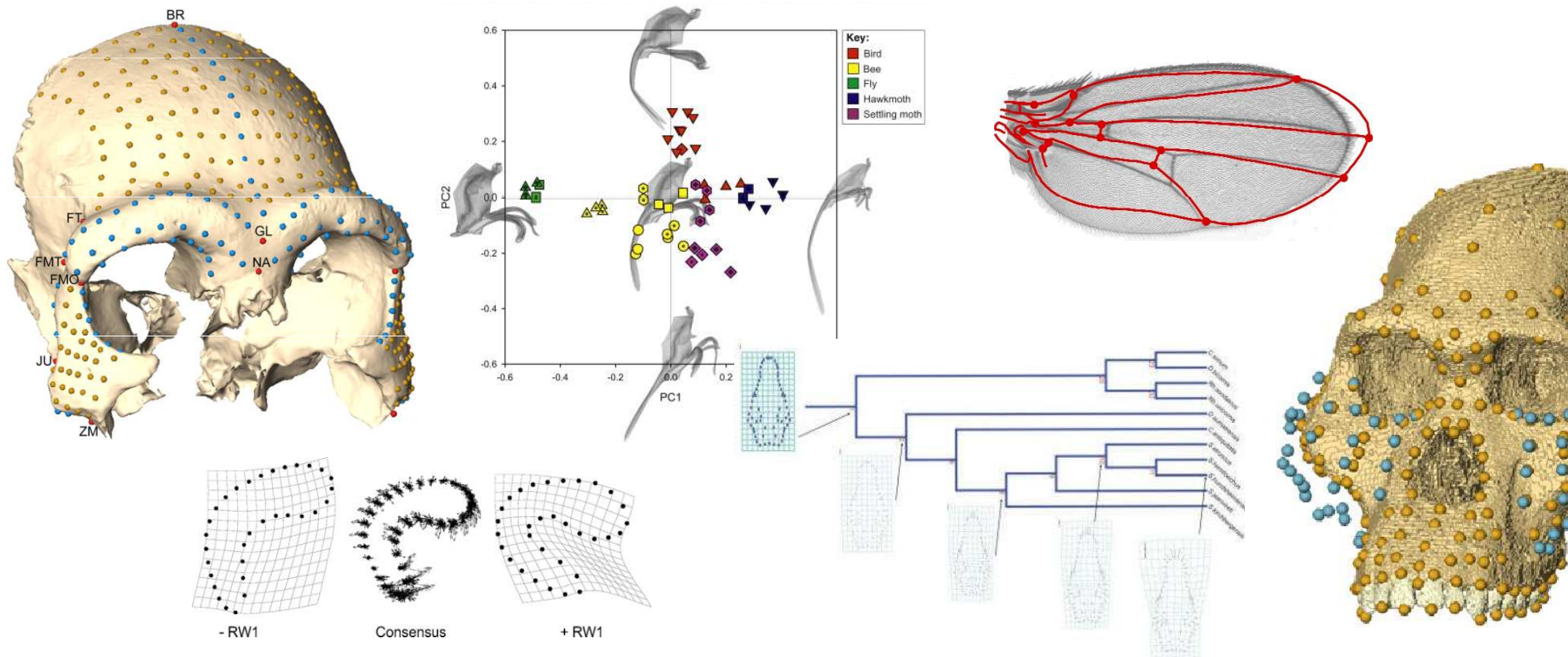


# ANALÝZA FENOTYPU



# Genetické metody a morfologie

jaká je genetická podstata morfologického znaku?  
(quantitative trait loci = QTL)

proměnlivost znaku v čase (fylogeneze)

proměnlivost znaku v závislosti na jiných faktorech

některé metody společné (např. PCA)

# Molekulární vs. morfologické znaky

množství ( $10^3 - >10^6$  vs.  $10^2$ )

nezávislost

fylogenetická škála

(v případě mol. znaků můžeme srovnávat např. bakterie s obratlovci)

větší počet taxonů

znaky většinou reprezentují mnoho genů

(vs. např. mtDNA, cpDNA)

možnost studovat muzejní/fosilní materiál

---

<b>znaky</b>	<b>proměnlivost</b>	<b>genetické určení</b>
kvalitativní	diskrétní	1 - málo genů s velkými účinky
kvantitativní – plastické	kontinuální	mnoho genů s malými účinky + negenetické vlivy
kvantitativní – meristické	kontinuální škála diskrétních znaků	mnoho genů s malými účinky + negenetické vlivy (prahové znaky)

---

Mnoho tzv. kvalitativních znaků má ve skutečnosti *kvantitativní* základ!

# Analýza fenotypu

kvalitativní znaky

epigenetické znaky

tradiční morfometrie

geometrická morfometrie

# Kvalitativní znaky

mendelovská dědičnost, 1- málo genů  
mutace u *D. melanogaster*

mutace *Hox* genů:

*Antennapedia*, *Ultrabithorax*

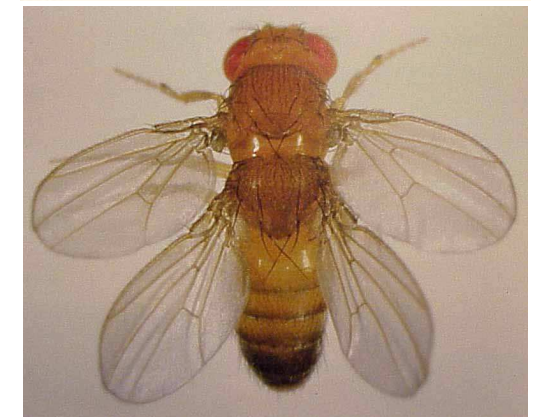
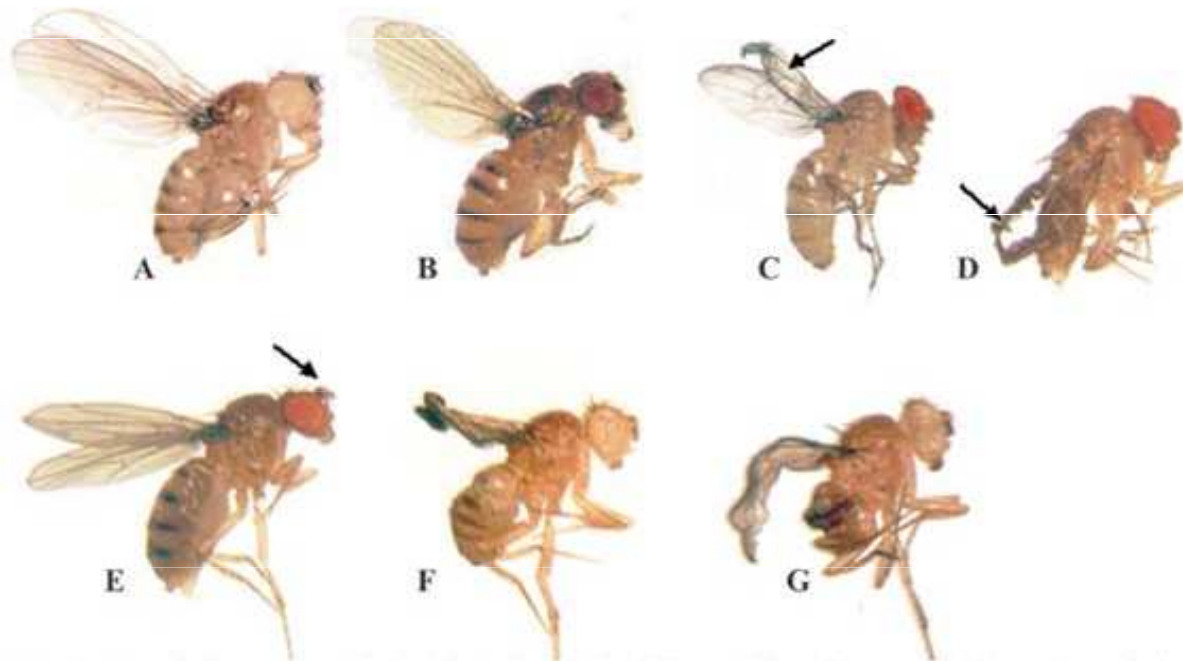


