

## KONZERVACIONA BIOLOGIJA

-skripta-

dr Jelka Crnobrnja-Isailović

### 5. Konzervaciona genetika

Konzervaciona genetika, koristeći oruđa populacione i evolucione genetike, bavi se održavanjem genetičke strukture malih populacija da bi se održala njihova genetička raznovrsnost i minimalizovao inbriding. Takođe, određuje prioritetne taksone za očuvanje na bazi njihove genetičke unikatnosti. Studenti će biti upoznati sa praktičnim značajem utvrđivanja i poznavanja efektivne veličine populacije, inbridne depresije, drifta, efekata uskog grla, gubitka genetičke varijabilnosti, gubitka alela putem drifta i autbredne depresije

Konzervaciona genetika je grana konzervacone biologije koja primenjuje genetičke teorije i tehnike za smanjenje rizika izumiranja ugroženih vrsta. Ova disciplina razvila se iz evolucione genetike i kvantitativno-genetičke teorije primenjene za selektivno ukrštanje domestifikovanih vrsta biljaka i životinja. Fokusira se na posledice koje nastaju usled smanjenja velikih, autbrednih populacija gde se ukrštanje odvija po principu slučajnosti (eng. „outbreed populations“) na male populacije u kojim su stohastički faktori i efekti inbridinga predominantni.

Štetni efekti inbridinga na reprodukciju i preživljavanje nazivaju se jednim imenom INBRIDNA DEPRESIJA. Čovek svojim aktivnostima menja prirodu na način da fragmentiše i degradira prirodne ekosisteme što na širem prostoru ugrožava čitave vrste. Gubitko pojedinačnih populacija usled njihovog izumiranja vrste gube deo svog GENETIČKOG DIVERZITETA i time im se smanjuje mogućnost dalje evolucije odnosno prilagodavanja novim sredinskim promenama - GUBITAK EVOLUCIONOG POTENCIJALA.

Evoluciona genetika proučava: uticaj fragmentacije populacija na smanjenje protoka gena izmedju njih, uslove pod kojima dolazi do preovladjivanja slučajnih efekata (GENETIČKI DRIFT), dinamiku akumulacije i gubitka (PROČIŠĆAVANJE) štetnih mutacija. Takođe, ova disciplina pruža saznanja neophodna za genetičko upravljanje malim uzgojnim populacijama, razrešavanje taksonomski nejasnih slučajeva, prepoznavanje onih lokalnih populacija u okviru vrste gde je potreban nadzor i gazdovanje, upotrebu molekularno-genetičkih analiza u FORENZICI i razjašnjavanje onih aspekata biologije vrste koji su od značaja za njen očuvanje. Krajnji CILJ konzervacione genetike bio bi očuvanje evolucionog potencijala vrsta prisutnih na planeti Zemlji za dalja prilagođavanja na sredinske promene i mogućnost

nastanka novih taksona. Ukratko, konzervaciona genetika se bavi očuvanjem GENETIČKOG DIVERZITETA. Potreba očuvanja genetičke raznovrsnosti je jedan od tri globalna prioriteta očuvanja biodiverziteta, što je stav i Medjunarodne Unije za Zaštitu Prirode (IUCN).

#### ZAŠTO JE NEOPHODAN GENETIČKI DIVERZITET?

Biološka raznovrsnost sadrži tri hijerarhijska nivoa. Osnovni je genetički diverzitet koji karakteriše svaku vrstu, vrste u okviru jednog područja čine diverzitet vrsta, a multidimenzionalni prostor čiji su sastavni deo opisuje diverzitet zajednica i ekosistema. Odsustvo medjupopulacione genetičke diferencijacije populacija u okviru vrste ukazuje na postojanje uniformnih sredinskih uslova na celom geografskom prostoru koji ta vrsta naseljava, te su uspešne genetičke kombinacije iste u svim populacijama. To ukazuje na potencijalnu "ranjivost" vrste, jer svaka drastična sredinska promena gde uspešne genske kombinacije više neće biti uspešne može da eliminiše ili znatno redukuje brojnost njenih genetički uniformnih populacija.

#### ZAŠTO JE NEOPHODAN DIVERZITET VRSTA?

Svaka vrsta predstavlja „rezervoar“ jedinstvene genetičke informacije te je nestanak svake vrste gubitak dragocene informacije koja obuhvata i do nekoliko biliona godina evolutivnog razvoja. Gubitak pojedinih vrsta u ekosistemima utiče na način na koji ti sistemi zajedno deluju u prometu esencijalnih hranljivih materija i vode i protoku energije. Pošto imamo ograničene mogućnosti da predvidimo kako ekosistemi reaguju u pogledu zamene vrsta ili pojave nove vrste na tom prostoru zbog izumiranja neke druge, postoji razlog da se zabrinemo uvek kada je bilo koja vrsta u opasnosti od izumiranja.

#### ZAŠTO JE NEOPHODAN DIVERZITET EKOSISTEMA?

Kada prirodan, autohton predeo biva "iscepkan" čovekovom aktivnošću, ukupna raznovrsnost zajednice može ostati ista ili čak porasti, ali kvalitativne promene na lokalnom i regionalnom nivou dovode do homogenizacije flore i faune, odnosno do gubitka karakterističnosti datog biogeografskog regiona, a samim tim globalni biodiverzitet se smanjuje.

