívne jednoduchý útvar. Nemá diferencované jadro ani organely (v tom zmysle, ako ich má eukaryotická bunka), kruhová molekula DNA (tzv. bakteriálny chromozóm, nukleoid) je voľne uložená v cytoplazme. Okrem nej sa v bunkách prokaryotov často nachádzajú malé kruhové molekuly DNA, plazmidy, ktoré sú tiež nositeľmi dedičnej informácie. Cytoplazma nie je rozdelená na kompartmenty, je obklopená

lipidovou bunkovou membránou a bunkovou stenou, ktorá je pri baktériach tvorená mureínom (peptidoglykán; komplex polysacharidov a špecifických proteínov), u archeí pseudomureínom (takisto polysacharidovo-proteínový komplex s mierne odlišnou chemickou štruktúrou).

Bunkový cyklus prokaryotov, ktoré sú spravidla jednobunkové (aj keď niektoré vytvárajú kolónie, napr. cyanobaktérie či myxobaktérie, a u niektorých dochádza v rámci kolónií aj k čiastočnej diferenciácii buniek) je relatívne jednoduchý. Prokaryotické bunky rastú až do dosiahnutia kritickej veľkosti. Následne replikujú svoju DNA: replikácia začína na špecifickom mieste na chromozóme (lokus *ori*), v ktorom je molekula DNA prichytená na plazmatickú membránu. Syntéza plazmatickej membrány prebieha paralelne s replikáciou, fosfolipidové molekuly dopĺňané medzi oba lokusy *ori* s postupujúcou replikáciou odťahujú dcérské molekuly k opačnému pólu bunky. Bunka sa potom fyzicky rozdelí vytvorením deliacej priečradky (septum; bunková membrána a bunková stena). Cytokinéza začína vchlípením plazmatickej membrány po obvode bunky, pričom novosyntetizovaný materiál septa je postupne pridávaný v rovine bunečného delenia. Tento proces sa označuje ako binárne delenie. Druhým mechanizmom je pučanie: na jednom konci materskej bunky sa vytvorí púčik, ktorý postupne narastá, a keď dorastie do veľkosti materskej bunky, oddelí sa.

Štruktúra a bunkový cyklus eukaryotickej bunky

V porovnaní s prokaryotickou bunkou je bunka eukaryotov komplikovaný a vysoko organizovaný útvar, charakterizovaný oddeleným jadrom, obsahujúcim najväčšiu časť dedičnej matérie. Je vnútorene rozdelená na kompartmenty a obsahuje množstvo organel, teda relatívne samostatných vnútrobunkových útvarov so špecializovanými funkciami. Niektoré z týchto organel sú (semi)autonómne, teda nesú vlastnú genetickú informáciu (aj keď v priebehu evolúcie sa časť génov súvisiacich s aktivitou organel presunula do jadra, t.j. existencia organel je závislá na spolupráci s jadrovými génnimi) a sú schopné autoreprodukcie: nevznikajú *de novo* ale delením existujúcich organel.

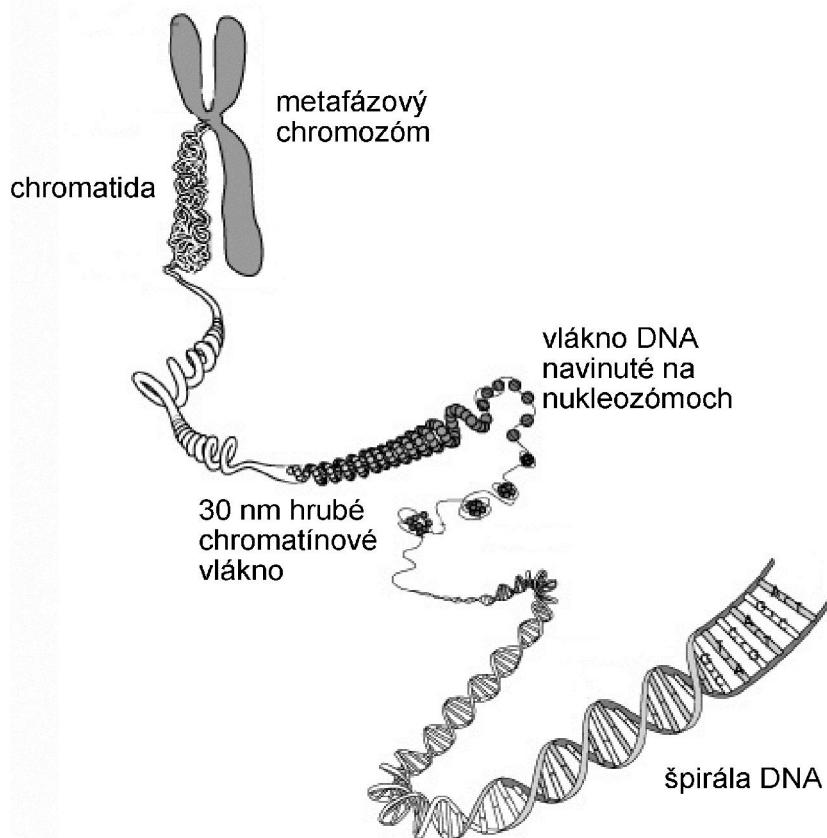
Zvonku je bunka ohraničená plazmatickou membránou, na ktorú pri niektorých eukaryotoch ešte nadvázuje bunková stena. U rastlín je bunková stena tvorená predovšetkým polysacharidmi (celulóza, hemicelulózy, pektín), v zdrevnatenej častiach rastlín je prestúpená lignínom. U hub je základnou zložkou bunkovej steny chitín (s výnimkou kvasiniek, kde je tvorená polysacharidmi). Živočíšne bunky nemajú bunkovú stenu, ale často vytvárajú medzi-bunkovú hmotu, spravidla tvorenú proteínmi (kolagén, nektíny) s bielkovinovo-polysacharidovými komplexmi (proteoglykány).

Bunkové membrány (ako vonkajšia plazmatická membrána bunky resp. obal autonómnych organel, tak aj vnútorné membrány) sú tvorené lipidovou dvojvrstvou. Väčšina látok nie je prenášaná cez ne pasívne, ale prenos zabezpečujú proteínové kanály, ktoré sú v nich vbudované. Vnútorné membrány utvárajú bohatu rozvetvený systém uzavretých útvarov (cistieren), predovšetkým Golgiho aparát, funkciou ktorého je posttranslačná úprava proteínov a iných makromolekúl, endoplazmatické retikulum (tzv. drsné, nesúce ribozómy, a hladké, podielajúce sa na metabolizme lipidov a sacharidov a detoxikácii). Charakteristikou súčasťou rastlinných buniek sú vakuoly, centrálna vakuola niektorých typov buniek vypĺňa väčšinu ich obsahu. Z endoplazmatického retikula sa odštepujú transportné vačky slúžiace na transport proteínov a iných látok do Golgiho aparátu alebo ich export cez bunkovú membránu (exocytózu). Bunka takisto obsahuje organely slúžiace pre odbúravanie nadbytočných látok – časť týchto procesov prebieha u rastlín v lytických vakuolách, ale časť zabezpečujú lyzozómy a peroxizómy. Súčasťou každej eukaryotickej bunky je citoskelet, teda vláknité štruktúry tvorené špecifickými proteínmi, tvoriace vnútornú výstuž bunky a napomáhajúce pri vnútrobunkovom transporte a bunečnom delení.

Mitochondrie sú autonómne organely s vlastnou dedičnou informáciou, zabezpečujúce

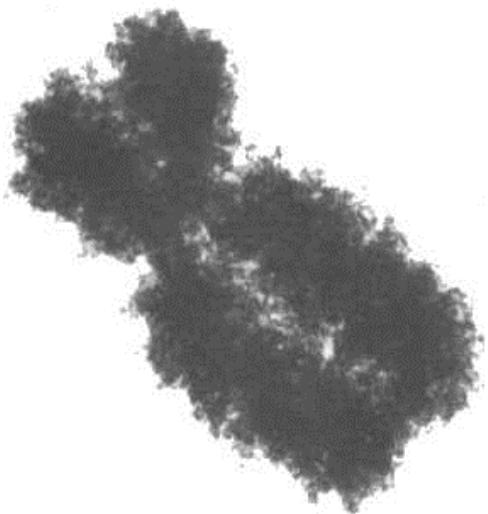
aerobnú respiráciu a produkujúce ATP ako hlavný zdroj energie pre biochemické procesy. Ďalšiu skupinu autonómnych organel, ktorá sa vyskytuje len v rastlinných bunkách (a u niektorých skupín jednobunkových organizmov) tvoria plastidy, predovšetkým chloroplasty, vykonávajúce fotosyntézu. Autonómne organely vznikli v evolúcii z prokaryotických endosymbiontov (α -proteobakérií v prípade mitochondrií, cyanobaktérií v prípade chloroplastov).

Typickým znakom eukaryotickej bunky je prítomnosť jadra ako diferencovaného útvaru, oddeleného od zvyšku bunky jadrovou membránou obsahujúceho genetický materiál. DNA v jadre eukaryotických buniek nie je uložená voľne. V predchádzajúcom texte bola spomenutá celková dĺžka DNA tvoriacej najdlhší chromozóm človeka 8,5 cm – s takouto obrovskou makromolekulou by bunkový aparát nemohol zaobchádzať. Vlákno DNA je v skutočnosti priestorovo organizované do vyšších štruktúr až po úroveň kondenzovaného chromozómu, ktorý pri bunečnom delení možno vidieť aj svetelným mikroskopom. Vlákno DNA je navinuté na malé bielkovinné komplexy, nazývané nukleozómy s priemerom 11 nm (nukleozóm je zložený histónov, čo sú malé proteínové molekuly, 8 molekúl histónov vytvára nukleozóm). Nukleozómy sú následne spakované (hyperšpiralizované) do 30 nm hrubého chromatínového vlákna. Chromatínové vlákno vytvára slučky s dĺžkou cca 300 nm, v jednej slučke je cca 1000 nukleozómov. V tejto štruktúre je molekula DNA uložená v jadre v období medzi delením buniek (interfáze). Pri delení ďalej kondenzuje a ukladá sa do útvaru, ktorý má hrúbku cca 0,7 μm a dĺžku rádovo niekoľko mikrometrov (obr. 6), a ktorý označujeme termínom chromozóm. Časti DNA kódujúce aktívne prepisované gény sú spakované voľnejšie a tvoria tzv. euchromatín, naopak neaktívne časti sú tesnejšie asociované s podpornými proteinmi a tvoria heterochromatín.



Obr. 6 Schematické znázornenie úrovní kondenzácie genetického materiálu od molekuly DNA po metafázový chromozóm (<http://www.accessexcellence.org>, upravené).

Každý chromozóm má typickú štruktúru, ktorá súvisí aj so štruktúrou DNA tvoriacej jeho základ. Pre pozorovanie pod mikroskopom sa chromozómy farbia Giemsovým farbivom, ktoré sa preferenčne viaže na páry guanín-cytozín. Úseky bohaté na GC sa pri pozorovaní javia ako tmavšie prúžky, úseky chudobnejšie na GC sú svetlejšie. Usporiadanie týchto prúžkov pomáha pri identifikácii chromozómov. Na chromozóme sú pozorovateľné niektoré typické útvary. Konce chromozómov (teloméry) sú tvorené tandemovo opakovanými neexprimovanými sekvenciami a chránia chromozóm pred postupným odbúravaním pri každej replikácii. V rámci chromozómu sa nachádza úsek označovaný ako centroméra, ktorý sa javí ako zúžené miesto (primárna konštrikcia). Pri bunkovom delení sa molekula DNA musí replikovať, chromozóm sa v tomto štádiu skladá z dvoch sesterských chromatíd, ktoré zostávajú spojené v centromére až do delenia, chromozóm má teda tvar X (obr. 7). Centroméra delí chromozóm na dve ramená, ktoré môže byť približne rovnaké (metacentrický chromozóm) alebo je centroméra umiestnená v blízkosti teloméry (ako centrický chromozóm), prípadne na konci chromozómu (telocentrický chromozóm).



Obr. 7 Snímka metafázového chromozómu z elektrónového mikroskopu (<http://bioweb.wku.edu/courses/Biol115/wyatt/wku/mitosis.htm>)

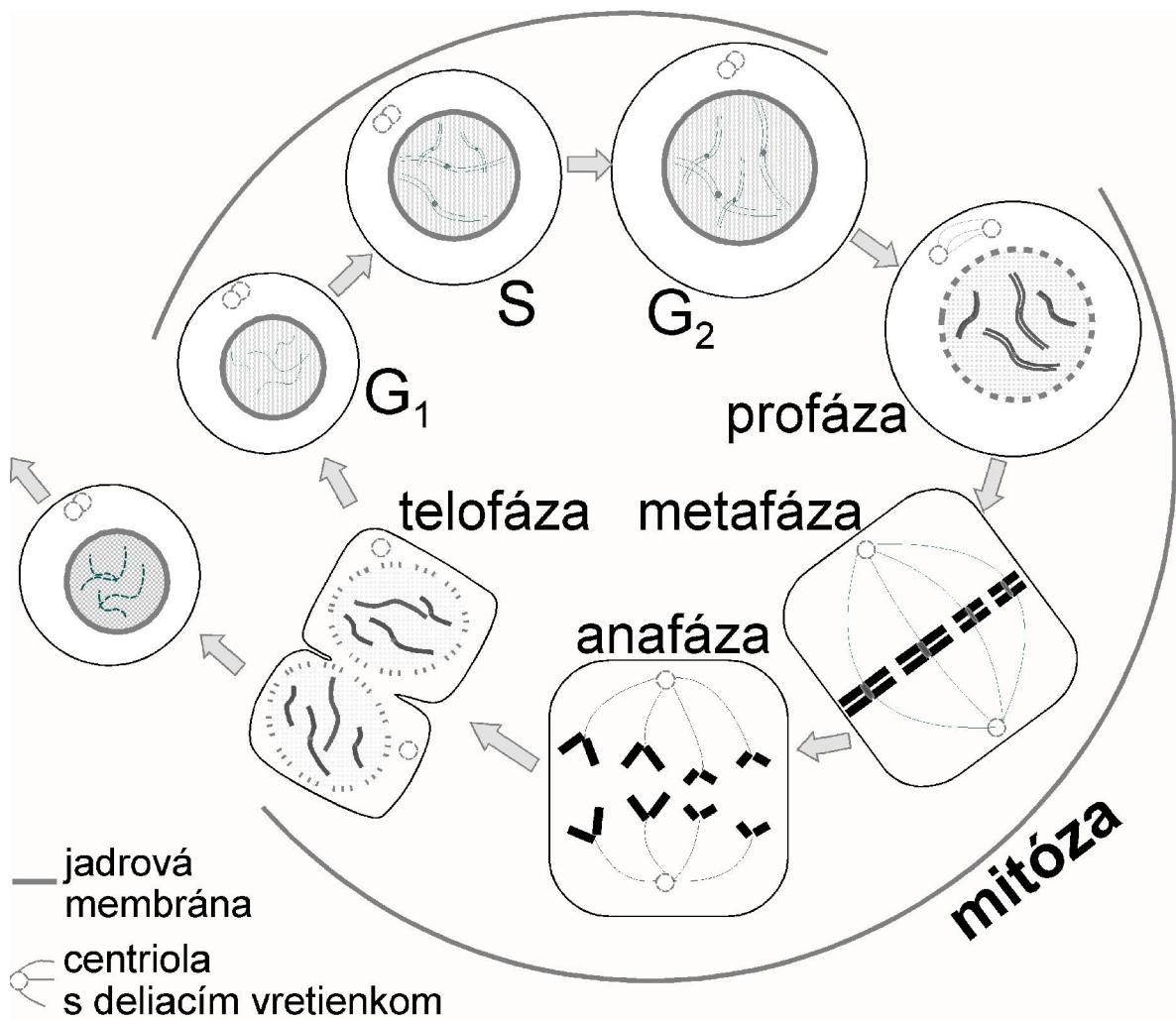
V jadre je rozoznateľný menší útvar označovaný ako jadierko. Je tvorené tandemovými opakovanicami génov pre rRNA; v tejto časti jadra dochádzka k prepisu týchto génov a k formovaniu prepísanej rRNA do subjednotiek ribozómov, ktoré sú následne transportované cez póry jadrovej membrány do cytoplazmy, kde sa budú uchytávať na membrány endoplazmatického retikula, alebo sú voľne uložené v cytoplazme.

Počet chromozómov v jadre bunky určuje jej ploidiu. Somatické (telové) bunky obsahujú za normálnych okolností dve sady chromozómov homologických chromozómov, sú tzv. diploidné. Ak kompletnej sada obsahuje n chromozómov (tzv. haploidný počet), potom počet chromozómov v interkinetickej somatickej bunke je $2n$. Viaceré organizmy vykazujú odlišné stupne ploidie, podrobnejšie popísané v kapitole *Mutácie*.

Rast organizmu je nutne spojený so zväčšovaním počtu buniek, čo si vyžaduje ich delenie, pri ktorom každá novovytvorená dcérská bunka musí získať celú a nezmenenú dedičnú informáciu, ktorá bola obsiahnutá v materskej bunke. Takéto rozdelenie dedičného materiálu zabezpečuje mechanizmus delenia, označovaný ako mitóza.

Bunka mnohobunkových eukaryotov v priebehu svojho života prechádza viacerými fázami (obr. 8). Štádium medzi dvomi mitotickými deleniami sa označuje ako interfáza alebo interkinéza. Nové bunky vzniknuté delením najprv rastú, t.j. zväčšujú svoj objem. Toto

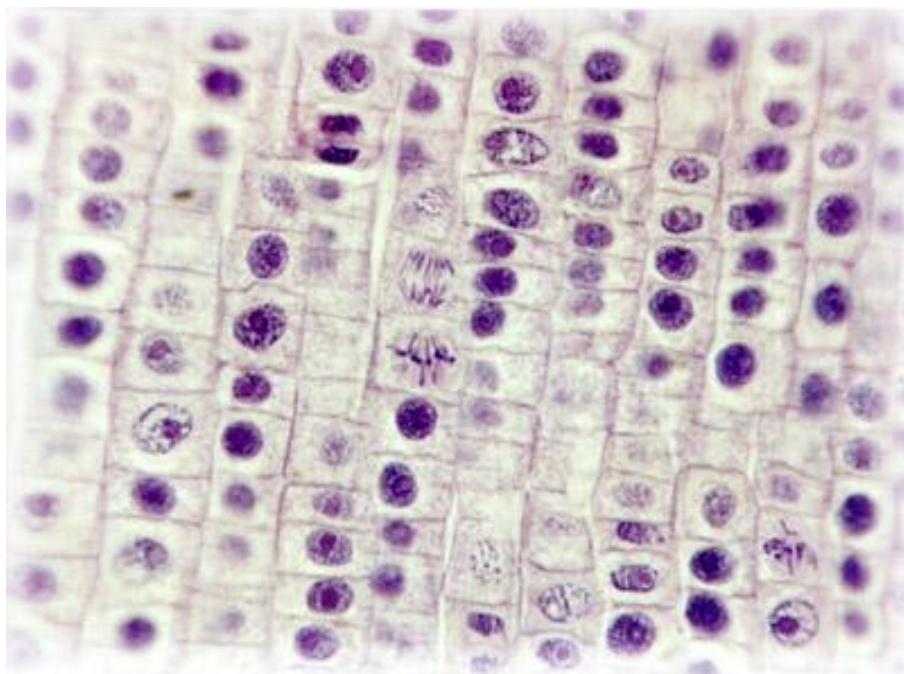
štádium sa označuje ak G_1 (z angl. *gap*, t.j. medzera). Počas G_1 sa v bunke syntetizujú nové látky, dochádza k expresii génov (predovšetkým génov kódujúcich enzymy slúžiace pri replikácii DNA v naslednej fáze) a prebieha búrlivá enzymatická aktivita nutná pre syntézu stavebných a ďalších látok nutných pre život bunky. Nasledne bunka vstupuje do fázy S (*synthesis*), v ktorej dochádza k syntéze nových molekúl DNA, teda k replikácii. Na konci S fázy sa každý chromozóm skladá z dvoch sesterských chromatíd. Expressia génov je utlmená s výnimkou génov pre históny, nutné pre stabilizáciu vytvorených dcérskych DNA molekúl. Ďalšou fázou interkinézy je G_2 fáza, v rámci ktorej ďalej narastá objem bunky a obnovená expressia génov opäť zabezpečuje intenzívnu enzymatickú aktivitu podmieňujúcu syntézu látok potrebných pre rast bunky. G_2 je ukončená mitózou.



Obr. 8 Schéma priebehu eukaryotického bunkového cyklu. Zobrazenie interfázových chromozómov treba brať len ako ilustračné, v skutočnosti nie sú v jadre viditeľné.

Mitotické delenie prebieha v štyroch fázach. Pred delením, v závere interfázy, musí dôjsť k replikácii molekúl DNA. Bunka je teda dočasne tetraploidná, dve nové dcérské molekuly DNA tvoria dve chromatidy, ktoré zostávajú spojené v oblasti centroméry. V interfáze sú však chromozómy rozvinuté a nie je možné ich morfologicky rozoznať. V prvej fáze mitózy, profáze, začínajú chromozómy kondenzovať a vytvárajú sa z nich identifikovateľné útvary. Zároveň sa na póloch bunky začínajú predĺžovať vlákna deliaceho vretienka. Na konci profázy sa rozpadá jadrová membrána. V metafáze sa chromozómy usporiadajú do ekvatoriálnej („rovničkovej“) roviny bunky a vlákna deliaceho vretienka sa upnú na chromatidy v mieste

centroméry (primárna zúženina na chromozóme, ktorá ho delí na dve ramená). V tejto fáze sú sesterské chromatidy stále spojené v mieste centroméry a chromozómy (vytvárajúce útvar v podobe písma X, vid' obr. 7) sú najlepšie pozorovateľné. Popis štruktúry chromozómu po histochemickom farbení sa spravidla vzťahuje práve na metafázové chromozómy. V anafáze sa vlákna deliaceho vretienka začínajú skracovať, čím tiahajú každú z dvojice sesterských chromatíd k opačnému pólu bunky. V telofáze sú kompletné sady chromozómov nahromadené každá pri opačnom póle bunky. Chromozómy sa začínajú opäť dešpiralizovať a okolo nich sa obnovuje jadrová membrána, čím je ukončené delenie jadier. Následne počas cytokinézy dochádza k deleniu cytoplazmy sformovaním deliacej priečradky medzi jadrami (lipidová membrána) a následne sformovaním bunkovej steny. Počet chromozómov v bunke počas bunkového cyklu sa teda mení $2n \rightarrow 4n \rightarrow 2n$. Autonómne sa množiace bunkové organizmy u rastlín, húb aj živočíchov sa počas cytokinézy (rozdelenia buniek po ukončení mitotického delenia jadier) rozdelia do oboch dcérskych buniek náhodne, vzhľadom na veľký počet mitochondrií (v priemere 200) aj chloroplastov (20–100) v bunke sa prakticky s istotou dostanú do oboch dcérskych buniek. V nich sa ďalej množia rovnakým spôsobom ako ich prokaryotickí predchodcovia: binárnym delením alebo pučaním. Jednobunkové eukaryoty často obsahujú mitochondrie resp. chloroplasty len v jedinom exemplári, ich rozmnžovanie je synchronizované s bunkovým cyklom. U mnohobunkových organizmov v princípe neustále dochádza k deleniu alebo naopak fúzii mitochondrií, ktoré vytvárajú dynamickú tubulárnu sieť, v ktorej rovnováha medzi delením a spájaním závisí od energetických potrieb bunky v spojení s podmienkami prostredia.



Obr. 9 Snímka bunkového delenia v listovom parenchýme cibule (*Allium cepa*)
(www.microscopy-uk.org.uk/mag/artaug99/mitosis.html)

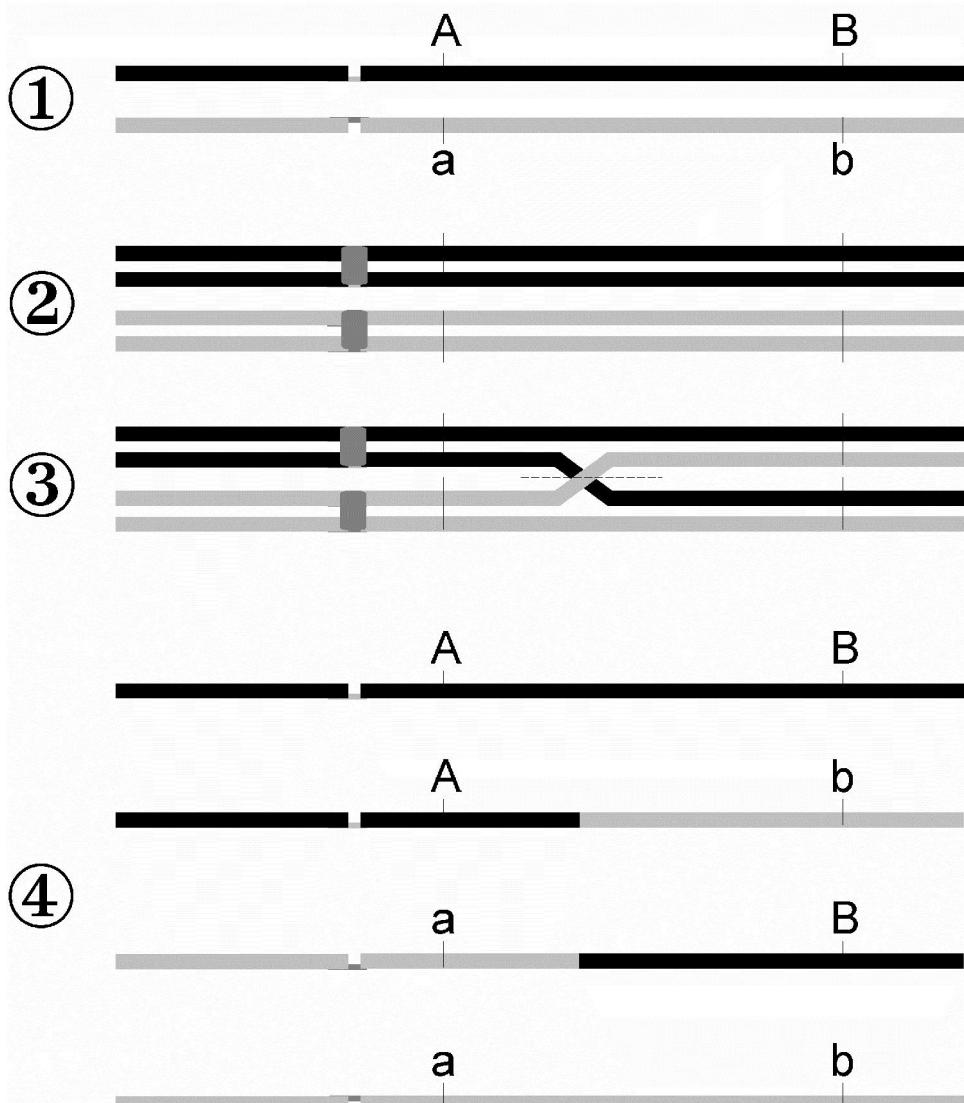
V niektorých prípadoch nedôjde po delení jadier k cytokinéze, takže vznikajú bunky s viacerými jadrami. Multinukleárne bunky sú bežné u húb, v niektorých tkanivách živočíchov (napr. pečeň stavovcov), ale nachádzajú sa aj v apikálnych meristémoch rastlín.

Nie všetky bunky sa trvale delia. S postupnou diferenciáciou (teda nadobúdaním špecifickej funkcie, ktorú bunka v organizme plní) sa schopnosť delenia stráca a bunka (spravidla) po ukončení G₁ nepokračuje fázou S ale vstupuje do kľudového stavu (G₀). Ten nemusí byť

trvalý, niektoré bunky sú schopné vrátiť sa do fázy G_0 a následne sa opäť deliť. Pokial' je však bunka plne diferencovaná, pretrváva v senescentnom stave až do ukončenia svojej životnosti apoptózou, t.j. programovanou smrťou. Na rozdiel od nekrózy („násilná“ smrť bunky, pri ktorej dôjde k dezorganizovanému rozpadu bunky, pričom uvoľnený bunečný obsah môže poškodiť susedné bunky), apoptóza je zákonitým procesom, pri ktorom bunka riadene likviduje vlastné proteíny (vrátane enzýmov, ktoré by pri uvoľnení mohli spôsobiť poškodenie pletiva) a následne po rozpade plazmatickej membrány sú jej zvyšky vstrebané okolitými bunkami.

Pri vzniku gamét (pohlavných buniek) sa na rozdiel od delenia somatických buniek množstvo genetického materiálu musí zmenšiť. Ak by gaméty boli diploidné rovnako ako somatické bunky, počet chromozómov v jadre by sa každou reprodukciou exponenciálne zväčšoval ($2n \rightarrow 4n \rightarrow 8n \rightarrow 16n \rightarrow \dots$). Rozdelenie dvojice chromozómových sád (diploidného počtu) na dve haploidné sady v gamétoch zabezpečuje mechanizmus delenia buniek nazývaný meióza. Meióza predstavuje sled dvoch delení jadra sa analogickým priebehom fáz ako pri mitóze, redukcia počtu chromozómov nastáva pri druhom delení. Rovnako ako pri mitotickom delení musí ešte v interkinéze dôjsť k replikácii DNA, opäť sa vytvoria dve chromatidy navzájom spojené v centromére. Profáza I je časovo predĺžená a pozostáva z piatich štádií. V leptoténe sa chromozómy kondenzujú, vytvárajú sa z nich útvary viditeľné v elektrónovom mikroskope. S pokračujúcou špiralizáciou chromozómov nastáva ďalšie štadium, zygotén, v ktorom sa homologické chromozómy navzájom párujú. Tento proces spájania chromozómov sa označuje ako synapsa, a spravidla ju zabezpečuje tvorba proteínového spojovacieho komplexu. Počas synapsy sa chromozómy zmršťujú do stále kratších a hrubších útvarov, ktoré sú viditeľné v bunke počas ďalšej fázy, pachyténu. V tomto štadiu sú už spárované chromozómy jasne rozoznateľné aj v svetelnom mikroskope, vytvárajú útvar, zložený z dvoch dvojíc sesterských chromatíd (teda z dvoch homologických chromozómov), označovaný ako bivalent (odvodené z počtu chromozómov) resp. tetráda (odvodené z počtu chromatíd). Počas pachyténu (a možno už v zygoténe) sa môžu nesesterské chromatidy prekrížiť, spojiť, a navzájom si vymeniť časti. Tento jav sa označuje anglickým termínom crossing-over (slov. prekríženie) a viedie k rekombinácii alel na rozdielnych homologických chromozómoch (ku crossing-overu môže dôjsť aj medzi sesterskými chromatidami, ale tam nemá žiadne genetické následky, keďže sesterské chromatidy sú identické, vnikli kopírováním tej istej molekuly DNA). Prekriženie je dobre viditeľné počas ďalšieho štadia profázy I, diploténu, počas ktorého sa spárované chromozómy trochu od seba oddialia, ale zostávajú spojené v miestach, v ktorých došlo ku crossing-overu a ktoré sa označujú termínom chiazma (kedže pripomínajú grécke písmeno chí – χ; obr. 10, 11). V poslednom štadiu profázy I, v diakinéze, chromozómy nadalej kondenzujú a pohybujú sa k ekvatoriálnej rovine bunky. Jadrová membrána sa rozpadá a začína sa vytvárať deliace vretienko. V metafáze I sa páry homologických chromozómov usporiadajú do ekvatoriálnej roviny tak, že ich centroméry smerujú každá k opačnému pólu bunky. Čahom vlákien deliaceho vretienka sa chiazmy postupne od centroméry smerom k teloméram oddelujú, k definitívному rozdeleniu dôjde počas anafázy I. Priebeh telofázy I závisí od druhu, pri niektorých organizmoch deliace vretienko zanikne, obnoví sa jadrová membrána okolo oboch dcérskych jadier a chromozómy opäť dekondenzujú, pri iných sa nové jadrá nediferencujú, chromozómy sa dešpiralizujú len čiastočne, a dcérské bunky priamo vstupujú do ďalšieho delenia. V každom prípade výsledkom I. meiotického delenia je vznik dvoch dcérskych buniek, ktoré sú sice diploidné v tom zmysle, že obsahujú dve sady molekúl DNA, ale ide o dvojice sesterských chromatíd, teda identických molekúl DNA. Meióza II má priebeh analogický ako mitóza. Počas profázy II chromozómy opäť kondenzujú a pripájajú sa k vláknam nového deliaceho vretienka, v metafáze II sa usporiadajú do novej ekvatoriálnej roviny (kolmej na pôvodnú), v anafáze II sú sesterské chromatidy príťahované každá k opačnému pólu bunky, a v telofáze II sa

zhlukujú pri opačných póloch, dekondenzujú a tvorbou jadrových a následne membrán sa tvoria samostatné dcérské bunky. Počet chromozómov v bunke počas gametogenézy sa teda mení $2n \rightarrow 4n \rightarrow 2n \rightarrow 1n$. Na rozdiel od mitózy, produkтом ktorej sú dve nové geneticky identické dcérské bunky (majú rovnaký genotyp ako mala materská bunka), meiózou sa vytvárajú štyri haploidné bunky, ktoré nie sú geneticky identické (majú rozdielny haplotyp). Dvojice homologických chromozómov, ktoré nesú tie isté gény, ale môžu niesť rozdielne varianty (alely) týchto génov, sa pri meióze rozchádzajú do rôznych gamét, tento proces sa označuje ako segregácia chromozómov resp. génov pri gametogenéze (obr. 10).



Obr. 10 Schéma segregácie a rekombinácie génov pri meióze. 1) dvojica homologických chromozómov v interkinéze diploidnej zárodočnej bunky (peľová materská bunka PMC alebo materská bunka zárodočného vaku ESMC). Jedinec je heterozygotný v génoch A a B, ktoré sú vo vzájomnej väzbe: obe dominantné alely (AB) sa nachádzajú na jednom chromozóme, obe recesívne alely (ab) na druhom. Pre názornosť sú homologické chromozómy a ich časti zobrazené rôznymi farbami. 2) Bivalent tvorený duplikovanými homologickými chromozómami (4 chromatidy) počas zygoténu meiózy I. Chromatidy sú spojené v mieste centroméry. 3) Diplotén meiózy I: dve nesesterské chromatidy sa prekrížili medzi génm A a B a vymenili si medzi sebou úseky od miesta prekríženia až po teloméry. 4) Stav po telofáze II: vznikli 4 haploidné bunky, z ktorých dve majú pôvodnú konšteláciu alel (AB a ab) a dve rekombinovanú konšteláciu alel (Ab a aB). Alely oboch génov segregujú do gamét v pomere 1:1, t.j. 50% dcérskych buniek obsahuje dominantnú alelu, 50% recesívnu.



Obr. 11 Snímka spárovaných chromozómov počas meiózy (chiazma)
www.scilproj.org/IBHbio2knowledge.html

Chromozóm sa pri meióze teda nerozdelení na jednotlivé úseky, zodpovedajúce jednotlivým génom, ale správa sa ako jeden celok. Gény, ktoré sa na ňom nachádzajú, sa preto nemôže voľne kombinovať, ale správajú sa ako jeden súbor. Tomuto javu hovoríme väzba génov (angl. *linkage*), a súbor génov, nachádzajúci sa na rovnakom chromozóme sa označuje ako väzbová skupina. Jedinou možnosťou, ako sa môžu génu na jednom chromozóme rekombinovať, je crossing-over. Dvojica nesesterských chromatíd sa medzi dvomi génmi môže prekrížiť aj dvakrát, v tomto prípade sa obnoví pôvodná (nerekombinovaná) konštelácia alel, takisto môže dojst' k viacnásobným prekríženiam medzi rôznymi dvojicami nesesterských chromatíd v rámci tetrády. V každom prípade pravdepodobnosť, že medzi dvomi génmi dojde ku crossing-overu je tým väčšia, čím ďalej od seba sa na chromozóme nachádzajú. Táto skutočnosť sa využíva pri mapovaní polohy génov na chromozómoch. Miesto na chromozóme, kde sa konkrétny gén (alebo iná nukleotidová sekvencia) nachádza, sa označuje termínom lokus.

Chromozómová sada sa naopak pri delení buniek ako celok nespráva. Heterologické chromozómy sa môžu pri tvorbe gamét dostať do dcérskych buniek v ľubovoľnej kombinácii, preto gény lokalizované na rozdielnych chromozómoch sa rekombinujú voľne. Pri diploidických organizmoch (ku ktorým patrí väčšina hospodársky významných drevín aj druhov polovnej zveri) je teda počet možných kombinácií chromozómov v gamétoch 2^n (kde n je veľkosť haploidnej chromozómovej sady). Pri buku alebo smreku, ktoré majú haploidný počet chromozómov $n = 12$, je teda aj pri zanedbaní možnosti rekombinácie génov crossing-overom možnosť vytvorenia $2^{12} = 4096$ haplotypových kombinácií v gamétoch, tvorených jediným jedincom.

DEDIČNOSŤ FENOTYPOVÝCH ZNAKOV

Mendelove zákony, autozomálna dedičnosť kvalitatívnych znakov

Skutočnosť, že potomstvo je podobné svojim rodičom, bolo oddávna súčasťou ľudskej skúsenosti a predmetom záujmu prírodrovedcov. Dlho však neboli známe nielen mechanizmy, ktorými sa dedenie vlastností a znakov uskutočňuje, ale aj hypotézy o dedičnosti vychádzali skôr zo zovšeobecnenia náhodných pozorovaní a často aj z naivných zjednodušujúcich predstáv, než z experimentálnych údajov. Prvým, kto vykonal systematické pokusy v tomto smere a postavil ich na solídnej štatistickej báze bol JOHANN GREGOR MENDEL, ktorý tým položil základy genetiky ako vednej disciplíny. Na základe zákonitostí, ktoré popísal vo svojom diele *Versuche über die Pflanzenhybriden* (1866), je možné na základe premenlivosti fenotypového znaku a jeho charakteru vo viacerých generáciách urobiť závery o géne resp. génoch, ktoré tento znak podmieňujú. Predpokladom úspešnej genetickej analýzy je malý počet génov, ktoré znak kontrolujú, a malý resp. žiadny modifikujúci vplyv prostredia (nededičných faktorov).

Mendel vykonával svoje pokusy s rozdielnymi odrodami hrachu. Odrody poľnohospodárskych plodín sa vytvárajú dlhodobým systematickým umelým výberom, pri ktorom sa vybe-

rajú nositelia žiadúcich vlastností a používajú pre ďalšie rozmnožovanie, zatiaľ čo jedince vykazujúce akékoľvek odchýlky od žiaduceho fenotypu sú vylúčené, čím sú z populácie vylúčované aj gény podmieňujúce tieto fenotypové odchýlky. Variety sú teda geneticky značne homogénne. Mendel sledoval celkovo 7 fenotypových znakov, a na základe výsledkov kríženia medzi jedincami rodičovskej (parentálnej) generácie a krížení v následných (filiálnych) generáciách sformuloval pravidlá, ktoré popisujú dedičnosť kvalitatívnych znakov, kontrolovaných autozomálnymi génnimi u diploidných, pohlavne sa množiacich organizmov, vzťahujú sa teda na lesné dreviny, poľovnú zver či človeka samotného v rovnakej miere, ako na hrach.

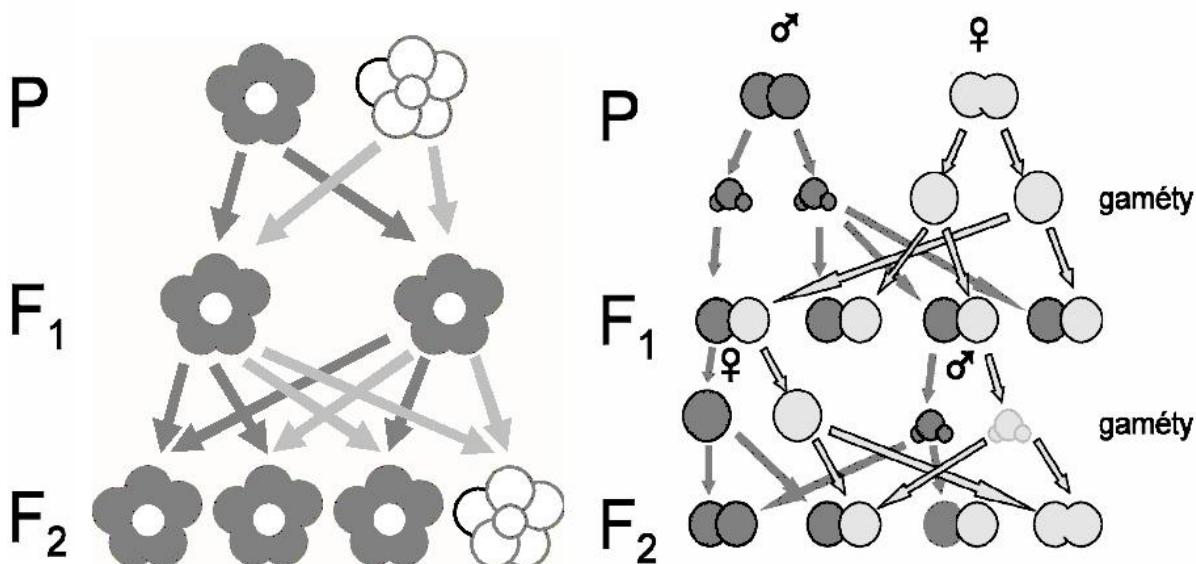
Prvé Mendlovo pozorovanie sa týka správania sa krížencov (hybridov), teda 1. filiálnej generácie (F_1). Pokial krížil rodičov, odlišujúcich sa v konkrétnom fenotypovom znaku, napr. farbe kvetov, všetko potomstvo bolo rovnaké, uniformné, a podobalo sa len na jedného z rodičov. Pritom nezáležalo na tom, akú farbu kvetov mala matka a akú otec, kríženia oboma smermi (reciproké kríženia) dávali rovnaký výsledok. Variantu znaku, ktorý sa u hybridov prejavil, Mendel označil ako dominantný, naopak znak, ktorý sa u žiadneho z jedincov F_1 neobjavil (aj keď jeden z rodičov bol jeho nositeľom) označil ako recesívny (z lat. *recedere* – ustúpiť). Ak napríklad krížil jedinca s červenými kvetmi a jedinca s bielymi kvetmi, všetko potomstvo bolo červenokveté, nezávisle na tom, či červenokvetá rastlina bola otcovská alebo materská. Následne Mendel sledoval prejav daného znaku v potomstve hybridov, teda v 2. filiálnej generácii (F_2). V nej sa recesívny variant znaku objavil opäť. Pri veľkom počte uskutočnených krížení a starostlivom kvantitatívnom vyhodnotení výsledkov sa ukázalo, že podiel nositeľov recesívneho znaku v F_2 dosahoval v priemere 25%. Ak by sme použili rovnaký príklad, ak boli skrížené dva červenokveté hybridy, v ich potomstve sa vždy objavila štvrtina jedincov s bielymi kvetmi, ktoré nemal ani jeden z rodičov (F_1), ale mal ich jeden z prarodičov (P) (viď obr. 12).

Mendel z týchto pozorovaní odvodil správnu teóriu dedičnosti. Na rozdiel od dovtedajších predstáv, podľa ktorých má dedičnosť kontinuálnu povahu, teda potomstvo predstavuje prieber či rôzne typy prechodov medzi vlastnosťami rodičovských jedincov, Mendel došiel k záveru, že faktory, podmieňujúce prenos dedičných vlastností musia byť diskrétné (je treba pripomenúť, že v jeho dobe o chromozómoch, DNA či ich úlohe v dedičnosti nebolo nič známe; naopak, až zverejnenie Mendlových výsledkov umožnilo klášť si otázku, ktoré bunkové štruktúry a ktoré makromolekuly sa správajú v zhode s nimi). Správne vytušil, že telové bunky organizmu vždy obsahujú dva takéto diskrétné dedičné faktory, zatiaľ čo pri vzniku pohlavných buniek musí byť tento počet redukovaný na polovicu. Termín „gén“ pre označenie týchto dedičných faktorov navrhol až dánsky botanik Johanssen v r. 1909. Jedinec, ktorý od oboch rodičov získal rovnaký variant génu (alelu), bol označený ako homozygot, nositeľ dvoch rôznych alel rovnakého génu je heterozygot.

Jednotlivé gény a ich alelické variandy nemusia byť z hľadiska fenotypu rovnocenné, fenotypový prejav závisí nielen od prítomnosti alel v genotype, ale aj od ich vzájomného vzťahu. Zhodou okolností sa u všetkých znakov, ktoré Mendel študoval u hrachu, uplatňuje úplná dominantancia. Alela, ktorá sa označuje ako dominantná, sa fenotypovo prejaví vždy, ak je v genotype jedinca prítomná v homozygotnom či v heterozygotnom stave. Fenotypový prejav recesívnej alely je dominantnou alelou u heterozygota potlačený, môže sa teda prejať len v homozygotnom stave. Pri úplnej dominantancii je teda fenotyp dominantného homozygota a heterozygota totožný, odlišuje sa len fenotyp recesívneho homozygota. Pri neúplnej dominantancii leží fenotypová hodnota heterozygota medzi fenotypmi oboch homozygotov (v prípade kvalitatívneho znaku sa používa aj termín intermediariá). Špecifickým prípadom neúplnej dominantie je aditivita – ak hodnota heterozygota je presne v strede medzi fenotypovými hodnotami oboch homozygotov, nie je možné rozlišovať dominantnú a recesívnu alelu, pretože žiadna z nich vo fenotype neprevažuje (nedominuje), ale jedna z alel zvyšuje

fenotypovú hodnotu, druhá nie. Účinky alel sa sčítavajú. Model aditivity sa uplatňuje predo všetkým pri kvantitatívnych znakoch. Pri superdominancii heterozygot prevyšuje svojím fenotypovým prejavom fenotypové hodnoty oboch homozygotov. V prípade, že sa obe alely heterozygota prejavia nezávisle na sebe, hovoríme o kodominancii.

Na obr. 12 je znázornené kríženie medzi dvomi jedincami, ktoré sa odlišujú farbou kvetov. Kríženie, pri ktorom sa rodičovské jedince odlišujú v jednom znaku (resp. pri ktorom sa sleduje odlienosť len v 1 znaku) sa označuje ako monohybridné. V parentálnej generácii (označovanej P) krížime dvoch (predpokladane homozygotných) rodičovských jedincov s odlišnými variantmi znaku (červenou a bielou farbou kvetu). Potomstvo (hybridy tzv. 1. filiálnej generácie – F₁) však bude vykazovať len jeden variant znaku, všetky jedince nezávisle na ich počte budú mať červené kvety, potomstvo je teda uniformné. Obe reciproké kríženia (t.j. červenokvetý otec × bielokvetá matka aj bielokvetý otec × červenokvetá matka) dávajú pritom rovnaký výsledok (pravidlo uniformity a reciprocity). V ďalšej generácii však dochádza k fenotypovému štiepeniu, opäť sa objavujú dva varianty znaku. Ak skrižime dva červenokveté jedince F₁, v 2. filiálnej generácii F₂ sa bude vyskytovať 75% červených jedincov a 25% bielych jedincov (pravidlo zákonitého štiepenia v potomstve hybridov).