Fig. 2. Altered phenotypes obtained in individuals of *Drosophila willistoni* 17A2 isostrain submitted to temperature stress. Picture shows female individuals with altered morphologies: A, *white* (white eyes); B, *sepia* (brown eyes); C, *blistered* (arrow indicates the presence of blisters on the wings); D, *Curly* (curved wings indicated by the arrow); E, with apparently fused antennae (indicated by the arrow) - see figure 5 for details of the mutant structure; F, Female *white* and *Curly*; G, *white* and *blistered*.

# Kvalitativní znaky



mutace zbarvení:

přástevník hluchavkový (*Callimorpha dominula*), páskovka hajní (*Cepaea nemoralis*), krovky brouků

savci: asi 15 domácích a laboratorních druhů - kočka, myš, morče; kolčava, levhart, norek, kůň



pigmentová barviva:

eumelanin, phaeomelanin, karoteny, hemoglobin, trichosiderin



# Kvalitativní znaky

hlavní alelické série:

*A* = *agouti* (podélná struktura zbarvení chlupu)

*B* = *brown* (proteinová složka pigmentových granulí)

*C* = *albino* (snížení počtu pigmentových skvrn)

*D* = *dilute* (shlukování pigmentových skvrn)

*E* = *extension* (změny množství eumelaninu)



agouti



dilute



DBA = *dilute* – *brown* - non-*agouti*



albino



# Kvalitativní znaky

hlavní alelické série:

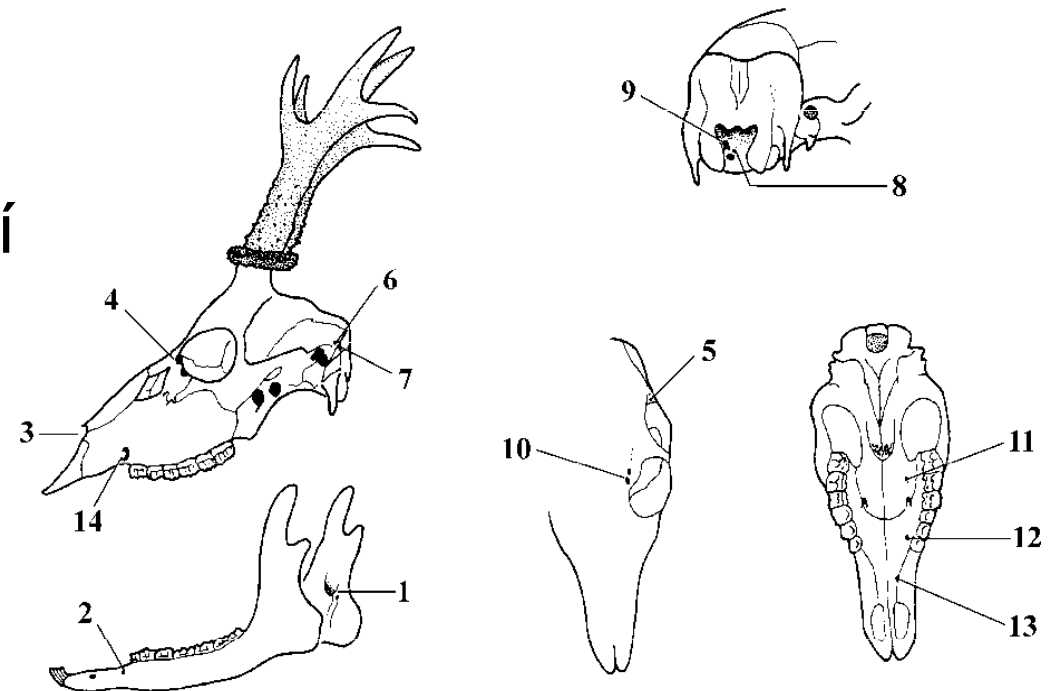
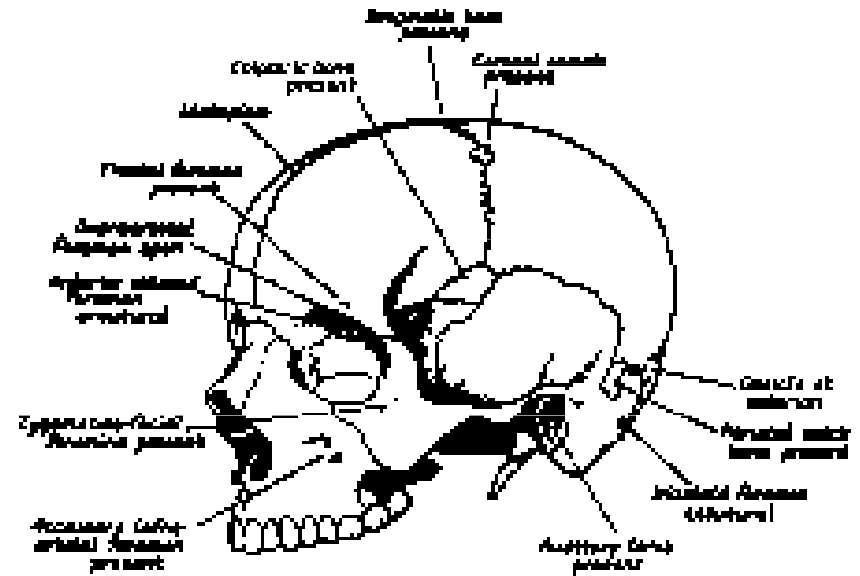
kočka domácí: *A-agouti*, *T-tabby*, *B-brown*,  
*O-orange*, *S-white spotting*, *W-white*, *L-long hairs*



# Epigenetické znaky

Epigeneze = vývojové interakce nad úrovní akce genů

výběr znaků: základním kritériem absence korelace mezi znakem a jeho velikostí



# Epigenetické znaky

rozdíly mezi populacemi:

index MMD (mean measure of divergence):

$$MMD = 1/r \sum [(\theta_1 - \theta_2)^2 - V] \quad \theta = \arcsin(1-2p), \quad r = \text{počet znaků}$$
$$V = 1/(n_1 + 1/2) + 1/(n_2 + 1/2)$$

statistická významnost měřena jako standardní odchylka *MMD*:

$$SD = (\text{var}MMD)^{-1/2} = [4/r(1/n_1 + 1/n_2)]^{-1/2}$$

**výstupy:** symetrická matice rozdílů → korelace mezi maticemi (Mantelův test, prostorová autokorelace), shluková analýza, minimum spanning tree (MST)