#### ZAŠTO JE NEOPHODAN BIODIVERZITET?

Diverzitet gena, vrsta i ekosistema predstavlja osnovni materijal pomoću koga se ljudske zajednice prilagodjavaju na promene. Zato gubitak svake vrste, genskog alela i ekosistema umanjuje potencijal živog sveta, a samim tim i ljudske vrste, da se prilagodi promenljivoj odnosno menjajućoj se okolini.

U konzervacionoj genetici, za procenu količine genetičke varijabilnosti pojedinačnih populacija koriste se isti parametri kao u populacionoj genetici i evolucionoj biologiji. Pri tome, pod lokalnom populacijom ili demom podrazumeva se skup jedinki iste vrste koje naseljavaju isto stanište, dele iste resurse, imaju realne šanse da jedne sa drugima stupaju u reproduktivne odnose i stoga formiraju zajednički genski fond.

Raznovrsnost genskog fonda jedne lokalne populacije izražava se putem različitih parametara: Proporcija polimorfnih lokusa ( $P$ ), prosečan broj alela po lokusu ( $n_a$ ), heterozigotnost ( $H$ ) ili opštije genski diverzitet. Objedinjena informacija o raznovrsnosti i raspodeli te raznovrsnosti gena u populaciji je GENETIČKA STRUKTURA POPULACIJE i određena je tipovima i učestalostima alela u populacijama. Parametri kao što su prosečna polimorfnost po lokusu ( $P$ ) ili prosečna heterozigotnost po lokusu ( $H_l$ ) ili po jedinku ( $H_j$ ) kod mnogih ugroženih vrsta imaju znatno manje vrednosti nego kod srodnih neugroženih vrsta. Na primer, za vrstu afrički lav analizirano je 26 strukturalnih genskih lokusa i utvrđeno je da je šest od tih 25 lokusa polimorfno, što predstavlja  $P = 23\%$ , a da je prosečna heterozigotnost po jedinku  $H_j = 7.1\%$ . Zatim, prosečan alelski diverzitet (prosečan broj alela po lokusu)  $n_a = 1.27$ . Ovi nivoi genetičkog diverziteta karakteristični su za vrste koje nisu ugrožene.

Karakteristike organizama od najvećeg značaja za očuvanje vrste su one koje imaju uticaja na zdravlje i reproduktivni uspeh jedinki: broj realizovanih potomaka, količina semena kod biljaka, sposobnost za razmnožavanje, dugovečnost, stopa rasta, ponašanje izbegavanja predatora, telesna težina, visina, jačina... Sve ove karakteristike determinisane su sa više od jednog gena i nazivamo ih KVANTITATIVNIM KARAKTERISTIKAMA. Kod vrsta gde nije zastupljeno ukrštanje u srodstvu, sve kvantitativne karakteristike ispoljavaju genetički diverzitet.

## ŠTETNI ALELI

Genetički diverzitet podrazumeva i postojanje štetnih alela u populacijama. Generišu ih mutacije a odstranjuje prirodna selekcija. Štetne mutacije nazivamo i GENETIČKIM OPTEREĆENJIMA. Kod vrsta gde nije zastupljeno ukrštanje u srodstvu, učestalost štetnih mutacija je manja od 1%. Primeri štetnih alela su: mutacija koja izaziva gubitak hlorofila, mutacija za patuljast rast kod kalifornijskih kondora, mutacija koja dovodi do slabe absorpcije vitamina E kod konja Prževalskog (*Equus przewalskii*), mutacija odgovorna za teška oštećenja srca i nerazvijene testise kod pantera sa Floride, mutacija koja izaziva nedostatak testisa kod

koale, mutacija odgovorna za nerazvijeno krvno kod crvenih lemura itd. Tabela 1. prikazuje nivo genetičkog diverziteta dobijen analizom mikrosatelitskih genskih lokusa:

Tabela 1. Prosečan broj alela po lokusu (na) i prosečna genetička varijabilnost (H) u populacijama srodnih ugroženih i neugroženih vrsta.

Ugrožene vrste		Neugrožene vrste	
Vrsta	na H	Vrsta	na H
Crni nosorog	4.2 0.69	Afrički bivo	8.6 0.73
Meksički vuk	2.7 0.42	Sivi vuk	4.5 0.62
Etiopski vuk	2.4 0.21	Kojot	5.9 0.68
Afrički divlji pas	3.5 0.56	Domaći pas	6.4 0.73
Gepard	3.4 0.39	Afrički lav	4.3 0.66
Vetruška sa Mauricijusa	1.4 0.10	Evropska vetruška	5.5 0.68
Južni vombat	2.1 0.32	Severni vombat	5.9 0.71
Komodo varan	4.0 0.31	Američki aligator	8.3 0.67
Mahagoni	9.7 0.55	Kraljevski mahagoni	9.3 0.67

## KOJE KOMPONENTE GENETIČKOG DIVERZITETA ODREĐUJU SPOSOBNOST EVOLUIRANJA?

Evolucijski potencijal se direktno meri kao kvantitativno-genetička varijabilnost reproduktivnog uspeha. Reproduktivni uspeh, grubo govoreći, meri se brojem proizvedenog plodnog potomstva koje se uspešno reproducuje. Komponente reproduktivnog uspeha su: a) preživljavanje do polne zrelosti, b) sposobnost za reprodukciju i c) sposobnost odgajanja mladih. Sve nabrojane osobine su poligeno determinisane tj. rezultat su ekspresije više gena. Ovu kvantitativno-genetičku varijabilnost je najteže izmeriti. Varijabilnost DNK i alozimske varijabilnosti odražavaju evolucijski potencijal JEDINO AKO su korelisane sa kvantitativno-genetičkom varijabilnošću. Korelacije između molekularnih i kvantitativnih mera genetičkog diverziteta su često veoma niske.