Obr. 12 Ilustrácia Mendelových pravidiel dedičnosti fenotypových znakov. Vľavo: dedičnosť farebných variantov farby samičích strobilov u smrekovca pri úplnej dominancii vlohy pre tmavú (červenú) farbu, vloha pre svetlú (žltozelenú) farbu je recesívna. Vpravo: schematická ilustrácia segregácie génov pri tvorbe gamét a ich kombinácie do genotypov v jednotlivých generáciach.

Mendel formuloval svoje predstavy o dedičnosti v polemike s teóriou zmiešavania (*blending inheritance*), podľa ktorej potomstvo vykazovalo vždy priemernú fenotypovú hodnotu oboch rodičov. Mendel došiel k správnemu názoru, že dedičnosť riadia fyzické, samostatné a stále jednotky, pričom každý jedinec má dve takéto jednotky, ktoré môže byť rovnaké alebo rozdielne. Pokial' sú rozdielne, nemiešajú sa, nevstupujú do žiadnych vzájomných interakcií, ale zachovávajú si svoju integritu. Každá pohlavná bunka (gaméta) naopak obsahuje len jednu čistú, nezmiešanú vlohu pre daný znak (pravidlo čistoty gamét).

Použitím dnešnej terminológie je možné sformulovať popis mechanizmu dedičnosti jednoduchšie. Rodičovské jedince v parentálnej generácii sú homozygotné. V príklade na obr. 12 je otcovský červenokvetý jedinec homozygot v dominantnej alele, t.j. má genotyp **AA**. Keďže na oboch chromozómoch má v géne *A* dominantnú vlohu, je schopný produkovať len peľové zrná s touto vlohou, teda všetky gaméty majú haplotyp *A*. Materský bielokvetý

jedinec je homozygot v recesívnej alele (genotyp ***aa***), analogicky je teda schopný produkovať len vajíčkové bunky s haplotypom ***a***. Nech sa ktorákoľvek samčia gaméta skombinuje s ktoroukoľvek samičou, vždy vznikne zygota, ktorá po otcovi zdedí dominantnú vlohu (***A***) a po matke recesívnu (***a***), teda genotyp potomstva musí byť heterozygotný (***Aa***). Všetky jedince potomstva sú teda genotypovo uniformné, a preto musia vykazovať aj rovnaký fenotyp. V tomto prípade, keďže vloha pre červenú farbu je dominantná, budú mať všetky jedince F₁ generácie červenú farbu kvetov.

F ₁ × F ₁		Aa	
F ₂		A ●	a ○
Aa	A ●	AA	Aa
	a ○	Aa	aa
aa	A ●	AA	Aa
	a ○	Aa	aa

F ₁ × P [♂]		AA	
B ₁		A ●	
Aa	A ●	AA	
	a ○	Aa	
aa	A ●		
	a ○	Aa	

F ₁ × P [♀]		Aa	
B ₁		A ●	a ○
aa	A ●	Aa	aa
	a ○	aa	Aa
aa	A ●		
	a ○	Aa	

Obr. 13 Kombinačný štvorec pri monohybridnom krížení: generácia F₂ (kríženie medzi dvomi hybridmi F₁, šedá farba) a dva typy spätných krížení, t.j. generácia B₁ (kríženie medzi hybridom F₁ a otcovským resp. materským jedincom parentálnej generácie; podčiarknuté).

Ak skrížime dva hybridné jedince (F₁) navzájom, pomery v ďalšej (F₂) generácii sa zmenia. Hybridné jedince sú heterozygoti (***Aa***). Pri pravidelnej segregácii v pomere 1:1 produkujú polovicu gamét (je jedno, či samčich, alebo samičích) s dominantnou vlohou (***A***) a polovicu gamét s recesívnou vlohou (***a***). Pokial' sa tieto gaméty párujú náhodne, je pravdepodobnosť všetkých 4 možných kombinácií rovnaká, t.j. 25% ($A_{\text{♂}} + A_{\text{♀}} \rightarrow AA$, $A_{\text{♂}} + a_{\text{♀}} \rightarrow Aa$, $a_{\text{♂}} + A_{\text{♀}} \rightarrow Aa$, $a_{\text{♂}} + a_{\text{♀}} \rightarrow aa$). Keďže vloha pre červenú farbu je dominantná, všetky jedince, ktorých genotyp obsahuje aspoň jednu dominantnú vlohu (t.j. $\frac{1}{4} AA + \frac{1}{2} Aa = \frac{3}{4} A$) budú mať červené strobily, recesívni homozygoti ($\frac{1}{4} aa$) budú mať žlté strobily. Pri spätnom krížení (*backcross*; generácia B₁) s červenokvetým otcovským jedincom parentálnej generácie bude všetko potomstvo červenokveté, pretože všetky jedince B₁ musia po otcovi zdediť dominantnú vlohu ($AA \times Aa \rightarrow 50\% AA + 50\% Aa$). Spätné kríženie hybrida F₁ s bielokvetým materským jedincom generácie P naopak vyprodukuje 50% červenokvetých a 50% bielokvetých jedincov (obr. 13). Hybrid F₁ produkuje polovicu gamét s dominantnou a polovicu s recesívnou vlohou, recesívne homozygotná matka len gaméty s recesívnou vlohou, teda len polovica potomstva zdedí dominantnú vlohu ($aa \times Aa \rightarrow 50\% aa + 50\% Aa$).

Štiepny pomer 3:1 v generácii F₂ sa uplatňuje len pri úplnej dominancii. Pokial' sú heterozygotné jedince fenotypovo rozoznateľné od oboch homozygotov (pri neúplnej dominancii, intermediarite alel, resp. pri superdominancii), je fenotypový štiepny pomer v F₂ generácii totožný s genotypovým, t.j. 1:2:1. V potomstve F₂ sa teda objavia tri fenotypy, 25% bude vykazovať fenotyp jedného z jedincov P generácie, 25% bude fenotyp druhého z rodičov P generácie, a 50% fenotyp jedincov F₁ generácie.

Pri dihybridnom krížení sa sleduje dedičnosť dvoch fenotypových znakov súčasne. Aj v tomto prípade platí, že nech sú fenotypy rodičovských jedincov (P) akékoľvek, generácia F₁ bude uniformná. V ďalšej generácii dochádza v prípade úplnej dominancie v oboch génoch ku štiepeniu v pomere 9:3:3:1. V príklade na obr. 14 sa jedinci odlišujú vo farbe a tvare semien. Vlohy pre žltú farbu a guľatý tvar semien sú dominantné, vlohy pre zelené

a zvráskavené semená sú recesívne. Ak v parentálnej generácii krížime jedince, ktoré sú homozygotné v génoch kontrolujúcich oba znaky (v tomto prípade otcovský jedinec je dominantný homozygot v géne pre farbu a recesívny homozygot v géne pre tvar semien, materský jedinec naopak), potomstvo F_1 bude uniformné a bude vykazovať dominantný variant v oboch znakoch (t.j. bude mať žlté guľaté semená, teda bude sa odlišovať od oboch rodičov). Po krížení dvoch jedincov F_1 medzi sebou sa v potomstve F_2 objavia 4 fenotypy. 9/16 jedincov bude mať žlté guľaté semená, rovnako ako jedinec F_1 (jedinec s aspoň jednou dominantnou alelou v oboch génoch, teda A_B), 3/16 budú mať žlté ale zvráskavené semená, rovnako ako otcovský jedinec v parentálnej generácii (A_bb), 3/16 budú mať zelené guľaté semená, rovnako ako materský jedinec v parentálnej generácii (aaB) a 1/16 bude mať zelené zvráskavené semená (nový fenotyp, ktorý sa v prechádzajúcich generáciach vôbec nevyskytol, genotypu $aabb$). Vlohy jedného alelického páru sa teda kombinujú nezávisle od vloh druhého alelického páru. Túto skutočnosť vystihuje ďalšie z Mendlových pravidiel, pravidlo nezávislej kombinovateľnosti vloh. Toto pravidlo pochopiteľne neplatí pre dvojice génov, lokalizované na rovnakom chromozóme. V prípade väzby sa gény nekombinujú voľne, ale len v miere rekombinácie umožnenej crossing-overom a závisiacej od ich vzájomnej vzdialnosti na chromozóme.

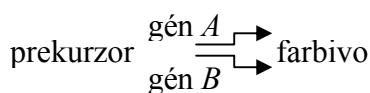
P		$\text{♂ } AAbb$ × $\text{♀ } aaBB$	
		Ab	aB
F ₁			$AaBb$
F ₁ × F ₁		$\text{♂ } AaBb$	
F ₂		AB 	Ab
$\text{♀ } AaBb$ 	aB 	$AABB$ 	$AABb$
	ab 	$AaBB$ 	$AaBb$
	AB 	$AAbb$ 	$Aabb$
	Ab 	$Aabb$ 	$aabb$

Obr. 14 Dihybridné kríženie

Štiepny pomer 9:3:3:1 v generácii F_2 pri dihybridnom krížení však platí len v prípade komplementárneho účinku génov. Účinky génov sa však môžu vzájomne ovplyvňovať. Tieto medzigénové interakcie sa označujú terminom epistáza. Predstavme si napud prípad, že nejaký produkt (napr. červené farbivo listu) je syntetizovaný z prekurzora v dvoch krokoch:



Ak dôjde k mutácii, vedúcej k znefunkčneniu génu, v géne A , vôbec sa nevytvorí medziprodukt, teda niet z čoho syntetizovať farbivo, ak dôjde k mutácii v géne B , z medziproduktu sa nebude vytvárať farbivo. Na syntézu farbiva je teda potrebné, aby fungovali oba gény. Defektná alela sa bude správať ako recesívna (u heterozygota je jedna z dvojice alel funkčná, teda priebeh reakcie zabezpečí). Vo všetkých genotypoch, kde je prítomná aspoň jedna funkčná (teda dominantná) alela v oboch génoch ($A_B_$), môžu prebiehať oba kroky syntézy farbiva, farbivo teda v liste bude prítomné, list bude červený. Ak je jedinec recesívne homozygotný v ktoromkoľvek géne (alebo v oboch), je zablokovaný prvý alebo druhý krok syntézy (alebo oba), syntéza farbiva teda neprebieha a list zostane zelený (štiepny pomer 9:7). Opačným príkladom môže byť, ak je to isté farbivo vytvárané z jedného prekonzora len v jednom kroku, ktorý ale môže prebiehať dvomi nezávislými metabolickými dráhami, riadenými dvomi génnimi:



V tomto prípade bude farbivo syntetizované u každého genotypu, ktorý obsahuje aspoň jednu dominantnú alelu ktoréhokoľvek génu ($A_B_$, A_bb , $aaB_$) (štiepny pomer 15:1). Rozličné typy dvojgénovej epistázy a im zodpovedajúce štiepne pomery sú uvedené v tab. 5.

Tab. 5 Štiepne pomery pri rôznych typoch epistázy v porovnaní s komplementaritou génov

Účinok génov	Genotypy			
	$A_B_$	A_bb	$aaB_$	$aabb$
Komplementarita	9	3	3	1
Dominantná epistáza		12	3	1
Recesívna epistáza	9	3		4
Kumulatívny účinok génov	9		6	1
Dvojnásobná dominantná epistáza		15		1
Dvojnásobná recesívna epistáza	9		7	

Dedičnosť konkrétneho fenotypového znaku u konkrétneho druhu sa zistuje genetickou analýzou. Jej cieľom je identifikovať, koľko génov kontroluje daný znak, aké alelické varianty sa u nich vyskytujú, a akým spôsobom ovplyvňujú fenotyp. Pri genetickej analýze je možné použiť viacero postupov:

- a) kontrolované kríženie
- b) analýza rodokmeňa
- c) analýza voľnoopeleného potomstva známeho materského jedinca (spoľahlivá genetická analýza je možná len pri neúplnej dominancii alebo kodominancii)
- d) paralelná analýza haploidého endospermu a diploidného embrya nahosemenných rastlín (týka sa molekulárnych alebo biochemických znakov).

Pri všetkých postupoch sa skutočné fenotypové štiepne pomery v potomstve či v rodenkmeni porovnávajú s pomermi predpokladanými na základe Mendelových zákonov pomocou štatistikých testov (χ^2 -test, exaktný binomický test a pod.). Vždy sa začína od najjednoduchšej hypotézy kontroly znaku jedným génom. Pokiaľ sa túto hypotézu nepodarí potvrdiť, t.j. existujú štatisticky významné odchýlky pozorovaných štiepnych pomerov od očakávaných, táto hypotéza sa zamietne a sformuluje sa nová hypotéza o kontrole znaku dvoma génnimi, atď.

Pri kontrolovanom krížení medzi sebou krížime jedince rôznych alebo rovnakých fenotypov (u rastlín môžeme vykonávať aj umelé samoopelenie) a sledujeme, v akom pomere sa

jednotlivé fenotypy objavia v potomstve z kríženia. V prípade nedomestikovaných organizmov spravidla nemáme k dispozícii vysoko homozygotné čisté línie, musíme teda počítať aj s možnosťou, že jedince parentálnej generácie sú v génoch, kontrolujúcich znak, heterozygotné.

Opačný problém predstavuje identifikácia genotypu konkrétnych jedincov na základe rodokmeňa. Mnohé dedičné choroby sú podmienené defektnými alelami, ktoré majú tendenciu správať sa ako recessívne: u heterozygota je v genotype prítomná aj funkčná alela, ktorá spravidla dokáže svoj defektný náprotivok zastúpiť. Heterozygot sa teda fenotypovo (zdravotným stavom) nijako neodlišuje od homozygota s obidvomi funkčnými alelami. V prípade, že jedinec zdedí obe alely defektívne, nemá k dispozícii už tretiu záložnú kópiu, ktorá by mohla defektívne alely zastúpiť, dedičná choroba sa teda prejaví. Heterozygotné jedince sú teda prenášačmi dedičnej choroby, aj keď sú fenotypovo zdravé. Ich identifikácia na základe fenotypu nie je možná, ale možné je vylísiť také jedince na základe fenotypových prejavov ich predkov alebo ich potomstva.

Gonozomálna dedičnosť

Väčšina chromozómov sa v diploidnej bunke vyskytuje v pároch, v rámci ktorých sú oba chromozómy plne homologické, teda nesú tie isté gény (môže sa ale jednať o rôzne alely) v tom istom usporiadani. Tieto chromozómy sa označujú ako autozómy. Pri mnohých organiznoch je ovšem pohlavie určené prítomnosťou špecifických pohlavných chromozómov (gonozómov), ktoré sú na rozdiel od autozómov homologické len z malej časti. V prípade cicavcov a ďalších organizmov (typ dedičnosti *Drosophila*) sa dvojica pohlavných chromozómov označuje ako chromozómy X a Y. Jedinec s konšteláciou gonozómov XY je samec (heterogametické pohlavie, vytvárajúce dva rôzne typy gamét, v tomto prípade spermíi, určujúcich teda pohlavie potomstva), jedinec s konšteláciou XX je samica (homogametické pohlavie; samice cicavcov tvoria len jeden typ vajíčok). Pohlavie je určené práve prítomnosťou chromozómu Y, konkrétnie je to lokus *SRY* (*sex-determining region Y*), obsahujúci gén pre kontrolu syntézy testosterónu, ktorý je pre pohlavie určujúci (t.j. pri rôznych aneuploidných konšteláciách pohlavných chromozómov práve prítomnosť chromozómu Y určuje, že jedinec bude samcom, t.j. aneuploidné jedince s konšteláciou XXY bude mať samčie pohlavie). Pri iných organiznoch môže byť situácia odlišná, pohlavie určuje počet chromozómov X (t.j. aneuploid s konšteláciou XXY bude samica). U vtákov, niektorých plazov, motýľov a ďalších organizmov (typ dedičnosti *Abraxas*) sa gonozómy označujú Z a W; naopak oproti cicavcom homogametické pohlavie je samec (ZZ), heterogametické samica (ZW). U viacerých druhov hmyzu (šváby, rovnokrídlovce, niektoré blanokrídlovce) jeden chromozóm chýba úplne: jedinec s konšteláciou XX je samica, jedinec s konšteláciou X0 samec (autozómy u samca sú v pároch, ale gonozóm má len jeden: 0 znamená chýbajúci gonozóm), niektoré mory majú konšteláciu opačnú, teda ZZ je samec, Z0 samica. Typické určenie pohlavia u sociálnych blanokrídlovcov (včely, osy, mravce), ale aj niektorých vošiek, je haplodiploidné určenie: z neoplodnených vajíčok sa liahnu haploidné samce (na rozdiel od konštelácie X0 majú aj autozómy len v haploidnej sade), z oplodnených samice.

V prípade cicavcov väčšina génov na chromozóme X nemá svoj náprotivok na oveľa kratšom chromozóme Y. Jedince sú teda v takomto géne hemizygotné. Táto skutočnosť ovplyvňuje aj mechanizmus dedičnosti, ktorá sa v tomto prípade neriadi Mendelovými pravidlami. Potomstvo v F₁ nemusí byť uniformné a reciproké križenia neposkytujú rovnaký výsledok.

Aj v prípade pohlavných chromozómov platí, že defektívne mutácie (označujú sa X⁺) majú tendenciu správať sa ako recessívne. Ak je nositeľom takejto defektnej mutácie samec, poškodenie sa u neho prejaví, keďže na chromozóme Y nemôže mať dominantnú alelu, ktorá by vplyv defektnej mutácie prekryla (genotyp X⁺Y). U samice sa defektívna vloha prejaví, len ak

je v nej homozygotná (X^+X^+), inak je len jej prenášačkou (X^+X). V potomstve F_1 teda môžu nastať situácie, uvedené v tab. 6.

Tab. 6 Fenotypové štiepne pomery v generácii F_1 pri recesívne monogénne podmienenom dedičnom postihnutí s gonozomálnou dedičnosťou

matka		otec		potomok F_1		
genotyp	fenotyp	genotyp	fenotyp	genotyp	fenotyp	pravdepodobnosť
XX	zdravá	XY	zdravý	XX	♀ zdravá	0,5
				XY	♂ zdravý	0,5
XX^+	zdravá	XY	zdravý	XX	♀ zdravá	0,25
				XY	♂ zdravý	0,25
				XX^+	♀ zdravá	0,25
				X^+Y	♂ chorý	0,25
XX	zdravá	X^+Y	chorý	XX^+	♀ zdravá	0,5
				XY	♂ zdravý	0,5
XX^+	zdravá	X^+Y	chorý	XX^+	♀ zdravá	0,25
				XY	♂ zdravý	0,25
				X^+X^+	♀ chorá	0,25
				X^+Y	♂ chorý	0,25
X^+X^+	chorá	XY	zdravý	XX^+	♀ zdravá	0,5
				X^+Y	♂ chorý	0,5
X^+X^+	chorá	X^+Y	chorý	X^+X^+	♀ chorá	0,5
				X^+Y	♂ chorý	0,5

Pochopiteľne, v prípade, že žiadny z rodičov nie je prenášačom postihnutia ($XX \times XY$), je všetko potomstvo zdravé. Ako je však z tab. 6 viditeľné, kríženie zdravej matky a postihnutého otca dáva iný výsledok než kríženie postihnutej matky a zdravého otca (teda reciproké kríženia nie sú rovnocenné) a potomstvo v troch prípadoch nie je uniformné.

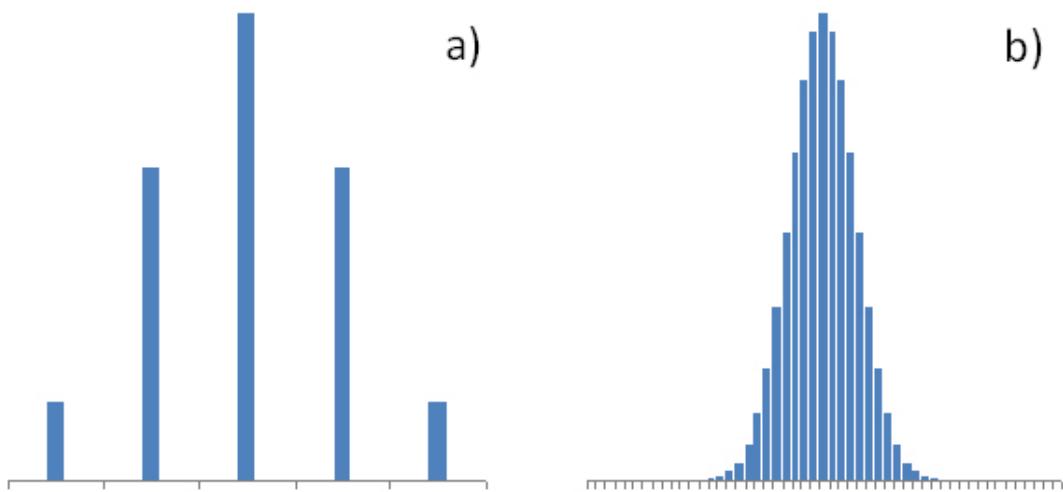
Dedičnosť kvantitatívnych znakov

Názor na vzťah medzi génom a znakom sa v priebehu vývoja genetiky menil. Pôvodný náhľad z Mendlových čias 1 gén = 1 znak sa s rozvojom biochémie zmenil na 1 gén = 1 enzým, neskôr 1 gén = 1 polypeptid, a dnes sa zdá, že už ani táto hypotéza neplatí (viď informácie o alternatívnom zosníahu mRNA).

Gén môže v mnohých prípadoch súčasne ovplyvňovať viacero znakov, čo sa označuje ako pleiotropný účinok génu. Naopak, iné znaky môžu byť kontrolované polygénne, teda na kontrole sa podieľa viacero (niekedy aj niekoľko desiatok) génov, z ktorých každý prispieva svojou časťou (ktorá nemusí byť pri všetkých alelách rovnako veľká). Typická je táto situácia pri kvantitatívnych znakoch. Čím vyšší je počet kontrolujúcich génov, tým vyšší je počet genotypových kombinácií a teda aj fenotypových tried; naopak medzialelické a medzigénové interakcie počet fenotypových tried znižujú. Pri malom počte kontrolujúcich génov sa fenotypové triedy spravidla dajú rozoznať, ale s narastajúcim počtom génov sú ich hranice stále menej zreteľné a rozdelenie fenotypových tried sa postup mení z diskrétneho na spojité (obr. 15).

Genetickú analýzu kvantitatívnych znakov naviac komplikujú nerovnaké účinky rôznych génov na fenotypový znak, a takisto medzigénové a medzialelické interakcie (epistáza a dominancia). Pri kontrole znaku viac ako 3 génmami je už genetická analýza znaku značne obtiažná. Pri identifikácii génov, riadiacich kvantitatívne znaky sa spravidla vychádza

z korelácií fenotypového prejavu s genotypom v konkrétnom géne. Často nie sme schopní gén priamo identifikovať, ale jeho hypotetickú existenciu postulujeme na základe korelácií s markérmi v rovnakej väzbovej skupine. Takéto hypotetické lokusy sa označujú ako QTL (*Quantitative Trait Locus*).



Obr. 15 Rozdelenie hodnôt fenotypového znaku v potomstve z kríženia dvoch úplne homozygotných rodičov pri kontrole znaku 4 génmi (a) a 40 génmi (b) pri čisto aditívnom účinku génov (žiadna dominancia ani epistáza) a rovnakom efekte alel každého génu.

GENETIKA POPULÁCIÍ

Populácia a jej štruktúra

Populácia je súbor jedincov rovnakého druhu, obývajúcich konkrétny biotop v konkrétnom čase, ktorí sú schopní sa navzájom medzi sebou krížiť. Táto definícia vyzerá jednoducho, ale vymedzenie populácie v teréne je spravidla zložité. Aj u druhov s fragmentovaným areálom si jednotlivé ostrovčeky (demy) do určitej miery môžu vymieňať gény pri reprodukcii. V praxi sa teda pojem populácia spravidla používa ako operačný koncept pre skupinu jedincov rovnakého druhu, žijúcu na konkrétej lokalite alebo v konkrétej oblasti – v tomto zmysle možno hovoriť o lokálnej populácii, regionálnej populácii atď.

Populáciu možno charakterizovať viacerými vlastnosťami, ktoré ovplyvňujú v značnej miere vývoj jej genetickej štruktúry. Základným populačným parametrom je veľkosť, teda počet jedincov, z ktorých sa populácia skladá. Z hľadiska je ale potrebné si uvedomiť, že nie všetky jedince prítomné v populácii sa aj musia podieľať na reprodukcii a teda v rovnakej miere odovzdávať svoju dedičnú informáciu generácií potomstva. Preto sa v populačno-genetických modeloch zohľadňuje efektívna veľkosť, ktoré prepočítava reálny počet jedincov na hypotetický počet jedincov rovnomerne sa podieľajúcich na reprodukcii. Ďalšími dôležitými vlastnosťami sú hustota (počet jedincov na jednotku plochy alebo objemu), dynamika vývoja (rast, stabilita, pokles početnosti), štruktúra (pohlavná, veková atď.) a priestorový rozptyl (zhlukovanie, náhodné rozmiestnenie, rovnomerne odstupy). Všetky tieto vlastnosti sú jednak závislé od druhu, a jednak sa môžu meniť v priebehu ontogenézy (semenáčiky drevíň majú v prirodzenom poraste tendenci ku zhľukovaniu v porastových medzérach, dospelé stromy sú naopak rozmiestnené spravidla rovnomerne vzhládom na vzájomnú kompetíciu; populácia lariev hmyzu sa môže správať úplne odlišne od imág a pod.).

Vlastnosť, určujúca v najväčšej miere vývoj zastúpenia génov, genotypov a fenotypov v populácii, je systém reprodukcie, t.j. spôsob odovzdávania genetickej informácie z jednej generácie na nasledujúcu. Z hľadiska systému reprodukcie možno rozoznávať dva typy

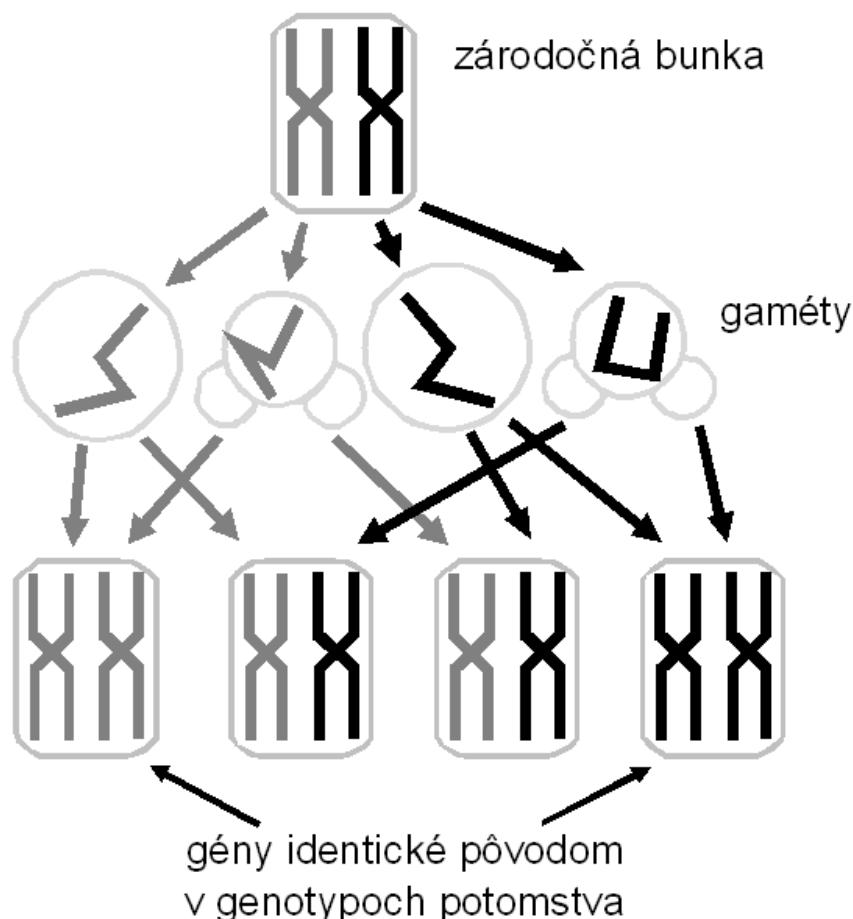
párovania. Panmixia je náhodné párovanie, pri ktorom pravdepodobnosť spojenia ktorýchkoľvek dvoch gamét je nezávislá od ich pôvodu a ich haplotypu. Pre vznik zygoty teda nie je dôležité, aké gény sú v gamétoch zastúpené. Pre výber partnera pre párovanie neexistujú žiadne kritériá, je úplne náhodný. Pri výberovom párovaní (angl. *assortative mating*) naopak takéto kritériá existujú, jedince, ktoré ich splňajú, majú väčšiu šancu spojiť sa pri reprodukcii, než jedince, ktoré ich neplnia (napr. stromy, kvitnúce v rovnakej dobe, majú vyššiu šancu vzájomného opelenia než stromy, ktoré sú fenologicky asynchronné). Kritériom výberu môže byť aj príbuzenstvo, príbuzenské kríženie sa označuje aj termínom inbreeding. Extrémnym prípadom príbuzenského kríženia je autogamia (samoopelenie resp. samooplodenie). V reálnych populáciach sa samozrejme vyskytujú prechody medzi oboma extrémami.

Genetickú štruktúru populácie definujú podiely jednotlivých genotypov (genotypová štruktúra) a podiely jednotlivých génov resp. ich variantov – alel (alelická štruktúra), čiže genotypové a alelické frekvencie. Frekvencie sa dajú vyjadriť ľubovoľným spôsobom: pri známej malej veľkosti populácie aj absolútnej početnosti, vo veľkých populáciách je zmysluplniešie odhadovať ich relatívny podiel, t.j. vyjadrovať ich percentuálne. Z hľadiska ich použitia pre matematické operácie je najjednoduchšie ich vyjadrenie relatívnym podielom, t.j. desatinným číslom (t.j. počet jedincov genotypu AA je 20 jedincov v populácii s počtom členov 1000, čo predstavuje podiel 2%, frekvencia je $P_{AA} = 0,02$). Pri konečnom a nízkom počte jedincov v populácii a možnosti ogenotypovať všetkých z nich (čo je v praxi zriedkavá situácia) je možné určiť frekvencie genotypov presne, ale spravidla sme odkázani na výberové postupy a odhad genotypových a alelických frekvencií z výberovej vzorky. Z praktického hľadiska sa spravidla používa bodový odhad, frekvencia genotypu A_iA_j sa dá odhadnúť ako $P(A_iA_j) = n(A_iA_j) / \sum_k \sum_l n(A_kA_l) = n(A_iA_j) / N$, kde $n(A_iA_j)$ je počet jedincov genotypu A_iA_j vo výberovej vzorke ($k, l = 1 \dots$ celkový počet alel) a N je celkový rozsah výberu (celková početnosť všetkých genotypov spolu vo výberovej vzorke). Bodový odhad frekvencie i . alely sa určí z podielov genotypov, v ktorých je daná alela zastúpená: $p(A_i) = P(A_iA_i) + \sum_j 0,5P(A_iA_j); j \neq i$ (v genotype homozygota je zastúpená len sledovaná alela, v genotype heterozygotov je to vždy jedna z dvoch, teda $\frac{1}{2}$). Pre určenie strednej chyby odhadu sa vychádza zo skutočnosti, že relatívne početnosti (frekvencie) majú binomické rozdelenie. Variancia odhadu premennej s binomickým rozdelením je vo všeobecnosti $V_p = p(1 - p)/n$, stredná chyba je odmocninou variancie. Stredná chyba odhadu frekvencie genotypu A_iA_j je teda $s_{P(A_iA_j)} = \sqrt{P(A_iA_j) \cdot [1 - P(A_iA_j)] / N}$, stredná chyba odhadu frekvencie alely A_i je $s_{p(A_i)} = \sqrt{p(A_i) \cdot [1 - p(A_i)] / 2N}$ (jedince sú diploidné, teda vo výberovom súbore N genotypov je zastúpených $2N$ alel). Zo stredných chýb je následne možné určiť intervalové odhady frekvencií. Skupina tesne viazaných génov sa môže z generácie na generáciu odovzdávať spolu, tvorí tzv. haplotyp. To isté platí pre organelárnu DNA (mitochondriálnu a chloroplastovú), kde tiež nedochádza k rekombinácii a teda molekula DNA sa pri reprodukcii odovzdáva potomstvu ako celok. Pre odhady haplotypových frekvencií a ich stredné chyby platia rovnaké vzťahy ako pre genotypové frekvencie. Pri dvojiciach alebo skupinách voľne sa rekombinujúcich génov (napr. lokalizovaných na rôznych chromozónoch) platia pre odhad frekvencie kombinácie génov zákony pravdepodobnosti: frekvencia kombinácie génov v gamétoch kombinácie alebo genotypov je súčinom frekvencií génov/genotypov: $P(A_iB_k) = P(A_i) \cdot P(B_k)$; $P(A_iA_jB_kB_l) = P(A_iA_j) \cdot P(B_kB_l)$. Napríklad gén pre systém krvných skupín AB0 je lokalizovaný na chromozóme 9, gén pre Rh-faktor na chromozóme 1, kombinujú sa teda nezávisle na sebe. Ak je v konkrétnej populácii frekvencia krvnej skupiny AB (teda heterozygotov I^AI^B) 8% a frekvencia nositeľov Rh– (teda homozygotov rr) je 15%, frekvencia kombinácie AB– bude $0,08 \times 0,15 = 0,012$, teda 1,2% (čo zhruba zodpovedá pomerom strednej Európy).

Príbuzenstvo a príbuzenské kríženie

Príbuzenstvo je bežný hovorový pojem, ktorým sa rozumie skutočnosť, že dva jedinci zdieľajú spoločného predka alebo predkov. Terminológia, ktorú používame vo vzťahu k príbuzenským väzbám v ľudskej populácii, sice popisuje tieto väzby zrozumiteľnou formou (vlastný súrodenc, nevlastný súrodenc, rodič, potomok, starý rodič, strýko atď.), ale nie je jednoznačná (pojem „strýko“ sa používa ako pre matkinkho/otcovho brata, teda pokrvného príbuzného, tak aj pre manžela matkinej/otcovej sestry, ktorý je so sledovaným jedincom príbuzný v sociálnom, ale nie v biologickom zmysle) a neumožňuje kvantifikáciu miery príbuznosti.

Biologická definícia príbuznosti dvoch jedincov (angl. *co ancestry*) vychádza z rovnakého základu ako hovorový pojem, teda zo zdieľania spoločného predka, od ktorého jedinci zdedili časť svojej genetickej výbavy. Pochopiteľne, čím viac takýchto spoločných predkov dva jedinci zdieľajú a čím menej generácií ich od nich delí, tým je tento podiel spoločnej dedičnej informácie vyšší. Exaktne o možno vyjadriť mierou identity génov pôvodom (angl. *identity by descent*), teda pravdepodobnosťou, s akou je dvojica homologických génov náhodne vybraných z genómu jedincov predstavuje dve kópie toho istého génu, ktoré vznikli replikáciou úseku na rovnakej molekule DNA v genóme spoločného predka. Zohľadňuje sa len autozomálny jadrový genóm, dedený po oboch rodičoch; uniparentálne dedené mitochondriálne a chloroplastové gény predstavujú len zlomok celkovej dedičnej výbavy a je možné ich zanedbať, takisto sa neberú do úvahy gény chromozómu Y, dedené len po otcovi.



Obr. 16 Identita génov pôvodom pri samoopelení na príklade páru homologických chromozómov. Chromatidy resp. chromozómy, zobrazené rovnakou farbou predstavujú kópie rovnakej molekuly

DNA

Každá somatická bunka (vrátane zárodočných buniek, z ktorých sa tvoria gaméty) obsahuje dvojicu autozómov. Pravdepodobnosť, že dve náhodne vybrane gaméty budú obsahovať kópie rovnakého chromozómu, je teda len 50%. Koeficient príbuzenstva dvoch jedincov pochádzajúcich zo samoopelenia je teda len 0,5, nie 1, napriek tomu, že pri samoopelení otec a matka je jeden a ten istý jedinec (obr. 16). Analogicky koeficient príbuzenstva medzi plnosesterskými príbuznými ("vlastní súrodenci") alebo medzi rodičom a potomkom je 0,25, pri polosesterských príbuzných ("nevlastní súrodenci", ktorí majú spoločného jedného z rodičov), druhostupňových súrodencov (bratranci, sesternice) a vzťahu starý rodič – vnuk je 0,125, a rovnako je možné kvantifikovať mieru akéhokoľvek príbuzenského vzťahu, vyjadreného hovorovým pojmom.

Príbuzenské kríženie sa označuje termínom inbreeding. Miera inbreedingu jedinca sa meria rovnakým spôsobom ako príbuzenstvo jeho rodičov – koeficient inbreedingu jedinca je rovný koeficientu príbuznosti rodičov. Keďže v rodokmeni jedinca sa môže vyskytnúť viacero spoločných predkov jeho rodičov a každý z nich prispieva k miere inbreedingu, je možné vypočítať koeficient inbreedingu ako sumu ich príspevkov:

$$F = \sum_i 0.5^{n_i + m_i + 1} \cdot (1 + F_i)$$

kde n_i a m_i je počet generácií, ktoré delia jedinca od i . spoločného predka a F_i je koeficient inbreedingu i . spoločného predka (ak už genómy spoločných predkov samy o sebe obsahujú gény identické pôvodom, je možnosť ich odovzdania obom rodičom jedinca a teda zvyšuje sa pravdepodobný podiel IBD génov v jeho genóme).

Malá početnosť populácie logicky vedie k zvýšenému inbreedingu. Vo veľkej populácii, pokial' nie je priestorovo alebo inak štrukturovaná, viedie náhodný výber spravidla k vol'be nepríbuzného partnera (viď ľudská populácia v súčasnosti). Pokial' je však populácia početne obmedzená, vytvorí sa v nej už v priebehu generácií siet' príbuzenských vzťahov, takže jedinec v princípe nemá možnosť vybrať si partnera, s ktorým by neboli v príbuzenskom vzťahu (viď populácie malých dedín ešte v nedávnej minulosti). Medzi veľkosťou populácie a priemerným koeficientom inbreedingu pri náhodnom párovaní existuje funkčný vzťah. N jedincov obsahuje $2N$ autozómov. Pravdepodobnosť, že sa v zygote potomstva náhodne stretne dve repliky toho istého chromozómu je teda $1/(2N)$. Ostatných $1 - 1/(2N)$ zygot potomstva teda obdrží kópie rozdielnych chromozómov, ovšem už tieto môžu obsahovať gény identické pôvodom vďaka inbreedingu v predchádzajúcich generáciách s pravdepodobnosťou, ktorú kvantifikuje koeficient inbreedingu rodičovskej generácie. Koeficient inbreedingu v t . generácii F_t je teda súčet pravdepodobností oboch prípadov:

$$F_t = 1/(2N) + [1 - 1/(2N)] \cdot F_{t-1}$$

(vzťah vychádza z veľkosti populácie N , ktorá sa v čase nemení). Prírastok inbreedingu za jednu generáciu ($\Delta t = 1$) sa teda dá vypočítať ako:

$$\Delta F = 1/(2N)$$

Čím menšia populácia (N), tým je prírastok inbreedingu väčší, teda tým rýchlejšie sa v nej vytvára príbuzenstvo a hromadí inbreeding.

Vývoj genetickej štruktúry panmiktickej populácie (Hardy-Weinbergov zákon)

Panmixia je definovaná ako úplne náhodné párovanie, teda absencia akýchkoľvek kritérií pre výber partnera pre párovanie. Aj v panmiktických populáciach dochádza k príbuzenskému kríženiu, ale len v miere, ktorá zodpovedá „hustote“ príbuzenských vzťahov v populácii, teda podielu príbuzenských dvojíc na všetkých možných pároch jedincov opačného pohlavia v populácii.

Základnou zákonitosťou, ktorá popisuje prenos genetickej informácie medzi generáciami v panmiktickej populácii, je Hardy-Weinbergov zákon: zastúpenie jednotlivých alelických variantov (alelické frekvencie) zostáva z generácie na generáciu nezmenené, ak v

populácií nepôsobí žiadny z faktorov, ktoré tento stav môžu zmeniť: selekcia, mutácie, migrácia a genetický drift. Zároveň stačí jediná generácia náhodného párovania, aby sa ustanovili aj konštantné podiely jednotlivých genotypov, ktoré zodpovedajú binomickému (pri 2 alelách) resp. multinomickému (pri viacerých alelách) pravdepodobnostnému rozdeleniu, ktoré sa už v ďalších generáciach takisto nemenia. Panmiktická populácia je teda z genetického hľadiska v rovnováhe, nedochádza v nej k žiadnym zmenám genetickej štruktúry na úrovni jednotlivého génu. Akékoľvek zmeny sú indikátorom pôsobenia niektorého z evolučných faktorov.

Je potrebné pripomenúť, že Hardy-Weinbergov zákon popisuje idealizovaný stav populácie, vzťahuje sa na autozomálne lokusy, a *sensu stricto* platí len v efektívne nekonečne veľkých populáciách za predpokladu oddelených generácií. Drobné odchýlky od týchto podmienok (prekryv generácií, konečné ale veľké populácie) spravidla nevyvolávajú merateľné odchýlky od rovnovážneho stavu: odchýlka spôsobená nedodržaním podmienok je spravidla menšia ako výberová chyba odhadu alelických alebo genotypových frekvencií.

Hardy-Weinbergov princíp platí u všetkých diploidných, pohlavné sa množiacich organizmov, ale realizácia náhodného párovania sa u rastlín odlišuje od živočíchov. V prípade rastlín sa náhodne párujú gaméty (resp. gametofyty), teda haploidná generácia. Sporofyty papradorastov a cievnatých rastlín sú nepohyblivé, a s nimi aj samičie gaméty, viazané na organizmus materskej rastliny. Nech je však vektor prenosu peľu akýkoľvek (vietor, hmyz, voda), peľové zrná – samičie gametofyty – sa pohybujú v priestore; pokiaľ ich výber materskej rastliny a teda aj oplodnej samičej gaméty je náhodný, rastlinná populácia sa správa ako panmiktická. V najjednoduchšom prípade, teda v prípade génu s dvoma alelami, je možné princíp Hardy-Weinbergovho zákona popísat' nasledovne:

V generácii t je v populácii sú genotypy v géne A s úplnou dominanciou zastúpené nasledovne: dominantní homozygoti AA podielom P , heterozygoti Aa podielom Q , recesívni homozygoti aa podielom Q (v prípade dvojdomých rastlín s rovnakým podielom samcov a samíc vo všetkých genotypových triedach). Pri rozmnožovaní dominantní homozygoti AA tvoria len gaméty s dominantnou alelou A . U heterozygotov Aa dochádza ku segregácii alel v pomere 1:1 (za predpokladu, že ide o autozomálny lokus), teda polovica gamét, ktoré vytvárajú, bude obsahovať dominantnú alelu A a druhá polovica recesívnu alelu a . Recesívni homozygoti aa tvoria len gaméty s recesívnou vlohou a . V zmysle vzťahov uvedených v prvej podkapitole je podiel dominantnej alely v gamétoch $p = P + \frac{1}{2}H$, podiel recesívnej alely $q = Q + \frac{1}{2}H$ ($p_\varnothing = p_\varphi$, $q_\varnothing = q_\varphi$). Očakávané podiely genotypov v generácii $t+1$ možno pri náhodnom kombinovaní gamét (čo je z definície podmienka panmixie) určiť na základe kombinatoriky (obr. 17). Pravdepodobnosť vzniku dominantne homozygotného genotypu AA , t.j. prípad, ak sa do zygoty spoja dve gaméty, ktoré sú nositeľkami dominantnej alely A , je $p_\varnothing \times p_\varphi = p^2$. Analogicky, pravdepodobnosť vzniku recesívne homozygotného genotypu aa je $q_\varnothing \times q_\varphi = q^2$. Pravdepodobnosť spojenia dvoch genotypovo rozdielnych gamét s alelami A a a do heterozygotnej zygoty Aa je $p_\varnothing \times q_\varphi + p_\varphi \times q_\varnothing = 2pq$ (obr. 17). Rozdelenie frekvencií genotypov v následnej generácii ($t+1$) je teda binomické: $p^2 AA : 2pq Aa : q^2 aa$.

Ked' jedinci generácie $t+1$ dorastú do reprodukčného veku, začnú vytvárať haploidné gaméty. Podľa rovnakej logiky, akú sme uplatnili v generácii t , dominantní homozygoti AA , zastúpení v populácii podielom p^2 , tvoria len gaméty s dominantnou alelou A , heterozygoti Aa , ktorí sú v populácii zastúpení podielom $2pq$, gaméty s dominantnou a recesívnou vlohou v pomere 1:1, recesívni homozygoti len gaméty s recesívnou alelou a . Podiel gamét s dominantnou alelou teda bude $p^2 + \frac{1}{2} \cdot 2pq = p^2 + pq = p(p+q)$ a podiel gamét s recesívnou alelou $q^2 + \frac{1}{2} \cdot 2pq = q^2 + pq = q(p+q)$. Ak sú v populácii zastúpené len alely A a a , súčet ich frekvencií je 100%, teda $p + q = 1$, čoho dostávame opäť frekvencie $p \times 1 = p$; $q \times 1 = q$.

		♂	
		p A	q a
♀	p A	$p \times p = p^2$ AA	$p \times q = pq$ Aa
	q a	$q \times p = pq$ Aa	$q \times q = q^2$ aa

Obr. 17 Očakávané podiely potomstva pri náhodnom párovaní gamét

Tab. 7 Schéma zmien alelických a genotypových frekvencií v panmiktickej rastlinnej populácii.

Generácia	Genotypové frekvencie				Frekvencie alel v gamétach		
	AA	Aa	aa	Spolu	A	a	Spolu
0	P	H	Q	1			
			$\begin{aligned} p &= P_{(AA)} + \frac{1}{2}H_{(Aa)} \\ &= p^2 + \frac{1}{2}2pq \\ &= p^2 + pq \\ &= p(p+q) = p \end{aligned}$		$\begin{aligned} q &= \frac{1}{2}H_{(Aa)} + Q_{(aa)} \\ &= \frac{1}{2}2pq + q^2 \\ &= \frac{1}{2}2pq + q^2 \\ &= q(p+q) = q \end{aligned}$		1
1 produkované gaméty	p^2 ↓ 100% A	$2pq$ ↓ 50% A + 50% a	q^2 ↓ 100% a	1			
			$\begin{aligned} P_{(AA)} + \frac{1}{2}H_{(Aa)} &= \\ p^2_{(AA)} + \frac{1}{2}2pq_{(Aa)} &= \\ = p^2 + pq &= \\ = p(p+q) &= p \end{aligned}$		$\begin{aligned} Q_{(aa)} + \frac{1}{2}H_{(Aa)} &= \\ q^2_{(aa)} + \frac{1}{2}2pq_{(Aa)} &= \\ = q^2 + pq &= \\ = q(p+q) &= q \end{aligned}$		1
2	p^2	$2pq$	q^2	1	...		

Pre prehľadnosť je možné celý mechanizmus popísať tabelárnom formou (tab. 7).