# Kvantitativní znaky

Vztah genotypu a fenotypu:

$$V_P = V_G + V_E$$

$V_P$  = celková fenotypová variance

$V_G$  = variance genotypu

$V_E$  = variance způsobená vlivem prostředí

$$V_G = V_A + V_D + V_I$$

A = aditivita; D = dominance; I = epistáze

# Kvantitativní znaky

## Dědivost (heritabilita), $h^2$ :

= míra dědičné složky fenotypové proměnlivosti

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

## Skutečná dědivost:

v užším smyslu  $h^2 = V_A / V_P$

v širším smyslu  $h^2 = V_G / V_P$

# Kvantitativní znaky

Realizovaná dědivost:  $h^2 = R/S$

$R$  = selekční odpověď (s. efekt):  $X_f - X$

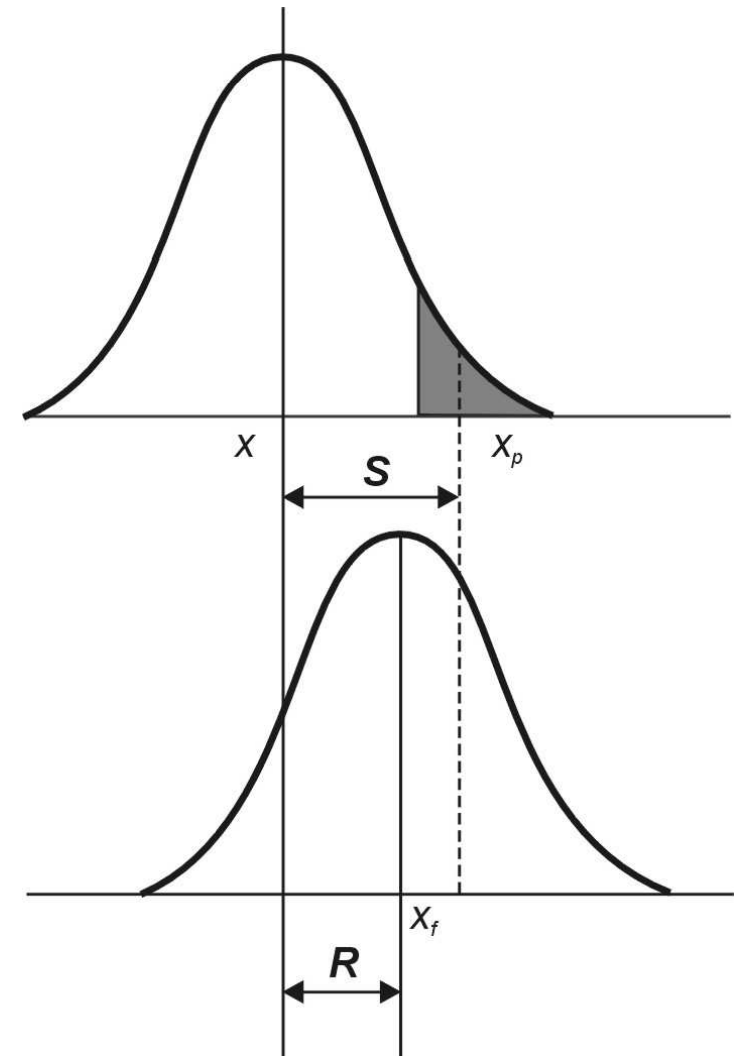
$S$  = selekční difference:  $X_p - X$

= zlepšení nad průměr populace  
vzhledem k rozdílu mezi rodiči  
a průměrem populace

$X_f$  = hodnota znaku u potomstva

$X_p$  = hodnota znaku u rodičů

$X$  = průměrná hodnota znaku



Měření dědivosti nejčastěji jako podobnost mezi příbuznými

# Tradiční morfometrie

kvantitativní (metrické i meristické) znaky

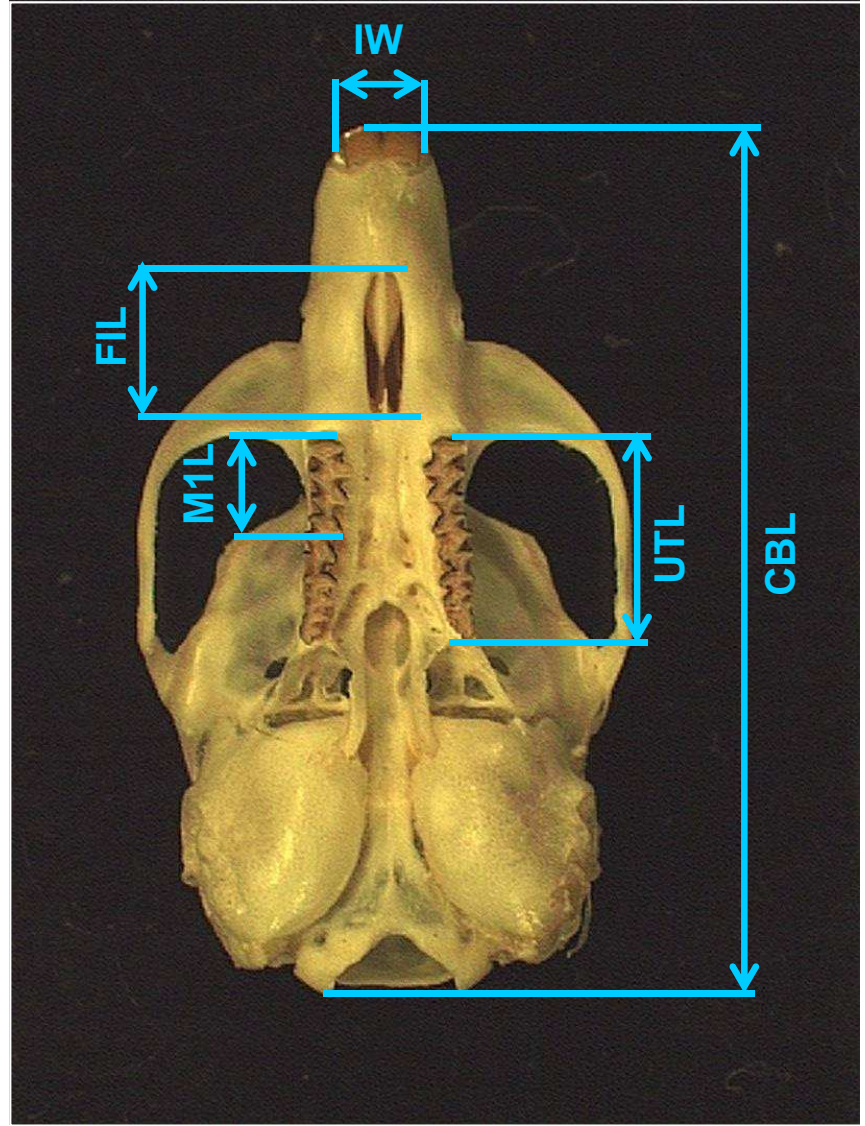
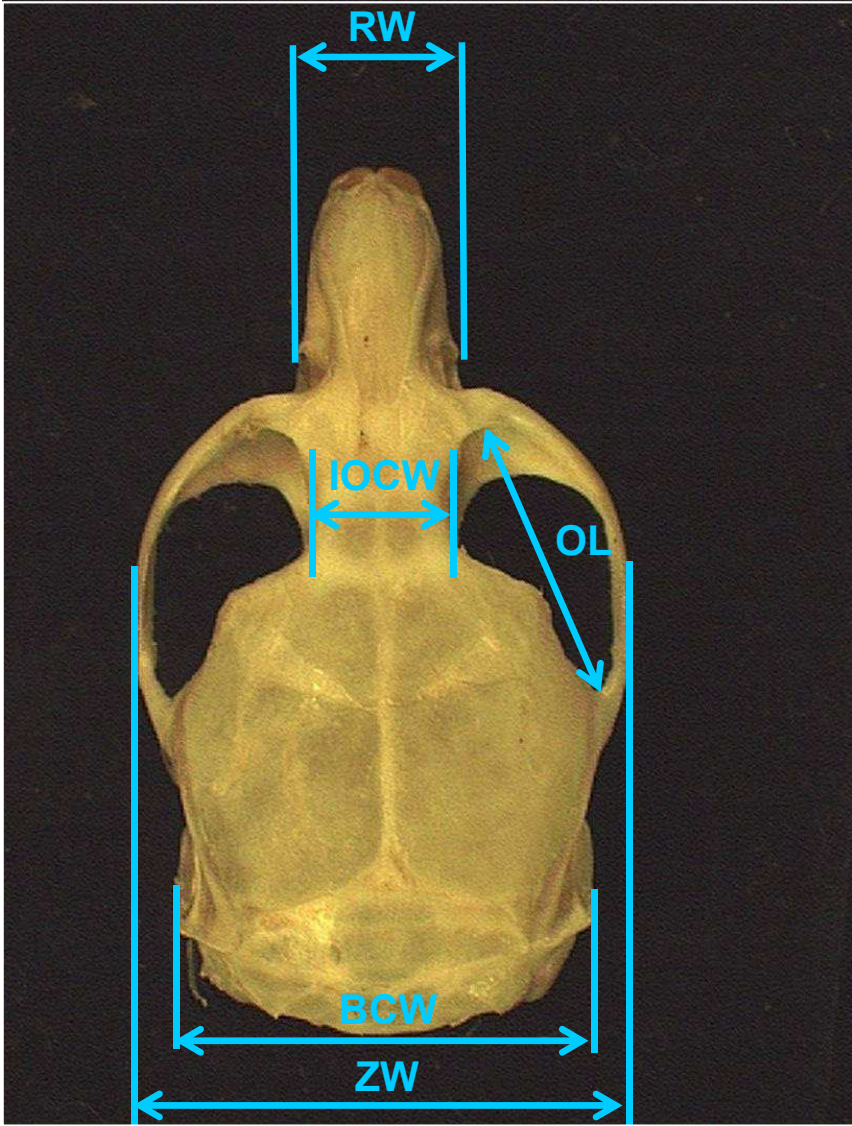
měření vzdáleností, úhlů, ploch atd.