## EVOLUCIONA GENETIKA PRIRODNIH POPULACIJA

Populacije evoluiraju usled delovanja evolucionih faktora a to su: MUTACIJA, PROTOK GENA, PRIRODNA SELEKCIJA i GENETIČKI DRIFT. Svi ovi faktori direktno utiču na genetički diverzitet. Parametri koji opisuju promene genetičkog diverziteta su: Efekat uskog grla, genetički drift, inbriding, efektivna veličina populacije, genetička strukturiranost populacija, protok gena izmedju fragmentisanih populacija i populaciona struktura.

### Efekat uskog grla

Ovaj gubitak heterozigotnosti posle jedne generacije uskog grla može se izračunati ako je poznata heterozigotnost u generaciji koja je prethodila efektu uskog grla ( $H_0$ ) i heterozigotnost u generaciji neposredno posle efekta uskog grla ( $H_1$ ):

$$H_1/H_0 = 1 - 1/2Ne$$

Gubitak genetičkog diverziteta prevashodno nastaje zbog održivih redukcija veličine populacije (održiva redukcija veličine populacije je smanjenje veličine populacije odnosno njene efektivne veličine na nivo veći od minimalne vijabilne vrednosti) i veći je u manjim populacijama (vidi Tabelu 2.).

Tabela 2. Efekat uskog grla na smanjenje heterozigotnosti u populacijama sa različitom efektivnom veličinom (Ne)

Ne=25	$1 - 1/(2*25) = 1 - 0.02$	$0.02 = 2\%$	$H_1 = 98\%H_0$
Ne=100	$1 - 1/(2*100) = 1 - 0.005$	$0.005 = 0.5\%$	$H_1 = 99.5\%H_0$

### Genetički drift

Prilikom reprodukcije u populaciji diploidnih seksualnih organizama, naredna generacija genotipova nastaje ne od svih postojećih roditeljskih gameta koji čine genski fond prethodne generacije već od UZORKA roditeljskih gameta jer se organiyimi razlikuju i po uspešnosti u proizvodnji potomaka. U malim populacijama neki aleli, naročito retki ( $p < 0.05$ ) ne moraju biti prenešeni u narednu generaciju zbog slučajnih efekata, a ne isključivo zbog delovanja prirodne selekcije (na primer, alel koji ne smanjuje adaptivnu vrednost svog nosioca ali je i ne

povećava mnogo i pri tome je zastupljen u populaciji sa učestalošću manjom od 0.05, ne mora biti zastupljen u genskom fondu potomačke generacije jer prosto nije bio zastupljen u uzorku gameta koji su formirali zigote – vidi Tabelu 3.). Tako se učestalosti alela u potomačkoj generaciji mogu razlikovati od učestalosti alela u roditeljskoj generaciji ne samo usled delovanja prirodne selekcije već i usled slučajnog odabira. Tokom niza generacija, učestalosti alela će na taj način oscilovati slučajno i to se zove SLUČAJNI GENETIČKI DRIFT.

Tabela 3. Promena učestalosti alela gena A u populaciji sačinjenoj od dva roditeljska para usled efekta slučajnog genetičkog drifta

Genotipovi roditeljske generacije		Gen A	
Roditeljski par 1.	Roditeljski par 2.	učestalost	aleli
A1A2    x    A1A2	A3A1    x    A2A1	p=0.500	A1
		q=0.370	A2
		r=0.125	A3

Genotipovi potomačke generacije	
Potomstvo roditeljskog	Potomstvo roditeljskog
para 1.	para 2.
A1A1   A1A2   A1A2	A1A1

p=0.750	A1
q=0.250	A2
r=0.000	A3

### Inbriding

Inbriding ili ukrštanje u srodstvu dovodi do smanjenja heterozigotnosti, reproduktivnog uspeha i tako povećanja verovatnoće izumiranja populacije u budućnosti usled pojave INBRIDNE DEPRESIJE. Parametar koji odražava intenzitet urštanja u srodstvu u jednoj lokalnoj populaciji naziva se KOEFICIJENT INBRIDINGA (F) i predstavlja verovatnoću da su aleli istog lokusa kod jedne jedinke identični po poreklu. Koeficijent inbridinga u populaciji može varirati od 0 (nema inbridinga, ukrštanje je po principu slučajnosti) do 1 (potpuni inbriding).

U populaciji gde se ukrštanje odigrava po principu slučajnosti, gen sa dva alela imaće učestalosti genotipova u skladu sa Hardi-Vajnbergovom (HW) jednačinom koja opisuje raspodelu učestalosti alela i genotipova u populaciji koja se nalazi u genetičkoj ravnoteži. Nasuprot tome, u populaciji gde je prisutno ukrštanje u srodstvu, učestalosti homozigota biće uvećane za vrednost koeficijenta inbridinga ( $F$ ), a učestalosti heterozigota će biti manje od vrednosti definisane Hardi-Vajnbergovom jednačinom takođe za vrednost koeficijenta inbridinga (Tabela 4).