V prípade živočíchov (prinajmenšom väčšiny živočíchov, ktoré sú predmetom záujmu terestrickej ekológie) by takýto popis bol krajným zjednodušením. V tomto prípade pohyblivé štádium predstavujú spravidla diploidné dospelé organizmy, a aj keď rozmnogožovanie nie je nutne spojené s kopuláciou, k spojeniu samčích a samičích gamét dochádza v mieste, ktoré je dané pozíciou samčieho a samičieho jedinca. To, čo sa páruje, sú teda dospelé jedince s konkrétnymi genotypmi, nie haploidné gaméty. Aj tu však platí, že pravdepodobnosť párovania dvoch genotypov je úmerná ich zastúpeniu v populácii (t.j. očakávaná frekvencia pohlavného spojenia dvoch genotypov je rovná súčinu ich frekvencií v populácii; obr. 18).

Pri popise panmixie v živočíšnej populácii a odhadu očakávaných podielov alel a genotypov je potrebné zohľadniť zastúpenie genotypov v rodičovskej generácii a genotypové štiepne pomery pri jednotlivých typoch križenia (tab. 8).

Ako pri rastlinách (tab. 7), tak aj pri živočíchoch (tab. 8) je zrejmé, že stačí jedna generácia náhodného križenia, a v populácii sa nezávisle na východiskových frekvenciach genotypov (P , H , Q) ustáli konštantná genotypová štruktúra, v prípade bialelického lokusu

		σ		
		P AA	H Aa	Q aa
♀	P AA	P^2 $AA \times AA$ 1,0 AA	PH $AA \times Aa$ 0,5 AA+0,5 Aa	PQ $AA \times aa$ 1,0 Aa
	H Aa	PH $Aa \times AA$ 0,5 AA+0,5 Aa	H^2 $Aa \times Aa$ 0,25 AA+0,5 Aa+0,25 aa	QH $Aa \times aa$ 0,5 Aa+0,5 aa
	Q aa	PQ $aa \times AA$ 1,0 Aa	QH $aa \times Aa$ 0,5 Aa+0,5 aa	Q^2 $aa \times aa$ 1,0 aa

Obr. 18 Pravdepodobnosti vzniku jednotlivých genotypových rodičovských kombinácií a zastúpenie genotypov v ich potomstve

podiel p^2 homozygotov AA , $2pq$ heterozygotov Aa a q^2 homozygotov aa . Túto štruktúru však možno rozšíriť na gén s ľubovoľným počtom alel: frekvencia ľubovoľného homozygota A_iA_i je p_i^2 , frekvencia ľubovoľného heterozygota A_iA_j je $2p_ip_j$. Takisto sa v populácii udržiava konštantná alelická štruktúra, alelické frekvencie takisto zostávajú nemenné. Táto konštantnosť alelickej a genotypovej štruktúry je dôvodom, prečo sa panmixia spravidla berie ako štandard, voči ktorému sa porovnáva genetická štruktúra reálnej populácie. Predpokladom absencie zmien je, že párovanie v populácii je náhodné (teda neexistuje žiadna preferencia pri výbere partnera), všetky genotypy sú rovnako životoschopné a rovnako plodné (t.j. v populácii neprebieha žiadna selekcia), že nedochádza k zmenám identity génov (mutáciám), k prenosu génov z iných populácií (migrácií) a že populácia je dostatočne veľká na to, aby odolávala náhodným zmenám (genetickému driftu), pretože len vo veľkej populácii sa skutočne podiel genotypov približujú očakávaniam založeným na binomických (multinomických) pravdepodobnostiach.

Komplikovanejšia je situácia v prípade gonozomálnych génov. Ak sa jedná o gén, lokalizovaný v heterologickej časti pohlavného chromozómu Y , dedí sa výlučne otcovi (v prípade cicavčieho typu dedičnosti pohlavia), a pri absencii evolučných mechanizmov zostáva jeho frekvencia konštantná. Pri géne viazanom na chromozóm X sa môže dediť od oboch rodičov (obr. 19).

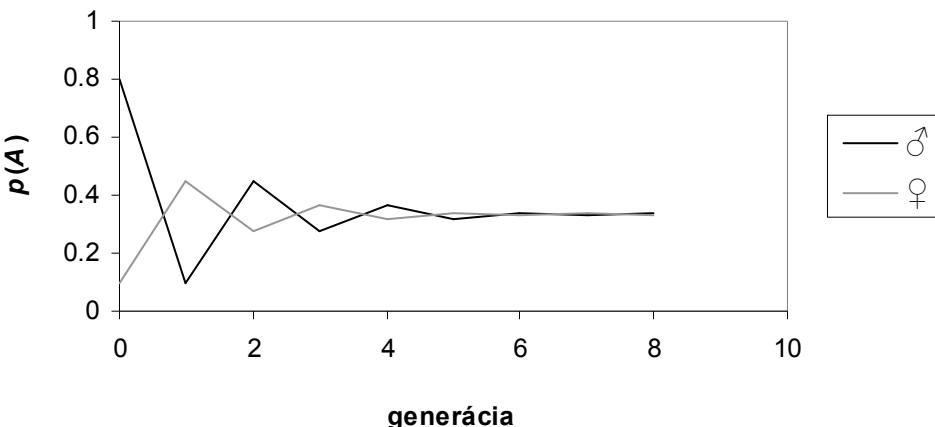
Gény viazané na chromozóm X sa vyskytujú u homogametického pohlavia (v prípade cicavcov samice) v 2 exemplároch, zatiaľ čo u heterogametického pohlavia len v jednom, teda samice prispievajú k frekvencii génu v populáciami dvomi tretinami, samce jednou

Tab. 8 Schéma zmien alelických a genotypových frekvencií v panmiktickej živočíšnej populácii.

		Genotypové frekvencie rodičov			Alelické frekvencie	
		AA	Aa	aa	A	a
Generácia 0		P	H	Q	$p=P+H/2$	$q=Q+H/2$
Kríženie	Frekv	Genotypové frekvencie potomstva				
AA × AA	P^2	P^2	0	0		
AA × Aa	$2PH$	$\frac{1}{2}2PH$	$\frac{1}{2}2PH$	0		
AA × aa	$2PQ$	0	$2PQ$	0		
Aa × Aa	H^2	$\frac{1}{4}H^2$	$\frac{1}{2}H^2$	$\frac{1}{4}H^2$		
Aa × aa	$2QH$	0	$\frac{1}{2}2QH$	$\frac{1}{2}2QH$		
aa × aa	Q^2	0	0	Q^2		
Σ		$P^2+PH+\frac{1}{4}H^2$ $=(P+\frac{1}{2}H)^2$ $=p^2$	$PH+2PQ+QH+\frac{1}{2}H^2$ $=2(P+\frac{1}{2}H)(Q+\frac{1}{2}H)$ $=2pq$	$Q^2+QH+\frac{1}{4}H^2$ $=(Q+\frac{1}{2}H)^2$ $=q^2$	$p^2+\frac{1}{2}\cdot 2pq$ $=p^2+pq=p$	$q^2+\frac{1}{2}\cdot 2pq$ $=q^2+pq=q$
Generácia 1		Genotypové frekvencie potomstva				
AA × AA	$p^2 \cdot p^2$	p^4	0	0		
AA × Aa	$2(p^2 \cdot 2pq)$	$2p^3q$	$2p^3q$	0		
AA × aa	$2(p^2 \cdot q^2)$	0	$2p^2q^2$	0		
Aa × Aa	$2pq \cdot 2pq$	P^2q^2	$2p^2q^2$	p^2q^2		
Aa × aa	$2(2pq \cdot q^2)$	0	$2pq^3$	$2pq^3$		
aa × aa	$q^2 \cdot q^2$	0	0	q^4		
Σ		$p^4+2p^3q+p^2q^2$ $=p^2(p^2+2pq+q^2)$ $=p^2 \cdot 1$ $=p^2$	$2(p^3q+2p^2q^2+pq^3)$ $=2pq(p^2+2pq+q^2)$ $=2pq \cdot 1$ $=2pq$	$p^2q^2+2pq^3+q^4$ $=q^2(p^2+2pq+q^2)$ $=q^2 \cdot 1$ $=q^2$	$p^2+\frac{1}{2}\cdot 2pq$ $=p^2+pq=p$	$q^2+\frac{1}{2}\cdot 2pq$ $=q^2+pq=q$
Generácia 2						
...						

		$\textcircled{\text{m}}$	
		R A0	S a0
$\textcircled{\text{f}}$	P AA	PR $\textcircled{\text{f}}\text{AA} \times \textcircled{\text{m}}\text{A0}$ $0,5\textcircled{\text{f}}\text{AA}+0,5\textcircled{\text{m}}\text{A0}$	PS $\textcircled{\text{f}}\text{AA} \times \textcircled{\text{m}}\text{a0}$ $0,5\textcircled{\text{f}}\text{Aa}+0,5\textcircled{\text{m}}\text{A0}$
	H Aa	HR $\textcircled{\text{f}}\text{Aa} \times \textcircled{\text{m}}\text{A0}$ $0,25\textcircled{\text{f}}\text{AA}+0,25\textcircled{\text{f}}\text{Aa}+0,25\textcircled{\text{m}}\text{A0}+0,25\textcircled{\text{m}}\text{a0}$	HS $\textcircled{\text{f}}\text{Aa} \times \textcircled{\text{m}}\text{a0}$ $0,25\textcircled{\text{f}}\text{Aa}+0,25\textcircled{\text{f}}\text{aa}+0,25\textcircled{\text{m}}\text{A0}+0,25\textcircled{\text{m}}\text{a0}$
	Q aa	QR $\textcircled{\text{f}}\text{aa} \times \textcircled{\text{m}}\text{A0}$ $0,5\textcircled{\text{f}}\text{Aa}+0,5\textcircled{\text{m}}\text{a0}$	QS $\textcircled{\text{f}}\text{aa} \times \textcircled{\text{m}}\text{a0}$ $0,5\textcircled{\text{f}}\text{aa}+0,5\textcircled{\text{m}}\text{a0}$

Obr. 19 Pravdepodobnosti vzniku jednotlivých genotypových rodičovských kombinácií a zastúpenie genotypov v ich potomstve pri gonozomálnych génoch



Obr. 20 Vývoj frekvencie alely viazané na X chromozóm u samcov a samíc v panmiktickej populácii.

tretinou. Ak pri bialelickom lokuse budú genotypové frekvencie u samíc P homozygotov AA , H heterozygotov Aa a Q homozygotov aa , zatial' čo frekvencia hemizygotov A bude R a hemizygotov a bude S , potom frekvencia alely A u samíc je $p_f = P + H/2$, u samcov $p_m = R$ (analogicky $q_f = Q + H/2$; $q_m = S$). Vzhľadom na rozdielny príspevok samíc a samcov k alelickým frekvenciám bude zastúpenie alely A v celej populácii

$$p = \frac{2}{3} p_f + \frac{1}{3} p_m = \frac{1}{3}(2p_f + p_m) = \frac{1}{3}(2P + H + R)$$

$$\text{(analogicky } q = \frac{1}{3}(2Q + H + S)).$$

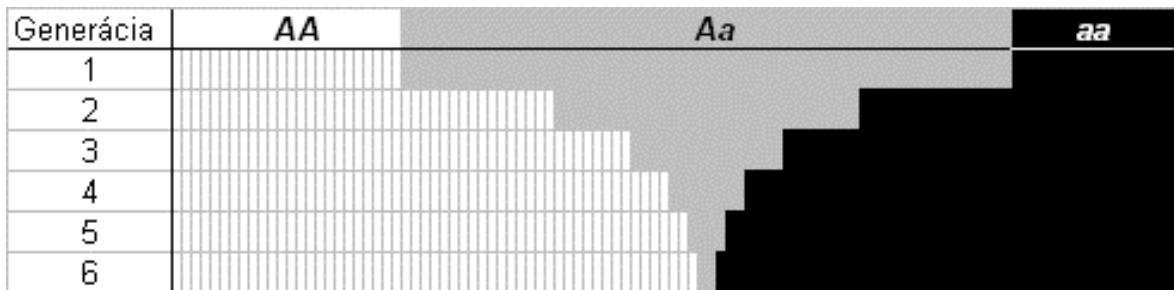
Samce s chromozómovou konšteláciou XY dedia chromozóm X od matky a Y od otca. Gény viazané na gonozóom X teda môže zdiediť len od matky, teda frekvencia alely v samčom potomstve je rovná frekvencii u samíc v rodičovskej generácii ($p'_m = p_f$; $q'_m = q_f$). Samice (XX) získavajú jeden chromozóm X od matky, druhý od otca, teda nezávisle na pomere pohlaví frekvencia alely v samičom potomstve je priemerom frekvencií v oboch pohlaviach rodičovskej generácie ($p'_f = \frac{1}{2}(p_f + p_m)$; $q'_f = \frac{1}{2}(q_f + q_m)$). Priemerná frekvencia sa teda nemení, ale frekvencia v rámci pohlaví osciluje okolo rovnovážnej frekvencie a pomerne rýchlo sa k nej približuje (obr. 20).

Rovnaké vzťahy samozrejme platia pri nielen pri určení pohlavia typu *Drosophila* (XY), ale pri všetkých typoch dedičnosti pohlavia, u ktorých o pohlaví rozhodujú nehomologické pohlavné chromozómy alebo absencia pohlavného chromozómu (ZW, X0, Z0, haplodiploidné určenie).

Vývoj genetickej štruktúry autogamnej populácie

Autogamia je extrémnym prípadom príbuzenského kríženia, keď sa jedinec kríži sám so sebou (pochopiteľne, možná je len pri hermafroditných organizmoch). Vývoj genetickej štruktúry autogamnej populácie je odlišný od prípadu panmixie. Opäť, ilustrácia na príklade bialelického lokusu s úplnou dominanciou: v prvej generácii je zastúpených P dominantných homozygotov AA , H heterozygotov Aa a Q recesívnych homozygotov aa . V populácii prebieha pri rozmnožovaní výlučne samoopelenie, t.j. každý jedinec sa kríži len so sebou samým. U homozygotov samoopelenie produkuje vždy homozygotné potomstvo rovnakého genotypu. U heterozygotov však dochádza k štiepeniu v zmysle Mendelových zákonov: keďže heterozygot produkuje dva typy samčích aj samičích gamét (gaméty s dominantnou a s recesívnou vlohou) a gaméty sa do genotypov potomstva kombinujú náhodne, tento typ samoopelenia produkuje štvrtinu dominantných homozygotov, štvrtinu recesívnych homozygotov a len polovicu heterozygotného potomstva. Aj keď alelická štruktúra populácie zostáva rovnaká, genotypová štruktúra sa na rozdiel od panmixie mení. Podiel heterozygotov expo-

nenciálne klesá vždy na polovicu podielu v predchádzajúcej generácii (obr. 21). Populácia sa rozpadá na zmes homozygotných čistých línií.



Obr. 21 Schéma vývoja genotypovej štruktúry populácie obligatórne autogamného organizmu

Tab. 9 Vývoj genotypovej štruktúry populácie obligatórne autogamného organizmu

	Genotypové frekvencie		
	AA	Aa	aa
Generácia 0	P	H	Q
Gaméty	1,0 A	$0,5 A + 0,5 a$	1,0 a
Genotypy potomstva	$P AA$	$H/4 AA + H/2 Aa + H/4 aa$	$Q aa$
Generácia 1	$P + H/4$	$H/2$	$Q + H/4$
Gaméty	1,0 A	$0,5 A + 0,5 a$	1,0 a
Genotypy potomstva	$P + H/4 AA$	$H/8 AA + H/4 Aa + H/8 aa$	$Q + H/4 aa$
Generácia 2	$P + 3/8 H$	$H/4$	$Q + 3/8 H$
Gaméty	1,0 A	$0,5 A + 0,5 a$	1,0 a
Genotypy potomstva	$P + 3/8 H AA$	$H/16 AA + H/8 Aa + H/16 aa$	$Q + 3/8 H aa$
Generácia 3	$P + 7/16 H$	$H/8$	$Q + 7/16 H$
...

Efektívna veľkosť populácie

Vo všetkých modeloch vzťahov medzi veľkosťou populácie a inými parametrami (napr. koeficientom inbreedingu) použitie nominálnej veľkosti (teda skutočného počtu jedincov) predpokladá, že všetky jedince odovzdávajú pri reprodukcii gény potomstvu v rovnakej miere. Tento predpoklad zodpovedá realite len výnimcoľne. Pokial' je podiel na tvorbe potomstva nerovnaký, je potrebné nahradiť veľkosť populácie N tzv. efektívnu veľkosťou populácie N_e . Koncept efektívnej veľkosti (efektívneho počtu) zahŕňa dva komponenty: koncept idealizovanej populácie (ktorou je najčastejšie izolovaná, náhodne sa párujúca populácia s oddelenými generáciami, v ktorej neprebieha žiadny výber a nedochádza v nej k mutáciám génov) a koncept parametra, v ktorom sa správanie reálnej populácie porovnáva s idealizovanou. Efektívna veľkosť teda určuje početnosť panmiktickej populácie, ktorá by pri náhodnom krížení vykazovala rovnakú mieru inbreedingu resp. rovnakú varianciu alelických frekvencií (t.j. rovnakú mieru genetického driftu, viď nižšie) ako hodnotená reálna populácia. Vo vztáhoch pre výpočet prírastku inbreedingu či variancie génových frekvencií by teda správne veľkosť populácie N mala byť nahradená efektívou veľkosťou N_e .

Odchýlky od ideálne panmiktického párovania, spôsobujúce posun efektívnej veľkosti populácie oproti skutočnému počtu reprodukujúcich sa jedincov, môžu byť dôsledkom viacerých faktorov. V populáciach s oddelenými pohlaviami môže byť nevyvážený podiel samcov a samíc. Je potrebné pripomenúť, že nech je ich pomer akýkoľvek, k tvorbe potomstva

prispievajú obe pohlavia rovnakou mierou, teda ich príspevok k variancii alelických frekvenčí musí byť braný rovnakou váhou. Keďže prírastok inbreedingu je úmerný polovici prevrátenej hodnoty veľkosti populácie ($\Delta F=1/2N_e$), efektívna početnosť sa odvodzuje z dvojnásobku harmonického priemeru početností oboch pohlaví (za predpokladu rovnakej reprodukčnej schopnosti jedincov):

$$N_e = 2 \left[\left(\frac{1}{N_{\sigma}} + \frac{1}{N_{\varphi}} \right) / 2 \right]^{-1} = \frac{4 N_{\sigma} N_{\varphi}}{N_{\sigma} + N_{\varphi}}$$

Takisto môže dochádzať ku kolísaniu početnosti populácie v rôznych generáciách. Efektívna veľkosť je opäť odvodená z harmonického priemeru veľkostí populácie v jednotlivých generáciách:

$$N_e = \left[\left(\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2} + \dots + \frac{1}{N_t} \right) / t \right]^{-1}$$

Najbežnejšou príčinou odchýlky od idealizovaného stavu populácie je nerovnaká veľkosť potomstva (spôsobená rozdielmi v plodnosti jedincov alebo životoschopnosti ich potomstiev). Ak sa má populácia udržiavať v konštantnej veľkosti, v každej generácii musia prežiť v priemere 2 potomkovia každého rodičovského páru. Pri takejto veľkosti potomstva je efektívna veľkosť populácie rovná

$$N_e = \frac{4N - 2}{\sigma_n^2 + 2}$$

kde σ_n^2 je variancia veľkostí potomstiev.

MIKROEVOLÚCIA

Genetická štruktúra populácií (alelická, genotypová, haplotypová) sa z generácie na generáciu môže meniť. Ak sú dve populácie navzájom reprodukčne izolované, teda nevymieňajú si pri reprodukcii navzájom gény, ich genetické štruktúry budú s postupom času divergovať. V dôsledku toho sa postupne bude meniť aj ich fenotypová štruktúra až natol'ko, že ich botanik alebo zoológ zaradí k rozdielnym taxónom. Rýchlosť procesu akumulácie zmien nemusí byť v čase konštantná. V jeho rámci môže dojsť k nárazovej reorganizácii genómu napríklad masívnym zvýšením frekvencie mutácií po prírodnej katastrofe, zmenou ploidie, zmenou chromozómovej štruktúry, u eukaryotov hybridizáciou, u prokaryotov horizontálnym transferom génov, inkorporáciou genómu endosymbiontov (cyanobaktérie zmenené na chloroplasty, α -proteobaktérie zmenené na mitochondrie) alebo endoparazitov (*Wolbachia*) a pod. Nič to nemení na skutočnosti, že je tento proces spravidla postupný, a preto označovaný ako evolúcia.

Evolučná biológia spravidla rozlišuje medzi mikroevolúciou, teda procesom postupných zmien zastúpenia génov (alelických frekvencií) v rámci populácie, vedúcim k vzniku nových línií, variet až druhov, a makroevolúciou, ako procesom zásadných zmien dedičného materiálu, sprevádzaných zmenou stavebných plánov tela a vedúcim k vzniku vyšších taxónov. Rozdielna je aj časová mierka oboch procesov (aj keď v prípade evolúcie skôr možno hovoriť o komplexoch procesov): mikroevolúcia uvažuje v mierke generácií, makroevolúcia v mierke geologických období.

Biologická realita je spravidla príliš komplexná na to, aby boli synteticky popísané všetky jej aspekty. Populačná genetika preto stavia na modeloch popisujúcich správanie sa populácie pod vplyvom konkrétnych evolučných procesov. Aj keď tieto modely zjednodušujú biologickú skutočnosť, umožňujú pochopiť, ako rozdielne evolučné mechanizmy a faktory ovplyvňujú genetickú a následne fenotypovú štruktúru. V tomto zmysle poskytujú referenčný

štandard, voči ktorému sa porovnáva správanie konkrétnej reálnej populácie alebo súboru populácií.

Mutácie ako zdroj dedičnej premenlivosti

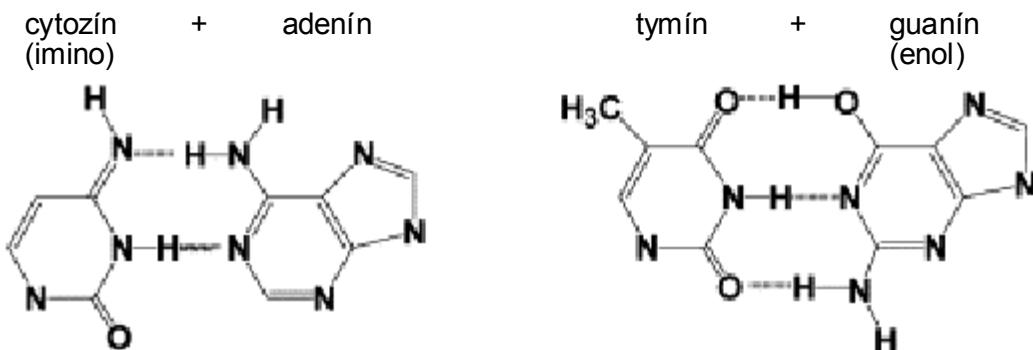
Dedičná premenlivosť vzniká dvomi mechanizmami. Jedným z nich je vytváranie nových kombinácií existujúcich génov, proces označovaný ako rekombinácia. Dochádza k nemu jednak v dôsledku náhodnej segregácie chromozómov do novovskytváraných gamét v priebehu ich tvorby meiotickým delením zárodočných buniek, jednak vytváraním nových kombinácií alel v rámci rovnakého chromozómu, teda nových haplotypov, procesom crossing over (viď podkap. *Štruktúra a bunkový cyklus eukaryotickej bunky*). Segregácia a rekombinácia však len novým spôsobom organizujú existujúce alely. Nejedná sa o evolučné procesy: genetická informácia sa v ich dôsledku v skutočnosti nemení, len sa pri zámene generácií vždy usporiada novým spôsobom, ktorý je ovšem náhodný, neumožňuje žiadne smerovanie. Z hľadiska evolúcie dôležitejším zdrojom genetickej premenlivosti je zmena genetickej informácie z hľadiska jej kvality (vznik nových alel) alebo kvantity (zmnoženie alebo úbytok nukleotidov alebo celých DNA molekúl), označovaná termínom mutácia.

Mutácie môžu ovplyvniť genetický materiál v rozdielnom rozsahu. Fenotypový efekt mutácie nemusí byť nutne úmerný jej rozsahu. Zmena jediného nukleotidu môže v závislosti na kontexte genómu ovplyvniť fenotypový prejav drastickejšie než zmnoženie celej chromozómovej sady. Miera ovplyvnenia genetickej výbavy je základom pre klasifikáciu mutácií.

Génové mutácie

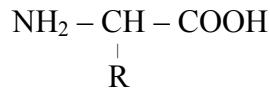
Génové mutácie zasahujú jeden alebo niekoľko nukleotidov v rámci jedného génu, menia teda kvalitu génu. Zmena sekvencie môže spočívať v zmene kvality jedného alebo viacerých nukleotidov, alebo v zmene ich kvantity (prírastok alebo úbytok počtu nukleotidov, teda dĺžky sekvencie génu).

Zámena jediného nukleotidu za iný je označovaná ako bodová mutácia alebo substitúcia. Bodové mutácie sa rozlišujú na tranzície (zámena purílovej bázy za purínovú, teda A↔G, alebo pyrimidílovej za pyrimidínovú, teda C↔T; tento typ substitúcií je častejší) a transverzie (zámena purílovej bázy za pyrimidínovú alebo naopak, teda C/T↔A/G; zriedkavejší typ substitúcie). Takáto zámena môže nastať aj spontánne v dôsledku tautomérie, teda schopnosti organických báz zaujať rôzne priestorové konformácie spojené s presunom elektrického náboja a teda aj párovacej schopnosti. Guanín v normálnej ketoforme (obr. 22) sa páruje s cytozínom, zriedkavejšia enolforma sa páruje s tymínom. Cytozín v zriedkavejšej iminoforme sa páruje s adenínom. Bodové mutácie môžu byť spôsobené aj mutagénnymi analógmi báz (5-bromouracil, 2-aminopurín) spôsobujúcimi častejšiu tvorbu tautomérnych izoforiem, alkylačnými činidlami (yperit, alkylsulfáty) spôsobujúcimi alkyláciu báz a následné chybné párovanie, alebo dusitanmi a reaktívnymi formami kyslíka (peroxidu,



Obr. 22 Zriedkavé tautomery báz spôsobujúce chybné párovanie

superoxid, ozón) spôsobujúcimi oxidačnú deamináciu adenínu, guanínu a cytozínu. Bodové mutácie spravidla zasahujú jediný nukleotid a môžu eventuálne viest' k zmene jednej aminokyseliny zaradovanej do polypeptidového reťazca. Ich dopad na fenotyp je ľahko odhadnút'. Veľkú časť z nich predstavujú synonymné mutácie (angl. *synonymous mutation*), ktoré nemenia štruktúru produkovaného polypeptidu. Ako bolo uvedené, genetický kód je degenerovaný, jedna aminokyselina je spravidla kódovaná 2–6 tripletmi. Zmena bázy na 3. pozícii spravidla nemení zmysel kodónu, teda znamená zaradenie rovnakej aminokyseliny do polypeptidového reťazca. V niektorých prípadoch mutácia mení zmysel kodónu (angl. *missense mutation*). Nie vždy takáto mutácia mení funkciu polypeptidu (viď príklad). Aminokyseliny možno v princípe klasifikovať podľa zvyšku. Všetky esenciálne aminokyseliny majú rovnaký typ štruktúry:



odlišujú sa len zvyškom (R), ktorý môže byť kyslý (spravidla obsahuje ďalšiu karboxylovú skupinu), zásaditý (ďalšia aminoskupina), elektricky neutrálny, ale polárny a teda hydrofilný ($-\text{OH}$ alebo $-\text{SH}$ skupina) alebo nepolárny a hydrofóbny (alifatický alebo aromatický homocyklický reťazec) (viď tab. 4 *Genetický kód*). Pokial' má zvyšok pôvodnej aminokyseliny rovnaké vlastnosti ako zvyšok aminokyseliny u mutovanej alely, spravidla nedôjde k zmene funkcie polypeptidu. Naopak, ak sa obe aminokyseliny zásadne chemicky odlišujú, môže sa zmeniť terciárna (3D) štruktúra proteínu, jeho afinita k lipidovým membránam, v prípade enzýmu optimum jeho fungovania (teplota, pH) atď. Mutovaný polypeptid môže dokonca nadobudnúť úplne novú funkciu. Bodové mutácie touto cestou prispievajú k tvorbe novej užitočnej genetickej premenlivosti. Pochopiteľne, efekt môže byť aj opačný, teda že mutovaný polypeptid stratí schopnosť plniť akúkoľvek funkciu. Nakoniec, dôjst' môže aj zámene funkčného tripletu za niektorý z terminačných kodónov (*nonsense mutation*).

Zatiaľ čo bodová mutácia postihuje len jednu aminokyselinu, vsunutie alebo vypadnutie nukleotidov (inzercia alebo delécia) spôsobujú posun čítacieho rámca; takéto mutácie sa označujú ako posunové (angl. *frameshift mutation*). Spravidla nevieme určiť, ktorá z alel je pôvodná a ktorá mutovaná, preto sa ako skratka často používa termín indel (insertion/deletion). V dôsledku posunu čítacieho rámca sa zmenia všetky aminokyseliny od miesta mutácie po koniec reťazca, a neočakávaný výskyt terminačného kodónu môže reťazec skratiť (s menšou pravdepodobnosťou možne nastáť to, že zrušenie terminačného kodónu naopak reťazec predĺži). V každom prípade je polypeptidový reťazec produkovaný mutovaným génom spravidla nefunkčný. To platí aj v prípade vypadnutia alebo vsunutia jedného alebo niekoľkých celých tripletov; identita aminokyselín sa síce nemení, ale posunutie ich polohy môže zmeniť výslednú 3D štruktúru proteínu.

Génové mutácie vznikajú s vysokou frekvenciou aj pri replikácii, chybovosť DNA polymerázy je rádovo 1 na 10^4 až 10^5 nukleotidov. Pri celkovej veľkosti genómu rádovo miliardy až desiatky miliárd bázových párov (tab. 2) to predstavuje rádovo desaťtisíce až stotisíce chybnych nukleotidov na každé bunečné delenie. Ďalšie chyby vznikajú pôsobením exogénnych faktorov (viď vyššie). Bunky si preto vytvárajú reparačné mechanizmy na vyhľadávanie a odstraňovanie týchto chýb. Ich fungovanie závisí od typu chyby. Časť chýb je odstránená priamo DNA polymerázou vďaka jej aktivite kontroly správnosti párovania (*proofreading*: identita pridaného nukleotidu v novo syntetizovanom reťazci je kontrolovaná oproti templátovému reťazcu jedným z polypeptidov komplexy DNA polymerázy III, v prípade chybného párovania je nukleotid odstránený a nahradený správnym). Ďalšie mechanizmy fungujú po ukončení replikácie. Pyrimidínové diméry (kovalentné väzby medzi susediacimi cytozínnimi alebo tymínnimi) vznikajúce v dôsledku UV-B ožiarenia sú odstraňované fotoreaktiváciou: špecifický enzym aktivovaný viditeľným svetlom tieto väzby

rozpojí. Ďalší, komplexnejší mechanizmus predstavuje excízna reparácia. Poškodenia jednotlivých nukleotidov (napríklad deamináciou purínov) sa odstraňujú vystrihnutím bázy“ poškodená báza je rozoznaná a odstránená DNA glykozylázou, nukleotid zbavený purínu či pyrimidínu je následne rozoznaný AP-endonukleázou, fosforylovaný cukrový zvyšok je odstránený fosfodiesterázou, správny nukleotid pridaný DNA polymerázou, a reťazec je spojený ligázou). Rozsiahlejšie lézie, ktoré spôsobujú deformáciu sekundárnej štruktúry molekuly DNA (špirály) so opravované nukleotidovou excíznou opravou. Metyláciou riadená postreplikačná oprava párovania (*mismatch repair*) je založená na rozoznávaní templátového reťazca vďaka methylácii adenínu na ňom. Chybne spárované nukleotidy na novosyntetizovanom (nemetylovanom) reťazci sú vystrihnuté a nahradené. Posledným typom reparačných mechanizmov je rekombinačná oprava, ktorej podstatou je výmena poškodených častí medzi dvomi molekulami DNA rekombináciou (crossing-overom) tak, že sa chybné úseky sústredia len na jednej z nich, teda vznikne jedna plne funkčná a jedna nefunkčná molekula DNA. Reparačné mechanizmy znižujú výslednú frekvenciu mutácií na úroveň 10^{-10} – 10^{-11} na nukleotid a generáciu.

Príklad: Hypotetický gén, kódujúci polypeptid, má sekvenciu

0	1	2	3	4	5
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789					
3' . . . TTTACAGTCCATTGACTTAGGGCTAAGGTACCTGGAGCCCACGTTGGTCATCCAG . . . 5'					
5' . . . AAATGTCAGGTAAGCTGAATCCCCATTCCATGGACCTCGGGTGCAAACCCAGTAGGTC . . . 3'					

- a) Do akej sekvencie aminokyselín v polypeptide sa tento gén bude exprimovať, ak prepisovaný je očíslovaný reťazec (začínajúci zlava 3'-koncom), sekvencia DNA neobsahuje intróny a prepis začína od pozície 0?
- b) Ako sa zmení sekvencia aminokyselín v polypeptide, ak dôjde v pozícii 23 k zámene bázového páru GC za TA (bodová mutácia) a s akými následkami?
- c) Ako sa zmení sekvencia aminokyselín v polypeptide, ak dôjde v pozícii 43 k zámene bázového páru AT za CG (bodová mutácia) a s akými následkami?
- d) Ako sa zmení sekvencia aminokyselín v polypeptide, ak dôjde v pozícii 18 k zámene bázového páru TA za CG (bodová mutácia) a s akými následkami?
- e) Ako sa zmení sekvencia aminokyselín v polypeptide, ak dôjde v pozícii 22 k delecii bázového páru GC (posunová/*frameshift* mutácia) a s akými následkami?

Riešenie:

- a) Pri transkripcii sa do reťazca primárneho transkriptu (v tomto prípade totožného s reťazcom mRNA, keďže v tejto časti sekvencie nie sú prítomné intróny) zaraďujú nukleotidy komplementárne k prepisovanému reťazcu DNA:

0	1	2	3	4	5
1234567890123456789012345678901234567890123456789					
DNA: 3' TTTACAGTCCATTGACTTAGGGCTAAGGTACCTGGAGCCCACGTTGGTCATCCAG5'					
mRNA: 5' AAA <u>AUG</u> CAGGUAAAGCUGAACCCGAUUC <u>CAUGGACCUCGGGUGCAAACCCAGUAGGU</u> C3'					
Iniciačný kodón je AUG, pričom iniciácia začína od výskytu tohto tripletu najbližšieho od konca 5'. V tomto prípade sa triplet AUG nachádza od pozície 3. Od tejto pozície sa teda odvíjajú triplety, na základe ktorých sa zaraďujú aminokyseliny.					
0 1 2 3 4 5					
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789					
mRNA: 5' AAA <u>AUG</u> CAGGUAAAGCUGCA <u>UCCCGAUUCC</u> A <u>UGGACCUCGGGUGCAAACCCAGUAGGU</u> C3'					
polypeptid: MetSerGlyLysLeu <u>His</u> <u>Pro</u> ArgPhe <u>Gly</u> <u>Pro</u> Arg <u>Val</u> <u>Gln</u> <u>Thr</u> <u>Gln</u> <u>STOP</u>					
kedže na pozícii 54 je triplet UAG, ktorý je terminačným kodónom, na tomto mieste sa syntéza polypeptidu ukončí. Podčiarknuté sú aminokyseliny, ktoré sú postihnuté mutáciami podľa bodov b), c) a d).					
b) Ak dôjde k bodovej mutácii v pozícii 23, pri ktorej sa zamení guanozín v prepisovanom reťazci DNA za tymidín, v reťazci mRNA bude v tejto pozícii zarađený nukleotid s bázou komplementárnou k tymínu, teda adenínom. Sekvencia mRNA a zodpovedajúca sekvencia aminokyselín v polypeptide					

pokračovanie
bude nasledovná

0 1 2 ↓ 3 4 5
123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890123456789

mRNA: 5' AAAUGUCAGGUAGCUGCAUCC~~A~~CGAUUCCAUGGACCUCGGGUGCAAACCCAGUAGGUC3'
 polypeptid: MetSerGlyLysLeuHis**Pro**ArgPheHisGly**Pro**Arg**Val**Gln**Thr**Gln**STOP**
 Triplet CCA kóduje rovnako ako pôvodný triplet CCC prolín. Jedná sa teda o synonymnú mutáciu, pri ktorej sa sekvencia aminokyselín žiadnym spôsobom nemení, teda takáto mutácie nemôže mať žiadne fenotypové následky.

c) Ak dôjde v pozícii 43 k zámene adenozínu v prepisovanom reťazci DNA za cytidín, v reťazci mRNA bude v tejto pozícii zaradený opäť nukleotid s bázou komplementárnu ku guanínu, teda cytozínom. Sekvencia mRNA a zodpovedajúca sekvencia aminokyselín v polypeptide bude nasledovná

0 1 2 3 4 4 4 5

12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789

mRNA : 5' AAAUGUCAGGUAAGCUGCAUCCCCGAUUCCAUGGACCUCGG**GCG**AAACCCAGUAGG

polypeptid: MetSerGlyLysLeuHisProArgPheHisGlyProArg**Ala**GlnThrGlnSTOP
Triplet GUG, kódujúci valín, sa teda zmení na triplet GCG, kódujúci alanín. Valín aj alanín sú však aminokyseliny s rovnakými vlastnosťami, obe majú alkylový hydrofóbny a nepolárny zvyšok (Ala: $-CH_2CH_3$, Val: $-CH_2CH_2CH_2CH_3$), teda vlastnosti a štruktúra vytváraného polypeptidu sa s najväčšou pravdepodobnosťou nezmenia.

d) Ak dôjde v pozícii 18 k zámene tymidínu v prepisovanom reťazci DNA za cytidín, v reťazci mRNA bude v tejto pozícii zaradený nukleotíd s bázou komplementárnu ku cytozínu, teda guanínom. Sekvencia mRNA a zodpovedajúca sekvencia aminokyselín v polypeptide bude nasledovná:

Convergent mRNA loops reduce convergent mRNA levels by poly-peptide base pairing

123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890

mRNA: 5' AAAUGUCAGGUAGCUG**GAU**CCCCGAUCCAUGGACCUCGGUGCAAACCCCAGUAGG

polypeptid: MetSerGlyLysLeu**Asp**ProArgPheHisGlyProArgValGlnThrGln**STOP**
 Triplet CAU, kódujúci histidín, sa teda zmení na triplet GAU, kódujúci kyselinu asparágovú. Zatiaľ čo histidín je aminokyselina so zvyškom obsahujúcim aminoskupinu, a teda vo vodnom roztoku sa nabíja kladne, kyselina asparágová obsahuje ďalší karboxylový zvyšok, vo vodnom roztoku teda odštupej protón a nabíja sa záporne. Aj keď obidve aminokyseliny majú polárny a teda hydrofilný zvyšok, elektrický náboj vytváraného polypeptidu sa zmení o 2 jednotky. Takáto zmena môže viest' k zmene funkcie proteínu, touto mutáciou môže teda vzniknúť nová alela.

e) Ak dôjde v pozícii 22 k delecii bázového páru GC, v reťazci mRNA vypadne nukleotid zaraďený pôvodne v tejto pozícii a teda od nej dôjde k posunu celého čítacieho rámca. Sekvencia mRNA a zodpovedajúca sekvencia aminokyselin v polypeptide bude nasledovná

Figure 1. Example of a subject's own choice of activity from the preference panel. The subject has chosen activity 5.

mRNA : 5' AAAUGUCAGGUAAAGCUGCAUCCGAUUCCAUGGACCUCGGGUGCAAACCCAGUAGGU C . 3 '

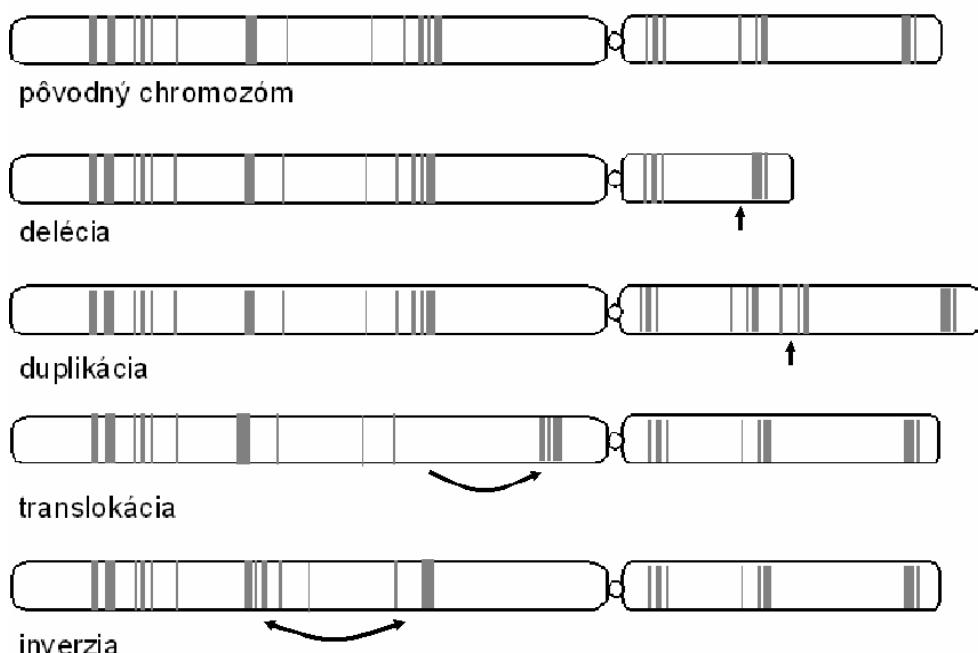
polypeptid: MetSerGlyLysLeuHis**ProAspSerMetAspLeuGlyCysLysProSerArgSer**.. Začínajúc 7. aminokyselinou sa všetky až do konca reťazca môžu zmeniť (v tomto prípade nedošlo k zmene prolínu preto, lebo k mutácii došlo na 3. pozícii tripletu). Naviac, tým, že sa posunul čítací rámc, zanikol terminačný kodón na pozícii 54, teda syntéza polypeptidu pokračuje až kým sa náhodne v mRNA nevyškytne niektorý z terminačných kodónov, vytvorený polypeptid bude teda oveľa dlhší než pôvodný. Je veľmi málo pravdepodobné, že by takýto polypeptid bol schopný plniť nielen pôvodnú funkciu, ale akúkoľvek biologickú funkciu. Alela, vznikajúca takoto mutáciou teda vytvára nefunkčný produkt, a ak ide o gén kódujúci životne dôležitý proces (napríklad rozklad peroxydických väzieb), je takáto alela **letalna**.

Chromozómové mutácie

Chromozómové mutácie postihujú väčší úsek chromozómu, spravidla obsahujúci niekoľko génov. V tomto prípade sa teda nejedná o zmenu kvality, alebo o zmenu kvantity alebo usporiadania génov. Dlhší úsek môže vypadnúť (delécia); v tomto prípade môžu byť niektoré funkcie organizmu narušené stratou génov (najmä ak ide o gény existujúce v jedinej kópii)

v genóme; viaceré závažné geneticky podmienené ochorenia u človeka sú spôsobené deléciou častí chromozómov, napr. Williamsov alebo Jacobsenov syndróm). Naopak, časť chromozómu môže byť zduplikovaná, takýto úsek sa potom vyskytuje na jednom a tom istom chromozóme dvakrát. Najjednoduchšie sa duplikujú tandemové opakovania génov, t.j. ak sa úsek už vyskytuje vo viacerých kópiach, ľahko k nim pribudne alebo ubudne ďalšia: v takýchto segmentoch môžu sa homologické chromozómy pri meióze (synapse) chybne párovať a následne môže dôjsť k nereciprokej translokácii, pri ktorej je nespárovaný úsek vystrihnutý z jedného chromozómu a vložený do druhého. Opakoványmi duplikáciami vznikajú génové rodiny (*gene families*). Génová dávka, teda počet kópií génu v genóme, môže spoluurčovať biochemickú funkčnosť génu. Génová mutácia môže poškodiť regulačnú oblasť niektorého z génov génovej rodiny – v tomto prípade sa životaschopnosť organizmu nemusí vôbec zmeniť, keďže má k dispozícii rezervné kópie génu. Takéto sekvencie a chromozómy, ktoré ich nesú, nie sú teda vylučované prírodným výberom; štrukturálna časť génu teda zostáva súčasťou genómu, aj keď nefunguje. Takéto úseky sa označujú ako pseudogény. Duplikované gény tiež predstavujú surovinu pre evolúciu. Ak má organizmus k dispozícii viac kópií niektorého génu sa bodová mutácia spôsobí v jednom z nich zmenu funkcie alebo nadobudnutie úplne novej funkcie (a teda stratu tej pôvodnej), organizmus zostáva životaschopný a nový gén môže prispiť k zmene jeho fenotypu.

Zmena pozície génu alebo úseku na chromozóme sa označuje ako translokácia. Jedným z jej typov je reciproká translokácia, pri ktorej si dva chromozómy vymenia medzi sebou svoje časti. Tento typ mutácií je možné rozoznať počas zygoténu meiózy vďaka vytvoreniu synapsy v tvare kríža, pozostávajúcej zo štyroch chromozómov (namiesto dvoch), ktoré sú spárované vo svojich homologických úsekok. Pri transpozícii je úsek DNA vystrihnutý zo svojej pozície a vložený na inú na rovnakom chromozóme. Translokácie sú najčastejšie dôsledkom aktivity transponibilných elementov (transpozónov), „molekulárnych parazitov“, ktoré sa v genóme často množia v obrovskom rozsahu (vid' tab. 3). Samy o sebe nemusia ohrozovať životaschopnosť organizmu, ale predstavujú evolučný balast a zväčšujú genóm, takže zväčšujú nároky na zdroje a energiu pri každom bunečnom delení.



Obr. 23 Typy chromozómových mutácií

Ďalším typom chromozómovej mutácie je inverzia, pri ktorej je segment chromozómu vystrihnutý a vložený na rovnaké miesto s opačnou orientáciou. Rozsiahlu inverziu obsahuje chloroplastový genóm: okrem dvoch úsekov obsahujúcich neopakovane gény (LSC a SSC segment) obsahuje dva oproti sebe postavené dlhé invertované úseky, ktoré predstavujú svoj vzájomný zrkadlový obraz.

Preusporiadanie genómu v dôsledku inverzie alebo translokácie nemusí nutne znižovať životoschopnosť organizmu ani pri veľkom rozsahu, ale môže viesť k reprodukčnej izolácii mutanta od zvyšku populácie, pretože mení pozíciu homologických úsekov a tým sťažuje párovanie chromozómov pri meióze. Rekombinácia pôvodných a mutovaných chromozómov (ak je vôbec možná) môže naviac vyvolávať rozsiahle delécie dlhých úsekov a stratu génov; takéto rekombinované chromozómy sú spravidla nefunkčné a spôsobujú stratu životoschopnosti.