vstup: posunová měřítko, měřicí okulár, měřicí mikroskop,  
analýza digitálního obrazu

výstupy: ordinační analýza, shluková a., fylogenetická a.,  
alometrie, srovnávací analýzy atd.

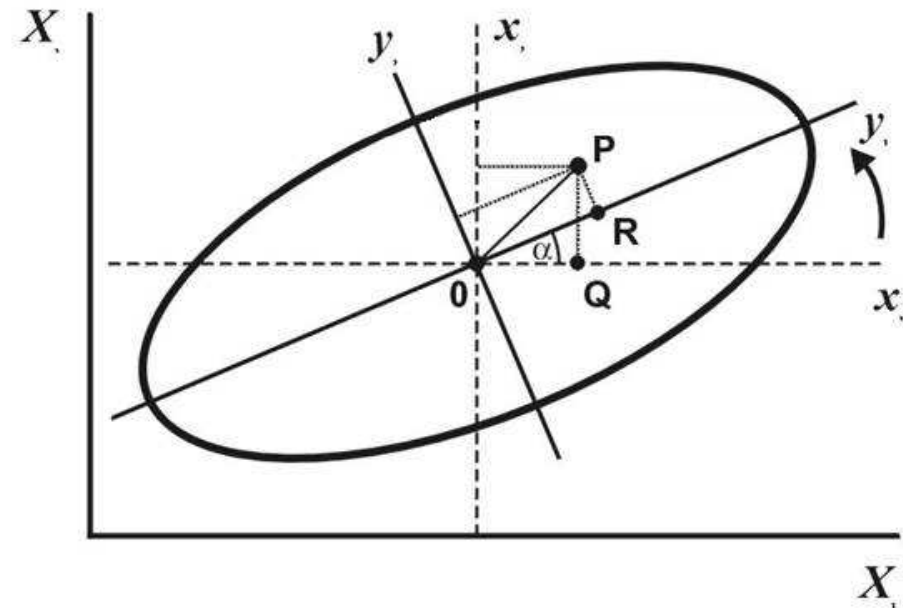
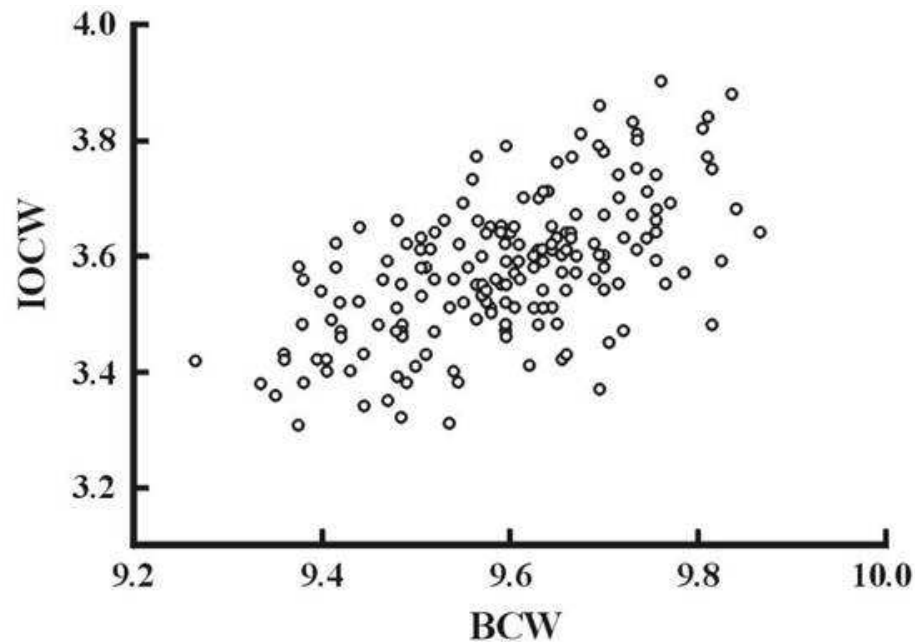
systematika, studium fylogeneze, morfologie, srovnání  
morfologické evoluce s molekulární, behaviorální studie  
atd.

software: STATISTICA, SPSS, JMP, NT-SYS, MATLAB,  
SPLUS, programy v R atd.