Tabela 4. Razlike u raspodeli učestalosti genotipova u populaciji sa slučajnim ukrštanjem i u populaciji u kojoj postoji ukrštanje u srodstvu.

---

Populacija	$F$	Genotipovi		
		$+/+$	$+/m$	$m/m$
Slučajno ukrštanje	0	$p^2$	$2pq$	$q^2$
Delimičan inbriding	$F$	$p^2 + Fpq$	$2pq - (1-F)$	$q^2 + Fpq$

Ugrožena vrsta kalifornijski kondor ima genetičko opterećenje u vidu mutacije koja u homozigotnom stanju dovodi do patuljastog rasta (hondrodistrofije) jedinki pa one ne mogu da prežive do polne zrelosti. Utvrđeno je da jedan gen utiče na pojavu hondrodistrofije i da se on ispoljava u dva alelska stanja – dominantni alel A koji omogućava normalan rast jedinke i recesivni alel a koji u homozigotnom stanju dovodi do patuljastog rasta i prepoznat je kao letalan. Na osnovu ukupnog broja novorođenih mладунaca kao i broja uginulih mладунaca u jednoj generaciji može se izračunati učestalost alela za hondrodistrofiju u toj populaciji ( $dw=0.17$ ) i njena vrednost uporediti sa teoretskom vrednošću koju bi taj alel trebao da ima da se ukrštanje odvija po principu slučajnosti. Analiza je pokazala da je inbriding u populaciji kalifornijskog kondora prisutan sa koeficijentom 0.25 (Tabela 5).

Tabela 5. Očekivane i dobijene vrednosti genotipova genskog lokusa za hondrodistrofiju u populaciji kalifornijskog kondora

Populacija	F	Genotipovi		
		+/ <sup>+</sup>	+/ <sup>d</sup> w	<sup>d</sup> w/ <sup>d</sup> w
Slučajno ukrštanje		0.6889	0.2822	0.0289
Delimičan inbriding		0.7242	0.2116	0.0642
(F=0.25)				

### Efektivna veličina populacije (Ne)

U realnoj populaciji (podrazumevaju se samo adultne jedinke), njena efektivna veličina predstavlja veličinu jedne idealne populacije koja gubi genetički diverzitet ili povećava koeficijent inbridinga istom brzinom kao ta realna populacija. Ako realna populacija gubi genetički diverzitet istom brzinom kao idealna populacija od 100 jedinki, tada je  $N_e$  realne populacije = 100 jedinki, bez obzira što je ukupna veličina te realne populacije  $N=1000$  jedinki. Efektivna veličina populacije ne može biti veća od realne veličine populacije, već samo jednaka ili manja od te veličine. Efektivna veličina populacije je manja od veličine realne populacije iz raznih razloga zbog kojih se realna populacija ne uklapa u definiciju idealne tj. panmiktične populacije (parametri koji opisuju panmiktičnu populaciju su neograničen broj jedinki, nema mutacija, nema selekcije, nema protoka gena, ukrštanje se odvija po principu slučajnosti...), ali često su to sledeći razlozi: odnos polova u adultnom delu populacije nije 1:1, veličina legla (broj potomaka po reproduktivnoj epizodi) mnogo varira između roditeljskih parova i veličina populacije drastično osciluje iz jedne generacije u drugu.

Procena efektivne veličine populacije kada odnos polova kod adultnih članova populacije nije optimalan vrši se primenom jednačine:

$$Ne = (4 \times Nef \times Nem) / (Nef + Nem)$$

$$Nef=100$$

$$Nem=1$$

$$Ne = (4 \times 100 \times 1) / (100 + 1) = 400 / 101 = 3.96 \text{ jedinki}$$

$$Ne = 3.96$$

$$N = 101 \quad Ne = 3.96 / 101 = 4\% \text{ od } N$$

Procena efektivne veličine populacije u slučaju velikih razlika izmedju jedinki u ukupnom broju realizovanih potomaka tokom života (popularno nazvano „variranje veličine porodica“) vrši se primenom jednačine:  $Ne \sim 4N/(V_k + 2)$ . U stabilnim populacijama monogamnih vrsta gde je prisutno slučajno ukrštanje, srednja veličina porodice ( $k$ ) = 2, a varijansa ( $V_k$ ) = 2, pa je  $Ne/N$  idealno  $= 4/(2 + 2) = 1$ . Ako bi  $V_k = 6.74$ , onda bi  $Ne/N \sim 4/(6.74 + 2) = 0.46$ , tj Ne bi bila manja od N.