Dvojretázcové zlomy (teda prerušenie oboch reťazcov DNA na rovnakom mieste; prerušené úseky nie sú ničím spojené) vedú ku chromozómovým zlomom (teda rozpadu chromozómu na dve samostatné časti). Spravidla vedú k závažným poruchám funkcie organizmu, pretože len jeden z úsekov má centroméru a teda normálne funguje pri bunečnom delení. Homologické chromozómy alebo sesterské chromatidy sa môže aj spojiť (fúzia chromozómov). Takéto chromozómy dokážu normálne fungovať len ak si zachovajú len jednu centroméru; dicentrické chromozómy nie sú schopné normálnej migrácie počas mitózy. Špecifickým typom fúzie chromozómov je Robertsonovská translokácia, pri ktorej sa spájajú dva akrocentrické chromozómy za vzniku jedného metacentrického chromozómu.

Genómové mutácie

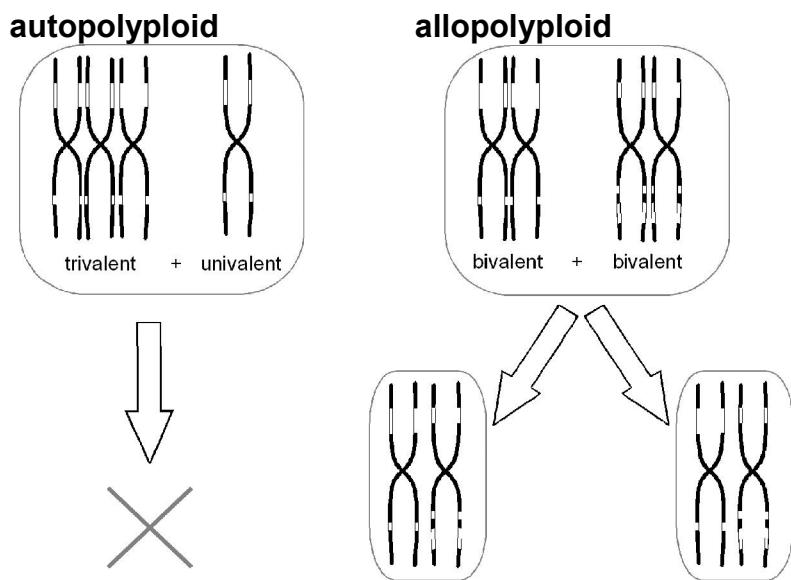
Genómové mutácie postihujú celé chromozómy resp. celé chromozómové sady, menia ich počet a tým zásadne menia veľkosť genómu. Vznikajú v dôsledku nepravidelnosti bunkového delenia, ak sa chromozómy nerozídu správne do dcérskych jadier. Rozlišuje sa aneuploidia, ak sa konkrétny chromozóm nachádza v bunke v jednej alebo troch kópiach namiesto v dvoch, a euploidia (polyploidia), pri ktorej je znásobená celá chromozómová sada. Poruchy bunkového delenia môžu byť napríklad vyvolané kolchicínom alebo nízkymi teplotami, ktoré blokujú tvorbu deliaceho vretienka. Preto sa polyploidia u rastlín častejšie vyskytuje vo vysokých zemepisných šírkach či nadmorských výškach, kde teploty často klesajú k nízkym hodnotám počas obdobia kvitnutia. Na rozdiel od živočíchov, kde sa línia zárodočných buniek (germinálna línia) oddeluje od somatických buniek veľmi skoro počas ontogenézy (ešte v embryonálnom štádiu), u rastlín tieto bunkové línie oddelené nie sú. Klon polyploidných buniek teda môže vytvárať reprodukčné orgány, ktoré produkujú gaméty s vyšším než haploidným počtom chromozómov.

Pri aneuploidii jedná kópia chromozómu bud' chýba (monozómia) alebo je naviac (trizómia). U živočíchov je aneuploidia spravidla letálna alebo vedie k závažným vývojovým poruchám; mnohé geneticky podmienené choroby u človeka súvisia so zmenou počtu chromozómov (trizómia má fatálne následky už v embryonálnom štádiu v prípade 16 z 22 autozómov u človeka, pri 4 má plod výnimočne šancu dožiť sa pôrodu, a len pri chromozómoch 9 a 21 je jedinec životoschopný, aj keď postihnutý – trizómia chromozómu 21 spôsobuje Downov syndróm; monozómia je vždy letálna). Rastliny tolerujú aneuploidiu podstatne lepšie, nie vždy má zmena počtu chromozómov aj dopad na fenotyp.

Polyploidia je u živočíchov výnimočná, u rastlín naopak pomerne bežná, mnohé rastlinné rody obsahujú sériu druhov s rozdielnymi stupňami ploidie. Takisto vysoký počet chromozómov niektorých rodov (*Tilia*, $n=81$) naznačuje ich polyploidný pôvod. Chromozómové sady polyploidov nemusia byť identické pôvodom. Pri autopolyploidii bunky obsahujú nabydtočné sady plne homologických chromozómov, spravidla v dôsledku absencie delenia jadra alebo cytokinézy. Autopolyploidy sú spravidla sterilné v dôsledku nepravidelného párovania

chromozómov počas meiózy: namiesto bivalentov sa vytvárajú trivalenty a univalenty (teda trojica homologických chromozómov a jeden zostávajúci navyše) a chromozómy nesegregujú pravidelne do gamét. Pokiaľ sa rozmnožujú nepohlavnou cestou (apomikticky), môže akumulácia mutácií (najmä reorganizácia chromozómov translokáciami a inverziami) znížiť stupeň homológie a tým eliminovať problémy s párovaním chromozómov. V tomto prípade sa môže obnoviť schopnosť pohlavného rozmnožovania.

Allopolyploidia (allopoloidia) je spojená s hybridizáciou. Homoploidné hybridy (vznikajúce spojením páru gamét, pochádzajúcich od rodičov patriacich k rozdielnym druhom, do diploidnej zygoty) sú často sterilné, ak chromozómy všetkých párov nie sú dostatočne homologické (častý prípad, ak sú rodičovské druhy fylogeneticky vzdialené). Diploidizácia prostredníctvom mitózy, za ktorou nenasleduje cytokinéza, vedie v tomto prípade k prítomnosti dvoch sád perfektne homologických chromozómov (kedže každá dvojica je tvorená replikovanými molekulami DNA, teda sú absolútne zhodné), čo umožňuje pravidelnú ich segregáciu do gamét. Druhou, menej častou možnosťou je, že rodičovské druhy produkuju neredukované diploidné gaméty, ktoré sa spájajú do tetraploidnej zygoty. Kedže chromozómy pochádzajúce od rôznych rodičov nie sú plne homologické a majú rozdielnu štruktúru, z funkčného hľadiska sa takéto jedince správajú ako diploidy (sú označované ako amfidipliody) a sú spravidla plne fertilné. Tento proces sa môže opakovať aj viackrát a môže sa na ňom zúčastňovať viac rodičovských druhov ako dva. Trojité hybridy boli identifikované napr. v rode *Sorbus* a iných rodoch čeľade ružovitých. Najlepším príkladom je však pšenica (*Triticum aestivum*): súčasné najbežnejšie používané kultivary sú hexaploidné a obsahujú tri rozličné genómy, vznikli najprv spontánou hybridizáciou *Triticum urartu* × *Aegilops speltoides* (= *Triticum durum*) a tento tetraploid sa následne spontánne krížil s *Aegilops tauschii*.



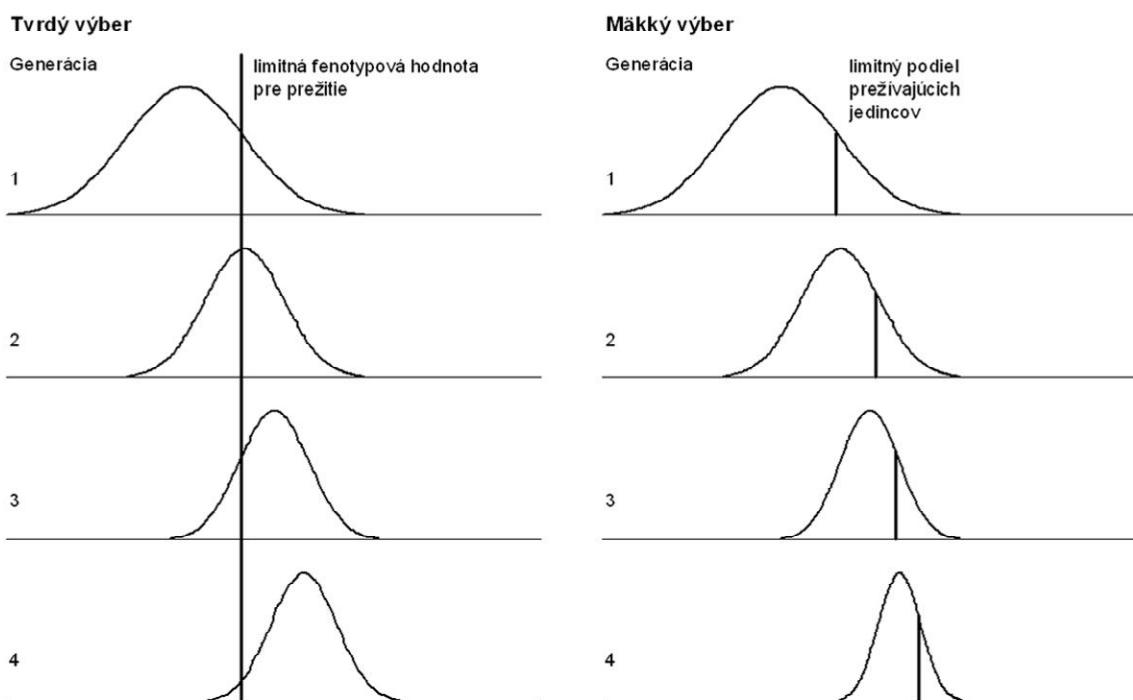
Obr. 24 Schéma párovania chromozómov autopolyplodia a allopolyplodia pri meióze a tvorby gamét. Svetlou farbou sú označené úseky na chromozóme, ktoré u rôznych rodičovských druhov nie sú homologické. Alloploid sa správa ako funkčný diploid.

Selekcia

Definícia selekcie, fitness

Alely polymorfného génu prítomné v populácii nemusia byť pri reprodukcii odovzdávané generácii potomstva v rovnakej miere. Nositelia rôznych genotypov sa môžu odlišovať šancou dožiť sa veku dospelosti (definovaného ako vek, ked' nadobudnú schopnosť rozmnožovania), alebo, ak sa im podarí tento vek dosiahnuť, svojou reprodukčnou schopnosťou. Tá

nemusí byť definovaná len schopnosťou produkovať gaméty ako takou, ale aj schopnosťou gamét spájať sa do zygot, načasovaním ich tvorby s porovnaním s zvyškom populácie atď. Oba tieto faktory, teda životaschopnosť a plodnosť genotypu, určujú jeho schopnosť odovzdávať gény generácií potomstva, ktorá sa označuje ako biologická zdatnosť (ang. *fitness*). Rozdiely v biologickej zdatnosti sú základom prírodného výberu (selekcie). Na rozdiel od všeobecného laického chápania výberu, ktorý definuje výber ako rozdielne prežívanie jedincov, prírodný výber sa vzťahuje na gén, a spočíva v rozdielnej mieri resp. rozdielnej pravdepodobnosti, s akou je konkrétny variant génu (alela) odovzdávaný pri reprodukcii do následnej generácie. Predmetom selekcie môže byť v princípe akýkoľvek znak, ktorý súvisí s biologicou zdatnosťou. Jej dôsledkom je, že priemerná hodnota takéhoto znaku sa z generácie na generáciu posúva smerom k priaznivejším hodnotám. Tento proces sa označuje ako adaptácia.



Obr. 25 Schéma pôsobenia tvrdého a mäkkého výberu

Z hľadiska mechanizmu výberu, jeho biologickeho a ekologickeho základu, je potrebné rozlišovať dva typy výberu. Pri tvrdnej selekcii (*hard selection*) je pre prežitie jedinca resp. jeho uplatnenie v reprodukcii nutné dosiahnuť určitú kritickú hodnotu znaku súvisiaceho s biologicou zdatnosťou. Ak jedinec túto hodnotu nedosiahne alebo prekročí (v závislosti na tom, či ide o minimum alebo maximum daného znaku), znemožní mu to dožitie sa dospelosti alebo reprodukciu. Mäkký výber (*soft selection*) nezohľadňuje konkrétnu hodnotu znaku, ale eliminuje z populácie konkrétny konštantný podiel jedincov s najhoršími hodnotami znaku. V tomto prípade o prežití či reprodukcii nerozhoduje absolútна hodnota znaku, ale hodnota relatívna voči populačnému priemeru. Mäkký výber (napriek svojmu označeniu) je vo všeobecnosti efektívnejším selekčným mechanizmom, pretože neumožňuje populácii vyhnúť sa selekcii. Pokiaľ sa v dôsledku tvrdého výberu hodnota znaku v populácii posunie nad kritickú hranicu, výber v populácii prestáva pôsobiť, pretože všetky jedince v nej splňajú selekčné kritérium (obr. 25; tvrdý výber v princípe prestáva po 4. generácii pôsobiť). Mäkký výber však nepozná žiadny limit ani žiadnu cielovú hodnotu, z populácie trvale vylučuje „najhoršie“ genotypy a teoreticky pôsobí až do úplného vyčerpania genetickej premenlivosti. Obr. 25 treba samozrejme chápať ako schematický; proces výberu je deterministický len do

určitej miery, limit ako pri tvrdom, tak aj pri mäkkom výbere nie je v skutočnosti pevná hranica rozhodujúca o prežití či neprežití, priblíženie sa k tomuto limitu len zásadne mení pravdepodobnosť prežitia.

Biologická zdatnosť však môže závisieť od zastúpenia alely resp. genotypu v populácii (*frequency-dependent selection*). Škodcovia alebo patogénne organizmy, ktoré sa adaptujú na genotyp hostiteľskej rastliny (genotypy sa môžu odlišovať chemickým zložením, obrannými mechanizmami a množstvom ďalších vlastností, ktorým sa patogény musia prispôsobovať), môžu preferovať najčastejší genotyp v populácii, pretože poskytuje najprístupnejší zdroj; ak sa populácia škodcu adaptuje na tento zdroj, najčastejší genotyp začne byť jej pôsobením potláčaný, teda jeho frekvencia bude postupne klesať a v populácii prevládne iný genotyp, ktorý si časom pritiahne pozornosť škodcu. Frekvencie genotypov teda oscilujú okolo rovnovážnej hodnoty; tento mechanizmus sa označuje ako negatívna spätná väzba. V inom prípade môžu napríklad opel'ovače preferovať najčastejšiu farbu alebo vôňu kvetov a teda zvyšovať frekvenciu genotypov, ktoré ich určujú. V tomto prípade frekvencia najčastejšieho genotypu ďalej narastá, ide o mechanizmus pozitívnej spätnej väzby.

Mechanizmy selekcie v panmiktickej populácii

Dopady selekcie na alelickú a genotypovú štruktúru populácie boli tradične sú najlepšie preštudované v vo veľkých panmiktických populáciach s oddelenými generáciami, vystavených tvrdej selekcii.

Priemerná biologická zdatnosť populácie sa dá odvodiť od frekvencií a fitness genotypov, ktoré sú v nej zastúpené: ak je v populácii alela A_i zastúpená podielom $p(A_i)$ a fitness genotypu A_iA_i je $W(A_iA_i)$, priemerná biologická zdatnosť populácie sa dá odvodiť ako

$$\bar{W} = \sum_i p(A_i)^2 W(A_iA_i) + 2\sum_i \sum_{j < i} p(A_i)p(A_j) \cdot W(A_iA_j)$$

Z čoho vyplýva, že očakávaná frekvencia génu A_i v potomstve po náhodnom párovaní v rodičovskej generácii bude

$$p'(A_i) = \left(p(A_i)^2 W(A_iA_i) + 0.5 \cdot 2 \sum_{j \neq i} p(A_i)p(A_j) \cdot W(A_iA_j) \right) / \bar{W}$$

$$= p(A_i) \left(p(A_i)W(A_iA_i) + \sum_{j \neq i} p(A_j) \cdot W(A_iA_j) \right) / \bar{W}$$

Pre zjednodušenie výpočtov sa biologická zdatnosť nahradza selekčným koeficientom, ktorý vyjadruje silu selekčného tlaku voči jednotlivým genotypom v porovnaní s genotypom s najvyššou biologickou zdatnosťou (ktorý teda selekcii vystavený nie je):

$$s(A_iA_i) = 1 - W(A_iA_i) / W_{max}$$

Selekčný koeficient genotypu sa teda pohybuje v intervale /0, 1/ a vyjadruje podiel jedincov genotypu, ktorý za jednu generáciu z populácie vypadne (teda nedožije sa dospelosti alebo sa nezúčastní reprodukcie). Pre najzdatnejší genotyp nadobúda hodnotu 0, pre úplne neplodný alebo neživotaschopný genotyp nadobúda hodnotu 1.

Výsledok selekcie možno merat' zmenou zastúpenia génu za 1 generáciu. Smer a rýchlosť vývoja frekvencie alely vystavenej selekcii pochopiteľne závisí od fenotypového účinku génu (úplná, neúplná dominancia, superdominancia, aditivita) a od alelickej štruktúry rodičovskej generácie. V princípe možno odvodiť zmeny frekvencie selektovaného génu aj pre multialelický lokus, ale jednoduchším riešením je sledovať selektovanú alelu v porovnaní s celým komplementom (t.j. všetky zostávajúce varianty brat' ako jednu alelu s jednou priemernou biologickou zdatnosťou). Rýchlosť zmien je vo všetkých modeloch funkciou východiskovej frekvencie génu vystavenej selekčnému tlaku q a selekčným koeficientom jednotlivých genotypov s .

Škodlivé gény (vrátane letálnych génov, teda génov spôsobujúcich smrť svojho nositeľa) všeobecne majú tendenciu správať sa ako recessívne. Diploidná bunka obsahuje dve kópie každého autozomálneho génu. Ak je jedna z týchto kópií poškodená (neexprimuje sa, alebo

vytvára nefunkčný proteín), bunka má stále k dispozícii „rezervnú“ kópiu, ktorá sa exprimuje do žiadaneho produktu. Nositel' jednej defektnej kópie sa teda fenotypovo (ani zdatnosťou) nemusí nijako lísiť od jedinca s obidvomi funkčnými alelami. Postihnutý je len jedinec, ktorý má obe alely defektné. V takomto géne sa teda uplatňuje úplná dominancia: prežívajúceho (teda dominantného) homozygota nemožno fenotypovo odlišiť od heterozygota (ich selekčné koeficienty sú teda nulové: $s_{AA} = s_{Aa} = 0$), len postihnutý (recesívny) homozygot je fenotypovo odlišný (znížená alebo nulová životoschopnosť alebo plodnosť; $s_{aa} = s > 0$). Zmena frekvencie recesívneho škodlivého génu sa jednu generáciu je $\Delta q = -s(1-q)q^2/(1 - sq^2)$.

V prípade letálneho génu sú recesívne homozygoty v každej generácii úplne eliminované; pre $s_{aa} = 1$ sa tento vzťah zjednoduší na $\Delta q = -q^2/(1 + q)$.

Ako vyplýva z týchto vzťahov, silná selekcia pri vysokej východiskovej frekvencii nevýhodného génu vyvolávajú jeho rýchly úbytok z populácie. Recesívne gény podmieňujú celý rad dedičných chorôb (u človeka cystická fibróza, spinálna svalová atrofia, G6PDH deficiencia atď.), často podmieňujú odumretie organizmu už v embryonálnom štádiu (u človeka sú považované za hlavnú príčinu spontánnych potratov v prvom trimestri, u rastlín za hlavnú príčinu výskytu prázdnych semien).

Aj keď menej často, nevýhodné gény môžu byť aj dominantné. Pokiaľ mutácia spôsobí, že produkt novej alely naruší fungovanie organizmu, tak k tomuto narušeniu dôjde aj v prípade, ak je v genotype prítomná len jedna kópia novej alely – heterozygot aj homozygot v novej alele trpia postihnutím v rovnakej miere, a naopak recesívny homozygot má vyššiu fitness ($s_{AA} = s_{Aa} = s > 0$, $s_{aa} = 0$). Ak je dominantný gén letálny, je z populácie eliminovaný hned v nasledujúcej generácii, pretože žiadny z jeho nositeľov (heterozygot ani homozygot) sa dospelosti nedožije. Ak letálny nie je, jeho zastúpenie klesá resp. frekvencia výhodnej recesívnej alely stúpa rýchlosťou $\Delta q = s(1-q)q^2/(1-s+sq^2)$ za generáciu. Opäť existuje rad príkladov dedičných chorôb človeka s týmto pozadím (neurofibromatóza, Huntingtonova chorea atď.).

V prípade additivity sa fenotypové účinky alel sčítavajú, z čoho vyplýva, že heterozygotný nositeľ jednej nevýhodnej alely je z populácie vylučovaný s polovičnou pravdepodobnosťou oproti homozygotnému nositeľovi dvoch nevýhodných alel: $s_{AA} = 0$, $s_{Aa} = s/2$, $s_{aa} = s$. Frekvencia nevýhodného génu v tomto prípade klesá rýchlosťou $\Delta q = -sq(1-q)/[2(1 - sq)]$ za generáciu.

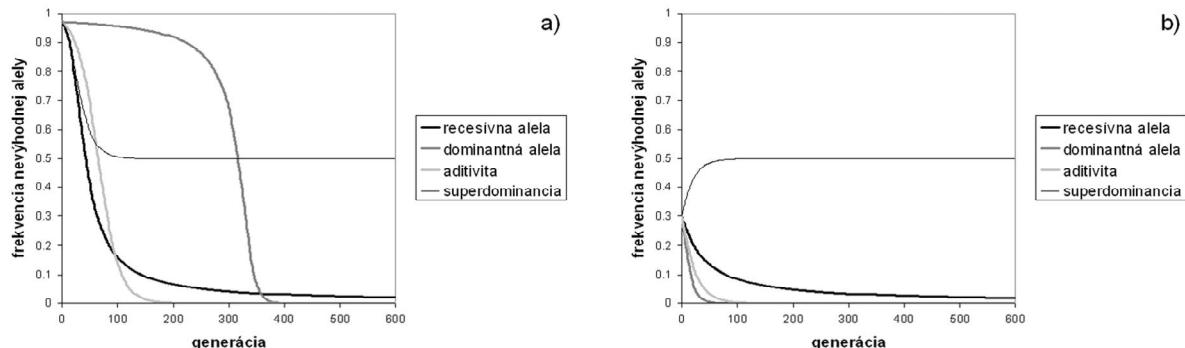
Poslednou možnosťou je superdominancia, pri ktorej zdatnosť heterozygota prevyšuje fitness oboch homozygotov: $s_{Aa} = 0$, $s_{AA} = s_1$, $s_{aa} = s_2$. Vývoj alelickej frekvencie závisí od vzájomného pomeru selekčných tlakov oproti obom homozygotom:

$$\Delta q = q(1-q)[s_1(1-q) - s_2q]/[1 - s_1(1-q)^2 - s_2q^2]$$

Pri všetkých ostatných mechanizmoch selekcia vedie v konečnom dôsledku k eliminácii jednej alely a fixáciu druhej. Selekcia v prospech heterozygotov je výnimkou, vedie k ustanoveniu rovnovážnej frekvencie $q_{eq} = s_1/(s_1 + s_2)$. Dobrým príkladom tohto typu selekcie je výskyt recesívne letálnej kosáčikovitej anémie. Ide o dedičnú chorobu človeka, spôsobenú bodovou mutáciou v β -globínovom reťazci hemoglobínu. Homozygoti trpia tăžkou anémiou s vysokou mortalitou. Heterozygoti sú rezistentní voči malárii a klinické prejavy anémie sú u nich veľmi mierne; v porovnaní so zdravými jedincami sú nimi mierne znevýhodnení, ale rezistencia voči potenciálne fatálnej parazitárnej chorobe (ktorou malária nepochybne je) im v oblastiach z vysokým výskytom malárie poskytuje nespochybniel'nú výhodu, majú teda najvyššiu výslednú biologickú zdatnosť v porovnaní s homozygotnými genotypmi.

Heterozygoty môžu byť samozrejme aj znevýhodnené oproti obom homozygotom. Matematický model v tomto prípade predpokladá ustanovenie rovnakej rovnovážnej frekvencie, ako pri zvýhodnení heterozygotov. Táto rovnováha je však extrémne labilná, akékoľvek

náhodné vychýlenie v prospech jedného z homozygotov spôsobí, že druhý je z populácie rýchlo eliminovaný.



Obr. 26 Zmena frekvencie znevýhodnenej alely v závislosti na východiskovej frekvencii a mode dedičnosti. a) $q=0,97$, b) $q=0,3$.

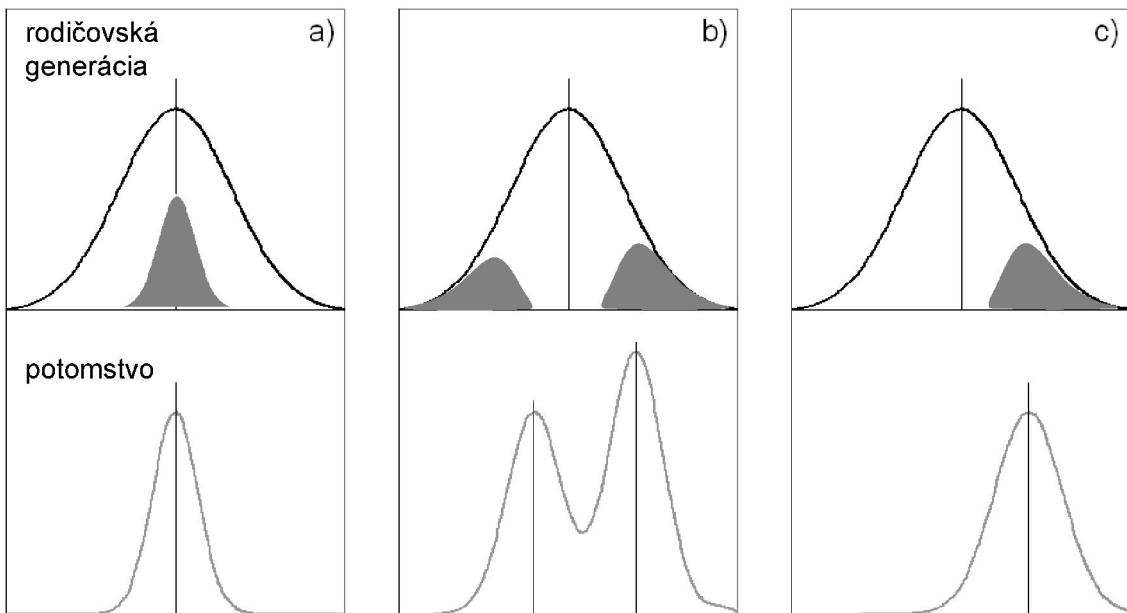
Ako je viditeľné z obr. 26, osud alely vystavenej selekcii závisí od jej východiskovej frekvencie. Teoreticky je nevýhodný gén z populácie vytlačený v každom prípade (s výnimkou superdominancie). Ak je východiskové zastúpenie nízke, najrýchlejšie z populácie vymizne dominantná alela, pri vysokej východiskovej frekvencii je alela najrýchlejšie vytlačená pri čistej aditivite. V prípade, že nevýhodný gén je recesívny, úbytok je najprv rapídný, ale neskôr sa výrazne spomalí a nevýhodná alela sa v dostatočne veľkej populácii môže udržať po množstvo generácií. Toto platí dokonca aj pre recesívne letálne gény, vďaka čomu sa gény vedúce k tomuto typu dedičných porúch v ľudskej populácii udržiavajú prakticky permanentne.

Stabilizačný, disruptívny, usmernený výber

Predmetom výberu je vždy fenotyp jedinca, nie jeho gény. Aj v prípade letálnych génov jedinca nezabíja dedičná informácia v jeho genóme, ale klinické prejavy choroby, ktorú gén spôsobuje. Je dôležité uvedomiť si, že selekcia proti génom je vždy sprostredkovaná fenotypom, pretože biologická zdatnosť je komplexný fenomén (fitness ako takú nemožno považovať za znak, ale je založená na množstve morfológických či fyziologických znakov, z ktorých každý môže mať vlastný dedičný základ), z čoho vyplýva, že je z princípu polygénna. Selekcia vďaka svojmu dopadu na rozdelenie akéhokoľvek znaku podielajúceho sa na biologickej zdatnosti môže teda mať dopad na viacero génov súčasne.

V populácii môže prírodný výber preferovať či naopak potláčať nositeľov rôznych fenotypov v závislosti na biologickom mechanizme, ktorým pôsobí. V princípe možno z tohto hľadiska rozlišovať tri typy selekcie. Pri stabilizačnom výbere (obr. 27) majú vyššiu šancu na prežitie a reprodukciu jedince s hodnotami znaku blízko priemeru populácie. Alely podmieňujúce extrémne hodnoty znaky (vysoké alebo nízke) sú z populácie odstraňované, v dôsledku čoho premenlivosť z generácie na generáciu klesá, aj keď populačný priemer zostáva rovnaký. Príkladom môže byť selekcia na pôrodnú hmotnosť u cicavcov: primalé mláďatá v prírode neprežijú, pôrod priveľkých mláďat neprežije ich matka. Naopak, pri disruptívnom (divergentnom) výbere sú potláčané priemerné jedince a vyššiu šancu na prežitie a rozmnoženie majú oba extrémy, čím sú preferované aj gény, ktoré extrémne prejavy podmieňujú. Šírka premenlivosti v takejto populácii z generácie na generáciu narastá, môže sa dokonca vytvoriť dvojvrcholové rozdelenie znaku. Najčastejšou príčinou je heterogénne prostredie, v ktorom sú rôzne segmenty populácie vystavené rôzny (niekedy až opačným) selekčným tlakom. Pokial' tok génov nedokáže efektívne pôsobiť proti disruptívnej selekcii, môže rôzne segmenty populácie ďalej divergovat' a vyvinúť sa na samostatné taxóny.

Posledným typom je usmernený výber, pri ktorom je vysoká biologická zdatnosť podmienená jedným z extrémov, teda vysokou (lebo naopak nízkou) hodnotou znaku. Pri tomto type selekcie sa priemerná hodnota znaku v populácii postupne posúva smerom k preferovaným hodnotám, premenlivosť postupne klesá.



Obr. 27 Zmena rozdelenia fenotypového znaku, podliehajúceho selekcii, pri stabilizačnom (a), disruptívnom (b) a usmernenom (c) výbere. Šedou farbou sú znázornené prežívajúce a množiace sa jedince.

Genetický drift

Náhodné procesy v populácii

Osudom väčšiny nových alel v populácii je vymiznutie, nezávisle na ich adaptívnej hodnote. Príčinou sú zákony pravdepodobnosti. Ak heterozygot, ktorý je nositeľom novej mutácie, produkuje k úspešných (realizovaných) gamét (teda gamét, ktoré sa uplatnili v genotypoch potomstva), pravdepodobnosť, že v potomstve sa nová mutácia neobjaví (teda že potomstvu odovzdá vždy druhú alelu) vyplýva z binomického rozdelenia a je $(1/2)^k$. V nekonečnej populácii sa pravdepodobnosť, že počet nositeľov novej alely klesne na nulu, riadi Poissonovým rozdelením a bude $P_k = \left(\frac{2^k}{k!}\right) e^{-2} \left(\frac{1}{2}\right)^k$ pre počet potomkov k . Celková pravdepodobnosť, že nová mutácia v priebehu jednej generácie vypadne je daná sumou pravdepodobností pre všetky možné počty potomkov od 0 po nekonečno: $P = \sum_0^{\infty} P_k = \sum_0^{\infty} \left(\frac{2^k}{k!}\right) e^{-2} \left(\frac{1}{2}\right)^k$.

Bolo by možné dokázať, že tento výraz po úprave dáva $P = e^{-1} = 0.368$. Kumulatívna pravdepodobnosť straty alely v generácii t je $P_t = e^{P_{t-1}-1}$, čo sa pre vysoký počet generácií bliží k hodnote 1 (po 18 generáciách táto pravdepodobnosť presiahne 90%). Je potrebné pripomeneť, že ak alela raz z populácie vypadne, môže sa v nej nanovo objaviť len vďaka novej náhodnej mutácii, čo je málo pravdepodobný jav. Táto úvaha nutne vedie k záveru, že po dostatočnom počte generácií z populácie vypadne akákoľvek novovytvorená alela. Pochopiteľne, uvedené hodnoty sa vzťahujú len na neutrálne alely, ktoré nepodliehajú prírodnému výberu; selekcia preferujúca alebo naopak odstraňujúcu novú alelu tento proces brzdí alebo

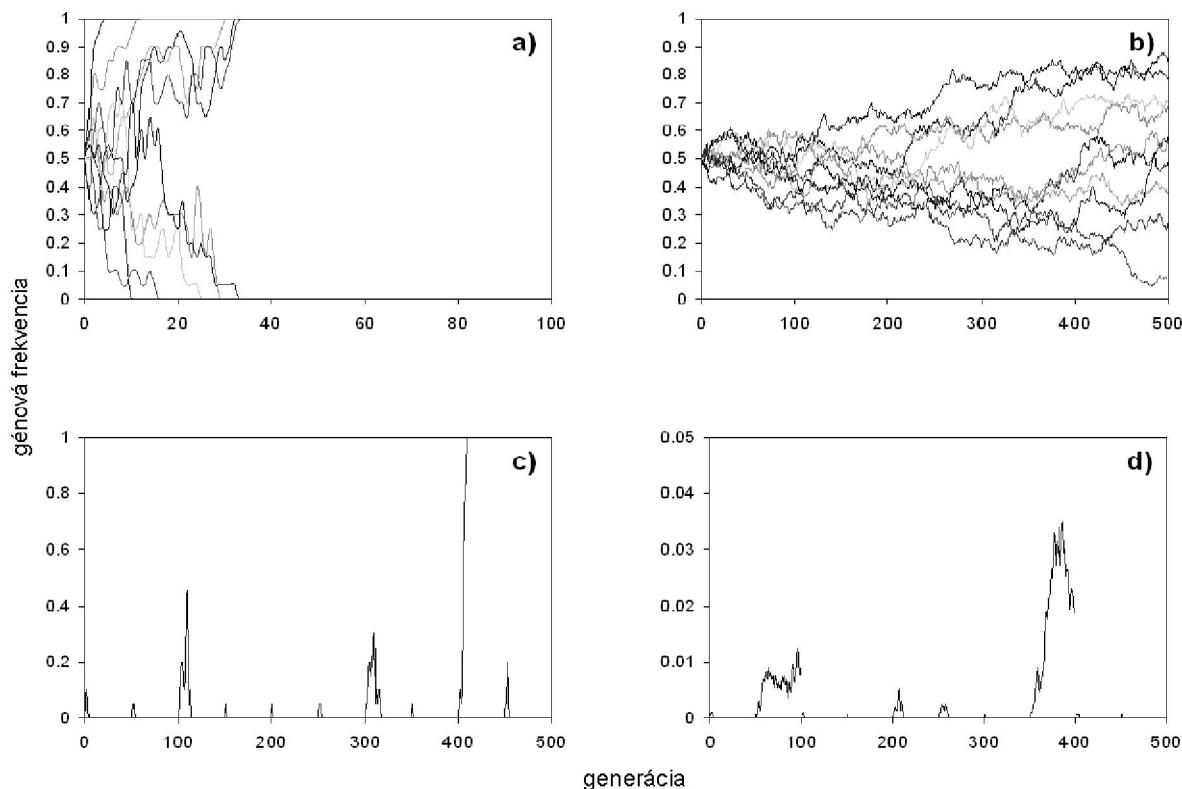
naopak urýchľuje.

Realita nie je až natol'ko tristná, a to aj s ohľadom na skutočnosť, že reálne populácie nie sú nekonečné. Stochastický element v určení zmien génových frekvencií je tým výraznejší, čím je populácia menšia.

V diploidnej populácii konečnou veľkosťou N (obsahujúcej $2N$ kópií každého génu) je binomická pravdepodobnosť, že alela obsiahnutá v podiele p sa v potomstve objaví v n kópiach je

$$P(n) = \binom{2N}{n} p^n (1-p)^{2N-n}$$

Extrémny príklad pre ilustráciu, čo z tohto vzťahu vyplýva: v populácii pozostávajúcej z 2 jedincov ($2N=4$), má alela zastúpená 2 kópiami ($p=0.5$; jeden z rodičov je homozygot v tejto alele alebo obaja sú heterozygoti) pravdepodobnosť 6.25%, že v potomstve nebude zastúpená, pravdepodobnosť 25%, že sa v potomstve objaví v 1 alebo 3 kópiach, pravdepodobnosť 37.5%, že sa jej zastúpenie nezmení, a pravdepodobnosť 6.25, že bude v populácii fixovaná (t.j., že sa jej zastúpenie zvýši na 100%). Znamená to, že pravdepodobnosť zachovania pôvodnej alelickej štruktúry (0.375) je menšia, než pravdepodobnosť zmeny (celkovo 0.625). Tento proces náhodných fluktuácií v zastúpení génov, ktorý v konečnom dôsledku nutne vedie k vymiznutiu alebo fixácii alely, sa označuje ako genetický drift. Variancia zmien alelických frekvencií závisí od východiskového zastúpenia génu a veľkosti populácie: $\sigma_{\Delta p}^2 = p(1-p)/N$; k najväčším zmenám dochádza v malých populáciách so zastúpením génu okolo 0,5.



Obr. 28 Simulácia zmien zastúpenia alely v populácii v dôsledku genetického driftu. Etablovaná alela s intermediárной frekvenciou $q_0 = 0,5$: a) veľkosť populácie $N_e = 10$, b) veľkosť populácie $N_e = 1000$. Novovznikajúca mutácia (raz za 50 generácií): c) veľkosť populácie $N_e = 10$, d) veľkosť populácie $N_e = 1000$.

Dopady driftu na alelickú štruktúru ilustruje obr. 28. V malých populáciach sú aj alely s frekvenciou blízkou 50% dotlačené k fixáciu alebo vymiznutiu behom párov generácií. Nové mutácie spravidla vymiznú rýchlo z genofondu populácie. Samozrejme, občas sa môže stať, že zastúpenie novej alely náhodne stúpne a alela sa stane normálnou súčasťou genofondu, dokonca môže byť fixovaná. Vo veľkej populácii sa alely s intermediárnymi frekvenciami spravidla v populácii udržia, ale časom ich zastúpenie kolíše a v rozdielnych subpopuláciách sa môže vyvinúť rozdielnymi smermi. Naopak, nové mutácie vo veľkej populácii majú minimálnu šancu na udržanie. Pravdepodobnosť vymiznutia novej mutácie po 1 generácii (odvodená z binomického rozdelenia) v populácii s 1000 jedincami je až 36,8%. Aj ak ide o výhodnú dominantnú alelu, selekcia spravidla nestačí na zvýšenie jej frekvencie. Väčšina mutácií je teda genofondu vytlačených behom niekoľko generácií, nezávisle na tom, či sú výhodné, neutrálne alebo škodlivé.

Efekt zahrdlenia, efekt zakladateľa

Náhodné posuny alelickej štruktúry sú v princípe spojené s dvomi mechanizmami. Prvý sa označuje ako zahrdlenie (angl. *bottleneck*): početnosť pôvodnej veľkej populácie poklesne v dôsledku prírodnej katastrofy alebo činnosti človeka. Druhou možnosťou je vznik novej subpopulácie z malej skupiny kolonistov (v extrémnom prípade z jediného obojpohlavného a autokompatibilného jedinca) počas expanzie areálu druhu. Keďže kolonisti obsahujú len malú náhodnú vzorku genofondu pôvodnej populácie, alelické frekvencie novej subpopulácie sa môžu od zdroja zásadne odlišovať; tento mechanizmus sa označuje ako efekt zakladateľa (angl. *founder effect*). Oba procesy ovplyvňujú rozdelenie alelických frekvencií v populácii: tzv. minorpolymorfizmy (zriedkavé alely) sa spravidla strácajú, pretože majú menšiu šancu byť zastúpené v genotypoch prežívajúcich resp. zakladajúcich jedincov. Naopak majorpolymorfizmy (časté alely) nie sú spravidla driftom zásadnejšie postihnuté, najmä ak sa v dôsledku obsadenia uvoľnenej ekologickej niky pôvodná veľkosť populácie rýchlo obnoví. Zahrdlenie aj efekt zakladateľa teda primárne redukujú počet alel v populácii, ale nepostihujú génovú diverzitu.

Migrácia a tok génov

Mechanizmy migrácie

Migrácia ako prenos génov v širokom zmysle slova zahŕňa dva procesy: kolonizáciu, teda expanziu areálu spojenú so šírením druhu na lokality, na ktorých sa predtým nevyskytoval, a tok génov, teda prenos génov medzi už existujúcimi, etablovanými populáciami. Gény sa pochopiteľne nedokážu šíriť samotné, ich šírenie prebieha vďaka pohybu ich nositeľov. K toku génov teda dochádza len vtedy, ak sa migranti krížia s jedincami lokálnej populácie.

Rastliny môžu migrovať vo všetkých štadiách životného cyklu, teda ako gametofyty aj ako sporofyty. U vyšších rastlín (papradorasty a cievnaté rastliny) je gametofyt redukovaný na útvar pozostávajúci z niekoľko málo buniek. Pel'ové zrná, predstavujúce samčí gametofyt, sú spravidla vysoko pohyblivé a môžu byť prenášané rôznymi vektormi. Väčšina drevín a veľká časť bylinných druhov (predovšetkým trávy) je vetroopelivých. Opel'ovanie hmyzom je u drevín zriedkavejšie, ale bežné u bylín. Viaceré druhy kombinujú oba mechanizmy (napr. rody *Salix*, *Tilia*). Opel'ovanie vodou je podstatne zriedkavejšie, v strednej Európe obmedzené na niektoré vodné rastliny, napr. rod *Potamogeton*. Sporofyt môže byť prenášaný v embryonálnom štádiu (migrácia semien), ale aj v dospelom štádiu vegetatívnym šírením. Semená využívajú širšie spektrum vektorov prenosu v porovnaní s peľom. Druhy s malými a ľahkými semenami sú spravidla anemochórne, teda šírené vetrom. Semená vodných rastlín a rastlín v blízkosti tokov môžu byť šírené vodou. Mnohé rastliny sú závislé na šírení semen živočíchmi. Pri viacerých druhoch sú plody konzumované vtákmi a po prechode tráviacim traktom vylúčené s trusom. Vtáky a hlodavce semená prenášajú a niekedy skladujú (sojka,

orešnica atď.). Semená alebo plody môžu byť adaptované na prichytenie sa o kožušinu zvierat. Špecifický spôsob rozptylu semien sa vyvinul u tzv. stepných bežcov: po dozretí semien sa nadzemná časť rastliny odlomí, a pri unášaní vetrom sa semená postupne uvoľňujú. Pri vegetatívnom (asexuálnom) šírení sa gény rastlín prenášajú časťami spojenými alebo oddeľenými od materskej rastliny. Dreviny sa môžu šíriť koreňovými výmladkami (osika, čerešňa), u bylinných druhov (najmä klonálnych tráv) sa môžu tvoriť rizómy, nadzemné poplazy, u drevín môžu zakoreníť konáre, dotýkajúce sa povrchu pôdy (kry, smrek). Zakoreníť môže aj oddelený konár, transportovaný napríklad riekou, ak je schopný utvárať adventívne korene (topole). Teoreticky, hľuzy, cibuľky a podobné orgány môžu prežiť prenos v tráviacom trakte živočíchov, aj keď takýto mechanizmu zrejme nebude častý.

Tok génov prostredníctvom peľu je pri rastlinách najbežnejším a najefektívnejším mechanizmom, keďže peľové zrná sú produkované spravidla vo veľkom množstve a prenášané často na veľké vzdialenosťi, najmä pri vetroopelivých druhoch. Rozptyl semien je efektívnym mechanizmom kolonizácie, ale k toku génov medzi existujúcimi populáciami spravidla prispieva v podstatne menšej miere. Pravdepodobnosť, že prenesené semeno vykľíči, etabluje sa a dorastie do dospelosti v už existujúcej populácii, v ktorej je takýto jedinec vystavený masívnej kompetícii miestnych jedincov, je pomerne nízka, najmä u druhov tvoriacich veľké populácie s vysokou hustotou. Vegetatívne šírenie v dospelom štádiu sa obvykle uskutočňuje na malé vzdialenosťi, aj keď pri niektorých druhoch môže byť masívne a rozsahom prevyšovať pohlavné rozmnožovanie (napr. klonálne trávy).

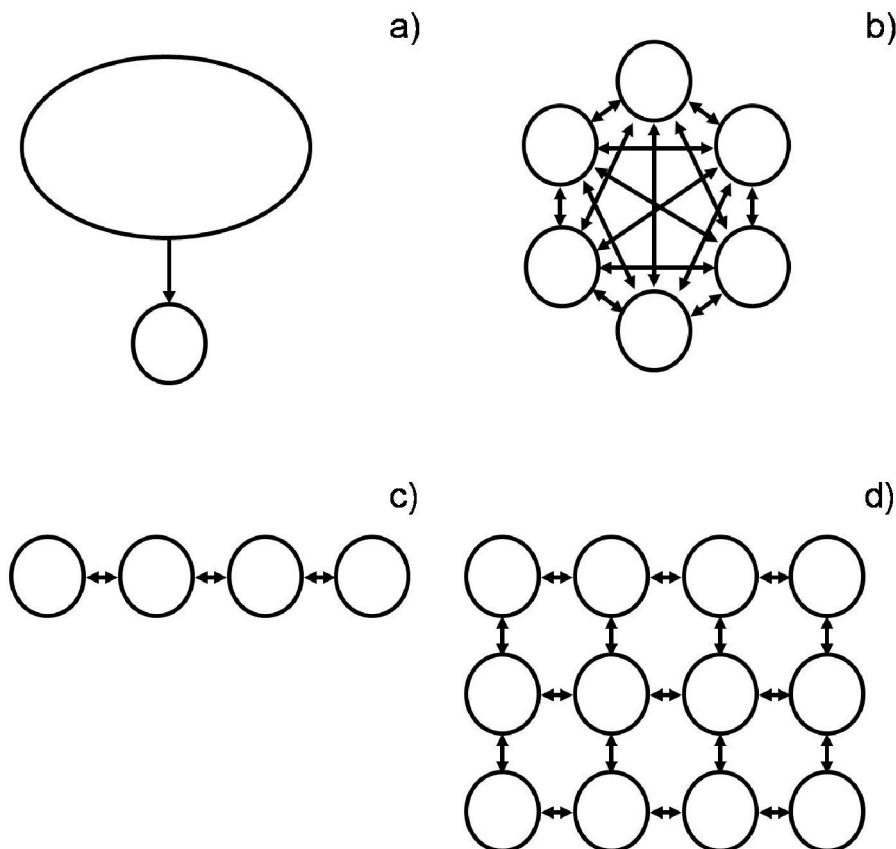
Pri väčšine živočíchov je poradie efektívnosti mechanizmov toku génov presne opačné. Najbežnejší mechanizmus, uplatňujúci sa aj na najväčšie vzdialenosťi, je prechod dospelých jedincov z jednej populácie o druhej (zároveň ide o mechanizmus kolonizácie). Migrácia v embryónalnom štádiu je zriedkavejšia, môže sa uplatniť len pri skupinách živočíchov, kde sú vajíčka samostatným organizmom a sú schopné prinajmenšom krátkodobo prežiť transport (ikry rýb, vajíčka hmyzu a pod.). Prenos v haploidnom štádiu (spermie) s výnimkou najprimitívnejších skupín živočíchov prakticky neprichádza do úvahy.