# Analýza hlavních komponent (Principal components analysis, PCA)



$n$  jedinců,  $p$  proměnných

$$Z_i = a_{i1}X_1 + a_{i2}X_2 + \dots + a_{ip}X_p \quad \dots a_i = \cos \alpha$$

latentní kořen (*eigenvalue*, *latent root*)

latentní vektor (*eigenvector*, *latent vector*)

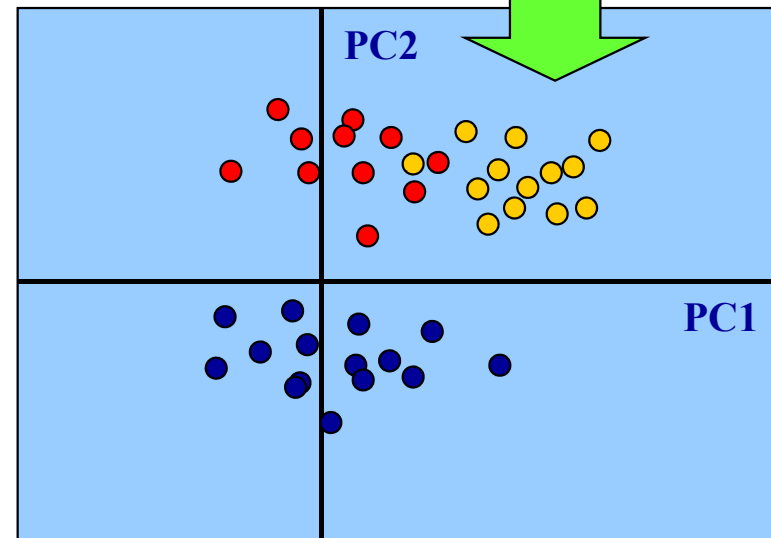
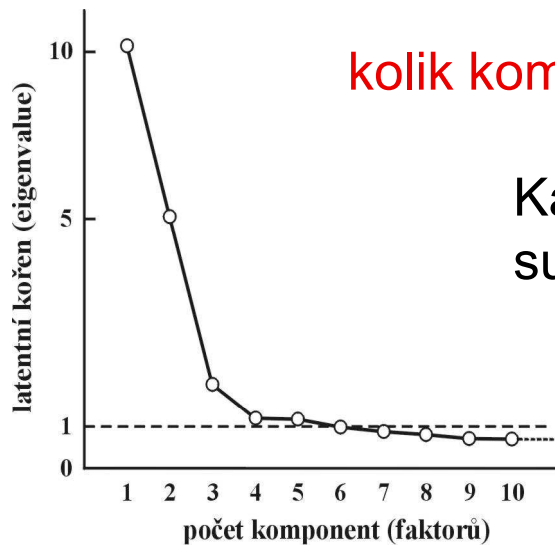
## vektor velikosti

var	PC1	PC2	PC3	var	PC1	PC2	PC3
URW	0,3126	-0,3902	-0,0933	LN	0,4438	-0,6583	0,2404
ZPW	0,4818	0,0162	-0,1758	LAL	0,1440	0,1699	-0,6798
CBL	0,5590	-0,6997	0,2391	LM1L	0,6450	0,5211	-0,0603
OL	0,3831	-0,6762	0,3076	LM1W	0,7188	0,3311	0,0261
RL	0,4454	-0,6119	0,0486	LM2L	0,5420	0,4698	0,2232
IOCW	0,5883	-0,1422	-0,5204	LM2W	0,7936	0,2996	0,1126
BCW	0,5758	-0,2945	-0,5128	LM3L	0,3572	0,4141	0,2567
ZW	0,6409	-0,6029	-0,1885	LM3W	0,7147	0,3775	0,0767
BCH	0,3083	-0,3053	-0,3544	LML	0,7815	0,4879	0,1092
LFI	0,3956	-0,5874	0,2949	UM1L	0,6716	0,4054	-0,0434
I1W	0,4973	-0,6556	0,0238	UM1W	0,7315	0,2869	-0,0957
FP	0,5640	-0,2443	-0,1547	UM2L	0,4596	0,4304	0,2878
FPT	0,3218	-0,1715	-0,3899	UM2W	0,8023	0,2360	-0,0642
PM	0,5434	-0,2574	-0,0485	UM3L	0,6621	-0,0026	0,1481
LD	0,3898	-0,8068	0,2282	UM3W	0,6975	0,2560	0,1133
				UML	0,7739	0,4258	0,1353
<b>eigen</b>	10,137	6,059	2,028				
<b>% var</b>	32,701	19,544	6,542				
<b>kum %</b>	32,701	52,245	58,793				

zátěže (loadings)

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

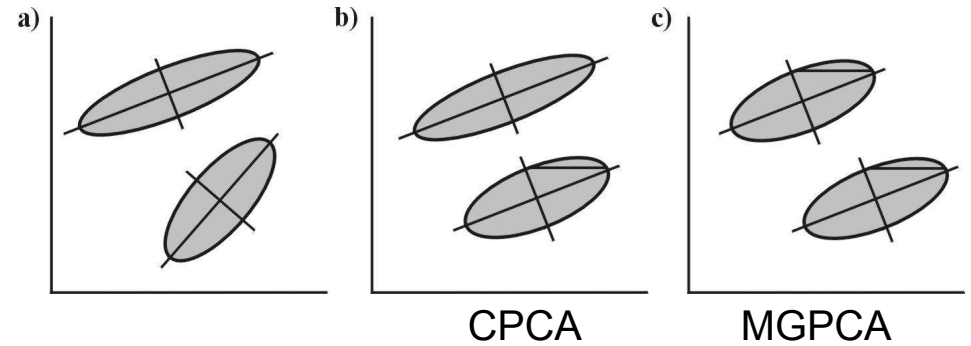
PC skóre



## Problém více vzorků:

MGPCA (multiple-group PCA)

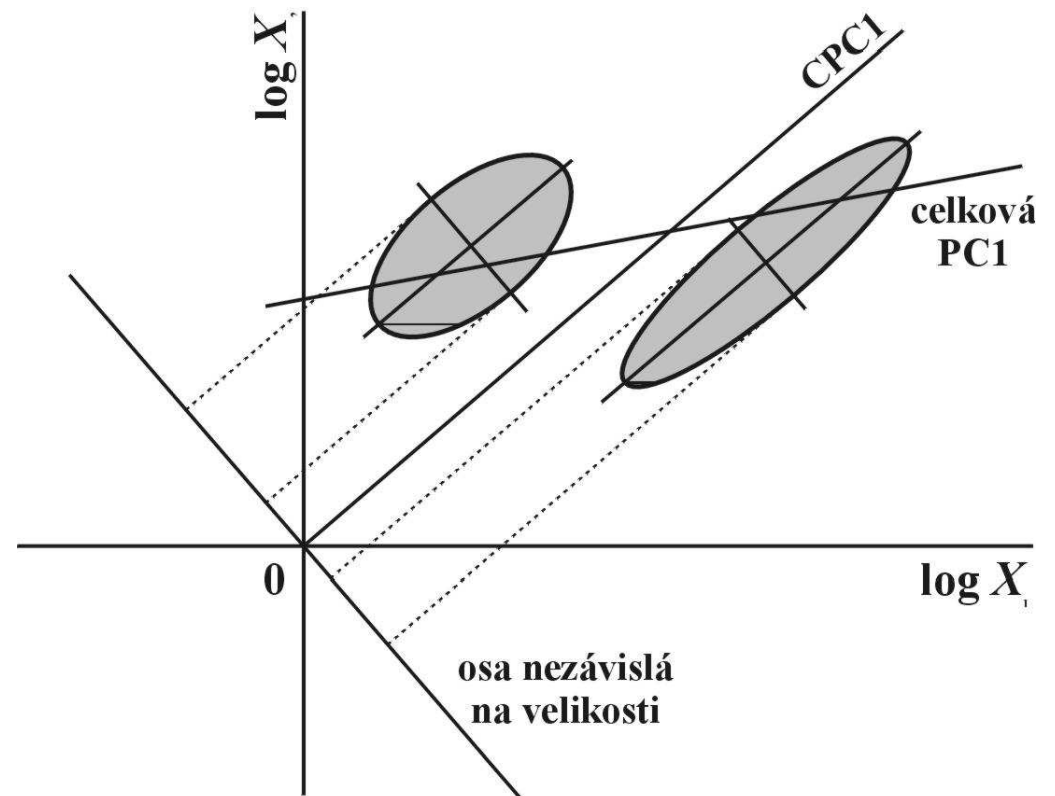
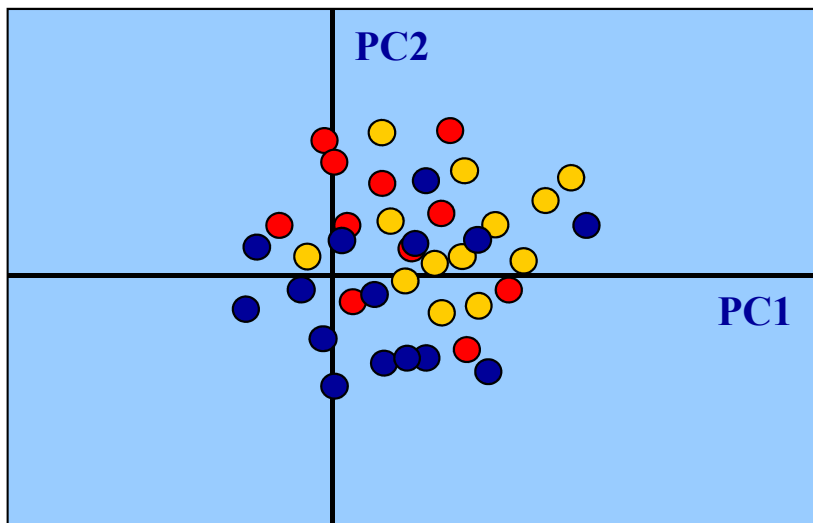
CPCA (common PCA)