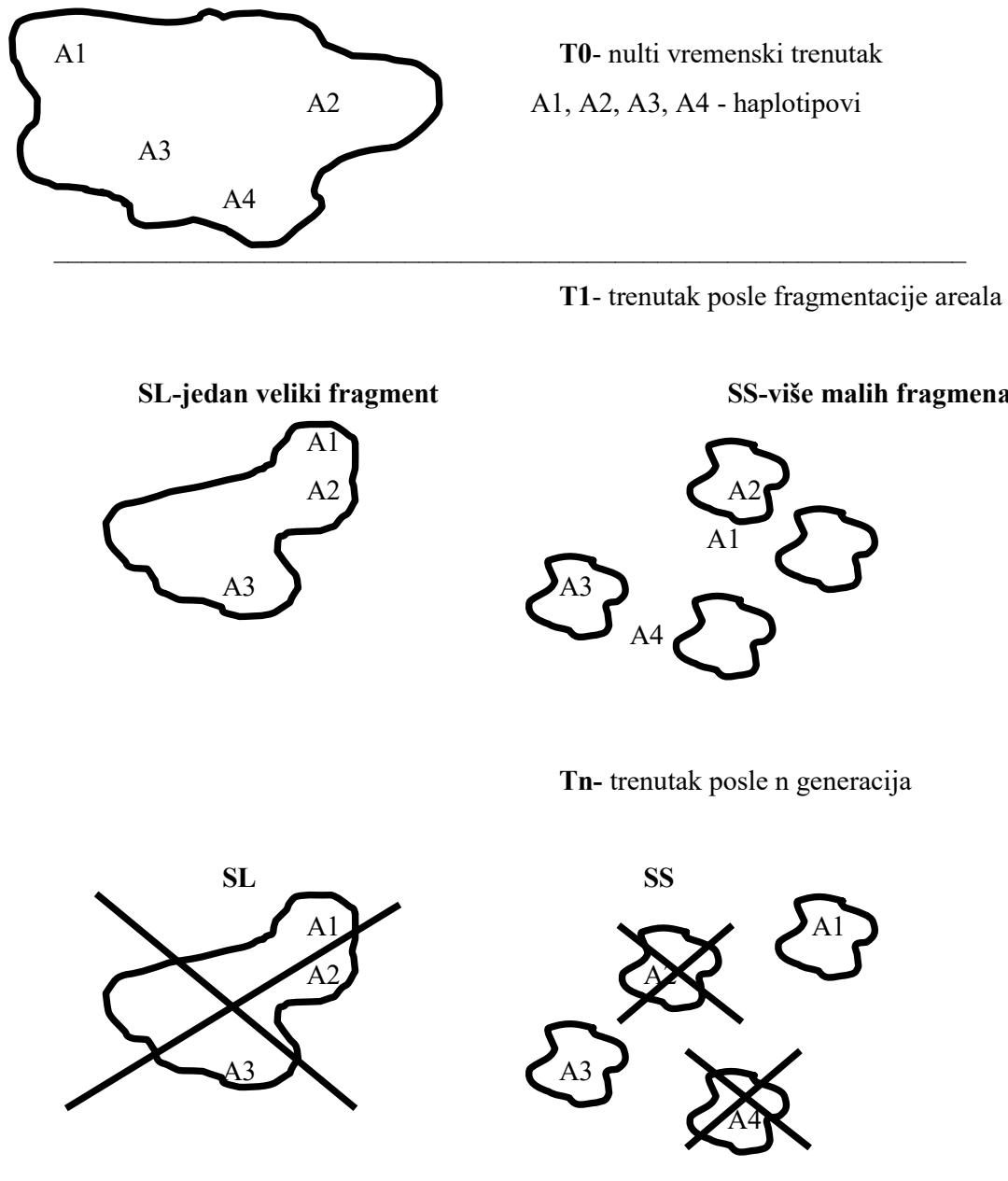
Procena efektivne veličine populacije kada postoji često i znatno oscilovanje efektivne veličine populacije vrši se primenom jednačine koja koristi harmonijsku a ne aritmetičku sredinu Ne u nekoliko uzastopnih generacija, pri čemu je jedna od tih generacija upravo ona u kojoj se desio efekat uskog grla. Jednačina glasi  $Ne \sim t / \sum(1/Ne_i)$ , gde je  $Ne_i = Ne$  i-te generacije; a  $Ne =$  procena prosečne Ne za tih nekoliko uzastopnih generacija. Ako bi Ne u generaciji pre efekta uskog grla bila  $Ne_1 = 150\ 000$ , a Ne u generaciji koj je pretrpela usko grlo  $Ne_2 = 20$ , a Ne u generaciji koja sedi nakon generacije uskog grla opet  $150\ 000$ , prosečna Ne za 3 generacije, izračunata kao aritmetička sredina tri navedene Ne iznosila bi  $Ne = 100\ 006$  jedinki. Međutim, ako upotrebimo jednačinu za izrčunavanje harmonijske sredine, Ne bi računali kao  $Ne = 3 / (1/150\ 000 + 1/20 + 1/150\ 000) = 60$ , odnosno Ne bi iznosila samo 60 jedinki odnosno 6% srednje vrednosti Ne za 3 generacije izrčunate primenom jednačine za aritmetičku sredinu.

### Genetička strukturiranost populacija

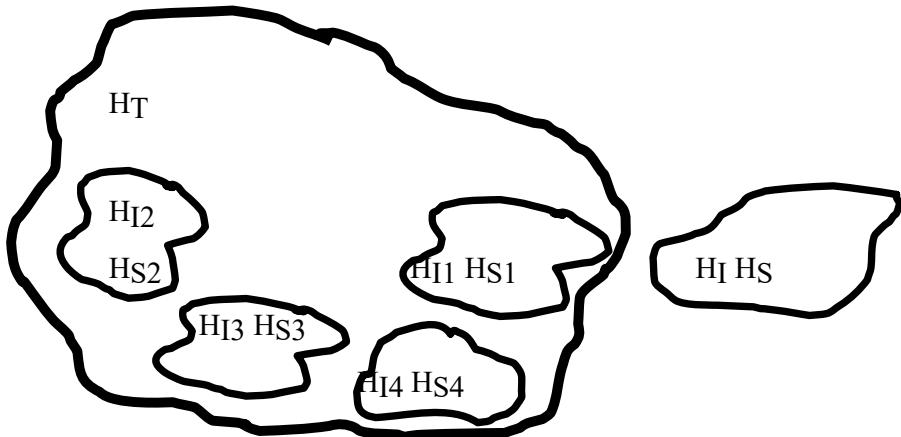
Ovaj parametar opisuje genetički diverzitet vrste i što je genetička strukturiranost populacija izraženija, genetički diverzitet je veći i obrnuto. Genetička strukturiranost zavisi od stope protoka gena, broja populacionih fragmenata (Slika 1.), veličina lokalnih populacija, njihovog geografskog rasprostranjenja, udaljenosti izmedju tih fragmenata, disperzivne