Modely migrácie

Intenzita a smer toku génov medzi subpopuláciami sa môže lísiť v závislosti na vzdialenosťi, geografických prekážkach, časovému posunu kvitnutia a pod. Preto pre odhad dopadu toku génov na genetickú štruktúru používa populačná genetika zjednodušené modely. Pre diskrétné subpopulácie oddelené fyzickou bariérou (t.j. fragmentovanú populáciu) boli vypracované tri základné modely, ktoré sa pre svoju jednoduchosť obvykle používajú aj v kontinuálnych populáciách, kde ostré hranice medzi subpopuláciami neexistujú a pojednávanie subpopulácia sa používa len ako pracovný koncept. Kontinentálno-ostrovný model (angl. *continent-island model*) sa vzťahuje an malú subpopuláciu oddelenú od veľkej populácie (napr. ostrov oddelený od kontinentu). Tok génov je v tomto prípade v princípe jednosmerný, migrácia z ostrova na pevninu je zanedbateľná a nie je nutné s ňou uvažovať. Ostrovný model (angl. *island model*) uvažuje s populáciou rozdelenou na subpopulácie s rovnakou resp. porovnatelnou veľkosťou, ktoré si navzájom vymieňajú migrantov náhodne v rovnakej miere m jedincov na generáciu medzi ktoroukoľvek dvojicou subpopulácií. Krokový model (angl. *stepping-stone model*) predpokladá, že migranti prichádzajú len zo susedných subpopulácií, čo je prípad najmä organizmov s nízkou migračnou schopnosťou. Pôvodný lineárny krokový model, ktorý sa vzťahuje napr. na rastliny pozdĺž vodných tokov, pobreží, horských masívov a pod., bol neskôr rozšírený na dvojrozmerný model (obr. 29).

Kontinuálnu populáciu nemožno rozdeliť na diskrétné subpopulácie spôsobom, ktorý by mal biologické zdôvodnenie. Aj v tomto prípade však platí, že jedince oddelené väčšou vzdialenosťou si spravidla pri reprodukcii vymieňajú gény menej často než jedince vzájomne blízke. Tento jav sa označuje ako izolácia vzdialosťou (angl. *isolation by distance*). Model

izolácie vzdialenosťou vychádza z podobného základu ako krokový model v tom zmysle, že genetická korelácia medzi jedincami (teda podiel spoločných génov) klesá s narastajúcou vzdialenosťou medzi nimi.



Obr. 29 Schematické znázornenie modelov toku génov vo fragmentovanej populácii: a) kontinentálno-ostrovny model, b) ostrovny model, c) jednorozmerný krokový model, d) dvojrozmerný krokový model

Reprodukčná izolácia

Pod izoláciou sa rozumie nemožnosť alebo neschopnosť dvoch jedincov vyprodukovať životašchopné a plodné potomstvo. Samotná schopnosť dvoch jedincov navzájom sa križiť ešte neznamená, že ich potomstvo nebude zákonite slepou uličkou evolúcie.

Mechanizmy reprodukčnej izolácie súvisia v princípe so štyrmi faktormi: priestorom, časom, správaním a dedičnosťou. S priestorovými prekážkami je viazaná geografická izolácia: subpopulácie sú oddelené fyzickou prekážkou (more, horstvo, nížina a pod.), ktorá bráni toku génov. Vzdialenosť v tomto prípade nie je primárnym faktorom: populácie pstruha v dvoch potokoch, z ktorých jeden je v povodí Váhu a druhý v povodí Dunajca, môže oddeľovať vzdušná vzdialenosť pár kilometrov, ale vzhľadom na rozdielne úmoria je migrácia z jednej do druhej fyzicky nemožná (relatívne; ikry môžu byť prenesené na perí alebo končatinách vodných vtákov). Druhým faktorom je vzdialenosť samotná, ktorá hrá rolu aj v kontinuálnych populáciach: buk v Malých Karpatoch neoddeľuje od buka na Vihorlate žiadna geografická prekážka, medzi týmito pohoriami je areál buka takmer súvislý, ale pravdepodobnosť doletu peľu medzi nimi je prakticky nulová (viď izolácia vzdialenosťou).

Ďalším faktorom izolácie je čas, kedy sa reprodukcia uskutočňuje. Populácie sa odlišujú dobou kvitnutia v prvom rade v dôsledku rozdielov v nadmorskej výške (výšková izolácia) –

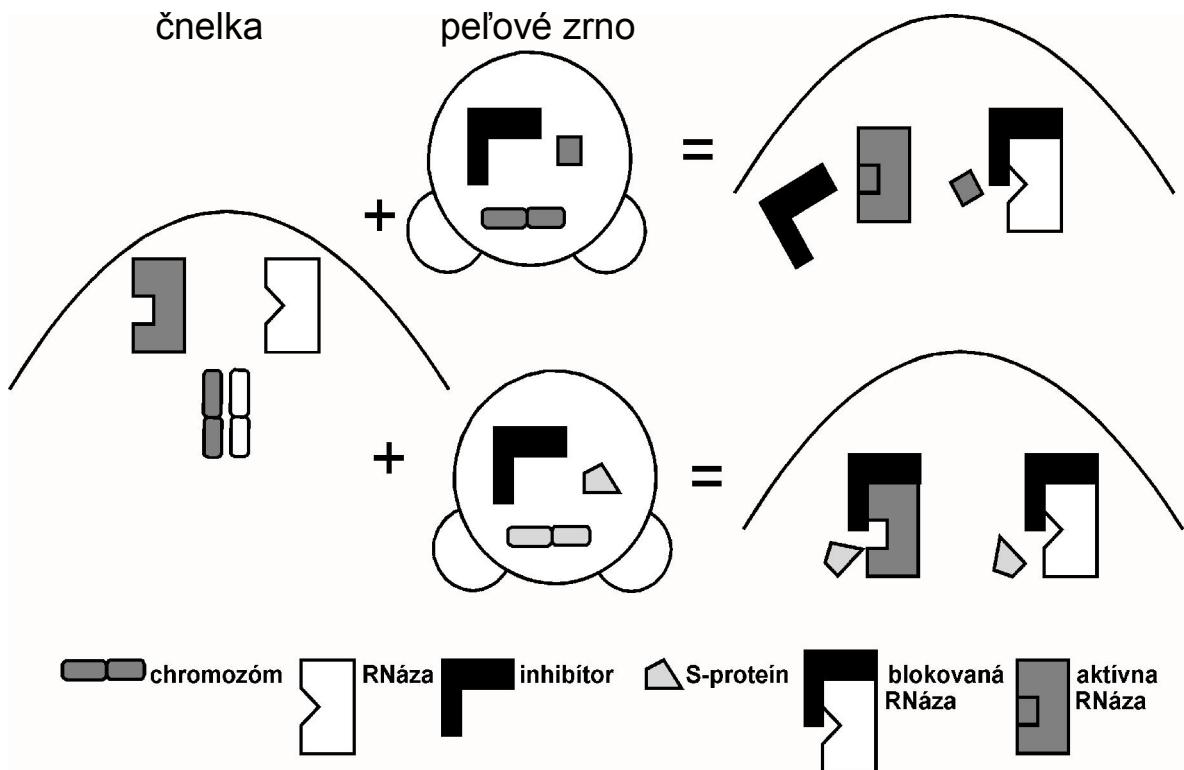
doba kvitnutia je závislá na klimatických pomeroch a s rastúcou nadmorskou výškou sa postupne oneskoruje. Aj pri malých fyzických vzdialenosťach je teda prenos génov limitovaný časovou synchronizáciou kvitnutia (aj ak je peľ vetrom prenesený do subpopulácie vo väčšej nadmorskej výške, nie sú tam ešte k dispozícii receptívne samičie kvety, ktoré by mohol oplodniť, a vice versa), ide teda o mechanizmus analogický izolácií vzdialenosťou a najlepšie ho možno modelovať krovkovým modelom migrácie. Načasovanie kvitnutia je však okrem klímy determinované aj geneticky, dva jedince môžu kvitnúť v rozdielnom čase aj ak sa nachádzajú pár metrov od seba. V tomto prípade sa používa termín fenologická izolácia.

V prípade živočíchov je párenie nutne spojené s rozoznávaním vhodného partnera, ktoré môže byť založené na rozličných typoch stimulov: vizuálnych (špecifický typ správania, „tance“, predvádzanie peria u vtákov a pod.), zvukových (spev vtákov, zvukové signály hmyzu) či chemických (feromóny). Primárne tieto mechanizmy fungujú na úrovni druhu, ale rituály párenia či iné typy správania sa môžu odlišovať aj na vnútrodruhovej úrovni. Tento typ izolácie sa označuje ako behaviorálna alebo etologická izolácia. U niektorých druhov živočíchov (článkonožce) sa vyvinuli mechanizmy morfologickej izolácie: kopulačné orgány majú špecifický tvar a fungujú na princípe zámku a klúča, takže pre nekompatibilné jedince existuje mechanická zábrana párenia. Aj samotná fenotypová rozdielnosť rodičov (napr. teleálna veľkosť) môže fakticky brániť vzájomnému krízeniu (aj keby sme uskutočnili umelé oplodnenie čivavy bernardínom, je málo pravdepodobné, že by matka dokázala plod vynosiť až do vrchu).

Poslednú skupinu prekážok párovania predstavujú genetické mechanizmy, ktoré možno rozdeliť na prezygotické (faktory znižujúce pravdepodobnosť vytvorenia hybridnej zygoty, teda pôsobiace pred jej vznikom) a postzygotické (faktory znižujúce pravdepodobnosť, že sa existujúca hybridná zygota vyvinie na životaschopného a plodného dospelého jedinca, teda pôsobiace po vzniku zygoty).

V prípade rastlín je najčastejším dôvodom vzájomnej nekríziteľnosti (teda prezygotického mechanizmu) niekterý z mechanizmov autoinkompatibility. Predovšetkým kryptosemenné rastliny si v priebehu evolúcie vytvorili mechanizmy brániace samoopeleniu (ako procesu vedúcomu spravidla k postihnutému potomstvu). Tieto mechanizmy sú spravidla pod genetickou kontrolou skupiny génov lokalizovaných v tesnom susedstve na jednom lokuse (*S*-lokus), tvoriacich jednu väzbovú skupinu. Rozlišuje sa gametofytická (rozšírenejšia, uplatňuje sa napr. u druhov čeľade Rosaceae a v rade *Corylus*) a sporofytická autoinkompatibilita (uplatňuje sa napr. v čeľadiach Betulaceae, Ulmaceae, Tiliaceae). V prípade gametofytickej autoinkompatibility je *S*-lokus spravidla v rámci populácie vysoko polymorfný (rádovo desiatky alel). Produktom *S*-lokusu sú tri proteíny: v čnelke materskej rastliny je to RNáza (RNA nukleáza; enzym odbúravajúci RNA), v peľovom zrne inhibítorm RNázy a *S*-proteín. Pokiaľ haploidné peľové zrno nesie rovnakú alelu v *S*-lokuse ako je jedna z alel diploidnej materskej rastliny, *S*-proteín je kompatibilný s RNázou, viaže sa na ňu a tým zabráni je zablokovaniu inhibítorm. RNáza zostáva aktívna a odbúrava molekuly RNA v rastúcom peľovom vrecúšku, čím bráni expresii génov peľu a teda aj syntéze bielkovín, ktoré sú pre rast a normálne fungovanie peľového vrecúška nevyhnutné. Rast peľového vrecúška je tým zablokovaný a nemôže dôjsť k oplodneniu (obr. 30). Pre oplodnenie je teda v tomto prípade rozhodujúci haplotyp peľového zrna (samčieho gametofytu): kríženie dvoch jedincov nezdieľajúcich žiadnu alelu v *S*-lokuse ($S_1S_2 \times S_3S_4$) je úspešné vždy, kríženie jedincov zdieľajúcich jednu alelu je úspešné v polovici prípadov ($S_1S_2 \times S_1S_3 \rightarrow S_2S_3$; peľové zrná s haplotypom S_1 neklíčia), kríženie jedincov zdieľajúcich obe alely je vždy neúspešné ($S_1S_2 \times S_1S_2 \rightarrow \emptyset$; peľové zrná s haplotypom S_1 ani S_2 neklíčia). Mechanizmy sporofytickej autoinkompatibility sú komplikovannejšie a nie sú úplne preštudované. Takisto je kontrolovaná jedným lokusom, a pre jej spustenie je rozhodujúci diploidný genotyp otcovského jedinca (sporofytu). Otcovská

rastlina s genotypom S_1S_2 sa teda vôbec nekríži nielen s materskou rastlinou rovnakého genotypu, ale ani s genotypmi S_1S_x a S_2S_x . Len kríženie s genotypom S_xS_y bude úspešné ($x, y \neq 1, 2$). Pre upresnenie je potrebné uviesť, že tento popis platí len v prípade kodominancie S -alel, v prípade dominancie sú pomery komplikovanejšie.



Obr. 30 Schéma fungovania gametofytickej autoinkompatibility. Rovnaké farby chromozómu, RNázy a S proteínu znamenajú rovnakú alelu S -lokusu. Aktívna RNáza (hore) odbúrava RNA peľového vrecúška a bráni jeho prerasteniu k vajíčku.

Postzygotické mechanizmy sa spúšťajú po oplodnení. Z časového hľadiska prvým možným mechanizmom je odumretie zygoty alebo embryo. Jeho príčiny môžu byť rozmanité: rozdielny počet chromozómov u rodičov (aj keď u viacerých krytosemenných rastlín rozdiely v ploidii sice spôsobia odumretie endospermu, ale inak nemajú žiadny negatívny dopad), prítomnosť recesívnych letalných alel, prípadne cytonukleárna inkompatibilita, teda nezhoda medzi jadrovými a organelárnymi génmi (je treba pripomenúť, že aj keď pôvod mitochondrií a chloroplastov je endosymbiotický, teda na začiatku išlo o baktérie s kompletným genómom, v súčasnosti tieto organely nie sú plne autonómne, teda mnohé ich gény sa presunuli do jadra; ich normálne fungovanie si vyžaduje kompatibilitu s jadrovým genómom). Neživotaschopnosť hybridov v neskorších štádiach ontogenézy môže byť spôsobená autoimunitným syndrómom označovaným ako hybridná nekróza: produkty konkrétnych génov pochádzajúcich od jedného z rodičov môžu byť organizmom chybne identifikované ako cudzie a patogénne a tým vyvolajú postupnú apoptózu v rastlinných pletivách. Sterilita hybridov je najčastejšie spojená s chromozómovými mutáciami: rozsiahlejšie translokácie alebo inverzie môžu brániť normálnemu párovaniu chromozómov počas meiózy (synapse) a tým brániť vzniku funkčných gamét. Posledný mechanizmus sa označuje ako hybridný rozpad: aj keď hybridy F_1 generácie sú životaschopné aj plodné, spätné kríženec (B_1) alebo F_2 generácia môžu byť neživotaschopné. Jednou z príčin hybridného rozpadu môže byť rozpad koadaptovaných génových komplexov (viď ďalej), druhou aj samotná rekombinácia chromozómov pri meióze. Pri hybridoch generácie F_1 genóm vždy obsahuje kompletnú sadu chromozómov od

každého rodiča. V následných generáciách sa však do zygoty môže dostať jeden chromozómový pár od jedného a druhý od druhého z rodičov, pričom kompatibilita medzi produktmi ich génov v zmysle schopnosti plniť svoju funkciu nemusí byť zaručená, pretože funkčnosť proteínov často závisí od ich vzájomných interakcií.

Mutačný, molekulárny a meiotický ľah

Vzhľadom na chemickú povahu nositeľov genetickej informácie sú jej zmeny v priebehu evolúcie, ktoré sa odrážajú v zmenách fenotypových znakov, ovplyvnené fungovaním biochemických mechanizmov riadiacich jej zmnožovanie a prenos. Tieto mechanizmy sa niekedy považujú za kategóriu mutácií, ale vzhľadom na to, že nemusia byť nutne stochastické, sú väčšinou uznávané sa samostatnú kategóriu mikroevolučných procesov označovanú ako evolučné ľahy (angl. *evolutionary drives*).

Mutácie sú spravidla považované za náhodné javy, čo môže byť pravda s ohľadom na ich biologický význam, teda typ a rozsah ich fenotypového účinku, ale nemusí to byť úplne pravda s ohľadom na ich lokalizáciu v genóme a molekulárne mechanizmy v ich pozadí. Mutačné procesy sa môžu odlišovať napr. medzi kontinuálne a prerušované replikovaným reťazcom DNA, medzi úsekmi priliehajúcimi k nukleozómom a medziúsekmi, medzi prepisovanými a neprepisovanými úsekmi atď. Naviac typ mutácie a pravdepodobnosť jej výskytu na konkrétnej pozícii závisí od nukleotidu na tejto pozícii a na jeho kontexte, teda sekvenčných motívov v jeho okolí. Tieto rozdiely vedú k preferenčnému výskytu konkrétnych typov mutácie na konkrétnych miestach reťazca DNA, označovanému ako mutačný ľah (angl. *mutation bias*).

Rekombinácia v značnej miere využíva molekulárny aparát reparácie DNA, ktorý opravuje jeden reťazec použitím druhého ako templátu. V dôsledku toho môže rekombinácie viesť ku génovej konverzii: ak sa na nesesterských chromatidách nachádzajú odlišné alely génu, môže byť reparačným mechanizmom alela na jednej z nich „prepísaná“ na druhú, pretože rekombinačný mechanizmus použije reťazec druhej alely ako templát.

Podstatnú časť genómu tvoria repetitívne sekvencie (satelitná DNA, transpozóny atď.). Procesy zodpovedajúce za ich šírenie v genóme sa označujú ako molekulárny ľah. Zmeny genómu spojené s týmto typom procesov často súčasne ovplyvňujú viac jedincov v populácii, preto sa zvyknú označovať ako synchronizovaná evolúcia (angl. *synchronized* alebo *concerted evolution*). Sú spôsobené génovou konverziou (reparáciou nespárovaných báz po crossing-over), translokáciou (vystrihnutím segmentu DNA z jedného miesta a jeho vložením na iné; niekedy je motív len vložený, ale nie je vystrihnutý, tým sa zduplicuje), nerovným crossing-overom (párovaním navzájom komplementárnych ale nehomologických úsekov DNA počas crossing-overu), posunom templátového reťazca DNA počas replikácie (*template slipping*) atď.

Počas meiózy by gény heterozygota mali segregovať do gamét presne v pomere 1:1, čo nie vždy platí. Rozdielna miera prenosu génov do gamét spôsobená rozdielnou mierou prenosu chromozómov, na ktorých sú lokalizované, sa označuje ako meiotický ľah, a najčastejšie postihuje gonozómy, akcesorické chromozómy a chromozómy vytvorené Robertsonovskou fúziou, ktoré sa často správajú inak ako autozómy.

Interakcie medzi evolučnými mechanizmami, genetická homeostáza

Na rozdiel od všeobecne rozšírených predstáv prirodzeným stavom prírody nie je rovnováha a harmónia, práve naopak. Obvykle preceňovaná úloha prírodného výberu vedie k predstave, že pre každý znak existuje gén alebo gény, a fenotyp nezodpovedajúci aktuálnemu prostrediu je dôsledkom toho, že jedinec nesie nevhodné varianty týchto génov. Výber, umožňujúci prežiť a rozmnobiť sa len najlepšie adaptovaným genotypom by potom logicky mal viest' k tomu, že v priebehu niekoľkých generácií „nevhodné“ gény z populácie vypadnú. Evolučné

mechanizmy ovšem ovplyvňujú genetickú štruktúru populácie vo vzájomných interakciách a vzájomnej synergii. Vo všeobecnosti možno povedať, že mutácie a tok génov vedú k nárastu genetickej variability v populácii, naopak selekcia a drift vedú k jej redukcii. Toto všeobecné konštatovanie sa vzťahuje aj na tú časť genetickej premenlivosti, ktorá má adaptívny význam. Ako bolo konštatované, nové mutácie sú spravidla z genofondu populácie vytlačené, aj keď sú pre svojho nositeľa v danom prostredí výhodné; naopak, škodlivé mutácie sa vďaka náhodným procesom môžu najmä v malých populáciach udržať a v krajinom prípade aj ohrozit ich existenciu. Tok génov tým, že do genofondu populácie trvale vnáša gény výhodné v inom kontexte prostredia (čím „rozrieduje“ lokálny genofond) predstavuje v konkrétnej subpopulácii protiváhu lokálnej adaptácie prírodným výberom a stabilizuje genetickú štruktúru populácie ako celku.

Efektívnosť prírodného výberu sa v populácii mení aj v dôsledku mechanizmov spojených s organizáciou genómu. Gény, kontrolujúce navzájom prepojené biochemické funkcie majú tendenciu preskupovať sa v rámci genómu a sústredit' sa v jednej väzbovej skupine, pretože výber uprednostňuje jedincov vybavených komplexom navzájom kompatibilných alel. Touto cestou vznikajú koadaptované génové komplexy. Niekedy je aktivita celého komplexu riadená spoločnou predradenou regulačnou oblast'ou, v tomto prípade sa takýto komplex označuje ako supergén (príkladom môže byť S-lokus, viď vyššie). Pri medzidruhovej alebo geograficky vzdialenej hybridizácii môže u F₁ hybridov dôjsť k rekombinácii génov v rámci týchto komplexov, čím sa na jeden chromozóm dostanú vzájomne nekompatibilné alely (resp. alely kódujúce vzájomne nekompatibilné proteíny). V dôsledku toho sa v ďalších generáciach znižuje životaschopnosť jedincov (hybridný rozpad).

Schopnosť populácie odpovedať na prirodzený alebo umelý selekčný tlak nie je neobmedzená. Často sa stáva, že po pár generáciách populácia prestane reagovať na výber úplne a napriek selekčnému tlaku si udržiava konštantnú genetickú štruktúru. Tento stav sa označuje ako genetická homeostáza. Jednou z jej príčin, aj keď zriedkavou, môže byť vyčerpanie genetickej variability, t.j. úplné vytlačenie alel nevhodných v danom kontexte prostredia z genofondu populácie. Častejším dôvodom sú epistatické interakcie medzi génmi či pleiotropné účinky génov, ktoré sú vystavené selekčnému tlaku. Zvýšenie frekvencie konkrénej alely môže vyvolať zlepšenie priemernej hodnoty jedného znaku, ktoré je ale sprevádzané zhoršením iného znaku alebo znakov. Výsledný dopad na biologickú zdatnosť jedincov aj priemernú biologickú zdatnosť populácie môže byť neutrálny, niekedy dokonca negatívny. Existencia koadaptovaných génových komplexov takisto tlmi odozvu na selekčný tlak, pretože akákoľvek zmena konštelácie génov nutne vedie k zníženiu biologickej zdatnosti. V týchto prípadoch si populácia sice zachováva variabilitu, ale tá je viazaná v génových komplexoch a nemôže byť využitá pre adaptáciu. Ako bolo demonštrované v kapitole *Selekcia*, ďalším zdrojom homeostázy môže byť superdominancia (teda vyššia priemerná biologická zdatnosť heterozygotov), ktorá tiež vedie k ustáleniu rovnováhy. Tento mechanizmus nemusí byť výnimocný – vysoko heterozygotné jedince sa vyznačujú vyššou vnútornou genetickou variabilitou, produkujú širšiu paletu proteínov, a preto môžu byť schopné lepšie odolávať fluktuaciám podmienok prostredia. Táto skutočnosť môže byť obzvlášť významná pre dlhožijúce organizmy, ktoré sú v priebehu ontogenézy vystavené kolísaniu prostredia a vzhľadom na neskôrý nástup plodnosti naň nemôžu pružne reagovať adaptáciou prírodným výberom. Zvýhodnenie heterozygotov udržiava polymorfizmus populácie a vedie k zastúpeniu alel, ktoré sa udržiava na intermediárnych hodnotách.

GENETICKÁ VARIABILITA

Pojem genetickej premenlivosti bol spomínaný a čiastočne vysvetlený v úvodných kapitolách. Je potrebné pripomenúť, že tento pojem vždy vzťahuje na populáciu, nie jedinca. Používa sa ovšem v dvoch zmysloch – jednak pre označenie tej časti variability fenotypových

znakov, ktorá je podmienená geneticky (teda skutočnosťou, že rôzne jedince majú rôzny genotyp), a jednak pre popísanie skutočnosti, že v populácii sa nachádzajú nositelia rôznych genetických typov (alel, haplotypov, genotypov). Táto kapitola je venovaná druhému z týchto dvoch konceptov genetickej variability. Aj tento koncept má však niekoľko aspektov. Z hľadiska popisu a kvantifikácie genetickej premenlivosti nás môže zaujímať, aký je celkový počet genetických typov zastúpených v populácii, bez ohľadu na ich početnosť; tento aspekt sa označuje ako genetická multiplicita resp. alelická (haplotypová, genotypová) bohatosť populácie. Druhým aspektom je charakter rozdelenia frekvencii genetických typov, ktorý berie do úvahy nielen ich celkový počet, ale aj rovnomernosť ich zastúpenia; tento aspekt popisuje rozmanitosť, rôznorodosť v zastúpení genetických typov a označuje sa termínom genetická diverzita. Posledným aspektom sú rozdiele medzi populáciami, teda miera, v akej sa populácie navzájom odlišujú zastúpením genetických typov; označuje sa termínom genetická diferenciácia.

Pri použití akéhokoľvek nástroja na identifikáciu genotypov analýza vychádza z výberových vzoriek. Výber sa uskutočňuje dvomi smermi – z populácie je vybraná vzorka N jedincov a z genómu je vybraný súbor M markérových génov. Výsledkom analýzy je matica genotypov rozmerov $N \times M$. Základnou východiskovou charakteristikou genetickej štruktúry sú genotypové a alelické frekvencie (podiel, v akých sú zastúpené jednotlivé genotypy a alely). V prípade kodominantných markérov, u ktorých sa všetky homozygotné a heterozygotné genotypy dajú navzájom rozoznať, genotypovú frekvenciu možno odhadnúť ako podiel jedincov daného genotypu z celkového počtu jedincov výberovej vzorky:

$$P(A_iA_j) = P_{ij} = N(A_iA_j)/N.$$

Frekvenciu alely A_i je možné odhadnúť ako

$$p(A_i) = p_i = [N(A_iA_i) + \frac{1}{2} \sum_{j \neq i} N(A_iA_j)]/N$$

(P_{ij} – frekvencia genotypu A_iA_j , p_i – frekvencia alely A_i , $N(A_iA_j)$ – počet jedincov genotypu A_iA_j , N – celkový počet jedincov vo výberovej vzorke).

Genetické a génové markéry

Pre popis a kvantifikáciu genetickej premenlivosti v rámci populácie a charakteru genetickej variability medzi populáciami potrebujeme znaky, u ktorých z ich fenotypového prejavu sme schopní odvodiť ich genotyp. Takéto znaky nazývame genetickými markérmi. Ide o fenotypové znaky, ktoré nie sú ovplyvnené prostredím (resp. vplyv prostredia je len minimálny), t.j. sú prakticky úplne kontrolované geneticky. Z hľadiska hodnotenia genetickej premenlivosti sú najdôležitejšou podskupinou genetických markérov tzv. génové markéry: znaky, ktoré majú jednoduchú genetickú kontrolu (malý počet génov, v ideálnom prípade len jeden), ktorú je možné metódami genetickej analýzy určiť, t.j. každému fenotypu sme schopní jednoznačne priradiť genotyp. Spôsob dedičnosti má pre použiteľnosť génových markérov rozhodujúci význam, v prípade úplnej dominancie (dominantný homozygot a heterozygot nie sú fenotypovo rozlíšiteľní) sú možnosti použitia markéra obmedzené, naopak výhodná je neúplná dominancia alebo kodominancia alel.

Podľa charakteru možno genetické markéry klasifikovať na:

- morfologické (u drevín najčastejšie morfologické odchýlky v tvare a farbe listov či kvetov/strobilov, habite, u živočíchov albinizmus a pod.)
- biochemické
 - sekundárne metabolity (monoterpény, sesquiterpény, fenolické látky)
 - zásobné bielkoviny
- molekulárne
 - proteínové
 - izoenzýmy
 - krvné skupiny

- DNA markéry
 - založené na reštrikčných fragmentoch
 - založené na amplifikácii PCR

Z uvedených skupín predovšetkým molekulárne markéry splňajú požiadavky použiteľnosti na väčšinu praktických účelov, dnešný genetický výskum a expertná činnosť sa spoliehajú primárne na tento typ markérov.

Izoenzýmy sú rôzne molekulárne formy toho istého enzymu. Enzymy ako bielkovinné molekuly predstavujú priamy produkt transkripcie a translácie genetickej informácie, vzťah medzi primárnu štruktúrou enzymu a poradím nukleotidov v kódujúcej časti DNA je bezprostredný. Ak dôjde v štruktúre génu k mutácii, zmení sa jedna alebo niekoľko aminokyselín v produkovanom enzyme (pokiaľ nejde o synonymnú mutáciu). Od primárnej štruktúry enzymu (poradia aminokyselín) závisia ďalšie vlastnosti – výsledný trojrozmerný tvar enzymovej molekuly (terciárna štruktúra), jej veľkosť, počet a typ funkčných skupín ($-COOH$, $-NH_2$, $-SH$) na jej povrchu a teda aj jej povrchový elektrický náboj vo vodnom prostredí v závislosti na pH roztoku. Na základe týchto vlastností je možné pôvodnú a mutovanú enzymovú molekulu od seba odlišiť elektroforetickej, t.j. separáciou v elektrickom poli. Extrakt z rastlinného pletiva sa vloží do škrobového alebo polyakrylamidového gélu s konkrétnym pH a pripojí sa na jednosmerný elektrický prúd. Po ukončení migrácie sa prúd vypne a gél sa vloží do farbiaceho roztoku, obsahujúceho substrát, na ktorý zistovaný enzym pôsobí, kofaktory nutné pre priebeh biochémickej reakcie ktorú enzym katalyzuje (NAD, NADP, ATP, Mg^{2+} a pod.) a farbivá reagujúce s produktmi reakcie. V miestach, kde sa v géle molekuly enzymu nachádzajú, prebehne reakcia a dôjde k vyzrážaniu farbiva, teda tieto miesta sa na géle prejavia ako farbené prúžky – každý prúžok zodpovedá jednej frakcii enzymu. Genetická interpretácia zymogramu sa hľadá metódami genetickej analýzy. V najjednoduchšom prípade (monomérny enzym produkovaný len 1 génom) každý prúžok zodpovedá jednej alele génu, ktorý kontroluje syntézu enzymu. Počet alelických variant sa pri izoenzýnoch pohybuje spravidla v rozmedzí 1–4 (výnimcoľne nad 10) alel na populáciu. Počet izoenzýmových génov, ktoré je možné v pletivách drevín identifikovať (t.j. enzymy je možné extrahovať bez straty biochémickej aktivity, separovať a farbiť) je spravidla 10–20.

DNA markéry vychádzajú priamo z analýzy molekuly DNA, ktorá je nositeľkou dedičnej informácie. Môžu byť založené na dvoch metodických postupoch:

- reštrikčná analýza (RFLP – *restriction fragment length polymorphism*) – rozdelenie molekuly DNA na definované úseky pomocou špecifických enzymov. Reštrikčné endonukleázy (restriktáz) sú bakteriálne enzymy, ktoré vyhľadávajú na molekule DNA konkrétnu sekvenčiu nukleotidov, a pokiaľ ju nájdú, molekulu DNA rozdelia (napr. endonukleáza *EcoRI*, izolovaná z črevnej baktérie *Escherichia coli*, vyhľadáva sekvenčiu G↓AATTC/CTTAA↓G a delí molekulu DNA na oboch komplementárnych reťazcoch medzi guanínom a adenínom). Názov konkrétnej endonukleázy je odvodený od skratky rodového a druhového názvu baktérie (*Eco* = *Escherichia coli*), prípadne konkrétneho bakteriálneho kmeňa, z ktorého bola restriktáza izolovaná (kmeň **R**), a číslované sú rímskymi číslami v poradí, ako boli popísané (poradové číslo **I**). Existujú 3 typy reštrikčných endonukleáz, pre účely molekulárnej biológie aj génového inžinierstva sa najčastejšie využívajú endonukleázy typu II, ktoré vyhľadávajú konkrétny sekvenčný motív a reťazec DNA preruší v jeho rámci. Väčšina endonukleáz vyhľadáva tzv. palindromické sekvencie, t.j. motívy, ktoré sú v smere čítania (5'→3') identické (napr. spomínaná endonukleáza *EcoRI* vyhľadáva sekvenčiu 5'GAATTC3', t.j. komplementárna sekvencia v druhom reťazci 3'CTTAAG5' je v smere čítania 5'→3' (t.j. odzadu) identická). Niektoré z endonukleáz prerušujú obe vlákna DNA na rovnakom mieste, teda vytvárajú tzv. hladký koniec (*blunt end*), iné prerušujú vlákna DNA na rozdielnych miestach, na konci teda vytvárajú jednoreťazcový previs (*overhang*). Enzymy, schopné spájať prerušenia na reťazci DNA

(ligázy) vyžadujú práve previs (táto vlastnosť sa využíva napr. pri vkladaní fragmentov DNA pri génových manipuláciách). Strihaním restrikčnými endonukleázami sa celý reťazec DNA rozdelí na fragmenty, ktoré je možné separovať elektroforetickej a následne farbiť rôznymi technikami. Dĺžka fragmentov sa meria počtom bázových párov (bp).

Pri jadrovej DNA je množstvo fragmentov získaných štiepením ktoroukoľvek z možných endonukleáz veľmi veľké, pričom závisí od dĺžky sekvenčného motív. Čisto štatisticky, pri dĺžke n nukleotidových párov v sekvenčnom motíve endonukleáza strihá v priemere každých 4^n nukleotidov (t.j. endonukleáza EcoRI, u ktorej je vyhľadávaný motív 6-bázový, vytvára fragmenty s priemernou dĺžkou $4^6 = 4096$ fragmentov). Pri celkovej dĺžke genomickej DNA drevín meranej v miliardách nukleotidov teda jedna analýza produkuje rádovo milióny fragmentov, ktoré po elektroforéze nie je možné ich navzájom odlišiť (na géle sa nachádzajú husto pri sebe, takže vytvárajú jednoliaty vyfarbený pás). Preto sa na identifikáciu konkrétnych génov používa tzv. Southernova hybridizácia (DNA sa po elektroforéze prenesie z gélu na nylonovú membránu, denaturuje vysokou teplotou a následne hybridizuje s rádioaktívne značenou jednoretiazcovou známou sekvenciou. Značená DNA sa naviaže len na tie fragmenty, na ktorých sa nachádza komplementárna sekvencia. Hybridizované fragmenty sa dajú identifikovať autoradiograficky).

- amplifikácia – zmnoženie úsekov DNA metódou PCR (*polymerase chain reaction* – polymerázová reťazová reakcia). PCR vlastne kopíruje mechanizmus replikácie DNA. Táto metóda predstavuje cyklické opakovanie troch reakcií: denaturácia DNA vysokou teplotou (*denaturation*; rozdelenie dvojitého reťazca na dve jednoretiazcové molekuly pri cca 95 °C), pripojenie dvojice oligonukleotidov, tzv. primery, s dĺžkou cca 10–20 bp (*annealing*; pri teplote ~45–60 °C, optimálna teplota závisí od dĺžky a zloženia primerov), a syntéza komplementárneho reťazca (*extension*; 72 °C, čo je optimálna „pracovná“ teplota termostabilnej DNA polymerázy). Táto trojica reakcií sa cyklicky opakuje cca. 40–60-krát. Reakčná zmes teda okrem analyzovanej DNA (tzv. templát) a primerov musí obsahovať voľné nukleotidy (presnejšie deoxynukleozid trifosfáty – dATP, dTTP, dGTP, dCTP) a DNA polymerázu, ktorá ovšem musí byť schopná uchovať si aktivitu aj po zahriati na teplotu blízku bodu varu počas denaturačného kroku. Najčastejšie sa pre tento účel používa termostabilná *Taq*-polymeráza, izolovaná z archebaktérie *Thermus aquaticus*, žijúcej v horúcich prameňoch. Primery sa na denaturowanom reťazci DNA pripoja na miesta s komplementárnym poradím nukleotidov a od týchto miest sa jedným smerom (5' → 3', t.j. na -OH skupinu na 3'-konci posledného nukleotidu primera) začne dopĺňať druhý reťazec. Od druhého cyklu týmto spôsobom exponenciálne narastá počet fragmentov s dĺžkou zodpovedajúcou vzdialenosťi medzi dvomi komplementárnymi miestami. Fragmenty je opäť možné separovať elektroforézou a identifikovať farbivami, ktoré sa viažu na DNA.

Ako bolo spomenuté, pre separáciu fragmentov DNA sa používa pohyb v elektrickom poli, čiže elektroforéza. Zdrojom elektrického náboja nukleových kyselín a oligonukleotidov vo vodnom prostredí sú voľné elektrónové páry na atónoch dusíka a kyslíka v heterocyklických bázach nukleotidov (A, T, G, C). Sumárny náboj dvojice A=T a G≡C je prakticky rovnaký, takže náboj pripadajúci na jednotku dĺžky DNA fragmentu je v podstate konštantný nezávisle na sekvencii. Fragmenty sú teda pri pohybe triedené podľa dĺžky, dlhšie fragmenty sa cez pory gélu predierajú menšou rýchlosťou ako kratšie.

Ako gélový nosič sa pri DNA používa najčastejšie agaróza alebo polyakrylamid. Agaróza je vhodným médiom pre rýchle a hrubšie analýzy, keďže separácia v nej je menej dokonalá. Je možné ju použiť aj pre rutinné analýzy, pokiaľ rozdiely vo veľkosti medzi fragmentmi, ktoré sú predmetom záujmu, sú veľké (viac ako 10 bp). Pre jemnejšie analýzy sa ako gélový nosič používa elektroforéza v polyakrylamidovom géle (PAGE). DNA je možné aj farbiť fluorescenčnými farbivami alebo striebrom. Veľmi efektívna je separácia fragmentov DNA v

automatických DNA-sekvenátoroch. Elektroforéza tu neprebieha na plochom géle, ale v dlhých kapilárach naplnených polyakrylamidovým gélom. Pri PCR sa používajú značené primery (oligonukleotidy s naviazaným farbivom) a farbivo je vybudzované laserovým lúčom.

Oproti iným typom markérov majú DNA markéry tú výhodu, že pre konkrétny účel možno vybrať konkrétny markér, ktorého vlastnosti sa preň najlepšie hodia. Rôzne molekuly DNA a ich rôzne segmenty sa odlišujú spôsobom dedičnosti (biparentálna, maternálna, paternálna), mierou polymorfizmu, ktorá sa odvíja od rýchlosťi mutácií, adaptívny významom a pod. Kombináciou horeuvedených základných postupov analýzy DNA možno vybrať markér alebo skupinu markérov, optimálne slúžiacich k definovanému účelu.

Ako bolo spomenuté, len malú časť DNA eukaryotov tvoria sekvencie, zodpovedajúce funkčným génom, teda kódujúce nejaký funkčný produkt (polypeptid, tRNA, rRNA, snRNA). Značnú časť genómu predstavujú nekódujúce sekvencie, ktoré spravidla vykazujú väčšiu premenlivosť. Ich funkcia nie je objasnená, môžu sa podieľať na regulácii génovej aktivity či stabilizácii štruktúry chromozómu. Je však možné, že viaceré takéto sekvencie žiadnu funkciu nemajú a predstavujú len balast evolúcie. Mutácie, ktoré sa v nich hromadia, neovplyvňujú životaschopnosť jedincov a nie sú z populácií vylučované prirodzeným výberom. K nekódujúcim sekvenciám patria predovšetkým intróny a spacery, čo sú úseky oddeľujúce gény. Ďalšiu skupinu tvoria tzv. pseudogény, teda gény, ktoré v dôsledku mutácie v regulačnej oblasti stratili schopnosť expresie. Veľkú časť DNA tvoria repetitívne (opakujúce sa) sekvencie. K nim patria tandemové opakovania dlhších úsekov cca 20 báz (VNTR – variable number of tandem repeats; minisatelity), ktoré sa vyskytujú predovšetkým v oblasti centroméry a telomér. Vykazujú vysokú variabilitu a dajú sa veľmi výhodne využiť pre identifikáciu jedincov (napr. sú využívané pre súdnolekárske účely na identifikáciu jedincov). Druhú skupinu tvoria tzv. mikrosatelity (SSR – simple sequence repeats), t.j. tandemové opakovania krátkeho motívu cca. 1–6 báz, ktoré sa vyskytujú nielen v jadrovej, ale aj v mitochondriálnej a chloroplastovej DNA. Jednotlivé „alely“ sa u týchto markérov odlišujú počtom opakovania motívu, a tiež vyskytujú veľkú variabilitu (nezriedka 15–30 alel v populácii), takže je možné ich využiť najmä pre sledovanie toku génov a systému párenia. Ich nevýhodou sú vysoké iniciálne náklady pre konštrukciu týchto markérov (identifikáciu okrajových sekvenící pre definovanie primerov).

Pre štúdie vyžadujúce veľký súbor analyzovaných génov dobre pokrývajúci celý jadrový génom bol vyvinutý typ markérov označovaný RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*) založený na PCR technológii, založený na použití krátkych náhodných primerov. Polymorfizmus (teda rozdiely medzi jedincami) pri RAPD vyplýva buď z rozsiahlejších posunových mutácií (insercií/delécií) medzi dvomi komplementárnymi miestami pre primer alebo v mutácii v komplementárnom mieste, ktorá spôsobí, že primer nie je schopný spárovať sa s templátovým reťazcom a teda namiesto dvoch krátkych reťazcov vznikne jeden dlhší. RAPD sú dominantné markéry, na základe prítomnosti konkrétnego fragmentu sa nedá určiť, či sa nachádza na oboch homologických chromozómoch (homozygot) alebo len na jednom (heterozygot). Ďalšou nevýhodou RAPD je slabá reprodukateľnosť, metodika používaná v jednom laboratóriu sa nedá spoľahlivo zopakovať v inom.

Ako zdokonalenie RAPD bola vyvinutá metóda AFLP (*amplified fragment length polymorphism* – polymorfizmus dĺžky amplifikovaných fragmentov), ktorá takisto umožňuje mapovať variabilitu veľkého počtu lokusov dobre reprezentujúcich celý jadrový génom. Je založená na kombinácii restrikčnej analýzy a PCR amplifikácie: templátová DNA sa štiepi na fragmenty dvojicou endonukleáz vytvárajúcich previs, následne sa pomocou DNA ligázy na jeden aj druhý koniec týchto fragmentov pripoja adaptéry, teda krátke oligonukleotidy so známonou sekvenciou a komplementárny previsom, a fragmenty sa namnožia PCR (sekvenie primerov = sekvenie adaptérov + previs). AFLP sú takisto dominantné markéry, ale technika

je vysoko reprodukovateľná.

V prípade, ak sa ktorýkoľvek RAPD či AFLP fragment pri štúdii ukáže ako zaujímavý (napr. jeho výskyt vykazuje koreláciu s faktormi prostredia alebo s dôležitým fenotypovým znakom a pod.), je možné ho z gélu izolovať a sekvenovať, teda určiť poradie nukleotidov v ňom, na základe sekvencie zadefinovať primery špecifické pre tento fragment a následne študovať len variabilitu tohto konkrétneho úseku DNA. Tento typ markéra sa označuje ako **SCAR** (*sequence-characterized amplified region*), a je kodominantný.

Pre niektoré účely (predovšetkým pre rekonštrukciu migrácie a kolonizácie, sledovanie toku génov a pod.) sa s výhodou používajú fragmenty mimojadrovej, t.j. chloroplastovej a mitochondriálnej DNA, ktorá má uniparentálnu dedičnosť (spravidla po matke, výnimočne po otcovi, napr. cpDNA v čeľadi Pinaceae). Molekuly organelárnej DNA sa nerekombinujú, haplotyp sa zásadne dedí ako celok. Sekvencie v mtDNA a cpDNA sú spravidla vysoko konzervatívne, teda identické aj pri taxonomicky veľmi rozdielnych organizmoch. Keďže organelárny genóm je neporovnatelne menší v porovnaní s jadrovým, pri analýze organelárnej DNA možno kombinovať PCR a RFLP analýzu: použitím špecifických primerov sa amplifikuje príslušný úsek cpDNA alebo mtDNA, a pokial' nevykazuje premenlivosť (t.j. u rôznych organizmov má rovnakú dĺžku), možno polymorfizmus v jeho rámci hľadať jeho štiepením restrikčnou endonukleázou.

Separácia fragmentov DNA gélovou elektroforézou je založená na ich rozdielnej veľkosti, nie je teda schopná identifikovať bodové mutácie, pri ktorých sa nemení veľkosť fragmentu, ale len konkrétna báza v jeho rámci. Jednotlivé alely (najmä alely funkčných génov, teda úsekov DNA exprimovaných do RNA alebo do bielkoviny) sa však často odlišujú práve bodovými mutáciami. Pre identifikáciu takýchto polymorfizmov jednotlivých nukleotidov (SNP; *single nucleotide polymorphism*) sa dajú použiť viaceré metódy, pomerne jednoduchou a lacnou možnosťou sú polymorfizmy konformácie jednoretiazcovej DNA (SSCP; *single-strand conformation polymorphisms*). Táto metóda využíva skutočnosť, že jednoretiazcové molekuly nukleových kyselín majú veľmi silnú tendenciu k párovaniu komplementárnych báz. Jednoretiazcová molekula nezostáva v lineárnej forme, ale poprehýba sa a vytvorí troj-rozmerný útvor stabilizovaný vodíkovými väzbami medzi nukleotidmi v rámci rovnakého reťazca. Jej trojrozmerný tvar je teda závislý na sekvencii báz, stačí aj jedna zámena bázy na to, aby výsledný tvar bol odlišný. Rýchlosť pohybu takýchto molekúl pri elektroforéze je od tvaru závislá (čím bližšie ku guľovitému tvaru, tým je pohyblivosť vyššia). Pri SSCP sa konkrétny úsek DNA namnoží PCR, fragmenty sa denaturujú (teda rozdelia na dvojice jednoretiazcových molekúl) vysokou teplotou a formaldehydom, a následne za normálnych nedenuaturujúcich podmienok separujú elektroforézou. Počas migrácie jednoretiazcové molekuly zaujmú trojrozmernú konformáciu, ktorá ovplyvňuje ich mobilitu v géle.