## Problém velikosti:

vyřazení PC1

Burnabyho metoda



Analýza hlavních koordinát (Principal coordinates analysis, PCoA):

matice distancí/podobností

Faktorová analýza (Factor analysis, FA):

speciální model; společné faktory + specifický faktor

Diskriminační analýza (Discriminant function analysis, DFA)  
a kanonická analýza (Canonical a., CVA):

Mahalanobisovy (generalizované) vzdálenosti

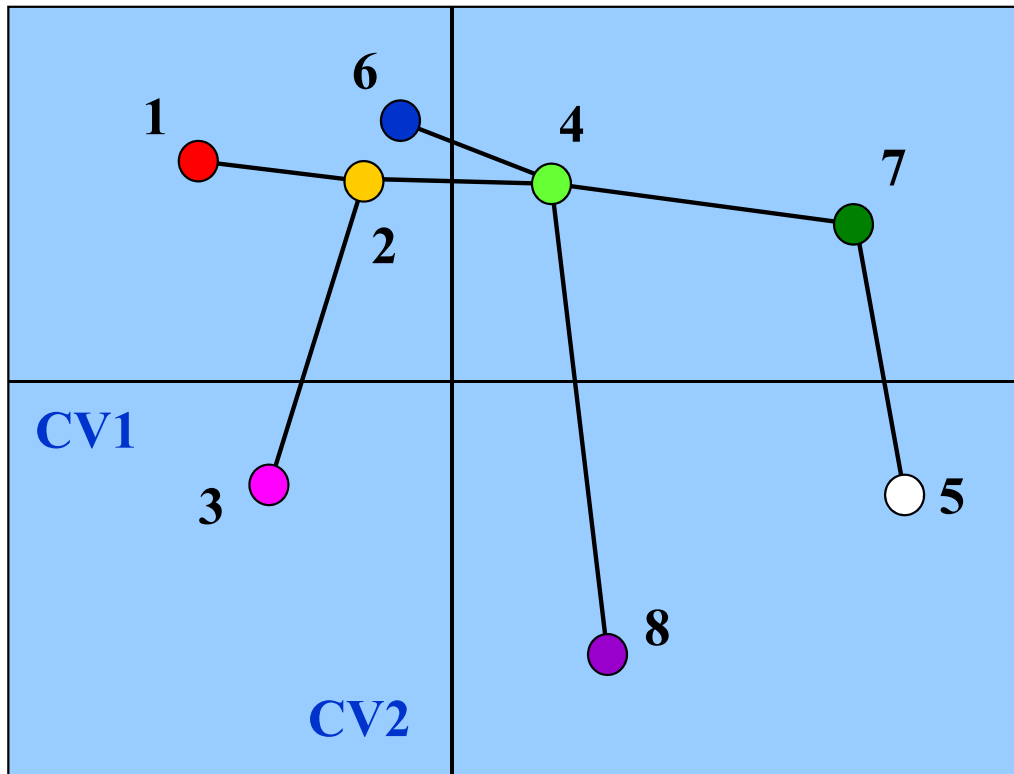
MANOVA (Wilk's Lambda, Pilai's trace)

Hotellingův  $T^2$  test

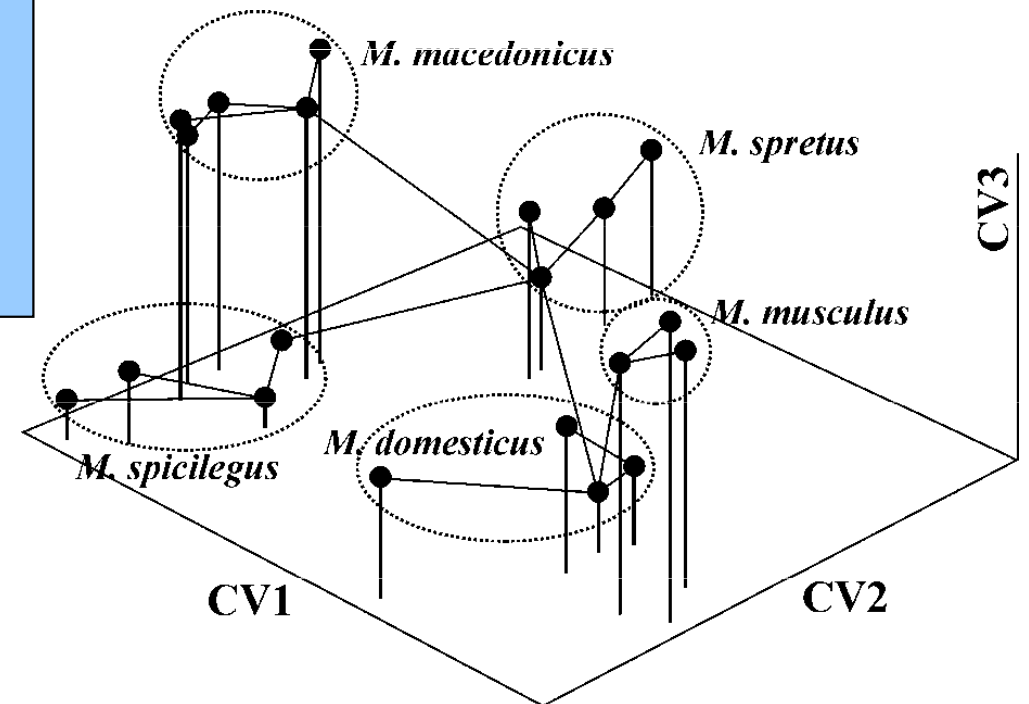
kroková DFA

Shluková analýza (Cluster analysis)