sposobnosti jedinki kao karakteristike vrste, karakteristika staništa koja se nalaze izmedju fragmenata naseljenih populacijama date vrste i njihovog uticaja na disperziju (da li i koliko su nepovoljna tj da li mogu predstavljati koridore ili ne), vremena proteklog od fragmentacije i stope izumiranja i ponovnog naseljavanja fragmenata.

Slika 1. Prikaz prostorne podeljenosti areala vrste na fragmente.



Slika 2. Parametri koji opisuju genetičku strukturiranost populacija



Parametri genetičke strukturirnosti kupa lokalnih populacija prikazani su na Slici 2. Oni obuhvataju:

H<sub>I</sub> ili prosečnu dobijenu heterozigotnost unutar fragmenata,

H<sub>s</sub> ili prosečnu očekivanu HW heterozigotnost po fragmentu;

H<sub>t</sub> ili očekivanu HW heterozigotnost za ukupnu populaciju (pulirano).

F<sub>IS</sub> = 1 - (H<sub>I</sub>/H<sub>S</sub>) predstavlja indeks fiksacije datog skupa lokalnih populacija odnosno prosečno odstupanje od ukrštanja po principu slučajnosti u datim populacijama, izraženo preko odnosa dobijene i očekivane heterozigotnosti u svakoj od tih lokalnih populacija;

F<sub>ST</sub> = 1 - (H<sub>S</sub>/H<sub>T</sub>) predstavlja indeks ili koeficijent međupopulacione genetičke diferencijacije datog skupa lokalnih populacija izražen preko odstupanja prosečne očekivane heterozigotnosti izračunate za sve analizirane lokalne populacije i prosečne očekivane heterozigotnosti računate za hipotetičku populaciju koju bi činile sve jedinke iz svih lokalnih populacija obuhvaćenih analizom;

F<sub>IT</sub> = 1 - (H<sub>I</sub>/H<sub>T</sub>) predstavlja ukupni indeks genetičkog diverziteta datog skupa lokalnih populacija, izračunat na osnovu odstupanja prosečne dobijene heterozigotnosti računate za sve lokalne populacije od očekivane heterozigotnosti računate za hipotetičku populaciju koju bi činile sve jedinke iz svih lokalnih populacija obuhvaćenih analizom.

## **Protok gena izmedju fragmentisanih populacija**

Koeficijent međupopulacione genetičke diferencijacije ili FST izračunava se primenom formule  $FST = 1 / (4Ne \times m + 1)$ , gde je Ne efektivna veličina populacije a m broj migranata po generaciji. Po teoriji kada je  $Ne \times m = 1$ , protok gena medju idealnim populacijama je dovoljan za sprečavanje potpune diferencijacije i fiksiranja razlika medju alelima. Pri toe, ne treba zaboraviti da Ne zavisi od veličine populacije. Ova jednačina se primenjuje ako postoje podjednake šanse imigranata i starosedelaca za ostvarivanje potomstva, tj ne postoji nikakav vid socijalne hijerarhije gde su novoprdošle jedinke ujedno i najniže pozicionirane u duštvenoj hijerarhiji. U realnim populacijama, za održavanje stabilnog stanja neophodno je do 10 migranata po generaciji.

## **Populaciona struktura**

Dugoročne genetičke posledice fragmentisanja populacija najteži efekat imaju na takozvanu METAPULACIONU STRUKTURU. Metapopulacija predstavlja skup lokalnih populacija koji se odlikuje malom vrednošću FST koeficijenta, pri čemu je stopa migracije skoro zanemarljiva osim kada se oslobiditi pravilan povoljan fragment staništa usled izumiranja jedne od lokalnih populacija. Tada migranti iz svih ostalih lokalnih populacija unutar metapulacionog sistema sa podjednakom verovatnoćom naseljavaju prazan fragment i ustanovljavaju novu lokalnu populaciju koja sadrži genotipove iz svih tih lokalnih populacija unutar metapulacionog sistema. Metapopulacija se odlikuje čestim i asinhronim izumiranjem i restauracijom lokalnih populacija te stoga analiza genetičke strukturiranosti daje pogrešan podatak da je stopa protoka gena intenzivna. Stopa protoka gene ne postoji između aktivnih lokalnih populacija, ona se odigrava samo kada prazan fragment usled izumiranja jednog člana metapopulacije biva naseljavan od strane migranata iz svih ostalih članova metapopulacije. Metapopulacija je veoma krhka populaciona struktura i očuvanje svih povoljnih fragmenata staništa u metapulacionom sistemu je od suštinskog značaja za opstanak vrste na predeonom nivou.