Často je dôležité poznať priamo sekvenciu báz v konkrétnom úseku DNA. Pre sekvenovanie (teda určenie poradia báz) sa dnes najčastejšie využívajú postupy založené na PCR, predovšetkým Sangerova metóda ukončovania reťazca dideoxynukleotidmi (*chain-termination method*). Sekvenovanie využíva skutočnosť, že pri replikácii DNA (t.j. aj pri PCR) DNA-polymeráza pracuje vždy smerom $5' \rightarrow 3'$, teda voľné nukleotidy vždy pripája na $-OH$ skupinu na $3'$ uhlíku deoxyribózy posledného nukleotidu. Ak teda reakčná zmes pre PCR obsahuje aj $2'3'$ -dideoxynukleotidy, po ich zaradení sa ďalšie predlžovanie reťazca zastaví. Keďže DNA-polymeráza „siahne“ po jednotlivých nukleotidoch náhodne, je dielom náhody, v ktorom štádiu siahne po $2'$ -deoxynukleotide (ktorý umožní ďalšie predlžovanie reťazca) a kedy po $2'3'$ -dideoxynukleotide (ktorý predlžovanie zastaví). Pri vhodnej koncentrácií dideoxynukleotidov sa teda budú vytvárať reťazce rozličných dĺžok, ktoré sú vždy ukončené dideoxynukleotidom. Klasický Sangerov postup využíval rádioaktívne značené dideoxynukleotidy alebo značené primery, vyžaduje teda 4 PCR (každú s pridaním iného dideoxynukleotidu), po ktorých boli fragmenty separované a identifikované autorádiograficky.

V súčasnosti sa využívajú automatické prístroje (DNA-sekvenátory), ktoré pracujú na mierne odlišnom princípe. Dideoxynukleotidy sú značené každý iným farbivom, ktoré je vybudzované laserovým lúčom. PCR sa teda robí naraz (reakčná zmes obsahuje všetky 4 typy rôzne farebne značených dideoxynukleotidov), fragmenty sú následne separované elektroforézou (staršie sekvenátory používali ploché gély, v moderných prístrojoch je elektroforéza robená v kapilárach) a identita dideoxynukleotidu, ktorý ukončuje každý fragment, je identifikovaná na základe farebného signálu.

Pre potreby sekvenovania celých genómov alebo ich rozsiahlych častí je sekvenovanie Sangerovou metódou príliš pomalé, drahé a pracovne náročné. Preto sa objavili metódy druhej generácie (*next-generation sequencing*; NGS), ktoré umožňujú v jednom behu analýzy paralelne sekvenovať rádovo milióny až stámlióny krátkych úsekov, ktoré sa následne zostavila do súvislej sekvencie (*alignment*), aj keď chybovosť týchto postupov je zákonite vyššia v porovnaní so Sangerovou metódou. Jedným z možných postupov NGS je sekvenovanie syntézou, napríklad tzv. pyrosekvenovanie (*pyrosequencing*), ktoré je založené na detekcii aktivity DNA-polymerázy chemoluminiscenciou. Zaradenie konkrétnej bázy je identifikované na základe uvoľneného pyrofosfátu, slúžiaceho ako zdroj energie pre luminiscenčnú reakciu, vyvolávajúcu svetelný záblesk detekovaný CCD kamerou. Ďalším postupom je sekvenovanie syntézou využívajúce reverzibilé terminátory reťazca (napr. technológia Illumina). Reakčná zmes obsahuje dNTP s naviazaným fluorescenčne značeným terminátorom blokujúcim ďalšie predĺžovanie reťazca. Po zabudovaní takéhoto nukleotidu sa zaznamená jeho fluorescenčný signál a následne je terminátor odbúraný, čo umožní predĺženie reťazca zabudovaním ďalšieho nukleotidu. Všetky spomínané metódy vyžadujú zastavenie reakcie po zabudovaní nukleotidu, výmenu reaktantov a prípadnú deaktiváciu nadbytočných fluorescenčných značiek. Ide o metódy, ktoré sú v porovnaní so Sangerovou metódou podstatne rýchlejšie a v prepočte na 1 bázu aj podstatne lacnejšie. Umožňujú sekvenovať veľké množstvo DNA, dokonca aj celé genómy vyšších organizmov.

V súčasnosti sú vyvíjané metódy tretej generácie, ktoré na určovanie poradia báz využívajú jednotlivé molekuly DNA bez nutnosti zastavenia procesu medzi jednotlivými krokmi detekcie. Patria sem metódy sekvenovania pomocou nanopórov, využívajúce prechod fragmentov DNA cez nanopóry membrán a poradie báz detekujú na základe ich vplyvu na elektrické pole, priame zobrazovanie pomocou pokročilých mikroskopických techník (elektrónová mikroskopia, skenovacia tunelová mikroskopia) a ďalšie techniky, ktoré by v budúcnosti mohli podstatne rozšíriť možnosti analýzy genómov.

Dodnes boli kompletné sekvenované genómy veľkého počtu druhov. Pochopiteľne, sekvenovanie postupovalo od malých genómov smerom k veľkým: prvým bol v r. 1977 genóm bakteriofága *Φ-X174* (5,386 bp), prvý prokaryotický genóm (teda genóm živého organizmu *sensu stricto*) bol genóm baktérie *Haemophilus influenzae* (1995; 1,83 Mbp), prvý sekvenovaný eukaryotický genóm patril kvasinke *Saccharomyces cerevisiae* (1996; 12,1 Mbp), sekvenovanie genómu človeka bolo ukončené v r. 2006 (3,2 Gbp). Počty kompletné sekvenovaných genómov sa v súčasnosti počítajú na tisíce (aj keď väčšinou ide o vírusy a prokaryoty, teda baktérie a archebaktérie) a koncentrujú sa najmä na modelové organizmy (z rastlín *Arabidopsis thaliana*, *Populus trichocarpa*, *Oryza sativa*, zo živočíchov *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*). Sekvenovanie však postupuje aj k obrovským genómom (*Picea abies* 19,6 Gbp; 2013).

Údaje získané sekvenovaním sú ukladané v databázach. V súčasnosti najznámejšia a najpoužívanejšia je databáza GenBank (nemýliť si s génovými bankami, kap. *Genetické zdroje*), ktorá spája databázy troch najväčších laboratórií, zaoberajúcich sa touto problematikou: European Laboratory of Molecular Biology (EMBL), National Center for Biotechnology Information (súčasť National Institute of Health, NIH, USA) a DNA DataBank of Japan (DDBJ). Prenos údajov medzi týmoto tromi databázami sa deje denne. Údaje v GenBank sú

verejne prístupné. Pri sekvenovaní ktoréhokoľvek úseku DNA je možnosť hľadať homologické sekvencie v GenBank pomocou nástroja BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), ktorý umožňuje identifikovať sekvencie v referenčných genómoch s maximálnou zhodou (pod referenčným genómom sa rozumie sekvencia uznaná ako reprezentatívny súbor génov konkrétneho modelového druhu; nepredstavuje genóm konkrétneho jedinca, ale mozaiku úsekov od viacerých donorov). Mnohé sekvencie v GenBank sú anotované, teda je im priradená biologická informácia. Anotácia genómu spočíva v troch krokoch: identifikácií nekódujúcich úsekov, identifikácia kódujúcich častí (génov) a priradenie biologickej funkcie týmto úsekom. Čiastočne je možné využitím nástrojov bioinformatiky vykonávať ju automatizované (využitím BLAST na hľadanie podoností v známych genómoch), ale prípadné rozpory je možné redigovať v databázach manuálne. Anotácia zahŕňa dva prvky: štrukturálnu anotáciu (identifikácia a lokalizácia exónov, popis štruktúry génu, identifikácia a lokalizácia regulačných oblastí génu) a funkčnú anotáciu (určenie biochemicalkej a následne biologickej funkcie génu, identifikácia interakcií s inými génnimi a mechanizmu regulácie génovej aktivity). Pochopiteľne, identifikácia homológie sledovanej sekvencie v skúmanom organizme s anotovanou sekvenciou v referenčnom genóme nie je zárukou, že produkovaný proteín vykonáva v skúmanom druhu rovnakú funkciu a ovplyvňuje rovnaké fenotypové znaky ako homologický proteín referenčného modelového druhu. Databáza je dostupná cez <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>.

Genetická multiplicita

Najjednoduchšou mierou genetickej multiplicity je celkový počet alel, resp. priemerný počet alel pripadajúci na 1 lokus (n_a). Pokiaľ je populácia v danom géne monomorfná (t.j. nie je v ňom pozorovateľná variabilita) počet alel (aj počet genotypov) nadobúda minimálnu hodnotu, teda $n_a = 1$, pri polymorfných lokusoch je počet pozorovaných alel (a následne aj počet pozorovaných genotypových kombinácií) vyšší. Problémom takéhoto hodnotenia je, že výberová vzorka nemusí zachytíť všetky typy, ktoré sa v populácii vyskytujú. Šanca, že konkrétna alela bude zastúpená vo výberovej vzorke, je tým menšia, čím je alela zriedkavejšia, t.j. čím nižšia je jej frekvencia. Nie je teda možné priamo porovnať počty alel medzi vzorkami, ktoré majú podstatne rozdielny rozsah. Keďže analogický problém je v ekológii pri hodnotení druhovej bohatosti spoločenstiev, bol vyvinutý prepočet počtu zachytených typov na rovnaký rozsah výberu, ktorý bol následne adaptovaný pre hodnotenie alelickej bohatosti populácie (Petit et al. 1998):

$$A[g] = \sum_i \left\{ 1 - \left[\binom{N - n_i}{g} / \binom{N}{g} \right] \right\} = \sum_i \left(1 - \prod_{k=0}^{g-1} \frac{N - n_i - k}{N - k} \right)$$

kde $A[g]$ je počet alel, ktoré možno očakávať v súbore g génov (t.j. $g/2$ diploidných jedincov), ak n_i je počet zachytených výskytov i . alely v celkovej vzorke $N = \sum_i n_i$ ($g < N$). Ako spoločný rozsah výberu pre všetky vzorky, na ktorý sa prepočet vykonáva (g) sa spravidla volí veľkosť najmenšej populačnej vzorky.

Genetická diverzita a genotypová štruktúra

Pod genetickou diverzitou rozumieme rôznorodosť zastúpenia genetických typov. Každá miera diverzity má dva komponenty, reflektuje bohatosť (angl. *richness*) aj vyrovnanosť (angl. *evenness*) zastúpenia typov. Existuje veľké množstvo rôznych indexov diverzity. Z praktického hľadiska sa javia ako optimálne tie, ktoré sú vyjadrované analogickým spôsobom ako multiplicita, teda počtom typov. Z indexov používaných v ekológii má túto vlastnosť skupina tzv. Hillových indexov, ktoré sa dajú odvodíť zo spoločného vzorca

$$v_a = \left(\sum_{i=1}^A p_i^a \right)^{1/(1-a)}$$

kde p_i je frekvencia $i.$ typu (v prípade genetickej diverzity $i.$ alely) a A je celkový počet nájdených typov (napr. alel). Hillov vzorec je univerzálny v tom, že má matematicky definovateľný vzťah prakticky ku všetkým indexom diverzity bežne používaným v synekológii či populačnej genetike. Veľkosť koeficiente a určuje dôraz indexu na jednotlivé komponenty diverzity: pri nízkej hodnote a index kladie dôraz na bohatosť, pri vysokej na vyrovnanosť. Ako optimálna hodnota sa javí $a = 2$. Index v_2 sa označuje aj ako efektívny počet alel:

$$n_e = 1/\sum_i p_i^2$$

Alelická diverzita sa odráža v genotypovej štruktúre, predovšetkým v heterozygotnosti, t.j. podieľe heterozygotných genotypov v populácii. Heterozygotnosť predstavuje vlastne mieru variability v rámci genotypov jedincov (teda najnižšiu možnú úroveň genetickej variability). Aktuálny podiel heterozygotov sa označuje ako pozorovaná heterozygotnosť a dá sa jednoducho odhadnúť na základe genotypových frekvencií:

$$H_O = \sum_{i < j} N(A_i A_j)/N = \sum_{i < j} P(A_i A_j) = \sum_{i < j} P_{ij}$$

teda ako podiel počtu heterozygotov ($N(A_i A_j)$, $i < j$) z celkového počtu analyzovaných genotypov (N) resp. ako suma frekvencií heterozygotov (P_{ij}).

Skutočný podiel heterozygotov môže byť odlišný od podielu, očakávaného pri ideálnej panmixii. Ako už bolo spomenuté v kapitole *Genetika populácií*, pri panmiktickej rovnováhe je alelická aj genotypová štruktúra populácie konštantná, nemení sa z generácie na generáciu, preto sa panmixia zvykne využívať ako referenčný stav, štandard, voči ktorému sa porovnáva štruktúra či správanie reálnej populácie. Zastúpenie jednotlivých genotypov v rovnovážnej populácii možno odvodiť z alelických frekvencií na základe Hardy-Weinbergovho zákona: $P'_{ii} = p_i^2$, $P'_{ij} = 2p_i p_j$, $i \neq j$ (P'_{ij} je očakávaná frekvencia genotypu $A_i A_j$). Rovnovážna, očakávaná heterozygotnosť je vlastne súčet očakávaných frekvencií všetkých heterozygotných genotypov: $H_E = \sum_{i < j} P'_{ij}$. Z praktického hľadiska je ovšem jednoduchšie vypočítať ju ako:

$$H_E = 1 - \sum_i p_i^2$$

kedže očakávaná frekvencia homozygotného genotypu je štvorcem frekvencie príslušnej alely. Tento vzorec však pri malých výberových vzorkách poskytuje vychýlený (podhodnotený) odhad očakávanej heterozygotnosti populácie, takže sa používa v upravenom tvare:

$$H_E = (1 - \sum_i p_i^2) \cdot 2N / (2N - 1)$$

Pozorovaná heterozygotnosť teda popisuje skutočný stav, je charakteristikou genotypovej štruktúry existujúcej populácie. Očakávaná heterozygotnosť naopak kvantifikuje potenciál populácie pre tvorbu heterozygotov v ďalšej generácii za predpokladu panmixie, je charakteristikou alelickej štruktúry existujúcej populácie a odráža genetickú diverzitu. Diverzita závisí nielen od počtu alel v danom géne, ale aj od ich frekvencií – čím viac alel sa v populácii vyskytuje, a čím rovnomernejšie sú zastúpené, tým je genetická rôznorodosť populácie vyššia. Efektívny počet alel kvantifikuje, kolkým rovnomerne zastúpeným alelám zodpovedá skutočný počet alel, ktoré sa v populácii vyskytujú. Medzi efektívnym počtom alel a očakávanou heterozygotnosťou existuje matematický aj logický vzťah – čím viac alel sa v populácii efektívne nachádza (t.j. v čím väčšom počte a čím rovnomernejšie sú zastúpené), tým vyšší bude počet ich kombinácií v gamétach a tým väčší je potenciál pre tvorbu heterozygotných (vo všeobecnosti vitálnejších) genotypov.

Mieru odchýlky genotypovej štruktúry populácie od panmiktickej (Hardy-Weinbergovej) rovnováhy kvantifikuje index fixácie:

$$F = 1 - H_O/H_E$$

Pokiaľ je v populácii deficit heterozygotov oproti rovnovážnemu stavu (napr. v dôsledku

príbuzenského kríženia), je index fixácie kladný ($F > 0$), pri nadbytku heterozygotov (napr. po selekcii v prospech heterozygotov) je naopak záporný ($F < 0$).

Genetická diferenciácia

Pre posudzovanie rozdielov alelickej štruktúry medzi dvoma populáciami slúžia genetické vzdialenosť. Existuje celý rad mier genetickej podobnosti či nepodobnosti, najčastejšie sa používa genetická vzdialenosť podľa Neia:

$$D = -\ln(J_{xy}/\sqrt{J_x J_y})$$

kde: $J_x = \sum_i p_{xi}^2$ (očakávaná homozygotnosť v populácii x)

$J_y = \sum_i p_{yi}^2$ (očakávaná homozygotnosť v populácii y)

$$J_{xy} = \sum_i p_{xi} p_{yi}$$

(p_{xi} a p_{yi} sú alelické frekvencie i . alely v populáciach x a y). Podobne ako pri heterozygotnosti, pre získanie nestranného odhadu genetickej vzdialenosť je potrebné zohľadniť rozsah výberu:

$$J_x = \sum_i p_{xi}^2 \cdot 2N_x/(2N_x - 1)$$

$$J_y = \sum_i p_{yi}^2 \cdot 2N_y/(2N_y - 1).$$

Ďalší z často používaných indexov nepodobnosti genetickej štruktúry, genetická vzdialenosť podľa Gregoria, je jednoducho sumou absolútnej hodnoty rozdielov vo frekvenciach jednotlivých alel medzi populáciami.

$$d_0 = \frac{1}{2} \sum_i |p_{xi} - p_{yi}|$$

Koncept genetickej vzdialenosťi v princípe možno aplikovať aj na úroveň jedinca, keďže aj v tomto prípade sa dajú kvantifikovať alelické „frekvencie“: u homozygota $A_i A_i$ je frekvencia A_i rovná 100%, u heterozygota $A_i A_j$ 50%, vo všetkých ostatných prípadoch 0%. V mnohých prípadoch, najmä pri použití dominantných alebo uniparentálnych DNA markérov, však nie sme schopní identifikovať genotypy a DNA profil poskytuje len súbor fragmentov, ktoré u konkrétnego jedinca môžu byť prítomné alebo neprítomné (RAPD, AFLP, cyDNA RFLP profily a pod.). Na kvantifikáciu rozdielov medzi jedincami sa tu dá využiť Tanimotov index:

$$D_T = 1 - \frac{N(x \wedge y)}{N(x \vee y)}$$

kde $N(x \wedge y)$ je počet fragmentov, ktoré sa vyskytujú súčasne u jedincov x aj y , a $N(x \vee y)$ je počet fragmentov, ktoré sa vyskytujú aspoň u jedného z jedincov x a y .

Genetická vzdialenosť sa vždy vzťahuje na dvojicu populácií. Predmetom genetického screeningu však spravidla bývajú rozsiahle súbory rádovo desiatok, niekedy stoviek populácií. V mnohých prípadoch nás zaujíma diferenciácia konkrétnej populácie oproti ostatným ako celku, resp. rozdiely v miere diferenciácie v rôznych súboroch populácií ako celoch. Pre kvantifikáciu diferenciácie konkrétnej k . populácie oproti komplementu (teda zostávajúcim populáciám v súbore) možno použiť charakteristiku:

$$D_k = \frac{1}{2} \sum_i |p_{ik} - \bar{p}_{ik}|$$

kde \bar{p}_{ik} je priemer frekvencií i . alely vo všetkých ostatných populáciách v súbore okrem k , väžený veľkosťou populácií (resp. veľkosťou výberových vzoriek).

Miera diferenciácie v rámci celého súboru sa potom dá odvodiť ako priemer diferenciácií D_k cez všetky subpopulácie, opäť väžený veľkosťou subpopulácií:

$$\delta = \sum_k c_k D_k$$

kde c_k je relatívna veľkosť k . subpopulácie (podiel počtu jedincov patriacich ku k . subpopulácii zo všetkých analyzovaných jedincov).

Častejšie používanou mierou diferenciácie v rámci súboru populácií je Wrightova F -štastika. V najjednoduchšom prípade sa pre bialelický lokus dá vyjadriť ako:

$$F_{ST} = \sigma^2_P / [p_T(1 - p_T)]$$

kde σ^2_P je variancia alel (v prípade bialelického lokusu je logicky rovnaká pre obe alely, keďže frekvencia jednej je doplnkom do 1 k frekvencii druhej) medzi subpopuláciami a p_T je priemerná frekvencia alely v celom súbore (z čoho vyplýva, že $p_T(1 - p_T)$ je variancia frekvencie alely v celom súbore). Analýza variancie umožňuje rozšíriť túto štatistiku aj na prípad viac než dvoch alel a väčšieho počtu lokusov.

Ako technicky jednoduchšia náhrada F_{ST} sa dá použiť štatistika G_{ST} , ktorú možno odvodiť z očakávaných heterozygotností:

$$G_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$$

kde H_T je očakávaná heterozygotnosť celého súboru, vypočítaná na základe priemerných alelických frekvencií, a H_S je priemer očakávaných heterozygotností jednotlivých subpopulácií.

F_{ST} aj G_{ST} berú jednotlivé alely sledovaných génov ako kvalitatívne stavy, ktoré sú navzájom rozdielne v rovnakej mieri (t.j. rozdiel medzi alelou A_1 a A_2 je rovnaký ako medzi A_1 a A_5). V konkrétnych prípadoch je pri kvantifikácii diferenciácie potrebné zohľadniť aj rozdiely medzi alelami. Pokial' interpretujeme diferenciáciu medzi populáciami ako výsledok evolučného procesu, teda jednotlivých mechanizmov, ktoré vedú k zmenám v zastúpení génov v populáciach (selekcia, drift, migrácia), je potrebné zohľadniť skutočnosť, že na prechod stavu konkrétneho génu medzi jednotlivými alelickými stavmi môže byť potrebný rozdielny počet mutačných krokov. Rozdiely v počte alebo kvalite v sekvenciach nukleotidov v DNA alebo v sekvenciach aminokyselín ich proteínových produktov, pokial' sú známe, možno použiť pri kvantifikácii diferenciácie:

$$N_{ST} = \sum_i \sum_j \pi_{ij} \text{cov}(p_i p_j) / \sum_i \sum_j \pi_{ij} p_{Ti} p_{Tj}$$

kde $\text{cov}(p_i p_j)$ je kovariancia frekvencií i . a j . alely cez všetky populácie, π_{ij} je miera rozdielu medzi i . a j . alelou (počet rozdielnych nukleotidov alebo aminokyselín, počet mutačných krokov (substitúcií, insercií/delécií) potrebný na prechod medzi i . a j . alelou a pod.), a p_{Ti} resp. p_{Tj} sú priemerné frekvencie i . a j . alely v celom súbore populácií.

PREMENLIVOSŤ A JEJ KOMPONENTY

Premenlivosť a jej meranie

Ako je uvedené v úvodných kapitolách, premenlivosť spočíva na najnižšej (individuálnej) úrovni vo vzájomnej odlišnosti jedincov v individuálnych znakoch a vlastnostiach, a patrí k základným charakteristikám živej hmoty. Fenotyp jedinca je výsledkom realizácie jeho genotypu (súboru dedičných vlôh) v konkrétnych podmienkach prostredia. Fenotypová premenlivosť má teda dve zložky – premenlivosť podmienenú geneticky (vyplývajúcu z odlišnosti genotypov u rôznych jedincov) a premenlivosť podmienenú prostredím (vyplývajúcu z variability podmienok prostredia, v ktorých sa rôzne jedince vyskytujú).

Mendelove zákony popisujú dedičný prenos diskrétnych kvalitatívnych znakov. Jedinec má kvety biele alebo fialové, semená hladké alebo zvráskané, internódiá dlhé alebo krátke atď. Pri tomto hodnotení sú hodnoty znaku rozdelené do diskrétnych tried a hoci variabilita v rámci triedy je zanedbaná, neznamená to, že neexistuje. Označenie internódií ako „dlhé“ neznamená, že sú všetky presne rovnako dlhé. Aj u znakov, ktoré na prvý pohľad vyzerajú ako typicky kvalitatívne, existuje možnosť hodnotiť ich kvantitatívne – pri farbe kvetu by bolo možné merať priemernú sýtosť fialového zafarbenia analýzou obrazu, alebo merať množstvo kvetného pigmentu. Rozdiely v rámci tried sú aj u takýchto znakov podmienené variabilitou podmienok prostredia, ktorým sú vystavené. Pri znakoch s jednoduchou monogénou dedičnou kontrolou však tieto rozdiely nestierajú hranice fenotypových tried, tieto hranice zostávajú jasne identifikovateľné. V prípade polygénnej kontroly znaku, alebo ak je

znak vo výraznej miere ovplyvnený prostredím, sa však hranice fenotypových tried stierajú a znak nadobúda kontinuálne rozdelenie.

Určenie fenotypu dedičnými vlohami a prostredím samozrejme nie je deterministický proces. Najmä v prípade polygénnych znakov ide o kaskádu biochemických a fyziologických procesov, z ktorých každý je riadený iným génom. Regulácia aktivity týchto génov môže závisieť od stimulov z prostredia a zmena aktivity jedného z nich môže „prepnúť“ celú kaskádu na alternatívnu dráhu. Jeden a ten istý genotyp teda môže byť schopný exprimovať sa do viacerých výrazne odlišných fenotypov v závislosti na prostredí. Tento jav sa označuje ako fenotypová plasticita. Klasickým prípadom jej prejavu v morfológií je tvar listov u vodných druhov iskerníkov (podrod *Batrachium*), kde ponorené listy sú nitrovité, zatiaľ čo plávajúce listy sú dlaňovito laločnaté. Fenotypová plasticita sa však môže prejavovať aj v rastových, fyziologických, biochemických a ďalších znakoch, a v prípade dlhožijúcich organizmov môže byť jednou zo stratégii, ako sa vyrovňávať s kolísaním prostredia počas ontogenézy.

Na popis priemerných fenotypových hodnôt a fenotypovej premenlivosti sa používajú bežné štatistiké charakteristiky. Vzhľadom na to, že pri praktickom hodnotení premenlivosti fenotypových znakov pracujeme takmer výlučne s výberovými súbormi, sú uvedené vzorce pre bodový nestranný odhad jednotlivých charakteristík a interval spoľahlivosti pre aritmetický priemer.

Aritmetický priemer: $\bar{x} = \sum_i x_i / n$

$$\text{Rozptyl (variancia): } s_x^2 = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}{n-1} = \left(\frac{\sum_i x_i^2}{n} - \bar{x}^2 \right) \cdot \frac{n}{n-1}$$

$$\text{Smerodajná odchýlka: } s_x = \sqrt{s_x^2}$$

$$\text{Variačný koeficient: } s_{x\%} = 100\% \cdot s_x / \bar{x}$$

$$\text{Stredná chyba priemeru: } s_{\bar{x}} = s_x / \sqrt{n}$$

$$95\% \text{ interval spoľahlivosti: } 95\%IS = \bar{x} \pm t_{0,05} \cdot s_{\bar{x}}$$

(x_i je fenotypová hodnota i . jedinca, n rozsah výberu, $t_{0,05}$ kritická hodnota Studentovho t rozdelenia pre $\alpha=0,05$ a $n-1$ stupňov voľnosti).

Zložky fenotypovej premenlivosti

Miera a charakter premenlivosti fenotypového znaku, rozdelenie početnosti podľa fenotypových tried, závisia nielen na počte génov, ktoré daný znak kontrolujú, a ich alelických frekvencií, ale aj na interakciách medzi alelami v rámci génu (dominancia, superdominancia) resp. interakciách medzi génymi (epistáza). Geneticky podmienenú premenlivosť znaku teda možno rozdeliť na zložku aditívnu, dominančnú a epistatickú. Aditívny komponent je základnou zložkou premenlivosti, je podmienený aditívnym účinkom alel, ktoré sa podielajú na kontrole znaku. Predpokladá lineárny vzťah (priamu úmeru) medzi fenotypovou hodnotou jedinca a počtom alel zvyšujúcich hodnotu znaku v jeho genotype:

$$P_{Aa} = \frac{1}{2}(P_{AA} + P_{aa})$$

Komponent dominančný predstavuje sumu odchýliek od tohto lineárneho vzťahu, ktoré sú podmienené úplnou resp. neúplnou dominanciou či superdominanciou

$$P_{Aa} > \frac{1}{2}(P_{AA} + P_{aa})$$

Epistatická zložka predstavuje sumu odchýliek od tohto lineárneho vzťahu, ktoré sú podmienené epistázou, t.j. nadradenosťou jedného génu inému (napr. ak gén B je epistaticky nadradený génu A , potom $P_{B_+} > P_{A_bb} > P_{aabb}$).

Premenlivosť podmienená prostredím môže byť modifikačná (spôsobená trvalými modifikujúcimi vplyvmi prostredia na fenotypový znak) a fluktuačná (spôsobená náhodnou variabi-

litou prostredia).

Hodnotenie zložiek premenlivosti vždy vychádza z experimentu. Ak sledujeme unikátne genotypy v ich pôvodnom prostredí, nie je možné z ich fenotypových prejavov odvodniť, nakoľko sa na fenotype podieľa dedičnosť a nakoľko prostredie. Hodnotenie vychádza z rôznych typov biologických pokusov (presadzovacie pokusy, testy potomstiev), v ktorých sú príbuzné a teda geneticky podobné skupiny jedincov (klony, plnoesterské či polosesterské potomstvá, populácie) opakovane testované v rôznych prostrediach (testovacie plochy, chovné podmienky). Najjednoduchší model, z ktorého genetika kvantitatívnych znakov vychádza, je lineárny aditívny vzťah medzi fenotypovou hodnotou, vplyvom genotypu a vplyvom prostredia:

$$P_{ij} = G_i + E_j + \varepsilon_{ij}$$

t.j. fenotypová hodnota konkrétneho znaku (napr. výšky, dátumu rašenia, uhla vetvenia, obsahu chlorofylu a pod.) *i.* jedinca v *j.* prostredí (P_{ij}) je daná genotypovou hodnotou (príspievkom *i.* genotypu k veľkosti fenotypového znaku; G_i), odchýlkou od tejto hodnoty, ktorá je vyvolaná *j.* prostredím, t.j. testovacou plochou (E_j) a reziduálnu zložku ε_{ij} spôsobenú variabilitu mikrostanovišťa v rámci testovacej plochy. Inými slovami, podľa tohto modelu genotyp prispieva ku fenotypovej hodnote daného znaku nezávisle na prostredí, t.j. vo všetkých prostrediach rovnako, a naopak, konkrétné prostredie vyvolá pri všetkých genotypoch rovnakú reakciu.

V skutočnosti sú mnohé rastlinné či živočíšne populácie špecializované na konkrétné podmienky prostredia, a na prenos do iného prostredia reagujú ináč, než by zodpovedalo všeobecnému trendu. Tento jav sa označuje ako interakcia genotypu a prostredia ($G \times E$ interakcia), takže uvedený model by mal byť rozšírený na

$$P_{ij} = G_i + E_j + GE_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

kde GE_{ij} je odchýlka vyvolaná špecifickou reakciou *i.* genotypu v *j.* prostredí. $G \times E$ interakcia však vnáša do modelu komplikácie ako z hľadiska matematického, tak aj z hľadiska interpretácie a aplikácie výsledkov šľachtiteľských experimentov, preto sa s ňou často v praxi neuvažuje.

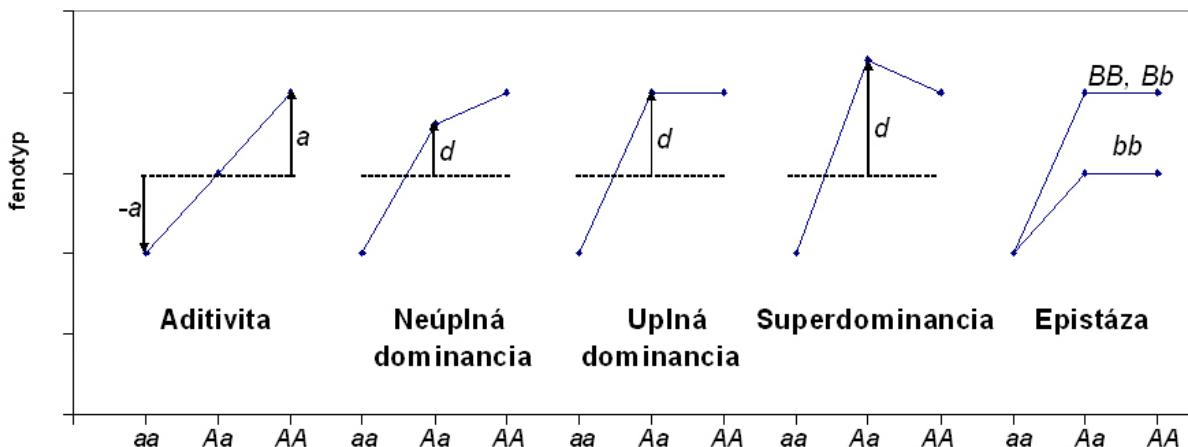
Hodnota *i.* genotypu G_i má niekoľko komponentov:

$$G_i = A_i + D_i + I_i$$

kde A_i je aditívna zložka (vyplývajúca z aditívneho účinku génov resp. alel, viď kap. *Mendelove zákony*), D_i je odchýlka od aditívity spôsobená dominanciou a I_i je odchýlka spôsobená medzigénovými interakciami, teda epistázou.

Odvodenie veľkosti týchto odchýlok a komponentov variancie znaku, ktoré z nich vyplývajú, vyžaduje definovanie fenotypových hodnôt pre jednotlivé genotypy. Za predpokladu, že fenotypová hodnota nie je ovplyvnená prostredím ($E = 0$, t.j. $P = G$), obr. 31 ilustruje aditívne a neaditívne efekty rôznych genotypov na hodnotu fenotypového znaku. Ak prítomnosť alely *A* zvyšuje fenotypový znak o hodnotu $+a$ a prítomnosť alely *a* ju v rovnakej miere znížuje, genotypová hodnota homozygota AA bude predstavovať $+a$ genotypová hodnota genotypu aa bude $-a$. Genotypová hodnota heterozygota Aa je d , pričom hodnota d vyjadruje mieru dominancie. Pri aditivite génov (t.j. absencii dominancie) je $d = 0$, t.j. genotypová hodnota heterozygota Aa je presne v strede medzi homozygotmi AA a aa . Genotypová hodnota jedinca (t.j. príspevok jeho genotypu k hodnote fenotypového znaku) teda závisí od len počtu alel *A* prítomných v genotype, každá alela *A* zvyšuje fenotypovú hodnotu o $+a$ oproti jedincom genotypu aa , účinky alel sa teda jednoducho sčítajú (odtial' názov aditivita). V prípade dominancie $d \neq 0$, t.j. heterozygot Aa odlišuje od priemeru oboch homozygotov. Ak $d < a$, ide o neúplnú dominanciu, pre $d = a$ (t.j. heterozygot je fenotypovo totožný s homozygotom AA) o úplnú dominanciu, pre $d > a$ (t.j. heterozygot fenotypovo prevyšuje oboch homozygotov) o superdominanciu. Pri epistáze prichádza do úvahy veľké množstvo rôznych medzigénových interakcií, prípad na obr. 31 je len jedným z nich. V tomto prípade, ak gén *B* je epistaticky

nadradený génu A , vplyv génu A na fenotypovú hodnotu sa prejaví len v prípade, ak je jedinec recessívny homozygot bb . Genotypová hodnota jedincov BB a Bb nezávisí od genotypu v géne A . Namiesto štyroch hodnôt fenotypového znaku, ktoré by sa objavili pri nezávislosti génov A a B a úplnej dominancii je teda možné pozorovať len tri (pre skupiny genotypov $aabb$, A_bb , $_B_\underline{B}$).



Obr. 31 Hodnoty fenotypového znaku u jednotlivých genotypov v bialelickom lokuse pri jednotlivých typoch interakcie medzi alelami resp. génmi pri absencii vplyvu prostredia ($E=0$).

Ak stredovú hodnotu medzi obidvomi homozygotmi označíme x' , potom priemernú hodnotu fenotypového znaku v rovnovážnej populácii možno vypočítať z frekvencií a genotypových hodnôt jednotlivých genotypov. Genotypová hodnota homozygota AA bude $x'+a$, homozygota aa bude $x'-a$, a heterozygota Aa bude $x'+d$. V panmiktickej populácii bude teda zastúpenie jednotlivých fenotypov zodpovedať hodnotám podľa tab. 10.

Tab. 10 Hodnoty fenotypového znaku, zodpovedajúce jednotlivým genotypom, a ich zastúpenie v panmiktickej populácii

Genotyp	Frekvencia	Genotypová hodnota	Početnosť
AA	p^2	$x'+a$	$p^2(x'+a) = x'p^2 + ap^2$
Aa	$2pq$	$x'+d$	$2pq(x'+d) = x'2pq + 2pqd$
aa	q^2	$x'-a$	$q^2(x'-a) = x'q^2 - aq^2$
Suma	1		$x'(p^2+2pq+q^2) + a(p^2-q^2) + 2pqd = x'(p+q)^2 + a(p+q)(p-q) + 2pqd = x' + a(p-q) + 2pqd$

pre bialelický lokus platí
 $p+q=1$

Vzťah medzi priemernou hodnotou znaku v populácii, alelickými frekvenciami a účinkami genotypov je teda

$$\bar{x} = x' + a(p-q) + 2pqd$$

pričom príspevok každého génu k priemeru fenotypového znaku v populácii sa dá rozdeliť na dve zložky: príspevok homozygotov v danom géne $a(p - q)$ a príspevok heterozygotov $2pqd$. Takto odvodene genotypové hodnoty sa vzťahujú na genotypy, nie na gény. V každej generácii však pri diploidných, pohlavne sa množiacich organizmoch gény obsiahnuté v genotypoch náhodne segregujú do gamét a v následnej generácii sa usporiadajú do nových genotypových kombinácií. Ak chceme kvantifikovať „genetickú hodnotu“ jedinca, musíme vychádzať z génov, nie genotypov, teda určiť priemerný vplyv alely na fenotypovú hodnotu. Priemerný vplyv alely A sa dá kvantifikovať ako odchýlka potomstva od populačného priemera, ak

potomstvo obdrží od jedného z rodičov alelu A a druhá je vybraná z dostupných gamét náhodne (tab. 11). Zámena jednej alely za inú teda vyvolá zmenu fenotypu o hodnotu:

$$\alpha = \alpha_1 - \alpha_2 = [a + d(q-p)][q - (-p)] = [a + d(q-p)][q+p] = a + d(q-p).$$

pričom z porovnania vzťahov pre výpočet α , α_1 a α_2 vyplýva: $\alpha_1 = qa$; $\alpha_2 = -pa$.

Kedže rodičia pri pohlavnom rozmnožovaní odovzdávajú potomstvu gény, nie genotypy, pre priemernú fenotypovú hodnotu potomstva sú určujúce priemerné efekty génov rodičov. Hodnotu jedinca z hľadiska šľachtenia určuje priemerná výkonnosť jeho potomstva. Aditívnu hodnotu (*breeding value*) je teda možné priamo merat': ako konkrétnego rodiča krížime s ďalšími jedincami náhodne vybranými z populácie, aditívna hodnota (A) predstavuje dvojnásobok rozdielu medzi priemerom potomstva a priemerom populácie (len polovica génov potomstva pochádza od testovaného rodiča, preto dvojnásobok). Aditívna hodnota teda nie je výlučne vlastnosťou jedinca, ale je zároveň závislá na populácii, v ktorej sa jedinec vyskytuje. Možno ju vyjadrovať aj v absolútnych jednotkách (t.j. v jednotkách, v akých je meraný fenotypový znak), ale z matematického hľadiska je praktickejšie vyjadrovať ju odchýlkou od populačného priemera.

Tab. 11 Výpočet efektu jednotlivých alel v géne s dominanciou v panmiktickej populácii

Gaméta	Genotypové hodnoty a frekvencie genotypov potomstva			Priemerné genotypové hodnoty genotypov potomstva –priemer populácie (odpočítat')	Priemerný efekt alely (rozdiel priemera potomstva a priemera populácie)
	AA	Aa	aa		
	$x'+a$	$x'+d$	$x'-a$		
A	p	q		$(x'+a)p+(x'+d)q = x'(p+q)+pa+qd$	$x'-a(p-q)+2pqd$ $= x'(p+q)+pa+qd = q[a+d(q-p)] = \alpha_1$
a		p	q	$(x'+d)p+(x'-a)q = x'(p+q)-qa+pd$	$-(x'+a(p-q)+2pqd)$ $= x'-x'-qa+pd-pa+qa-2pqd = -p[a+d(q-p)] = \alpha_2$

Aditívna hodnota jedinca je daná aditívou časťou účinku alel v rámci génu. Je teda možné vypočítať ju ako sumu priemerných efektov všetkých alel v genotype jedinca, ktoré daný znak kontrolujú. Pre bialelický lokus budú teda aditívne hodnoty jednotlivých genotypov (vyjadrených ako odchýlka od populačného priemera) nasledovné:

$$AA \quad 2\alpha_1 = 2qa$$

$$Aa \quad \alpha_1 + \alpha_2 = a(q-p)$$

$$aa \quad 2\alpha_2 = -2pa$$

Priemer aditívnych hodnôt v populácii je rovný nule: $p^2 \cdot 2qa + 2pq \cdot a(q-p) + q^2 \cdot (-2pa) = 2p^2qa + 2pq^2a - 2p^2qa - 2pq^2a = 0$.

Rozdiel medzi aditívou hodnotou a genotypovou hodnotou predstavuje odchýlku, spôsobenú dominanciou (D ; *dominance deviation*): $G = A + D$ (obr. 32). Priamo je merateľná rozdielom medzi fenotypom jedinca a priemernou fenotypovou hodnotou jeho potomstva, ak je testované v rovnakom prostredí (za predpokladu monogénnej kontroly znaku, alebo vylúčenia premenlivosti v ďalších génoch, ktoré znak kontrolujú). Odchýlky podmienené dominanciou sú spôsobené efektom kombinácie konkrétnej dvojice génov, ktorá sa môže fenotypovo prejavovať inak než jednoduchý súčet efektov oboch génov. Odvodenie veľkosti dominančných efektov pre jednotlivé genotypy vyplýva z porovnania genotypovej a aditívnej hodnoty pre jednotlivé genotypy. Kedže populačný priemer je $\bar{x} = x' + a(p-q) + 2pqd$, genotypové hodnoty vyjadrené ako odchýlky od priemera budú nasledovné:

$$AA \quad x' + a - (x' + a(p-q) + 2pqd) = a(1 - p + q) - 2pqd = 2q(a - dp)$$

$$Aa \quad x' + d - (x' + a(p-q) + 2pqd) = -a(p - q) + d - 2pqd = a(q - p) + d(1 - 2pq)$$

$$aa \quad x' - a - (x' + a(p-q) + 2pqd) = -a(1 - q + p) - 2pqd = -2p(a + dp)$$

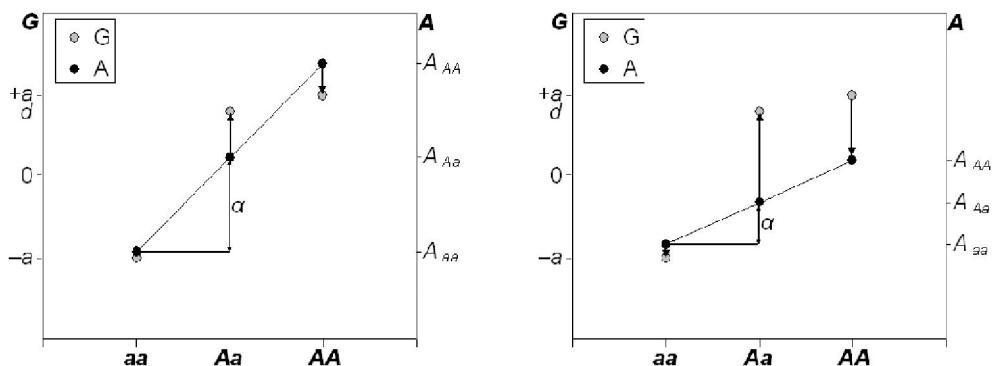
Z tab. 11 vyplýva pre vzťah medzi efektom alely a genotypovými hodnotami: $\alpha = a + d(q-p)$,

z čoho $a = \alpha - d(q - p)$. Ak túto hodnotu dosadíme do vzťahov pre výpočet genotypových hodnôt (vyjadrených ako relatívne hodnoty, teda odchýlky od populačného priemeru) a výrazy zjednodušíme, dostaneme hodnoty v tab. 12. Rozdiel medzi relatívnu genotypovou hodnotou a aditívnu hodnotou predstavuje odchýlku podmienenú dominanciou.

Rovnako ako aditívne hodnoty aj odchýlky podmienené dominanciou sú závislé od kontextu populácie, ktorej je testovaný jedinec členom. Z obr. 34 vyplýva, že pokial' sa zmení zastúpenie génov v populácii, posunú sa pri nezmenených genotypových hodnotách aditívne hodnoty (ležiace na priamke) a teda aj dominantné odchýlky (vyjadrené šípkami). Zároveň z toho vyplýva, že nezávisle na veľkosti medzialelických či medzigénových interakcií je vždy určitá časť premenlivosti aditívna, t.j. prístupná pre selekciu. V priebehu viacerých generácií systematickej selekcie sa však táto aditívna variabilita môže vyčerpávať (t.j. frekvencie génov sa posunú v prospech tých alel, ktoré sú v daných podmienkach alebo pri umelom výbere z hľadiska požiadaviek človeka výhodné), a teda odozva populácie na prirodzený alebo umelý vyber sa môže zmenšovať aj úplne zastaviť. Na druhej strane veľkosť dominantných odchýlok je závislá len na miere dominancie d , nie je závislá na aditívnych hodnotách. Pre $d = 0$ sú teda genotypové a aditívne hodnoty totožné.

Tab. 12 Genotypové a aditívne hodnoty a dominantné odchýlky jednotlivých genotypov v panmiktickej populácii

Genotypy	AA	Aa	aa
Absolútne genotypové hodnoty	$x' + a$	$x' + d$	$x' - a$
Frekvencie	p^2	$2pq$	q^2
Relatívne genotypové hodnoty	$\begin{aligned} &2q(a - dp) \\ &= 2q(a - dq + dp - dp) \\ &= 2q(a - dq) \end{aligned}$	$\begin{aligned} &a(q - p) + d(1 - 2pq) \\ &= (a - dq + dp)(q - p) + d(1 - 2pq) \\ &= qa - dq^2 + dpq - pa + dpq - dp^2 \\ &\quad + d - 2pqd \\ &= a(q - p) + d(1 - p^2 - q^2) \\ &= a(q - p) + d \cdot 2pq \end{aligned}$	$\begin{aligned} &-2p(a + dq) \\ &= -2p(a - dq + dp + dq) \\ &= -2p(a + dp) \end{aligned}$
- Aditívne hodnoty	$-(2qa)$	$-[a(q - p)]$	$-(-2pa)$
Dominančné odchýlky	$-2dq^2$	$2dpq$	$-2dp^2$



Obr. 32 Genotypové (G) a aditívne (A) hodnoty hypotetického fenotypového znaku jednotlivých genotypov v bialelickom lokuse v panmiktickej populácii s aleickými frekvenciami $p(A) = 0,4$ (vľavo) a $p(A) = 0,8$ (vpravo) pri hodnotách $a = 1$ a $d = 0,8$. Šípky vyjadrujú veľkosť odchýlky podmienenej dominanciou.

Rovnakým spôsobom by bolo možné odvodiť aj veľkosť odchýlky spôsobenej interakciou medzi génymi, epistázou (I ; *interaction deviation*), t.j. ako rozdiel medzi genotypovou hodnotou jedinca a genotypovými hodnotami, ktoré možno pripísati účinkom jednotlivých

génov, medzi ktorými existuje epistatická interakcia. Celková genotypová hodnota jedinca je teda súčtom všetkých troch zložiek: $G = A + D + I$, kde A je suma aditívnych hodnôt pripísateľná jednotlivým alelám, D je suma odchýliek spôsobených dominanciou (vyplývajúca z konkrétej kombinácie alel v rámci rovnakého génu) a I je efekt epistatickej interakcie (vyplývajúca z konkrétej kombinácie alel rôznych génov).