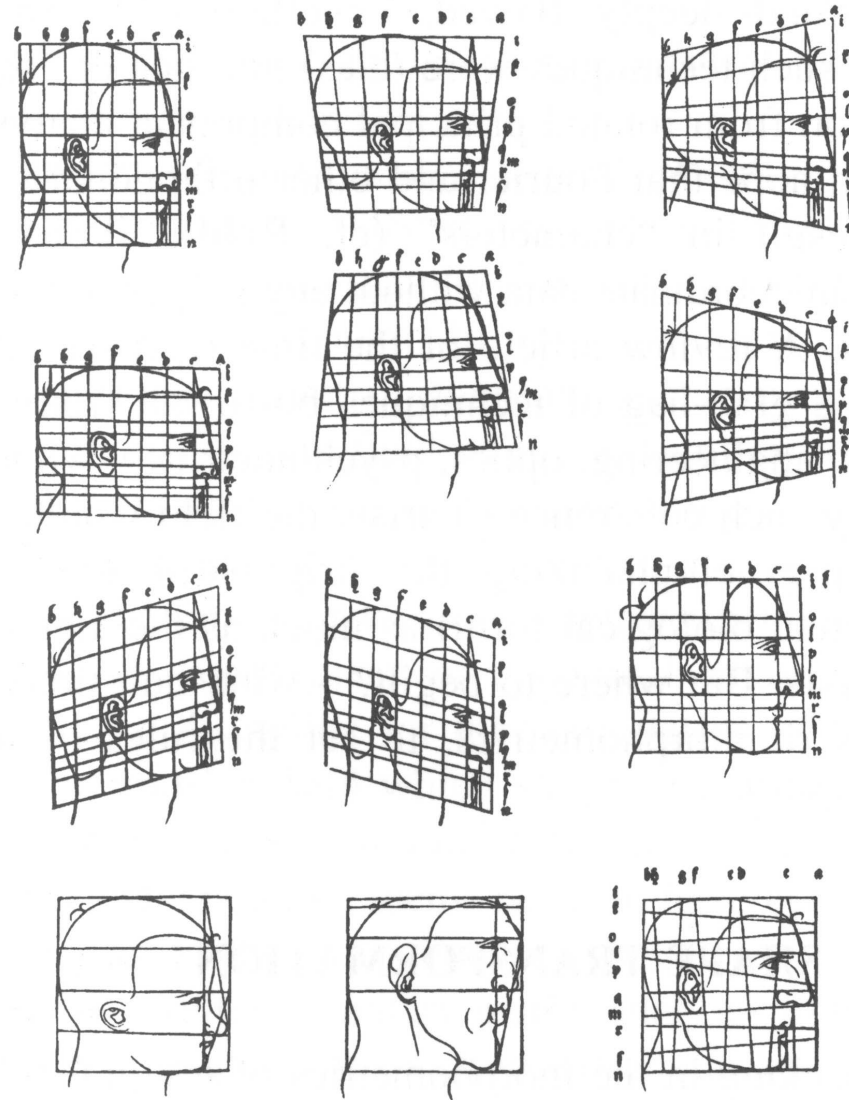
# Diskriminační analýza (Discriminant function analysis, DFA) a kanonická analýza (Canonical a., CVA):



Minimum spanning tree (MST)



# Geometrická morfometrie

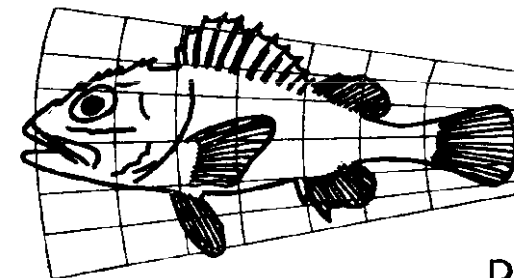
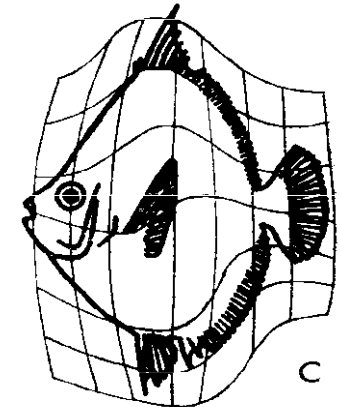
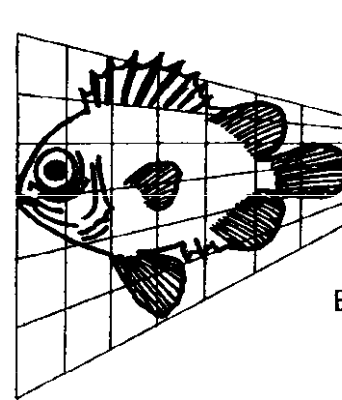
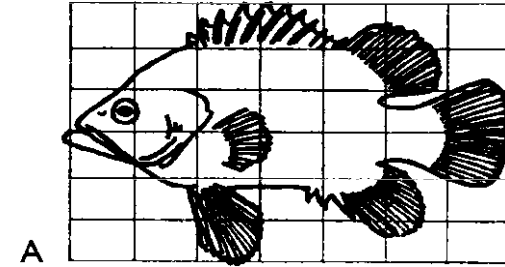


A. Dürer (1524): Vier Bücher von Menlicher Proportion.

V historii zkoumání tvaru biologických objektů existovaly 2 odlišné strategie:

## 1. W. D'Arcy Thompson

Absence kvantifikace  
tvarových změn!



W. A. Thompson (1917): On Growth and Form

V historii zkoumání tvaru biologických objektů existovaly 2 odlišné strategie:

## **2. Tradiční morfometrie:**

F. Galton, K. Pearson, R.A. Fisher, S. Wright, H. Hotelling...

rozměry, váhy, úhly, plochy...

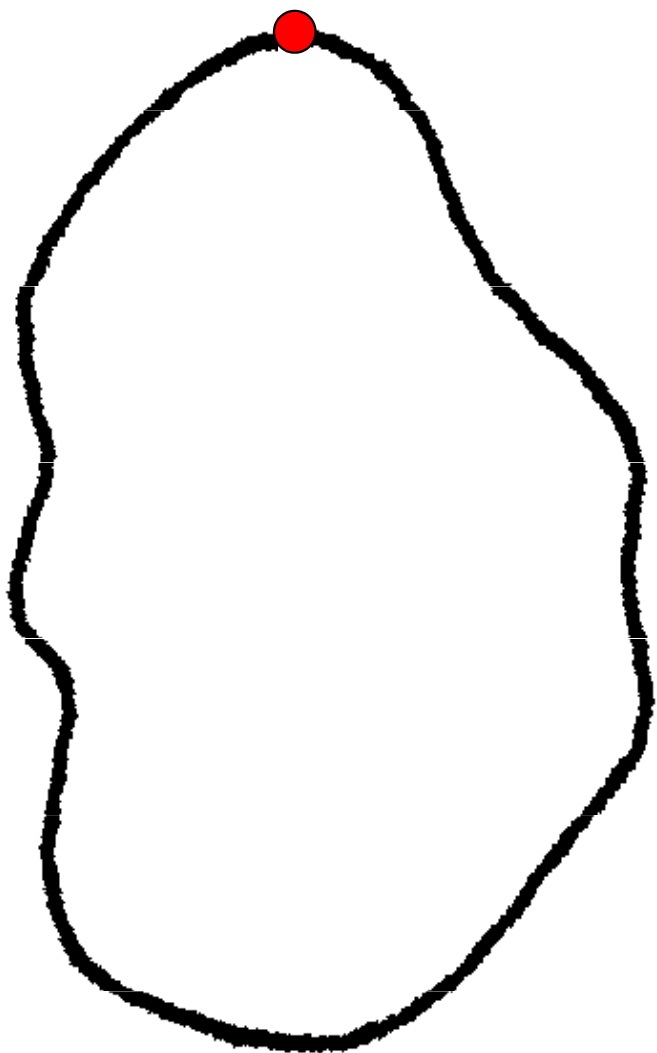
PCA, DFA, CVA, FA, PCoA, shluková a.