## RAZJAŠNAVANJE TAKSONOMSKOG STATUSA

### Značaj precizne taksonomije u konzervacionoj biologiji

Usled neadekvatne primene taksonomske metode, neke ugrožene vrste mogu ostati neprepoznate i neopisane i izumreti pre nego što smo ih detektivali. Time se gubi značajna i dragocena evoluciona informacija. Pripadnici nekorektno prepoznate vrste mogu biti ukrštani sa pripadnicima drugih vrsta, što, u slučaju blisko srodnih vrsta može dovesti do smanjenja reproduktivne uspešnosti jer će potomstvo (hibridi) imati manju adaptivnu vrednost. Takođe, u situaciji kada su resursi za očuvanje ugroženih vrsta ograničeni, precizno prepoznavanje vrsta pomaže adekvatnom usmeravanju sredstava za zaštitu ugroženih vrsta. Osim toga, korektnom genetičkom identifikacijom mogu biti prepoznate populacije koje bi mogle da poboljšaju adaptivnu vrednost inbrednih populacija.

### Vrsta

Postoji više od 22 definicije vrste. Od njih, one definicije vrste koje koriste samo morfološke kriterijume mogu biti neprecizne. BIOLOŠKI KONCEPT VRSTE je u tom smislu najprecizniji jer kao potvrdu identiteta vrste zahteva proveru geentičke kompatibilnosti jedinki. Naime, po ovom konceptu pripadnici iste vrste su sposobni da ukrštanjem produkuju vijabilno i plodno potomstvo dok ukrštanjem pripadnika različitih vrsta ne može se dobiti ni vijabilno ni fertilno hibridno potomstvo.

### Podvrste

Po definiciji, podvrste su grupe populacija u okviru vrste koje dele isti geografski region i prepoznatljive su odnosu na druge grupe populacija u okviru iste vrste na osnovu nekoliko genetički determinisanih karakteristika. Pripadnici različitih podvrsta NISU medjusobno reproduktivno izolovani, međutim, usled pretpostavljene genetičke diferencijacije može postojati odredjeno smanjenje fertiliteta ili preživljavanja hibridnog potomstva. Koncept podvrste je subjektivniji od koncepta vrste i podvrste treba posmatrati kao odredjen nivo evolucione divergencije populacija u okviru vrste koji može voditi nastanku novih vrsta.

Problem prepoznavanja da li određena populacija ili grupa populacija predstavlja podvrstu u okviru vrste ili već formiranu zasebnu vrstu rešava se upotrebom genetičkih analiza u razgraničavanju vrsta. Simpatričke vrste su one koje dele areal ili im se areali većim delom preklapaju i tu je analiza geentičkih markera od velike koristi. Po teoriji, ako samo

jedan genetički marker pokaže odsustvo razmene genskih alela na određenoj teritoriji, identifikujemo simpatičke populacije koje pripadaju različitim vrstama. U praksi, treba nekoliko lokusa da pokažu takvo stanje, ne samo jedan, a ako simpatične populacije imaju iste alele na svim lokusima, onda ne smemo odbaciti hipotezu da pripadaju istoj vrsti. Za razliku od simpatičkih, alopatričke vrste imaju fizički izolovane areale. Smatramo da alopatričke populacije koje imaju različite kariotipove pripadaju različitim vrstama. Upotreba drugih genetičkih markera daje manje preciznu informaciju i potrebno je izvršiti uporedjivanje sa nivoom genetičke diferencijacije izmedju srodnih dobrih vrsta.

Jedan od primera kompleksnosti tačne procene taksonomskog statusa grupa populacija su populacije orangutana sa Bornea i orangutana sa Sumatre. Nekada se smatralo da postoji smao jedna vrsta orangutana. Međutim, orangutani na ova dva ostrva već dugi niz generacija žive izolovani jedni od drugih. Radi provere da li je u međuvremenu došlo dovoljno velike genetičke divergencije da se ove dve grupe populacija mogu proglašiti različitim vrstama, analizirane su razlike na nivou mitohondrijalne DNA, proteina, mikrosatelitskih lokusa DNK, hromozomskih inverzija i svi dobijeni nivoi razlika nalazili su se unutar opsega razlika izmedju dobrih vrsta Primata. Međutim, hibridno potomstvo i prve i druge potomačke generacije je vijabilno i fertilno te je od strane eksperata preporučeno da ove dve grupe populacija orangutana sa alopatričkim arealima dobiju taksonomski status dobrih vrsta. U Tabeli 6. predstavljene su genetičke razlike između podvrsta i vrsta u okviru različitih grupa organizama.

Tabela 6. Genetičke razlike izmedju povrsta i vrsta, računate na osnovu Nei-ovih genetičkih distanci.

Podvrste	DN
Jelen	0.02
Miš	0.19
Gušteri	0.34-0.35
Biljke	0.02-0.07

Vrste	DN
Makaki majmuni	0.02-0.10
Veverice	0.56
Galapagoske zebe	0.004-0.07
Gušteri (rod <i>Anolis</i> )	1.32-1.75
Daždevnjaci	0.18-3.00
Košljoribe (rod <i>Xiphophorus</i> )	0.36-0.52
Biljke	0.05-0.79

### Autbredna depresija

Ovaj fenomen predstavlja smanjenje reproduktivnog uspeha usled ukrštanja jedinki iste vrste ali iz veoma udaljenih populacija. Može se očekivati ako ukrštamo jedinke koje pripadaju različitim podvrstama koje pri tome naseljavaju i izrazito različite sredine, a takođe se manifestuje i prilikom ukrštanja jedinki pripadnika blisko srodnih vrsta. Autbredna depresija predstavlja posledicu genetičke diferencijacije proistekle iz adaptiranja na različita staništa. Samo nekoliko slučajeva autbredne depresije je detektovano kod životinjskih vrsta, jer je ovaj fenomen učestaliji kod biljaka. On nije dugotrajana jer, osim ako hibridi iz prve potomačke generacije ne budu potpuno sterilni ili ispolje veoma nisku adaptivnu vrednost, prirodna selekcija će vremenom dovesti do porasta adaptivne vrednosti populacije.