Dedivost'

Analogické vzťahy, ako sa uplatňujú pri hodnotení fenotypových znakov konkrétnych jedincov, je možné uplatniť aj pri hodnotení ich premenlivosti. Ako je známe zo štatistiky, rozptyl (variancia) súčtu hodnôt dvoch znakov sa rovná súčtu ich rozptylov a dvojnásobku ich kovariancie. Ak teda pre fenotypovú hodnotu platí, že je súčtom hodnoty podmienenej genotypom a hodnoty podmienenej prostredím ($P = G + E$), tak pre fenotypovú varianciu musí platiť:

$$V_P = V_G + V_E + 2 \operatorname{Cov}_{GE}$$

kde V_P je celková fenotypová variancia (rozptyl; $V \equiv s^2$; variancia hodnôt fenotypového znaku u jedincov populácie), V_G je variancia podmienená genotypom (t.j. variancia genotypových hodnôt jedincov populácie), V_E je variancia podmienená prostredím a Cov_{GE} je kovariancia genotypu a prostredia (nie je totožná s $G \times E$ interakciou!), ktorá vzniká vtedy, ak v dôsledku nesprávneho usporiadania biologického pokusu nie sú vplyvy genotypu a prostredia nezávislé (napr. ak pri výsadbe nezabezpečíme jedincom dostatočný rastový priestor, rozdiely v raste budú podmienené nielen genotypom, ale aj kompetíciou, t.j. pomalšie rastúce genotypy budú v raste naviac spomaľované aj zatienením rýchlejšie rastúcimi susedmi). Aditívna (A) a neaditívne (D, I) zložky genotypovej hodnoty jedinca sú navzájom nezávislé, preto pre ich variancie platí:

$$V_G = V_A + V_{NA} = V_A + V_D + V_I$$

Kedžže variancia je sumou štvorcov odchýlok znaku od priemeru populácie delená početnosťou, možno jednotlivé komponenty variancie určiť jednoducho z aditívnych hodnôt (vyjadrených odchýlkou od priemeru) resp. dominantných odchýlok jednotlivých genotypov a ich frekvencií (tab. 13).

Tab. 13 Výpočet aditívnej a dominanciou podmienenej genetickej variancie fenotypového znaku

Genotyp	Frekvencia P	Aditívna hodnota A	Zložka variancie $P \cdot A^2$	Dominančná odchýlka D	Zložka variancie $P \cdot D^2$
AA	p^2	$2qa$	$4a^2 p^2 q^2$	$-2dq^2$	$4d^2 p^2 q^4$
Aa	$2pq$	$a(q - p)$	$2pq a^2 (q - p)^2$	$2dpq$	$8d^2 p^3 q^3$
aa	q^2	$-2pa$	$4a^2 p^2 q^2$	$-2dp^2$	$4d^2 p^4 q^2$
Σ	1	$V_A =$ $\begin{aligned} & 2pq a^2 (2pq + p^2 - 2pq + q^2 + 2pq) = \\ & = 2pq a^2 (p + q)^2 \\ & = 2pq a^2 \end{aligned}$		$V_D =$ $\begin{aligned} & 4d^2 p^2 q^2 (q^2 + 2pq + p^2) = \\ & = (2pqd)^2 (p + q)^2 \\ & = (2pqd)^2 \end{aligned}$	

Opäť teda platí, že komponenty variancie závisia výlučne od príslušného typu dedičnosti znaku: aditívna variancia závisí len od aditívnych hodnôt, variancia podmienená dominanciou výlučne od dominantných odchýlok. Oba komponenty variancie však zároveň závisia na genetickej štruktúre populácie, maximálnu hodnotu dosahujú pri $p = q = 0,5$. Ak sa alelická štruktúra populácie v dôsledku či už prírodného výberu alebo šľachtenia posúva smerom k vyššiemu zastúpeniu zvýhodnených alel, genetická variancia (jej aditívna aj dominantná zložka) sa zmenšuje a tým sa zmenšuje aj odozva populácie na selekciu.

Kedžže jednotlivé komponenty variancie sa jednoducho sčítavajú, má zmysel pýtať sa, akú časť z celkového súčtu každý z nich predstavuje. Podiel genotypovej premenlivosti (meranej varianciou) na celkovej fenotypovej premenlivosti daného znaku nazývame dedivosťou (heritabilitou) znaku, a určuje, nakoľko je variabilita znaku podmienená dedične, teda

nakol'ko sa vlastnosti rodičov (dané nielen geneticky, ale aj ovplyvnené prostredím, v ktorom sa rodičia vyskytujú) budú prenášať na ich potomstvo:

$$H^2 = V_G / V_P$$

Symbol H^2 sa používa preto, lebo ide o podiel rozptylov, ktoré sa počítajú so sumy štvorcov odchýlok hodnôt od aritmetického priemeru, H^2 je teda symbolom pre dedivosť samotnú, nie pre jej druhú mocninu. Tento typ dedivosti sa označuje ako dedivosť v širšom zmysle (broad-sense heritability).

Podiel aditívnej genotypovej variancie ku celkovej fenotypovej variancii sa označuje ako dedivosť v užšom zmysle (narrow-sense heritability):

$$h^2 = V_A / V_P$$

Dôvodom pre definovanie dedivosti v užšom zmysle ako samostatného parametra je skutočnosť, že pri pohlavnom rozmnožovaní genotypy (teda konkrétnie kombinácie alel) rodičovskej generácie zanikajú a v potomstve sa vytvárajú kombinácie nové. Pokial' je populácia panmiktická, alelické frekvencie v potomstve sú totožné s alelickou štruktúrou rodičovskej generácie (viď Hardy-Weinbergov zákon). Pokial' však aj rodičovská generácia nevznikla náhodným párovaním, genotypové frekvencie sa zmeniť môžu. Aditívna časť genetickej premenlivosti sa teda zachová, sumárne efekty jednotlivých alel zostanú aj v následnej generácii rovnaké, naopak, odchýlky podmienené medzialelickými či medzigénovými interakciami (teda závislé na konkrétnych kombináciach alel) zanikajú a vytvárajú sa nové. Efekty podmienené aditivitou teda možno do ďalšej generácie predikovať, neaditívne efekty nie.

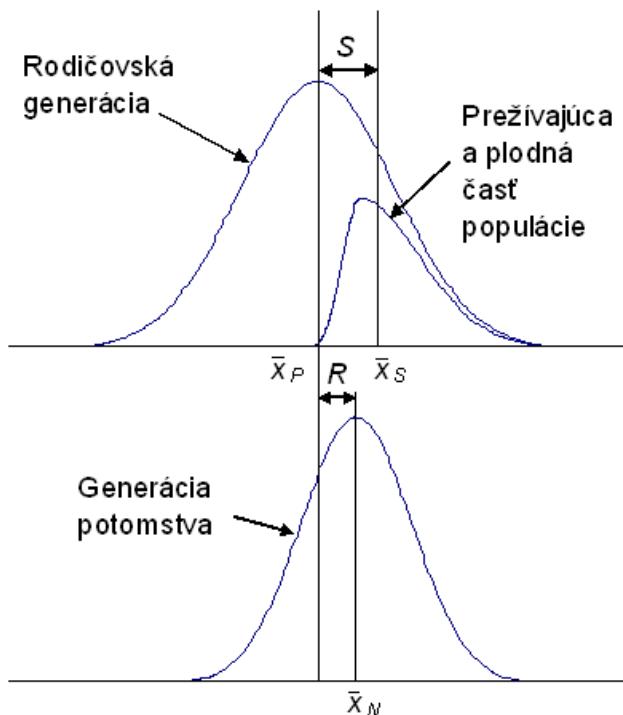
Odozva na selekciu

Ako už bolo povedané, od dedivosti, teda miery genetickej podmienenosť fenotypového znaku, závisí odozva na selekciu v ďalšej generácii, teda posun rozdelenia početností vo fenotypových triedach v potomstve selektovanej časti populácie oproti rodičovskej generácii. Tento posun sa spravidla meria rozdielom priemerných hodnôt znaku (aritmetických priemrov).

Opäť je potrebné zdôrazniť, že kritériom výberu, či už prirodzeného alebo umelého, je vždy fenotyp jedinca. Príroda ani človek nevyberajú jedincov podľa genotypu, pretože ten nepoznajú. V prípade umelého výberu spravidla nepoznáme ani len genetickú kontrolu znaku, ktorý je predmetom nášho záujmu, t.j. nevieme, koľko génov daný znak kontroluje a ktoré to sú, kde v genóme sú lokalizované.

Kritériom výberu je znak samotný, t.j. vyselektovanú časť základnej populácie predstavujú jednoducho jedinci s optimálnou (spravidla najvyššou alebo najnižšou) hodnotou znaku, ktorý sa podielá na biologickej zdatnosti alebo je kritériom šľachtenia. V prípade prirodzeného výberu sú to len tieto jedince, ktoré sa dožijú dospelosti a budú schopné sa rozmnožovať. Rozdiel medzi priemerom hodnoty znaku v základnej populácii a v selektovanej (teda prežívajúcej a rozmnožujúcej sa) časti populácie sa nazýva selekčný rozdiel alebo selekčný diferenciál: $S = \bar{X}_S - \bar{X}_P$. Nie je možné očakávať, že sa celý selekčný rozdiel prenesie do ďalšej generácie, t.j. že priemer znaku v ďalšej generácii sa od priemeru rodičovskej generácie bude odlišovať o rovnakú hodnotu ako rodičovské jedince. Pretože kritériom výberu je fenotyp, ktorý závisí nielen od dedičných faktorov, ale aj od prostredia, medzi prežívajúcimi jedincami nutne budú zastúpené aj také, ktorých vynikajúci fenotyp nie je spôsobený príspevkom genotypu, ale je dôsledkom zvýhodnených podmienok prostredia (napr. stromy, ktorých susedia boli v mladšom veku poškodené zverou, sú zvýhodnené v kompetícii), t.j. nededičných faktorov, pričom podiel týchto jedincov bude tým vyšší, čím viac je daný znak determinovaný prostredím. Zlepšenie priemernej hodnoty potomstva selektovaných jedincov oproti priemeru rodičovskej generácie, t.j. odozva na selekciu, je teda úmerné selekčnému rozdielu (čím viac selektované jedince fenotypovo predstihujú priemer celej rodičovskej generácie, tým väčší efekt môžeme očakávať) a dedivosti (čím viac je znak podmienený

geneticky, tým väčšia časť selektovaných jedincov bude fenotypovo nadpriemerná vďaka genotypu, a teda bude schopná svoje vlastnosti prenášať na potomstvo). Odozva na selekciu teda predstavuje rozdiel medzi potomstvom jedincov, ktoré boli vyselektované na základe ich fenotypu, a hypotetickým potomstvom jedincov, ktoré by boli náhodne vybrané zo zdrojovej populácie, a ktorých fenotypový priemer by sa rovnal priemu zdrojovej populácie (pochopiteľne o „zlepšení“ možno hovoriť len v kontexte podmienok prostredia, ktorým je populácia vystavená, teda v kontexte konkrétneho selekčného tlaku) (or. 33).



Obr. 33 Schéma určenia odozvy na selekciu

Selekčný diferenciál je možné odvodiť z veľkosti variability znaku v zdrojovej populácii (meranej smerodajnou odchýlkou znaku resp. variačným koeficientom) a intenzity selekcie, ktorá je meraná hodnotou odchýlky od priemeru zodpovedajúcou príslušnému kvantilu pravdepodobnostného rozdelenia: $S = i \cdot s_x$. Spravidla vychádzame z predpokladu, že kvantitatívny znak má v populácii normálne rozdelenie (t.j. rozdelenie zodpovedajúce Gaussovej krivke). Pri normálnom rozdelení platí, že v intervale $\bar{x} \pm s_x$ sa nachádza 68% hodnôt, mimo tohto intervalu sa teda nachádza 32%, z toho 16% nad jeho hornou hranicou a 16% pod jeho spodnou hranicou. Ak teda prežíva a rozmnožuje sa 16% najlepších jedincov, limit selekcie sa nachádza za hranicou $\bar{x} + 1 \cdot s_x$, intenzita selekcie je teda rovná $i = 1$.

Pri organizmoch s krátkou generačnou dobou možno odozvu na selekciu priamo merať: $R = \bar{X}_N - \bar{X}_P$. Pri dlhožijúcich organizmoch sme však odkázaní na predikciu genetického zisku na základe selekčného rozdielu a dedivosti. Vo všeobecnosti sa v evolučnej biológii pri predikcii vývoja populácie vychádza z toho, že potomstvo vzniká náhodným križením v rodičovskej generácii. Genotypy potomstva sú oproti genotypom rodičovských jedincov (selektovanej časti populácie) nanovo usporiadane náhodným spôsobom, pretože pri generatívnom množení dochádza k segregácii a rekombinácii alel. Odchýlky podmienené dominantiou alebo epistázou sa teda v potomstve objavia iba v miere úmernej zastúpeniu alel. V odozve na selekciu sa preto uplatňuje len aditívna zložka genotypovej premenlivosti, preto

pre predikciu odozvy musí byť použitá dedivost' v užšom zmysle:

$$R = S \cdot H^2$$

Pri umelom výbere (šľachtení) však môže nastať aj odlišná situácia: ak je potomstvo získané spôsobom, pri ktorom poznáme oboch rodičov (zámerné kríženie u živočíchov, hromadné kontrolované opelenie (*mass controlled pollination*) pri lesných drevinách a pod.), v odozve na selekciu (označovanej v tomto prípade ako genetický zisk) sa uplatnia všetky komponenty genotypovej premenlivosti, aditívne aj neaditívne, preto pre predikciu odozvy môžeme použiť dedivost' v širšom zmysle:

$$R = S \cdot H^2$$

Pri vegetatívnom (klonálnom) rozmnožovaní rastlín sú genotypy rodičovských jedincov presne kopírované, v potomstve sa zachováva špecifické usporiadanie alel v genotypoch, ktoré môže podmieňovať odchýlky spôsobené dominanciou alebo epistázou, teda teoreticky by odozva na selekciu mala zodpovedať dedivosti v širšom zmysle. Vegetatívne rozmnožovanie je však spojené s fyziologicky podmienenými rozdielmi, klony predstavujú ontogeneticky starší materiál oproti semenáčikom, teda aj z hľadiska vlastností, ktoré sú predmetom výberu, sa môžu správať odlišne. Preto sa pre stanovenie odozvy na selekciu vychádza z dedivosti, zistovanej klonálnymi testmi, ktorá môže byť odlišná od dedivosti v širšom zmysle (klonalna dedivost'; *clonal heritability*).

Interakcia genotyp × prostredie

Niekteré genotypy reagujú na podmienky konkrétneho prostredia inak, než by zodpovedalo všeobecnému trendu. Správanie sa konkrétneho genotypu v konkrétnych podmienkach prostredia (P) nezodpovedá očakávaniu, ktoré vyplýva zo všeobecnej výkonnosti daného genotypu (G) a všeobecnej vhodnosti daného prostredia (E). Tento jav označujeme ako interakcia genotypu a prostredia ($G \times E$ interakcia).

Hodnotenie $G \times E$ interakcie vychádza zo základného štatistikého modelu kvantitatívnej genetiky: ak je m genotypov vysadených na n lokalitách v r opakovaniach, fenotypová hodnota má nasledujúce zložky:

$$P_{ijk} = \mu + G_i + E_j + GE_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

kde P_{ijk} je fenotypová hodnota k . jedinka i . genotypu v j . prostredí, μ je priemerná fenotypová hodnota všetkých jedincov na všetkých lokalitách, G_i je priemerný efekt i . genotypu cez všetky lokality, E_j je priemerný vplyv j . prostredia, GE_{ij} je odchýlka vyvolaná interakciou i . genotypu a j . prostredia a ε_{ijk} je reziduálna odchýlka, vyvolaná neidentifikovateľnými faktormi (chyba merania, heterogenita prostredia v rámci lokality a pod.).

Existenciu $G \times E$ interakcie je možné testovať dvojfaktorovou analýzou variancie. Táto metóda však umožňuje len otestovať, či vplyv $G \times E$ interakcie na fenotypovú hodnotu vôbec existuje (či je štatisticky významný, t.j. či jeho existenciu môžeme predpokladať aspoň s pravdepodobnosťou 95%) a poskytuje kvantitatívny odhad podielu fenotypovej variancie viazanej na efekt $G \times E$ interakcie. Potvrdená existencia $G \times E$ interakcie však vyvoláva ďalšie otázky: Existuje v $G \times E$ interakcii biologicky interpretovateľný a teda prakticky aplikovateľný trend? Ako sa jednotlivé genotypy odlišujú v reakcii na zmenu prostredia?

V odpovedi na tieto otázky sa využíva regresná analýza. Pokial' kvantifikujeme klimatické, pôdne a iné vlastnosti prostredia na jednotlivých lokalitách pomocou kvantitatívnych charakteristík, môžeme použiť regresný model závislosti efektu $G \times E$ interakcie na týchto charakteristikách:

$$GE_{ij} = \sum_l \beta_{il} x_{jl} + \varepsilon_{ij}$$

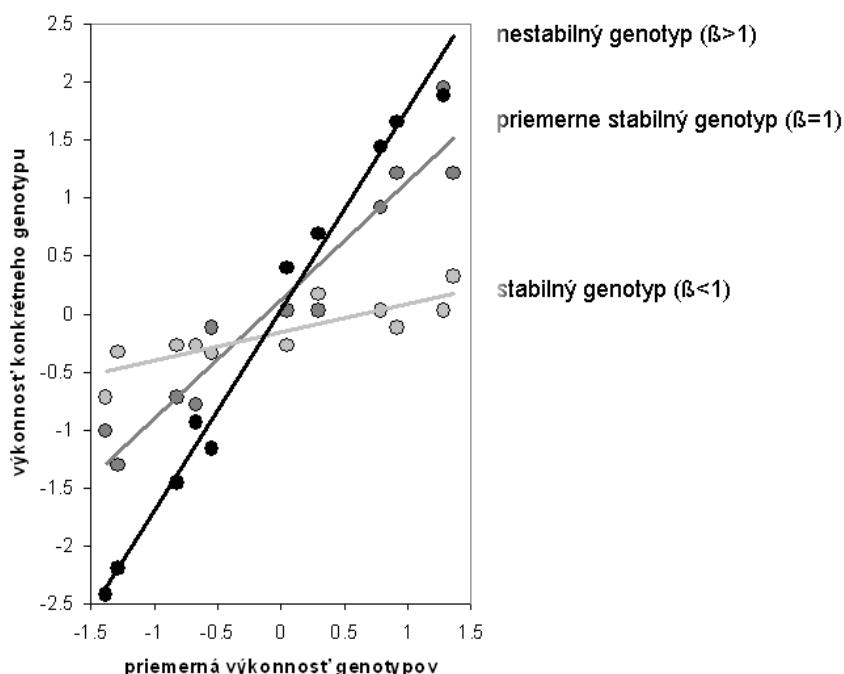
kde x_{jl} je hodnota l . charakteristiky prostredia na j . lokalite, β_{il} je parciálny regresný koeficient $G \times E$ efektu i . genotypu na x_{jl} a ε_{ij} je reziduálna chyba. Výhodou tohto prístupu je možnosť identifikácie vplyvu špecifických vlastností prostredia na fenotypovú reakciu jednotlivých genotypov. Jeho problematickou stránkou je nutnosť merať veľké množstvo charakte-

ristík prostredia, z ktorých väčšina je pravdepodobne irelevantná.

Vhodným východiskom je Finlay-Wilkinsonova metóda hodnotenia $G \times E$ interakcie (*joint regression analysis*), použiteľná pri fenotypových znakoch, ktoré sú zložkou biologickej zdatnosti. Pri tomto postupe je priemerná fenotypová hodnota všetkých genotypov na konkrétnej lokalite použitá ako charakteristika prostredia tejto lokality. Pokial' vychádzame z predpokladu, že testované genotypy predstavujú náhodný výber z jedincov danej dreviny, potom platí, že čím vyššiu fenotypovú hodnotu zastúpené genotypy na jednotlivej lokalite v priemere dosahujú, tým je pravdepodobne prostredie danej lokality pre testovanú drevinu vhodnejšie. Regresný model možno v tomto prípade modifikovať nasledovne:

$$GE_{ij} = \beta_i (\mu_j - \bar{\mu}) + \varepsilon_{ij}$$

kde μ_j je priemerná fenotypová hodnota všetkých genotypov na j . lokalite, ε_{ij} je reziduálna chyba a regresný koeficient β_i vyjadruje stabilitu i . genotypu. Ak $\beta_i = 1$, znamená to, že daný genotyp reaguje na prenos do iného prostredia rovnako ako priemer všetkých testovaných genotypov, t.j. v súlade s očakávaným všeobecným trendom. Ide teda o genotyp, u ktorého je $G \times E$ interakcia nulová. V prípade, že $\beta_i > 1$, genotyp na prenos do lepších podmienok prostredia reaguje výraznejším zlepšením fenotypovej hodnoty, než je u danej dreviny bežné, naopak, v horších podmienkach prostredia zaostáva výraznejšie než iné genotypy, teda ide o podpriemerne stabilný genotyp. Ak $\beta_i < 1$, genotyp vykazuje naopak nadpriemernú stabilitu, t.j. jeho fenotypová hodnota závisí na podmienkach prostredia menej, než je u danej dreviny bežné (obr. 34).



Obr. 34 Ilustrácia hodnotenia stability genotypov ($G \times E$ interakcie) Finlay-Wilkinsonovou metódou

MAKROEVOLÚCIA

Speciácia

Druh, koncepcie druhu

Systematika ako veda o triedení organizmov používa taxóny rozličných úrovní. Z nich ovšem len úroveň druhu je všeobecne považovaná za „reálnu“, teda úroveň, ktorá vyžaduje

a zasluhuje si špecifické biologické zdôvodnenie svojej existencie a zároveň biologicky podloženú definíciu kritérií, na základe ktorých sa organizmy do nej zaraďujú. Vyššie taxóny sú častou nahliadanou ako do istej miery umelé konštrukty, dokonca niektorí evoluční biológovia navrhovali ich zrušenie. Súčasné nomenklatúrnické zásady neurčujú jasné a objektívne kritériá pre určenie taxonomických kategórií, ako je rod, čeľad', rad atď. Rozhodnutia o zaradení konkrétnych taxónov na konkrétnu úroveň sú často arbitrárne a založené na konvenciach, v dôsledku čoho taxonomickej úrovne vyššie ako druh nie sú definované žiadnymi konkrétnymi špecifickými vlastnosťami a ľahko ich možno považovať za objektívne úrovne organizácie živej hmoty. Inou stránkou problému je, že sa v súčasnosti nevieme bez nich zaobísť.

Ak má byť oprávnenosť kategórie druhu biologicky zdôvodnitelná, musí druh predstavovať konkrétnu a samostatnú úroveň usporiadania živej hmoty, ktorú možno jasne a zreteľne odlišiť ako od nižších úrovní (organizmy, populácie, variety), tak aj od vyšších úrovní (rody, čeľade, triedy, ríše atď.). Všetky súbory organizmov označené ako druh musia zdieľať konkrétnu vlastnosť, ktorá je špecifická pre úroveň druhu a zároveň nie je vlastná žiadnej z iných taxonomických kategórií. Medzi biológmi ovšem neexistuje všeobecný konsenzus ohľadom toho, ktorá vlastnosť to konkrétnie je. Biologické zdôvodnenie je nepochybne dôležité, ale nie je to jediný aspekt problému druhu. Nemožno ignorovať otázku praktickej použiteľnosti. Kategória druhu ako základnej úrovne je bežne používaná v právnych normách týkajúcich sa ochrany prírody, poľnohospodárstva, lesníctva a ďalších odvetví. Jednotky, používané v takýchto normách, musia byť dostatočne podrobne, aby pokryvali biologicky relevantné rozdiely medzi organizmami, ale zároveň dostatočne inkluzívne, aby ich nebolo nezvládnuť veľké množstvo.

Pôvodný Linného prístup k taxonomickej klasifikácii bol založený na fenotypových znakoch, predovšetkým na morfológii (v prípade cievnatých rastlín najmä na morfológii kvetov). Snaha čo najviac sa vyhnúť subjektívnemu rozhodovaniu zahrnutím veľkého počtu diagnostických znakov v kombinácii s exaktnými matematickými metódami numerickej taxonómie viedla k vytvoreniu fenetickej koncepcie druhu, ktorá sa zakladá na vzhľadovej (fenetickej) podobnosti ako jedinom kritériu druhu, teda vychádza z princípu, že organizmy majú byť klasifikované do druhov na základe svojej všeobecnej vzhľadovej podobnosti. Numerická taxonómia využíva predovšetkým zhlukovú analýzu, výsledkom ktorej je stromový graf (dendrogram, v prípade, ak je založený na fenetickej podobnosti, označovaný ako fenogram), odrážajúci hierarchiu podobnosti v súbore študovaných organizmov. V tejto súvislosti ovšem treba pripomenúť, že výber znakov a matematického postupu (indexu podobnosti alebo nepodobnosti, zhlukovacieho algoritmu atď.) výrazne ovplyvňujú štruktúru výsledného fenogramu. Fenogram je naviac spravidla organizovaný hierarchicky, a opäť chýbajú objektívne kritéria na rozhodnutie, ktorá úroveň divergencie zodpovedá kategórii druhu.

Podľa koncepcie fenotypovej kohézie je druh skupina organizmov zachovávajúcich si fenotypovú podobnosť v priebehu generácií, buď vďaka homeostáze, alebo vďaka rovnakej odozve na evolučné tlaky, ktorým sú spoločne vystavené. Mechanizmy v pozadí kohézie môžu byť rozdielne: od disruptívnej selekcie viazanéj na rôzne ekologické niky obsadené rôznymi druhami (ekologická koncepcia druhu) cez rozoznávanie partnerov pre párovanie u živočíchov (etologická koncepcia druhu) až po vývojovú homeostázu. Hodnotiť takéto procesy je však ešte problematickejšie, než hodnotenie tradične používaných fenotypových znakov. Aj preto je k dispozícii málo empirických štúdií, ktoré by sa zameriavalí na priame meranie znakov spojených s týmito procesmi pre delimitáciu druhov.

Kladistická koncepcia druhu požaduje, aby druh predstavoval monofyletickú jednotku (viď kapitola *Fylogénéza*). Je založená na fylogenetickej analýze, teda rekonštrukcii „stromu života“, a problém s ňou spojený je analogický ako pri fenetickom druhu: je nutné stanoviť ďalšie kritériá, ktoré určujú, aké vlastnosti musí mať vývojová vetva, aby bola klasifikovaná ako druh. Naviac u pohľadu sa množiacich druhov jedince a populácie často skôr vykazujú

sieťovité (retikulátne) vzťahy, než jednoduché vetvenie. Ak by sme to prehnali do extrému, jedinec nemôže byť monofyletický, pretože je vždy potomkom dvoch rodičov.

V priebehu vývoja systematiky ako vedy sa samozrejme objavili aj koncepcie, ktoré hľadali hlbšie biologické kritériá než je samotná podobnosť a snažiace sa definovať druh ako prirodzenú jednotku. Najstaršia z tejto skupiny je Buffonovská koncepcia druhu, podľa ktorej dva jedince patria k rovnakému druhu, ak sú schopné vyprodukovať živataschopné potomstvo, a to aj v prípade, ak sa výrazne odlišujú fenotypom alebo ak sa v prírode nekrížia (napr. kvôli odlišným biotopom alebo areálom rozšírenia). Toto kritérium uplatňuje aj koncepcia biologického druhu, ktorá definuje druh ako skupinu populácií schopných vzájomného kríženia, reprodukčne izolovaná od ostatných skupín alebo populácií. V istom zmysle sa jedná o variantu kohéznej koncepcie, kde mechanizmus, udržiavajúci kohéziu druhu, predstavuje tok génov. Biologický druh je veľmi populárny u zoologov, pretože u živočíchov sa dlho predpokladalo, že medzidruhové hybridy sú neživataschopné alebo neplodné. U rastlín však koncepcie založené na možnosti párenia či vzájomného kríženia narážajú na problém praktickej použiteľnosti. Krížiteľnosť v skutočnosti nie je binárny (áno/nie) ale kontinuálne rozdelený znak. V niektorých prípadoch sú alopatické populácie, fenotypovo výrazne odlišné a preto klasifikované ako rozdielne druhy, bezproblémovo krížiteľné (príkladom môžu byť topole sekcie *Aigeiros Populus nigra* a *P. deltoides*, hybridy ktorých sa široko hospodársky využívajú). V iných prípadoch sa podiel živataschopného potomstva ako indikátor krížiteľnosti môže pohybovať kdekoľvek medzi 0 a 100% u krížencov druhov v rámci rodu (napr. v rode *Abies*). Niet objektívneho kritéria pre výber konkrétnej miery krížiteľnosti ako hranice pre vymedzenie druhu. Zároveň máme vo všeobecnosti málo informácií o rozsahu toku génov medzi fenotypovo odlišnými populáciami (výnimkou sú druhy, u ktorých je rozsah toku génov predmetom špecifického záujmu s ohľadom na ich hospodársky význam), takže praktická použiteľnosť je obmedzená. Biologický koncept sa tiež vzťahuje na pohlavne sa množiace druhy; jeho použitie napr. pri obligatórne apomiktických rastlinách (nehovoriač o prokaryotoch nepoznájúcich pohlavné množenie) nie je zmysluplné.

Molekulárne metódy umožňujú identifikovať genetickú odlienosť aj v prípade, že sa ešte zásadným spôsobom na fenotype neodráža. Často sa následne ukáže, že takéto samostatné genetické línie sú navzájom aj reprodukčne izolované, teda splňajú biologické kritériá druhu. Takéto druhy označujeme ako kryptické.

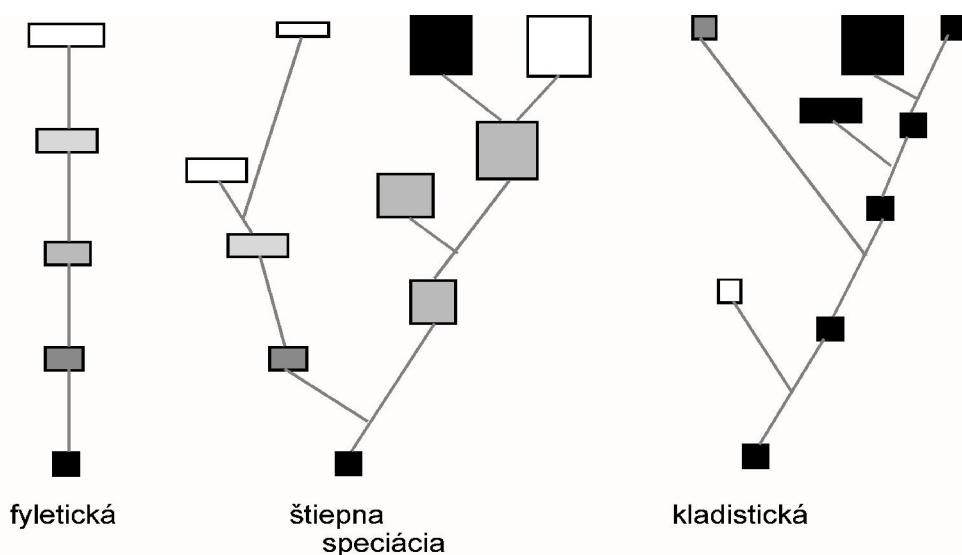
Mechanizmy speciácie

Z geografického hľadiska možno rozlišovať sympatrickú, alopatickú a parapatickú speciáciu. Pri sympatrickej speciácii nový druh vzniká v rámci areálu existujúceho materského druhu. Spravidla k tomu dochádza náhlym vznikom reprodukčnoizolačnej bariéry (polyploidizácia, hybridizácia, prestavba chromozómu). Bežnejším typom je alopatická speciácia, prebiehajúca v oddelených neprekryvajúcich sa areáloch. Nový druh sa môže vyvinúť z malej odštiepenej subpopulácie geograficky izolovanej od veľkej materskej populácie (napr. kolonizáciou ostrova; tento typ alopatrie sa označuje ako peripatria), alebo rozdelením pôvodne súvislého areálu na porovnatelne veľké časti vznikom geografickej bariéry (rozdelenie kontinentov, zdvih nového pohoria, vznik rieky a pod.; tento proces sa označuje ako yikariacia). Parapatická speciácia je prechodný typ medzi sympatriou a alopatriou: ide o vznik nových druhov v areáloch, ktoré sa navzájom dotýkajú, teda tok génov medzi nimi aspoň čiastočne pretrváva, ale pokial' nie je schopný kompenzovať vplyv divergentných mechanizmov (napr. disruptívnej selekcie), obe časti sa môžu vyvinúť na samostatné druhy.

Ak sú populácie druhu zoradené podľa geografického gradientu, krokový (*stepping stone*) tok génov môže udržiavať genetickú integritu druhu aj keď sú populácie na koncoch gradientu výrazne geneticky diferencované a navzájom reprodukčne nekompatibilné. Vyhynutie populácie v rámci gradientu môže tok génov prerušiť a viest' k tzv. extinkčnej speciácii.

Analogická situácia môže nastat', ak sa v rámci druhu vyskytujú populácie s postupne sa meniacou hodnotou nejakého životne dôležitého znaku (napr. telesná veľkosť), kde navzájom krížiteľné sú len formy s blízkymi hodnotami daného znaku. Vyhynutie ktorejkoľvek intermediárnej formy takisto vytvorí dve navzájom inkompatibilné populácie, ktorých fenotypový vývoj sa postupne vyberie rôznymi smermi (príkladom môže byť plemená psov: v súčasnosti sú všetky považované za jeden druh *Canis domesticus*, ale ak by človek vyhubil všetky okrem čivavy a bernardína, vznikli by dva navzájom nekrížiteľné druhy).

Vikariantná speciácia spravidla prebieha postupným hromadením zmien, či už v dôsledku adaptácie alebo náhodných procesov (drift, evolučné ľahy, akumulácia mutácií). Pri peripatrii naopak najväčšiu úlohu zohráva spravidla efekt zakladateľa: malú izolovanú populáciu zakladá spravidla malý počet kolonistov, ktorých genofond predstavuje len výber z genofondu zdrojovej populácie. Takéto výrazné obmedzenie polymorfizmu môže narušiť homeostatické mechanizmy, ktoré vo veľkej populácii majú tendenciu stabilizovať genetickú štruktúru, uľahčiť etablovanie nových mutácií, a tým urýchliť vývoj smerom k reprodukčne izolovanému a fenotypovo odlišnému novému druhu.



Obr. 35 Ilustrácia priebehu fyletickej, štiepnej a kladistickej speciácie. Veľkosť, tvar a farba symbolov schematicky znázorňujú fenotypovú podobnosť taxónov v rôznych znakoch resp. skupinách znakov, vertikálna škála zodpovedá časovému priebehu, ukončenie línie znamená vyhynutie taxónu.

Ako bolo spomenuté, makroevolúcia uvažuje s procesmi v mierke rádovo sa rovnajúcej geologickým obdobiam. Väčšina taxónov v priebehu takého dlhého obdobia vyhynie, ale aj genetické línie, ktoré prežijú, samozrejme nezostávajú fenotypovo stále (na tomto mieste treba pripomenúť, že spoločné biochemické základy všetkej živej hmoty, teda rovnaká chemická povaha molekúl, ktoré ju stavajú, a rovnaký priebeh metabolických procesov, ktoré v nej prebiehajú, dokazujú, že všetky žijúce organizmy sa vyvinuli zo spoločného predka, teda rovnakého predchodcu má napríklad aj človek a smrek). Fenotypy organizmov, ktoré nachádzame vo fosílnom zázname, sa od recentných organizmov odlišujú, a to aj ak sú ich priamymi predchodcami. Na klasifikáciu fosílnych foriem sa vzťahujú v princípe rovnaké zákonitosti ako u recentných foriem. Ak teda v popise procesu speciácie uvažujeme aj s fosílnymi formami, možno rozlišovať tri typy speciácie. Pri fyletickej speciácii sa genetická línia neštiepi, ale postupne sa mení: fosílné formy a recentná forma organizmu predstavujú jeden súvislý vývojový rad. Pri štiepnej speciácii dochádza v priebehu evolúcie k trvalému štiepeniu na samostatné genetické línie, z ktorých niektoré vyhynú a iné sa vyvinú na recentné taxóny. V prípade kladistickej speciácie sa od materského taxónu postupne odšte-

pujú genetické línie dcérskych taxónov; materský taxón si pritom v značnej miere zachováva pôvodný vzhľad (príkladom sú „žijúce fosílie“).

Fylogenéza

Kladogenéza, anagenéza

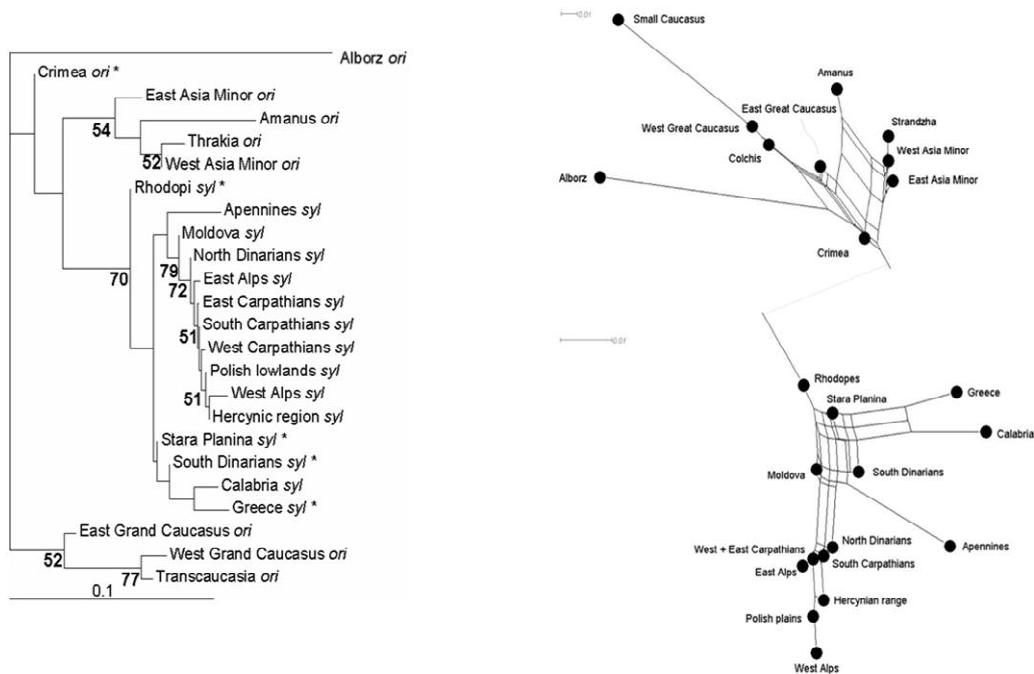
Darwin možno nebol prvý, kto použil termín „strom života“ ako metaforu procesu, ktorým sa život vyvíja (najmä ako protiklad k predstave jednorázového stvorenia života v celej jeho existujúcej rozmanitosti), v každom prípade od publikácie jeho diel sa táto predstava ujala.

Jedince, skupiny jedincov či životné formy sa navzájom odlišujú v rozdielnej miere, niektoré sú veľmi podobné, čo sa týka vzhľadu, štruktúry tela, chemického zloženia, spôsobu života atď., iné sa v týchto aspektoch líšia výrazne. Usporiadanie týchto rozdielov umožňuje identifikovať istú hierarchiu, ktorú reflekтуje a vyjadruje taxonomický systém. Ak sa vrátim k problému spoločného predka, všetky existujúce organizmy zdieľajú základné biochemické charakteristiky: používanie nukleových kyselín ako nositeľa dedičnej informácie, prakticky totožný genetický kód používaný všetkými organizmami, používanie proteínov ako hlavných (takmer výlučných) regulátorov metabolických dráh, úzky sortiment aminokyselín, ktoré sa na tvorbe polypeptidov ako základu proteínov podielajú, použitie lipidov ako materiálu bunkových membrán atď. Všetky tieto spoločné črty vedú k záveru, že živé organizmy zdieľajú spoločného predka (angl. *universal common ancestor*), čo samozrejme nevylučuje existenciu iných foriem života, ktoré mohli fungovať na iných biochemických princípoch a zanikli. Hierarchické usporiadanie živej hmoty súvisí s tým, že ako druhy, tak aj vyššie taxóny ako súbory organizmov vznikli procesom štiepenia, odvetvovania: rozštiepením materskej populácie na dcérské a následnou akumuláciou zmien v dcérskych genetických líniach. Tento proces sa označuje ako fylogenéza, a pozostáva vlastne z dvoch relatívne samostatných procesov riadených odlišnými mechanizmami: kladogenézy, teda štiepenia procesom speciácie a reprodukčnej izolácie, a anagenézy, teda akumulácie zmien v genofonde dcérskych línií. Hoci predmetom záujmu prírodovedcov boli tradične predovšetkým fenotypové zmeny v priebehu fylogenézy, jej príčiny sú v skutočnosti genetické, je spôsobená zmenami dedičnej informácie v rámci súborov organizmov, označovaných ako samostatné taxóny. Skutočnosť, že všetky organizmy fungujú na rovnakých biochemických princípoch, umožňuje používať pre identifikáciu a vymedzenie taxónov molekulárne znaky, ktoré sú do istej miery univerzálné (niektoré zdieľané všetkými organizmami, napr. sekvencie pre rRNA a tRNA, iné zdieľané len určitou skupinou organizmov, napr. chloroplastové gény rastlín) a umožňujú porovnávanie aj extrémne fenotypovo odlišných organizmov.

Fylogenetický proces v obrovskej väčsine prípadov predstavuje sériu rozštiepení (bifurkácií) v rámci genetickej línie. Stromový graf (dendrogram) je preto použiteľný ako vhodný model. Stromový graf pozostáva z uzlov spojených vetvami. Koncové (terminálne) uzly sú predstavované recentnými populáciami resp. taxónmi, ktoré sú zahrnuté do fylogenetickej analýzy (vzhľadom na to, že nemusí ísť o taxóny konkrétnej úrovne, používa sa pre ne termín „pracovná taxonomická jednotka“, angl. *operational taxonomic unit*, OTU), vnútorné (interné) uzly grafu predstavujú ich hypotetických predkov („hypotetická taxonomická jednotka“, angl. *hypothetical taxonomic unit*, HTU). Možnosť priradiť HTU k nejakému fosílnemu taxónu je skôr výnimkou ako pravidlom. Ak dĺžka vetiev grafu zodpovedá množstvu nahromadených anagenetických zmien, dendrogram sa stáva modelom fylogenézy, teda fylogramom, terminálne vetvy však v tomto prípade nekončia na rovnakej úrovni (rýchlosť anagenézy nemusí byť vo všetkých vývojových líniach rovnaká). Zhluky v rámci dendrogramu môžu (ale nemusia) zodpovedať existujúcim formálne uznaným taxonomickým jednotkám. Ak je možné aspoň na úrovni hypotézy určiť, ktorý z interných uzlov predstavuje fylogeneticky najstaršiu formu (teda ktoré HTU sú staršie a ktoré recentnejšie), fylogenetický strom sa označuje ako zakorenený. Cestou k identifikácii takéhoto uzla je zahrnutie fylogeneticky

vzdialenejšej OTU, spravidla sesterský taxón rovnakej úrovne (napr. ak skúmame fylogenézu druhov v rodie *Fagus*, môžeme zaradiť vzorku z iného rodu čeľade Fagaceae, napr. *Quercus*, *Lithocarpus*, *Castanea* a pod.).

Rekonštrukcia fylogenézy sa zakladá na rozsahu, v akom rôzne taxóny (OTU) zdieľajú homologické znaky, teda znaky zdelené od spoločného predka. Komplikáciu pre fylogenetickú analýzu predstavujú homoplázie, teda znaky resp. hodnoty znakov, ktoré sa v evolúcii objavili nezávisle na sebe viackrát, a teda ktoré dvojica OTU nemusela zdedit' od rovnakej HTU (znak „prítomnosť krídla“ u tučniaka, orla a pštrosa je napriek výraznému rozdielu vo vzhľade krídla u týchto taxónov homologický, naopak tento znak netopiera, orla a chrústa predstavuje homoplázie, pretože u týchto taxónov sa vyvinuli nezávisle na sebe a v prípade chrústa aj z odlišných telesných štruktúr). V evolúcii môžu vznikať viacerými mechanizmami, vedúcimi k rôznym typom homoplázií. Paralelizmus je rovnaká hodnota znaku zdieľaná dvomi príbuznými OTU, ktorá sa ale nevyskytovala u ich spoločného predka (HTU), ale vyvinula sa u oboch dcérskych taxónov nezávisle na sebe napr. vďaka rovnakému tlaku prostredia. Pod konvergenciou sa rozumie vyvinutie rovnakých alebo podobných hodnôt znaku u dvoch nepríbuzných linií (napr. spomínané krídlo vtákov a netopierov). Analógia je vonkajšia podobnosť hodnôt znaku vyplývajúca z rovnakej funkcie alebo rovnakého tlaku prostredia, ktorá sa nezakladá na štrukturálnej zhode (napr. krídlo vtákov a krídlo hmyzu).



Obr. 36 Ilustrácia rekonštrukcie fylogenézy na príkladwe regionálnych populácií buka lesného v Eurázii: fylogram (neighbour-joining tree; vľavo) a retikulogram (neighbour-net; vpravo).

Rekonštrukcia fylogenézy na základe zdieľania homológií je založená na predpoklade, že cím skôr došlo k odštiepeniu dvoch línii, tým viac anagenetických zmien sa v nich nahromadilo a teda tým menej homológií budú mať spoločných. Rekonštrukcia vychádza z princípu úspornosti (parsimónie), teda zo všetkých teoreticky možných vývojových stromov je za platný považovaný ten, ktorý pozorované rozdelenie znakov v rámci študovaného súboru OTU je schopný vysvetliť na základe najnižšieho počtu anagenetických zmien.

Problémom tohto prístupu je, že fylogénetu predstavuje ako jednoduchý proces stáleho odštepovalenia. V skutočnosti genetické línie, ktoré sa v minulosti rozštiepili, sa môžu opäť spojiť, čím sa vytvára sieťovitá (retikulatná) štruktúra. K spájaniu môže dôjsť mechaniz-

mami, spomínanými v kapitole *Mikroevolúcia*, teda hybridizáciou, horizontálnym prenosom génov, bunkovou endosymbiózou či endoparazitizmom a pod. V tomto prípade je vhodnejším modelom fylogenézy sieťový graf (retikulogram).

Molekulárne hodiny

Určitá časť genetickej premenlivosti nie je predmetom prírodného výberu. Úseky DNA, ktoré nie sú exprimované do RNA, proteínov a fenotypových znakov (intróny, spacery, repeatívne sekvencie a pod.) často nemajú pre bunku žiadny funkčný význam, mutácia v nich sa nemá ako pozitívne či negatívne odrazíť na biologickej zdatnosti jej nositeľa. To isté sa týka aj mutácií v génoch, ktoré nemenia vlastnosť produktu génu (synonymné mutácie, mutácie spôsobujúce zaradenie aminokyseliny s podobnými chemickými vlastnosťami). Táto časť genetickej variability je teda závislá čisto na náhodných procesoch (mutácie, drift). Akumulácia zmien (substitúcie nukleotidov v DNA či aminokyselín v proteínoch) je teda lineárnej funkciou času. Počet rozdielov v sekvenciách teda odráža čas, kedy sa dve genetické línie oddelili, možno ich teda použiť ako istú formu molekulárnych hodín (angl. *molecular clock*).