## GENETIČKO NADGLEDANJE UGROZENIH VRSTA U DIVLJINI

Kada se bavimo ugroženim vrstama, jedan od glavnih ciljeva je sprečavanje da populacija ili populacije podlegnu inbridnoj depresiji. Stoga je neophodno prepoznati koje populacije su najranjivije po tom pitanju, tj detektovati prisustvo i nivo inbridinga, obratiti pažnju na njihovu veličinu i efektivnu veličinu i, ako su u pitanju male populacije, pažljivo isplanirati oporavak tj povećanje njihove genetičke varijabilnosti. Takođe, ako se vrsta sastoji od fragmentisanih populacija sa nemogućnošću migracije između fragmenata, neophodno je nadgledanje tih populacija uz povremeno proveravanje nivoa njihove genetičke varijabilnosti. Treba proveravati i eventualno postojanje hibridizacije sa drugim vrstama i, ako postoji, izvršiti "pročišćavanje" od negativnih efekata hibridizacije. Ugrožne vrste su često subjekti krivolova ili legalne eksploatacije koja može biti intenzivna u državama sa niskim nivoom svesti po pitanju zaštite prironih resursa, pa je neophodno minimiziranje štetnih efekata eksploatacije kao što su pad heterozigotnosti izazvan direkcionom selekcijom, smanjenje veličine populacije, smanjenje efektivne veličine populacije, povećanje stepena inbridinga itd.

Ako ugroženu vrstu čini samo jedna populacija sa niskim nivoom genskog diverziteta, treba preduzeti sledeće korake: a) povećati veličinu populacije; b) ustanoviti dodatne populacije na nekoliko lokaliteta radi minimiziranja rizika od pogubnog uticaja katastrofa; c) maksimizirati reproduktivni uspeh poboljšanjem sredinskih uslova; d) uzeti u obzir uzgajanje u zatočeništvu; e) izolovati jedinke od negativnih efekata sredinskih promena.

Pet glavnih pitanja na koje treba odgovoriti da bi se napravio kvalitetan program zaštite i restauracije ugrožene vrste su: 1. Kolika je efektivna veličina populacije?; 2. da li je populacija pretrpela značajne efekte uskog grla u prošlosti?; 3. da li je populacija izgubila genetički diverzitet?; 4. da li populacija trpi inbridnu depresiju? i 5. da li je populacija genetički fragmentisana?

## UZGAJANJE U ZATOČENIŠTVU

Ako ugroženu vrstu planiramo da gajimo u kontrolisanim uslovima, neophodno je preduzeti sledeće korake: a) prepoznati smanjenje veličine populacije u divljini i moguće genetičke posledice; b) osnovati uzgojnu populaciju; c) dovesti uzgojnu populaciju do stabilne veličine; d) održavati uzgojnu populaciju tokom niza generacija; e) odabrati jedinke za reintrodukciju; f) vršiti nadzor i starateljstvo nad reintrodukovanim populacijom u divljini.

Ako je populacija autbredna (ukrštanje se odvija po principu slučajnosti, ne dešava se formiranje dugotrajnih monogamnih parova niti poligamija), oko 20-30 jedinki je dovoljno za osnivačku uzgojnu populaciju. Poželjna efektivna veličina uzgojne populacije je ona koja će održavati 90% genetičkog diverziteta tokom 100 godina. Po preporuci IUCN-a, uzgojne populacije treba osnovati pre nego što se veličina populacije u divljini smanji na ispod 1000 jedinki. Za stabilnu populaciju potrebna je efektivna veličina populacije  $Ne = 475/L$ , gde je  $L$  = vreme generacije u godinama. Takođe, neophodno je ujednačiti veličinu porodica tj smanjiti varijansu broja potomaka po roditeljskom paru, izjednačiti odnos polova koliko god je moguće, smanjiti fluktuacije veličina populacija i maksimizirati generaciono vreme.

## PRIMENA MOLEKULARNE GENETIKE U FORENZICI I RAZUMEVANJU BIOLOGIJE VRSTE

Molekularne metode identifikacije pripadnosti određenoj vrsti na osnovu veoma malih uzoraka tkiva, organa ili derivata kože, kostiju, krvna, perja itd. nezamenljive su i veoma olakšavaju detekciju ilegalnog izlova i sakupljanja radi prodaje. Tako se vrši identifikacija porekla mesa (da li je u pitanju ugrožena ili legalno komercijalna vrsta) analizom sekvenci mitohondrijalne DNK, zatim se može utvrđivati očinstvo (da i postoji multiplo očinstvo ili ne) radi boljeg razumevanja biologije vrste, introgresija drugih vrsta, detekcija efekta uskog grla, detekcija migratornih obrazaca vrste itd.