Praktické použitie je samozrejme komplikovanejšie. Nie všetky typy mutácií majú rovnakú pravdepodobnosť (tranzicie, teda zámeny Py↔Py, Pu↔Pu, sú častejšie, tranzicie, teda zámeny Py↔Pu, sú zriedkavejšie), výskyt zahrdlenia mení pravdepodobnosť fixácie mutácií, zmena dĺžky generačnej doby v priebehu evolúcie mení časovú škálu (evolučné zmeny prebiehajú z generácie na generáciu, ale predmetom záujmu sú spravidla roky, nie počet generácií) a pod. Preto existuje celý rad modelov molekulárnych hodín, ktoré umožňujú korekcie týchto faktorov. Aj tak však platí, že molekulárne hodiny najlepšie odrážajú reálny priebeh fylogenézy v stredných časových mierkach. Pridlhá mierka evolúcie prináša problém saturácie: zmien je priveľa a zvyšuje sa pravdepodobnosť viacnásobných mutácií rovnakého lokusu (ten istý nukleotid mutuje viackrát) a spätných mutácií. Molekulárne hodiny pochopiteľne vychádzajú zo sekvencie v súčasnosti, viacnásobné zmeny v minulosti nie sú detektovateľné. Závislosť počtu substitúcií na čase teda pri dlhých časových mierkach prestáva byť lineárna. Pri krátkej časovej mierke naopak nová mutácia nemusela byť v odštiepenej genetickej línií fixovaná (teda nemusela nadobudnúť frekvenciu 100%). Odlišné varianty v tomto prípade predstavujú rôzne alely, prítomné v genofonde populácie spoločného predka pôvodnej a odštiepenej línií, čo vedie k vysoko nadhodnoteným odhadom času divergencie.

Priebeh fylogenézy v rôznych úsekoch DNA sa môže odlišovať. Preto je nutné rozlišovať medzi fylogenetickým stromom génu (*gene tree*) a fylogenetickým stromom druhu (*species tree*). Prvý prípad rekonštruuje evolučnú história konkrétnego segmentu DNA, spravidla génu. V druhom prípade je predmetom záujmu rekonštrukcia genealógie taxónu, populácie a pod. Interné uzly stromu tu predstavujú prípady speciácie. Pri rekonštrukcii druhových stromov je nutné dbať na používanie ortologických génov (teda génov identických pôvodom, ktoré spravidla plnia v rôznych líniach rovnakú funkciu) a vyhýbať sa paralogickým génom (teda tým ktoré vznikli v priebehu evolúcie duplikáciou pôvodného génu, zachovali si teda v značnej miere rovnakú sekvenciu, ale mohli nadobudnúť úplne nové funkcie).

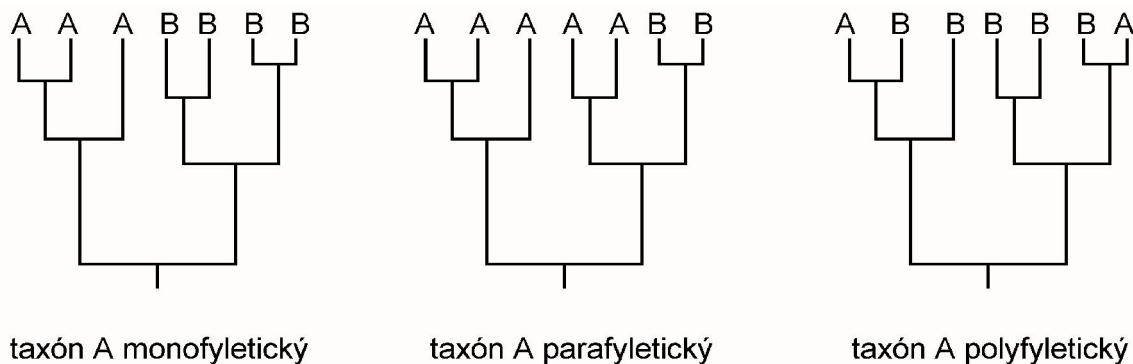
Taxonomické implikácie fylogenézy

Aj keď kritériá genetickej kohézie sa v prísnom slova zmysle vzťahujú len na taxonomickú úroveň druhu, aj u vyšších taxonomických jednotiek sa predpokladá (aj keď tento predpoklad nebýva nutne explicitne vyslovený), že sú založené nielen na vonkajšej podobnosti, ale predovšetkým na genetickej a vývojovej príbuznosti. Taxón ktorejkoľvek úrovne by mal vytvárať jedince, populácie a druhy, ktoré predstavujú rovnakú vetvu vývoja. Každý taxón s výnimkou druhu (a výnimcoľne rodu) je nutne tvorený zmesou vzájomne izolovaných genetických línií. V klasifikačnom systéme by tieto línie mali vytvárať logickú hierarchiu, ktorá čo najvernejšie odráža hierarchický charakter evolúcie, nemali by sa navzájom krížiť či pre-

krývať. Z toho logicky vyplýva, že akýkoľvek taxón by mal obsahovať len druhy, ktoré sú si navzájom príbuznejšie (teda k ich evolučnej divergencii zo spoločného predka došlo neskôr), než je ktorýkoľvek z nich príbuzný s ktorýmkoľvek iným druhom zaradeným do iného taxónu rovnakej alebo vyššej úrovne.

Pokial' zabudneme na možnosť retikulácií (ktorá sa týka maximálne úrovne rodov), fylogenéza prebieha postupnými dichotomickými štiepeniami, teda v konkrétnom čase sa jedna genetická línia rozštiepi na dve (rovnako alebo rozdielne, veľké, na princípe dichotómie to nič nemení). Rekonštrukcia fylogenézy na základe dostupných znakov však nemusí byť schopná rozlíšiť jednotlivé body štiepenia, v tomto prípade sa štiepenie javí ako polytomické (t.j. v jednom uzle začínajú viac ako dve vetvy).

V prirodzenom taxonomickom systéme, ktorý odráža evolučný vývoj, by všetky taxóny mali byť monofyletické, teda zdieľať jediného spoločného predka. Monofylum zahŕňa tohto spoločného predka a všetkých jeho potomkov. Monofyletický rod (napríklad) je teda taký, ktorý zahŕňa všetky druhy, ktoré sa vyvinuli z jedného taxónu, pričom žiadny z jeho potomkov nie je zahrnutý do iného rodu. Pokial' je niektorá vývojová vetva (tvorená jedným alebo viacerými OTU) z monofyla vyčlenená a klasifikovaná samostatne, je takýto taxón označovaný ako parafyletický (príkladom môže byť trieda plazov, z ktorej sú v klasickej Linnéovskej taxonómii vyčlenené vtáky ako samostatná trieda, teda taxón rovnakej úrovne. Podľa pôvodnej koncepcie trieda plazov zahŕňala aj vetvu Synapsida, ktorá zahŕňa cicavce.). Polyfyletický taxón združuje nezávislé vývojové línie spojené vonkajšou podobnosťou a teda nemôže zahŕňať spoločného predka (obr. 37). Typickým príkladom je pôvodný kmeň červy (Vermes), ktorý predstavuje zmes navzájom nezávislých vývojových línií, ktoré spája len podobná stavba tela. Moderná taxonómia nepripúšťa existenciu polyfyletických taxónov.



Obr. 37 Príklady monofyletickej, parafyletickej a polyfyletickej taxónu

Koevolúcia

V prirodzených ekosystémoch organizmy vstupujú do veľkého množstva vzájomných interakcií a musia sa adaptovať nielen za zmeny abiotického prostredia, ale aj na zmeny zloženia spoločenstiev, ktorých súčasť tvoria. Evolučný vývoj jedného organizmu logicky vyvolá nutnosť zmien iných organizmov, ktoré sú na ňom závislé (parazity, symbionty atď.). Túto previazanosť a vzájomnú podmienenosť evolučného vývoja skupín organizmov vystihuje pojem koevolúcia. Zrejmým prejavom koevolúcie je rozšírený výskyt monofágnych druhov hmyzu; spoločenstvá listožravého hmyzu sú spravidla prísne viazané na hostiteľský druh dreviny. Koevolúcia sa samozrejme prejavuje aj na nižšej taxonomickej úrovni, než je druh: rôzne genotypy lesných drevín často hostia špecifické spoločenstvá ektomykoríznych a parazitických hub, herbivorného hmyzu atď., pričom miera odlišnosti závislých spoločenstiev tesne koreluje s mierou genetickej nepodobnosti medzi jedincami resp. genetickej divergencie medzi populáciami.

HYBRIDIZÁCIA

Vnútrodruhová, medzidruhová, medzirodová hybridizácia

V biológii je termín hybridizácia vždy spojený s pohlavným rozmnožovaním. V tom najširšom zmysle slova je pod ním myšlené splynutie akýchkoľvek dvoch gamét nesúcich odlišné gény do zygoty, teda vznik heterozygotného jedinca.

Táto definícia je z praktického hľadiska neveľmi použiteľná, pretože je príliš široká. V tomto zmysle by prakticky všetky jedince akéhokoľvek pohlavne sa množiaceho druhu boli hybridmi. Preto sa tento pojem spravidla zužuje na kríženie jedincov, ktorí sú navzájom odlišní v nejakom biologicky relevantnom aspekte: fenotypovo (sú zaraďovaní k odlišným taxónom akejkoľvek úrovne, vrátane vnútrodruhovej), geneticky (patria k odlišným genetickým líniám, napr. rôznym ekotypom, pochádzajú z rozdielnych glaciálnych refúgií a pod.) alebo inak.

K hybridizácii pochopiteľne najľahšie dochádza na úrovni vnútrodruhovej; už zo samotnej definície druhu (ak sa držíme kohéznej či biologickej konceptie druhu) vyplýva, že jedince v rámci druhu by mali byť navzájom krížiteľné, aj keď patria ku geograficky či fylogeneticky vzdialeným populáciám. Na úrovni medzidruhovej prebieha hybridizácia takisto, aj keď sa biológovia dlho domnievali, že ide o okrajový fenomén, ktorého produkty sa môžu uplatniť len na špecifických alebo človekom narušených stanovištiach, a vztahuje sa predovšetkým na rastliny, u živočíchov je výnimočný. Až masové rozšírenie nástrojov molekulárnej biológie v posledných desaťročiach umožnilo zistiť, že v skutočnosti ide o rozšírený jav. U rastlín sa podiel druhov, ktoré sú vo väčšej či menšej miere zapojené do medzidruhovej hybridizácie, odhaduje až na štvrtinu. V prípade živočíchov je tento podiel súčasťou nižší, ale napriek tomu ide o masový jav. Najvyššia taxonomická úroveň, na ktorej prebieha hybridizácia v prírode, je úroveň medzirodovej hybridizácie, aj keď je častejšia v čeľadiach, v ktorých je rodová príslušnosť druhov sporná a býva predmetom revízií (u rastlín čeľade Rosaceae, Orchidaceae, Poaceae, u živočíchov Canidae, Felidae, Bovidae, Phasianidae atď.). Mnohé z týchto hybridov (najmä živočíšnych) vznikli súčasťou prirodzenou cestou, ale v umelých podmienkach zoologických záhrad, polnohospodárskych chovov a pod. Umelou hybridizáciou boli dokonca dosiahnuté aj hybrydy medzi čeľadami, aj keď ide o extrémne zriedkavé prípady.

V podkapitole *Reprodukčná izolácia* boli popísané mechanizmy, ktoré bránia vzájomnému kríženiu jedincov. Pochopiteľne, čím sú dva jedince vzdialenejšie z hľadiska kladogenézy (teda čím viac času uplynulo od odštiepenia ich vývojových línií od spoločného predka), tým vyššia je šanca, že sa v dôsledku anagenézy takéto reprodukčné bariéry vytvorili a tým účinnejšie tieto bariéry môžu byť. Miera vzájomnej krížiteľnosti, vyjadrovaná podielom života schopného potomstva v porovnaní s vnútrodruhovým krížením (napr. podielu klíčivých semien) teda dobre odráža fylogenetickú príbuznosť a môže byť veľmi užitočným indikátorom v taxonómii.

Homoplaidná a alloplaidná hybridizácia, introgresia, apomixia

Podmienkou úspešnej hybridizácie je spravidla (aj keď nie nutne) rovnaká veľkosť chromozómových sád v oboch gamétach. Spojenie dvoch haploidných gamét sa označuje ako homoplaidná hybridizácia, nedochádza pri nej k zmene ploidie. Homoplaidné hybrydy sú často sterilné. Príčiny sterility môžu byť veľmi rozmanité, od inkompabilitu jadrového a organelárneho genómu, nízka homológia chromozómov v dôsledku rozsiahlejších chromozómových mutácií (spravidla inverzií a translokácií), narušenie epistatických interakcií medzi génmi alebo naopak vytvorenie nových (narušenie fyziologických procesov alebo biochemických dráh) a pod. V tomto prípade je výskyt hybridov v prirodzených populáciách (niekedy aj s vysokým podielom) len výsledkom opakovanej hybridizácie, a nie stabilizácie hybridogénnych genetických línií. Výnimočná však nie je ani situácia, že hybrydy sú plne fertilné a

schopné nielen produkovať funkčné gaméty, ale aj krížiť sa navzájom alebo späťne s niektorým z rodičovských druhov. V takejto situácii môže dochádzať k introgresii, teda zanášaniu génov jednej genetickej línie (napr. druhu) do genofondu inej. Vzhľadom na voľnú krížiteľnosť hybridov s jedným alebo oboma rodičovskými druhmi vznikajú opakovaným spätným krížením prechodné jedince s rozdielnym podielom oboch genofondov, čo sa navonok fenotypovo prejavuje ako súbor jedincov vykazujúcich postupný plynulý prechod vo všetkých znakoch medzi rodičovskými druhmi. Takéto zmesi čistých a prechodných fenotypov sa označujú ako hybridné roje (ang. *hybrid swarm*). Ak sú rodičovské druhy sympatrické, introgresia skôr či neskôr vedie k ich zániku a splynutiu do jednej voľne sa krížiacej populácie. V tomto prípade si môžu udržať druhovú integritu len vtedy, ak sú hybridy alebo hybridné roje viazané na špecifické stanovištia, na ktorých vykazujú vyššiu biologickú zdatnosť v porovnaní s rodičmi. Dobrým príkladom sú populácie hybridov *Pinus uliginosa* (= *P. sylvestris* × *P. mugo*), ktoré sa vyskytujú na rašeliniskách strednej Európy, kde sa hybridy dokážu presadiť oproti rodičovským druhom, na rozdiel od stanovišť typických pre kosodrevinu alebo borovicu lesnú. V prípade peripatrických rodičovských druhov vzniká na styku ich areálov hybridná zóna. Jej šírka závisí od intenzity toku génov a v priebehu času sa postupne zväčšuje:

$$1/T = 2\pi(\sigma/w^2)$$

(T je čas meraný počtom generácií, w je šírka hybridnej zóny a σ je axiálna vzdialenosť prenosu génov za generáciu). Introgresia môže byť asymetrická (t.j. medzidruhový tok génov do genofondu jedného druhu je intenzívnejší než opačným smerom), či už v dôsledku nerovnej vzájomnej krížiteľnosti rodičovských druhov, alebo v dôsledku výrazne nerovnej početnosti rodičovských populácií.

Pokiaľ je príčinou sterility hybridov nedostatočná homológia chromozómov, pochádzajúcich od jedného a druhého rodičovského druhu (odlišnosť štruktúry chromozómu resp. usporiadania génov), môže byť prekonaná zdvojením chromozómových sád. Tento typ hybridov teda obsahuje dve dvojice chromozómových sád, pochádzajúce od rozdielnych rodičovských druhov, a mechanizmus sa označuje ako alloploidná hybridizácia (viď podkapitola *Genómové mutácie*).

Aj v prípade, ak je hybrid sterilný, môže hybridizácia viest' ku vzniku novej stabilnej línie. Pri rastlinách prichádza do úvahy ako stratégia prezívania nepohlavné rozmnožovanie, teda apomixia. Tento termín sa používa v rozdielnych kontextoch. V širšom zmysle slova zahŕňa akúkoľvek formu nepohlavného rozmnožovania, teda vrátane vegetatívneho množenia poplazmi, rizómami, fragmentáciou a podobnými mechanizmami. Niektoré rastliny si vytvárajú špecializované orgány (pacibul'ky), ktoré sú ľahko oddeliteľné a dobre sa šíria (*Poa alpina*, *Dentaria bulbifera*). Apomixia v užšom zmysle alebo agamospermia je rozmnožovanie pomocou semien, ktoré nevznikli pohlavnou cestou. Mechanizmov agamospermie existuje viac: embryo sa môže vyvíjať z neredukovanej neoplodnej megaspóry (diplospória) alebo z normálnej diploidnej bunky sporofytu (aposória). Pri niektorých apomiktických druhoch je však opelenie nutné pre vznik semena – aj keď sa peľ nepodieľa na vzniku samotnej zygoty, musí jedno zo samčích jadier splynúť s pôlovým jadrom zárodočného vaku, aby sa mohol vyvinúť endosperm.

Existuje pomerne málo obligatórne apomiktických druhov či rodov, a spravidla nepretrvávajú v evolúcii dlho. Príčinou je postupné hromadenie mutácií, ktoré sa vzhľadom na absenciu rekombinácie génov nemá ako odstrániť. Aj v prípade, ak ide o mierne škodlivé mutácie, postupne znižujú priemernú životoschopnosť jedincov v populácii a vedú časom k jej úplnému zániku. Tento mechanizmus sa označuje ako Mullerova račna (rohatka; angl. *Muller's ratchet*). Naopak, fakultatívne apomiktické rastliny, ktoré kombinujú schopnosť kopírovať najúspešnejšie genotypy apomixiou so schopnosťou generovať dedičnú premenlivosť občasným alebo častým pohlavným množením, sú pomerne bežné.

V závislosti na účinku génov, ktoré hybridy zdedili od rodičovských druhov, môžu byť vo svojich znakoch totožné s jedným rodičom, predstavovať fenotypový prechod, alebo sa vymykať z intervalu fenotypových hodnôt rodičov (tento jav sa označuje ako transgresia, resp. v prípade; ak sa jedná o znak asociovaný s biologickou zdatnosťou a hybrid v ňom prevyšuje oboch rodičov, hovoríme o heteróze). Spravidla fenotyp hybrida predstavuje kombináciu týchto troch prípadov, teda vo výsledku sa hybrid fenotypovo odlišuje od oboch rodičovských druhov. Ak je hybridná genetická línia reprodukčne izolovaná od rodičovských druhov (vzájomná nekrižiteľnosť, odlišné ekologické nároky a pod.), môže sa vyvinúť na samostatný hybridogénny druh. U mnohých druhov nie je ich hybridný pôvod zjavný a až rozvoj molekulárnych metód pomohol ho odhaliť.

GENETICKÉ ZDROJE A ICH ZACHOVANIE

Genofond a genetické zdroje

Pod pojmom genofond rozumieme súhrn všetkých genetických informácií (génov a ich alelických variantov) konkrétneho rastlinného alebo živočíšneho druhu. Niekoľko, najmä pri rastlinách, ktoré sa rozmnožujú aj vegetatívne, je tento pojem rozšírený aj na súhrn genotypov, t.j. konkrétnych kombinácií alel u jedincov druhu.

Rovnako, ako je možné hovoriť o genofonde druhu, je možné použiť tento pojem aj pre súhrn genetických informácií resp. genotypov konkrétnej populácie. Jednotlivé varianty génov nie sú rovnomerne zastúpené v celom areáli druhu. Jednotlivé populácie sa od seba odlišujú genetickou štruktúrou v dôsledku adaptácie na podmienky prostredia konkrétneho stanovišťa prostredníctvom prírodného výberu, a v dôsledku rozdielnych migračných ciest a ďalších okolností počas rekolozinácie súčasného areálu v poľadovom období.

Užitočnosť ktorejkoľvek alely nie je možné hodnotiť apriórne. Alely, ktoré sa ukazujú ako nevhodné, či dokonca letálne v určitých podmienkach, môžu svojim nositeľom v iných podmienkach prinášať selektívne zvýhodnenie. Exemplárnym príkladom je alela spôsobujúca kosáčikovitú anémiu (kap. *Selekcia*), ktorá ale zároveň poskytuje svojim nositeľom rezistenčiu voči malárii. Ale nie je nutné zachádzať k takýmto extrémnym prípadom, aj dva genotypy, ktoré sa v súčasnosti javia ako úplne ekvivalentné, sa môžu odlišovať v odolnosti voči novým, doteraz neexistujúcim stresovým faktorom (nové patogénne organizmy, škodcovia, nový typ imisií a pod.). Snahou človeka teda musí byť udržať genofond pokial' možno v celej jeho šírke a geografickej štruktúre.

Pojem genetické zdroje je často stotožňovaný s pojmom genofond, ale správnejšie by sa mal vzťahovať na organizmy samotné. Ak genofond je súbor génov, genetický zdroj je súbor ich nositeľov. Pod genetickými zdrojmi rozumieme teda konkrétné jedince, a ich súbory vzniknuté prirodzene (lokálne prirodzené subpopulácie) alebo umelo vytvorené človekom (botanické a zoologické záhrady, archívy biologického materiálu, pokusné plochy a pod.).

Podľa Dohody o biologickej rozmanitosti biologické zdroje predstavujú „organizmy alebo ich časti, populácie alebo akékoľvek iné biotické súčasti ekosystémov s aktuálnym alebo potenciálnym využitím resp. hodnotou pre ľudstvo“. Pre genetické zdroje uvádzajú konvencia stručnejšiu definíciu: „genetický materiál (akýkoľvek materiál rastlinného, živočíšneho, mikrobiálneho či iného pôvodu, obsahujúci funkčné jednotky dedičnosti), ktorý obsahuje gény so súčasnou či potenciálnou hodnotou pre ľudí“. Obe definície teda zdôrazňujú aspekt využiteľnosti génov či biologického materiálu pre praktické (skôr by bolo možné povedať hospodárske) účely. Na jednej strane je to logické, pretože problematika genetických zdrojov sa prioritne zameriava na organizmy priamo alebo nepriamo využívané v polnohospodárstve, na druhej strane takéto poňatie koncepcie biologických a genetických zdrojov ignoruje inherentné hodnoty prírody ako takej. Konvencia kladie veľký dôraz na trvale udržateľné využívanie (definované ako „využívanie zložiek biologickej rozmanitosti takým spôsobom a v takej miere, ktorá nevedie k poklesu biologickej rozmanitosti v dlhod-

bej perspektíve a teda udržiava jej potenciál pre plnenie potrieb súčasnej a budúcich ľudských generácií“), takže stále berie človeka ako referenčný štandard, ktorým pomeriava prírodné hodnoty. V úzkom utilitárnom chápaní sa teda pojem „genetické zdroje“ vzťahuje na organizmy priamo hospodársky využívané človekom (poľnohospodárske plodiny a ich divisorastúci príbuzní, hospodárske lesné dreviny, hospodárske zvieratá, priemyselne využívané mikroorganizmy). Širšie chápanie tohto termínu berie do úvahy hodnotu prírody ako takej pre človeka (kedže človeka berie ako súčasť ekosystému Zeme) a teda rozširuje ho aj na organizmy, ktoré človek priamo hospodársky nevyužíva, ale ktoré takisto prispievajú k dlhodobej existencii ľudskej spoločnosti.

Podľa miery narušenia pôvodnej genetickej štruktúry rozlišujeme genetické zdroje:

- **primárne** – nenarušené činnosťou človeka
- **sekundárne** – zdroje, ktorých genetická štruktúra je ovplyvnená hospodárením alebo inou ľudskou činnosťou
- **terciárne** – syntetické, človekom vytvorené populácie

Genetické zdroje môžu byť ohrozené prírodnými faktormi (choroby charakteru epidémií, ohrozujúce existenciu celého druhu, napr. gráfioza brestov, abiotické a biotické škodlivé činitele, ohrozujúce lokálne populácie) a činnosťou človeka (nevzhodné hospodárske postupy, imisie a pod.). Motiváciou pre špecifické programy zamerané na ich zachovanie je najmä skutočnosť, že moderné poľnohospodárstvo využíva obmedzený sortiment plodín, naviac spravidla s úzkou genetickou základňou, čo je v ostrom kontraste s veľkým počtom geneticky diferencovaných lokálnych rás a odrôd, ktoré boli hospodársky využívané ešte pred párom generáciami. Prax ukázala, že poľnohospodárske variety s úzkou genetickou bázou sú mimoriadne ohrozené systematicky sa objavujúcimi novými patogénmi a inými škodlivými činiteľmi. Jedinou prakticky aplikovateľnou cestou pre šľachtitelia aj dnes zostáva hľadanie génov pre rezistenciu v starších odrodách a divisorastúcich populáciach. Ani pokročilé technológie genetických manipulácií nedokážu nahradiť prírodenú premenlivosť ako zdroj génov a komplexov vzájomne interagujúcich génov pre odolnosť voči novým zdrojom rizík.

Pre zachovanie genofondu je základným ukazovateľom minimálna veľkosť životaschopnej populácie (angl. *minimum viable population*; MVP), ktorá je výsledkom analýzy životaschopnosti populácie (angl. *population viability analysis*; PVA). MVP predstavuje spodnú hranicu početnosti, ktorá umožňuje populácii prežitie v prirodzených podmienkach tak, aby nebola ohrozená vyhynutím v dôsledku prírodných katastrof alebo náhodných faktorov súvisiacich s demografickými a genetickými procesmi alebo kolísaním podmienok prostredia. Spravidla sa táto koncepcia vzťahuje na divožijúce či divisorastúce populácie, ale v princípe nič nebráni jej použitiu aj pre populácie existujúce pod kuratelou človeka. MVP je spravidla kvantifikovaná ako veľkosť populácie, ktorá s definovanou pravdepodobnosťou (spravidla 50–95%) zaistí ďalšiu existenciu populácie po definovanú dobu (definovanú časom alebo počtom generácií). Analýza životaschopnosti populácie vychádza z dostupných údajov o populácii, spravidla pozorovania prítomnosti/neprítomnosti na lokalitách, údajov o početnosti v priebehu niekoľkých rokov, zriedkavejšie podrobnejších demografických údajov (pochopiteľne, čím presnejšie a podrobnejšie sú vstupné údaje, tým spoľahlivejšia je predikcia prežitia populácie). Ďalším typom vstupných údajov sú informácie o podmienkach prostredia, prípade predikcia ich ďalšieho vývoja (napr. modely klimatickej zmeny). PVA následne využíva demografické modely pre odhad budúceho vývoja populácie s využitím simulačných a randomizačných algoritmov. Odhad MVP vychádza z opakovania simulácií rádovo stovky až tisíce krát. Pravdepodobnostné rozdelenie odhadov budúcej početnosti je spravidla výrazne ľavostranne asymetrické (spravidla je modelované lognormálnym rozdelením) a umožňuje modelovať čas do vymiznutia populácie (angl. *time to extinction*). Z hľadiska genetických rizík odhad MVP spravidla zohľadňuje riziko akumulácie inbreedingu (a z neho vyplývajúcej narastajúcej inbrednej deprezie, znižujúcej biologickú zdatnosť

členov populácie) a genetických efektov zahrdenia, teda genetického driftu. Odhad MVP sa líšia podľa taxonomických a bionomických skupín organizmov, rádovo sa však pohybujú v tisícoch jedincov (tab. 14).

Tab. 14 Odhad minimálnej veľkosti životaschopnej populácie na základe metaanalýzy publikovaných dát (Traill et al. 2007)

Organizmy	Medián MVP	95% IS
Cicavce	3876	2261–5095
Vtáky	3742	2544–5244
Hmyz	10841	1650–103625
Rastliny	4842	2512–15992
Všetky druhy	4169	3577–5129

Metódy zachowania a záchrany genetických zdrojov

Genetické zdroje chrániť a zachovávať v mieste ich prirodzeného výskytu, t.j. *in situ*. Pokial' existuje riziko zániku lokálnych populácií alebo hospodársky cenných genotypov, alebo pokial' je to technicky jednoduchšie, existuje možnosť ich ochrany ex situ, t.j. ich evakuácie mimo priamo ohrozených miest. Miera, v akej sa využíva jedna alebo druhá skupina metód, výrazne závisí od toho, o ktorú skupinu organizmov sa jedná. Ako už bolo uvedené, programy zachowania genetických zdrojov sa primárne orientujú na organizmy priamo hospodársky využívané človekom, ovšem aj u nich sa miera ich domestikácie resp. aktuálneho zasahovania človeka do ich populácií môže výrazne odlišovať.

U domestikovaných druhov, najmä u polnohospodárskych plodín, predmetom záujmu nemusia byť len tieto druhy ako také, ale často aj populácie ich divočajúcich príbuzných. U druhov s nízkym stupňom domestikácie (napr. lesných drevín) sú predmetom záujmu opäť primárne prirodzené populácie. Optimálne je, ak ich dokážeme chrániť *in situ*. Existujú na to ako všeobecné, tak aj špecifické nástroje. K všeobecným nástrojom patria predovšetkým nástroje ochrany prírody. V chránených územiach, najmä v prípade bezsahového režimu (národné prírodné rezervácie), sa populácie majú možnosť adaptovať na meniacu sa prostredie prírodným výberom a epigenetickými mechanizmami. Prirodzené mechanizmy reprodukcie dovoľujú najširšie možné zapojenie členov populácie do reprodukčných procesov, čo maximalizuje šancu, že aj zriedkavé alelické varianty prítomné v genotypoch populácie sa odovzdajú naslednej generácii. Z hľadiska lesného hospodárstva je najdôležitejšia a zároveň najproblematickejšia ochrana sekundárnych genetických zdrojov, t.j. obhospodarovaných lesných porastov. Pre ich ochranu *in situ* slúžia predovšetkým génové základne resp. génové rezervácie (*gene reserves*). V zmysle zákona č. 217/2004 Z.z. resp. 138/2010 Z.z. pod génovou základňou rozumieme komplex porastov obhospodarovaný s prioritou zachowania genofondu drevín, pre ktoré bola zriadená. Génová základňa by mala obsahovať predovšetkým pôvodné, autochtónne porasty. V odôvodnených prípadoch je však možné vyhlásiť za GZ aj nepôvodné porasty, pokial' sú dobre adaptované na lokálne podmienky prostredia. V GZ by vekové triedy mali byť rovnomerne zastúpené. Táto podmienka si vyžaduje dostatočnú rozlohu GZ, v súčasnosti sa pri hlavných drevinách za minimálnu rozlohu považuje 100 ha. Pri zriedkavých drevinách je prípustná aj menšia rozloha. V našich podmienkach sa špecifický režim hospodárenia vzťahuje len na GZ samotnú, v zahraničí býva spravidla tvorená jadrom (*core zone*), ktoré je chránené ochranným pásmom (*buffer zone*). Obhospodarovanie porastov v GZ sa zameriava na dosiahnutie prirodzenej obnovy dreviny, pre ktorú bola zriadená. Ak sa nepodarí dosiahnuť prirodzenú obnovu, umelá obnova je prípustná len reprodukčným materiálom, pochádzajúcim z GZ. Koncepcia génových rezervácií je v princípe použiteľná pri ľubovoľných organizmoch, ale vo väčšom rozsahu sa využíva len pri drevinách. Za určitú formu ochrany genetických zdrojov *in situ* možno považovať aj ďalšie zdroje reprodukčného

materiálu drevín, ako sú uznané porasty (t.j. porasty, v ktorých je vzhľadom na ich fenotypovú kvalitu povolený zber semien), v ktorých je obhospodarование rovnako zamerané na dosiahnutie prirodzenej obnovy.

Niekteré populácie sú na svojich pôvodných stanovištiach extrémne ohrozené a ich zachovanie (v tomto prípade možno hovoriť doslova o záchrane) si vyžaduje premiestnenie mimo ohrozenia. Naviac, v prípade poľnohospodárskych plodín a hospodárskych zvierat, ktoré sú predmetom domestikácie a šľachtenia už po tisíce rokov, sa programy zachowania genofondu zameriavajú prednostne na terciárne genetické zdroje (ťažko tu aj hovoriť o iných kategóriách genetických zdrojov), ktoré existujú takmer výlučne *ex situ*. To isté sa samozrejme týka priemyselne využívaných húb a mikroorganizmov.

Hlavným typom *ex situ* opatrení sú génové banky, čiže zariadenia, v ktorých sú uchovávané organizmy alebo ich časti, použiteľné pre ďalšie rozmnožovanie. Konkrétny uskladnený materiál môže byť rozdielny, sú naň v princípe len dve požiadavky – aby bolo možné uskladňovať ho dlhodobo (rádovo roky až desiatky rokov) bez straty životoschopnosti, a aby umožňoval po ukončení skladovania prenos génov do následnej generácie.

V prípade rastlín najčastejším typom materiálu uskladňovaným v génových bankách sú semená. U mnohých rastlín je možné uchovávať ich v špecifických podmienkach (spravidla vysušené na optimálnu vlhkosť a zmrazené) na pomerne dlhú dobu. V génovej banke poľnohospodárskych plodín, ktorú spravuje Centrum výskumu rastlinnej výroby (CVRV) v Piešťanoch, sú semená uskladňované pri -17°C na plánovanú dobu minimálne 50 rokov. Uskladnené vzorky sú rozdelené na aktívnu kolekciu, ktoré je obmieňaná rýchlejšie a uskladňovaná pri vyšších teplotách ($0\text{--}4^{\circ}\text{C}$) a základnú kolekciu, okrem toho je vytvorená aj rezervná bezpečnostná kolekcia v ČR (VÚRV Praha-Ruzyně). Pri lesných drevinách funkcia génovej banky zabezpečuje OZ Semenoles podniku Lesy SR, š.p. v Liptovskom Hrádku, ktorý časť svojich skladovacích kapacít vyčlenil pre tento účel.

V génovej banke je možné uskladňovať aj pel'. Opäť pri vysušení na optimálnu teplotu a hlboko zmrazený je možné uchovať pel' bez podstatnej straty kľivosti na takmer neobmedzenú dobu.

Pri viacerých kultúrnych plodinách prichádza do úvahy aj metóda explantátových kultúr; rastliny sú v podmienkach *in vitro* systematicky prenášané vždy na nové živné médium. Na Slovensku touto technológiou funguje génová banka odrôd zemiakov vo Výskumnom a šľachtitelskom ústave zemiakárskom Veľká Lomnica. Pri niektorých druhoch (vrátane lesných drevín) je schodnou cestou kryokonzervácia: pletivová kultúra alebo somatické embryo sú pri extrémne nízkych teplotách (tekutý dusík, -196°C) uskladniteľné opäť takmer neobmedzene.

V prípade živočíchov najčastejšie uchovávaným typom materiálu sú hlbokozmrazené spermie, u cicavcov prichádza do úvahy aj skladovanie embryí, prípadne oocytov (tekutý dusík).

Bežnou a široko využívanou formou zachowania genofondu je chov resp. pestovanie v zoologických a botanických záhradách, arborétach a pod. Táto forma má samozrejme svoje limity, nutnou podmienkou je udržanie dostatočne veľkej reprodukčnej populácie a zaistenie toku génov (ktorý v tomto prípade musí zaistíť človek). Často tu chýba spoločnosť informácia o geografickom pôvode materiálu, ale najmä pri kriticky ohrozených druhoch môžu významne napomôcť ich záchrane.

Najmä u rastlín možno využiť rozmanité typy zbierok genetického materiálu a reprodukčných výsadieb. V prípade lesných drevín sú široko využívané klonové archívy, v ktorých sú zakonzervované genotypy výberových stromov, t.j. hospodársky najcennejších jedincov. Aj semenné sady, obsahujúce takisto kópie výberových stromov, ale slúžiace primarily pre produkciu semena, môžu byť využité ako zdroj genofondu pre praktické účely. Semenné porasty naopak kopírujú genofond hospodársky najcennejších populácií (tzv.

uznaných porastov).

Špecifickú formu terciárnych genetických zdrojov predstavujú pokusné výsadby – presadzovacie pokusy, testy potomstiev a pod., ktoré sú zakladané primárne s iným cieľom, ale v konkrétnych prípadoch môžu poslúžiť pre rekonštrukciu genofondu vybraných populácií alebo súborov jedincov alebo genotypu vybraných jedincov (klonové testy).

Inštitucionálne a právne rámce ochrany genetických zdrojov

Inštitucionálne zastrešuje problematiku ochrany genetických zdrojov v celosvetovom meradle konzorcium CGIAR (*Consultative Group on International Agricultural Research*), fungujúce ako globálne partnerstvo organizácií zaoberajúcich sa problematikou poľnohospodárstva a potravinárstva. Zahŕňa 15 členských centier, ale úzko spolupracuje s rádovo stovkami ďalších partnerských inštitúcií, najmä národných či medzinárodných výskumných ústavov, univerzít, NGO a so súkromným sektorm. Hlavnými úlohami CGIAR je identifikácia významných problémov globálneho rozvoja, k riešeniu ktorých môže dopomôcť veda, zhromažďovanie a diseminácia informácií o týchto problémoch, vývoj vedeckých a výskumných programov pre ich riešenie, monitoring a evaluácia, uchovávanie, vyhodnocovanie a zdieľanie genetických zdrojov, posilňovanie kompetencií a vedomostí v poľnohospodárskom výskume v celosvetovom merítku. Ochrana genetických zdrojov je samozrejme len jednou z aktivít (aj keď jednou z najvýznamnejších), ktorým sa konzorcium venuje. Jedným z členov konzorcia CGIAR je Biodiversity International (bývalý Medzinárodný ústav pre rastlinné genetické zdroje; *International Plant Genetic Resources Institute*; IPGRI) so sídlom v Ríme, ktorý je z hľadiska Európy najrelevantnejšou organizáciou. Významné aktivity v oblasti zachovania genofondu vykonáva aj Organizácia spojených národov pre poľnohospodárstvo a potravinárstvo (*Food and Agriculture Organization*; FAO) a Medzinárodný fond pre poľnohospodársky rozvoj (*International Fund for Agricultural Development*; IFAD).

Ako bolo spomenuté, v širšom chápání sa pod genetickými zdrojmi rozumejú nielen zdroje pre hospodárske využitie, ale nositelia genetickej diverzity ako takej. Preto je okrem špecializovaných inštitúcií ochrana genetickej diverzity predmetom záujmu aj inštitúcií, ktoré sa zaoberajú ochranou prírody. Svetová únia ochrany prírody (*International Union for the Conservation of Nature*, IUCN) definuje ako cieľ ochrany prírody „udržanie existujúcej genetickej diverzity a životoschopných populácií pre udržanie biologických interakcií, ekologickej procesov a funkcií“.

Problematiky genetických zdrojov sa dotýka celý rad medzinárodnoprávnych noriem a dohôd. Z tých, ktoré sú relevantné pre Európu, je najvýznamnejšou už spomínaná Dohoda o biologickej rozmanitosti (*Convention on Biological Diversity*, CBD), prijatá v rámci Konferencie Spojených národov o životnom prostredí a rozvoji (UNCED) v Rio de Janeiro v roku 1992. Na summite sa nepodarilo dosiahnuť spoločnú dohodu, týkajúcu sa špecificky problematiky lesov, ale účastníci prijali aspoň právne nezáväzné Prehlásenie o princípoch pre globálny konsenzus o obhospodarovaní a trvalo udržateľnom rozvoji všetkých typov lesov (*Statement of Principles for a Global Consensus on the Management and Sustainable Development of All Types of Forests*, skrátene *Statement of Forest Principles*), ktoré uznalo dôležitosť lesov ako bohatého zdroja biologickej rozmanitosti a biologických zdrojov a zdrojov genetického materiálu pre biotechnologické produkty. Problematiku ochrany rastlín v rámci CBD rieši Globálna stratégia pre ochranu rastlín (*Global Strategy for Plant Conservation*, GSPC), prijatá 187 krajinami v roku 2002 a revidovaná v r. 2010. Ako neformálny a právne nezáväzný dokument nadväzujúci na GSPC bola v roku 2000 prijatá Medzinárodná agenda pre botanické záhrady v ochrane prírody (*International Agenda for Botanic Gardens in Conservation*), ku ktorej pristúpilo vyše 500 botanických záhrad a arborét z celého sveta (zo Slovenska Arborétum Mlyňany), a ktorá ako jeden z hlavných bodov svojej stratégie zdôrazňuje

zachovanie genetickej diverzity rastlín ako cestu k zabráneniu straty druhov a ochudobnenia biologickej diverzity. Analogicky v prípade živočíchov Svetová organizácia zoologických záhrad a Odborná skupina pre chov v zajatí IUCN publikovali v r. 1993 Svetovú stratégiu ochrany pre zoologické záhrady (*World Zoo Conservation Strategy*), revidovanú v r. 2005 a 2009.

Právne záväznou normou je Medzinárodná dohoda o rastlinných genetických zdrojoch pre potravinárstvo a poľnohospodárstvo (*International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture*, ITPGRFA), prijatá na konferencii FAO v roku 2001. K jej cieľom patrí aj zachovanie a trvalo udržateľné využívanie genetických zdrojov rastlín pre pôdohospodárstvo a výrobu potravín, a spravodlivé a rovnomerné využívanie úzitku, vyplývajúceho z ich využívania v súlade s Dohodou o biologickej diverzite.

Pre ochranu genetických zdrojov lesných drevín v európskych krajinách vrátane Slovenska sú z právne nezáväzných nariem najdôležitejšie tie, ktoré vyplývajú z rezolúcií Medzinárodných konferencií o ochrane lesov v Európe (*Ministerial Conferences on the Protection of Forests in Europe*, MCPFE), keďže napriek nezáväznosti sú všeobecne akceptované. Proces ministerských konferencií zahŕňa 45 európskych krajín, pozorovateľov z 13 mimoeurópskych štátov, vrátane najdôležitejších partnerov z OECD (USA, Kanada, Japonsko, Austrália, Nový Zéland) a najväčších rozvojových krajín (Čína, India, Brazília), a 29 pozorovateľských organizácií (FAO, UNDP, UNECE, IUFRO, IUCN, ITTO, IPGRI, ale aj Greenpeace, WWF a iné). Pre problematiku zachowania a ochrany lesných genetických zdrojov je významná predovšetkým rezolúcia č. 2 prvej ministerskej konferencie, ktorá sa konala v roku 1990 v Štrasburgu (S2). Pre implementáciu tejto rezolúcie bol zriadený program EUFORGEN, ktorého zastrešujúcim inštitúciu je Biodiversity International. K cieľom programu EUFORGEN patrí výmena údajov a informácií, vývoj spoločných stratégii zachowania a ochrany genetických zdrojov, vypracovávanie technických smerníc a databáz, zvyšovanie verejnej informovanosti o tejto problematike. Štvrtá ministerská konferencia, ktorá sa konala vo Viedni v roku 2003 pod spoločným predsedníctvom Rakúska a Poľska (*Living Forest Summit*) prijala deklaráciu, ktorá zdôrazňuje úlohu lesov ako základu pre udržanie života na Zemi. Z výstupov viedenskej konferencie je pre problematiku LRM najdôležitejšia rezolúcia 4 o zachovaní a podpore biologickej diverzity lesov v Európe. Okrem iných záväzkov kladie rezolúcia V4 dôraz na obnovu biologickej rozmanitosti v degradovaných lesoch, podporu domácich druhov drevín a ochranu pred negatívnymi vplyvmi inváznych drevín, podporuje zachovanie lesných genetických zdrojov ako integrálnu súčasť trvalo udržateľného lesného hospodárstva a odporúča pokračovanie celoeurópskeho procesu v tejto oblasti.

Biodiverzita vrátane genetickej diverzity je z právneho hľadiska chápána ako verejný statok, teda vlastnícke práva k nej nie sú exkluzívne (nikoho nemožno vylúčiť z prístupu k nej), a prístup k nej nie je konkurenčný, teda, teda využívanie takýchto statkov jednými osobami nezmenšuje úzitok, ktorý z nich majú iné osoby. Pre genetické zdroje to už neplatí, resp. určite nie v plnom rozsahu, a ich právny status je predmetom trvalých právnych sporov. Genetický materiál, ktorý je zdrojom nových poľnohospodárskych odrôd, liekov či biotechnologických produktov, sa vždy nachádza na území konkrétneho štátu, ktorý v značnej miere určuje prístup k nemu. Genetická informácia, obsiahnutá v tomto materiale sama o sebe predstavuje verejný zdroj, ale produkty, ktoré sú z nej odvodené, sa môžu stať súkromným vlastníctvom a predmetom obchodu vďaka patentovým právam. Je istým paradoxom, že tropické krajiny, na území ktorých sa väčšina prakticky relevantných genetických zdrojov nachádza, spravidla nedokážu chrániť svoje práva intelektuálneho vlastníctva a neraz sa k nim produkty, založené na genetických zdrojoch z ich územia, vracajú z rozvinutých krajín vo forme tovaru. Samostatným problémom je trvalá udržateľnosť využívania genetických zdrojov a využívania biologickej diverzity. Napriek nastaveným inštitucionálnym rámcom sa dá očakávať postupná modifikácia a adaptácia právnych rámcov tejto problematiky.

Literatúra

- Mendel, J.G., 1866: Versuche über Pflanzenhybriden. Verhandlungen des naturforschenden Vereins in Brünn. IV. Band. Brünn, 47 s.
- Nystedt, B., Street, N.R., Wetterbom, A., Zuccolo, A., Lin, Y.-C., Scofield, D.C., Vezzi, F., Delhomme, N., Giacomello, S., Alexeyenko, A., Vicedomini, R., Sahlin, K., Sherwood, E., Elfstrand, M., Gramzow, L., Holmberg, K., Hällman, J., Keech, O., Klasson, L., Koriabine, M., Kucukoglu, M., Käller, M., Luthman, J., Lysholm, F., Niittylä, T., Olson, Å., Rilakovic, N., Ritland, C., Rosselló, J.A., Sena, J., Svensson, T., Talavera-López, C., Theissen, G., Tuominen, H., Vanneste, K., Wu, Z.-Q., Zhang, B., Zerde, P., Arvestad, L., Bhalerao, R., Bohlmann, J., Bousquet, B., Garcia Gil, R., Hvidsten, T.R., de Jong, P., MacKay, J., Morgante, M., Ritland, K., Sundberg, B., Lee Thompson, S., Van de Peer, Y., Andersson, B., Nilsson, O., Ingvarsson, P.K., Lundeberg, J., Jansson, S., 2013: The Norway spruce genome sequence and conifer genome evolution. *Nature* doi:10.1038/nature12211
- Traill, L.W., Bradshaw, C.J.A., Brook, B.W., 2007: Minimum viable population size: a meta-analysis of 30 years of published estimates. *Biological Conservation* 139: 159–166.

Literatúra odporúčaná pre štúdium

- Briggs, D., Walters, S.M., 2001: Proměnlivost a evoluce rostlin. Univerzita Palackého, Olomouc, 531 s.
- Výborná učebnica genetiky a evolúcie rastlín, ilustrujúca jednotlivé témy množstvom prípadových štúdií.*
- Flégr, J., 2005: Evoluční biologie. Academia, Praha, 559 s.
Široký, podrobný a veľmi zrozumiteľne a „čítavo“ napísaný prehľad všetkých tém, ktoré súvisia s evolúciou a evolučnou biológiou.
- Rozsypal, S. a kol., 2003: Nový přehled biologie. Scientia, Praha, 797 s.
Základný prehľad biologických tém vrátane genetiky.
- Snustad, D.P., Simmons, M.J., 2009: Genetika. Masarykova univerzita, Brno, 894 s.
Podrobňa učebnica genetiky pre tých, ktorí majú o tému hlbší záujem.