Absence informace o tvaru (morfometrie)!

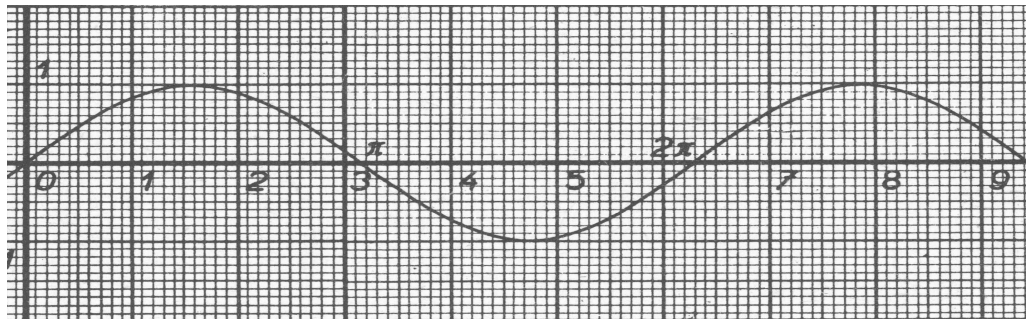
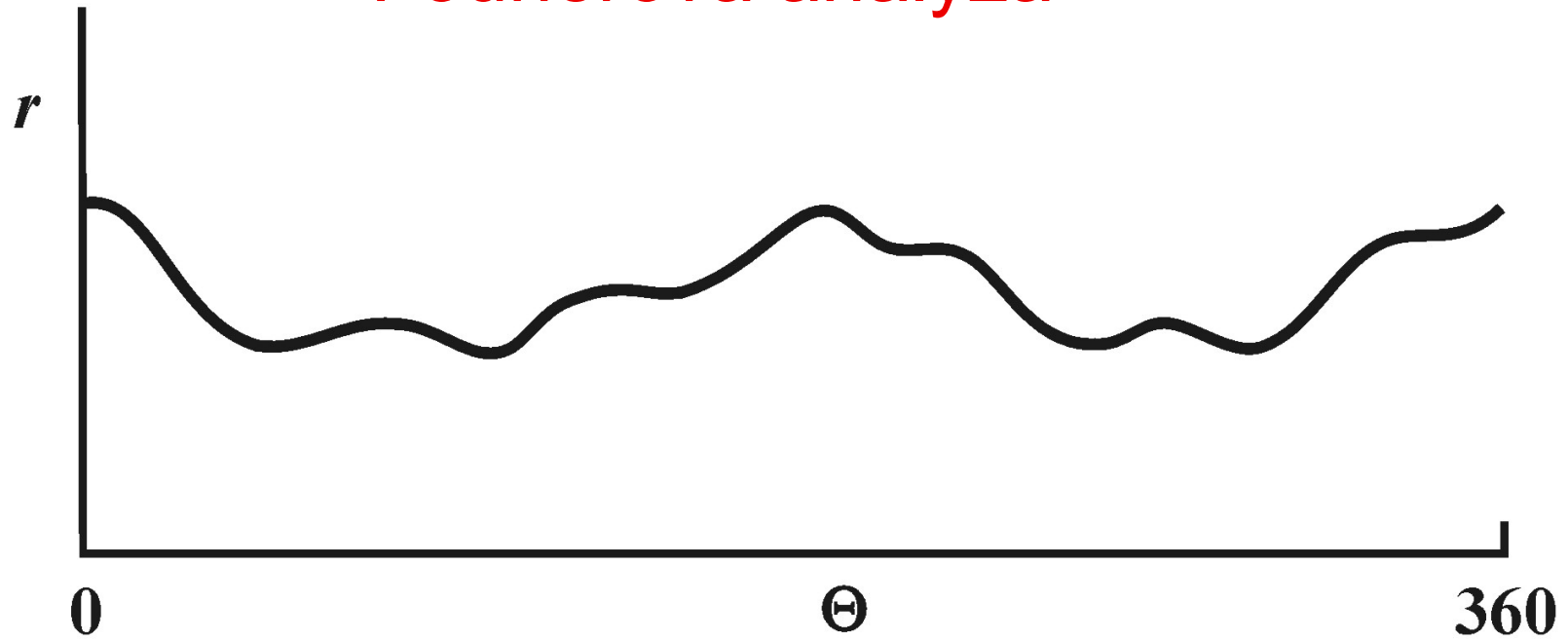


# **Geometrická morfometrie I.**

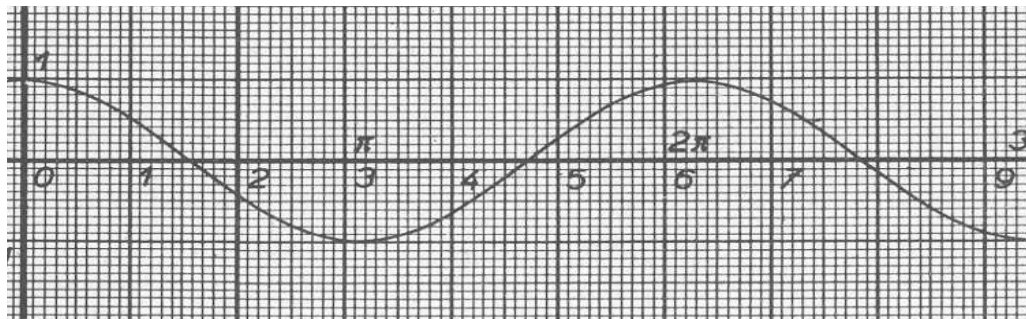
## **Analýza uzavřených křivek**



# Fourierova analýza

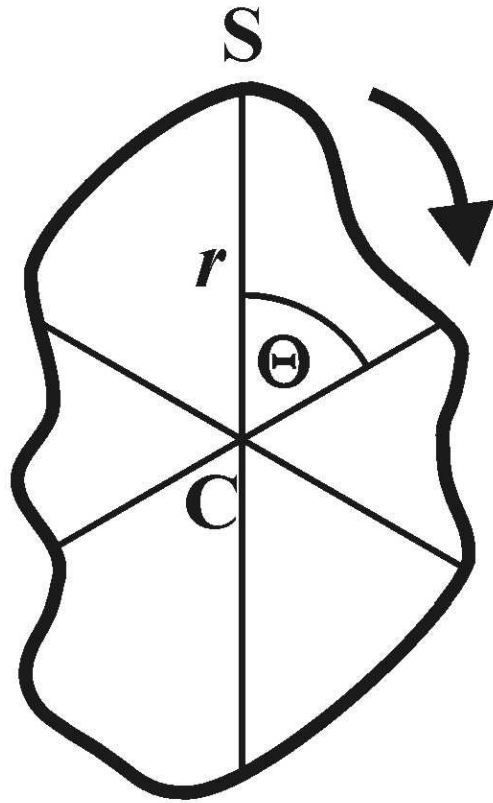


sin



cos

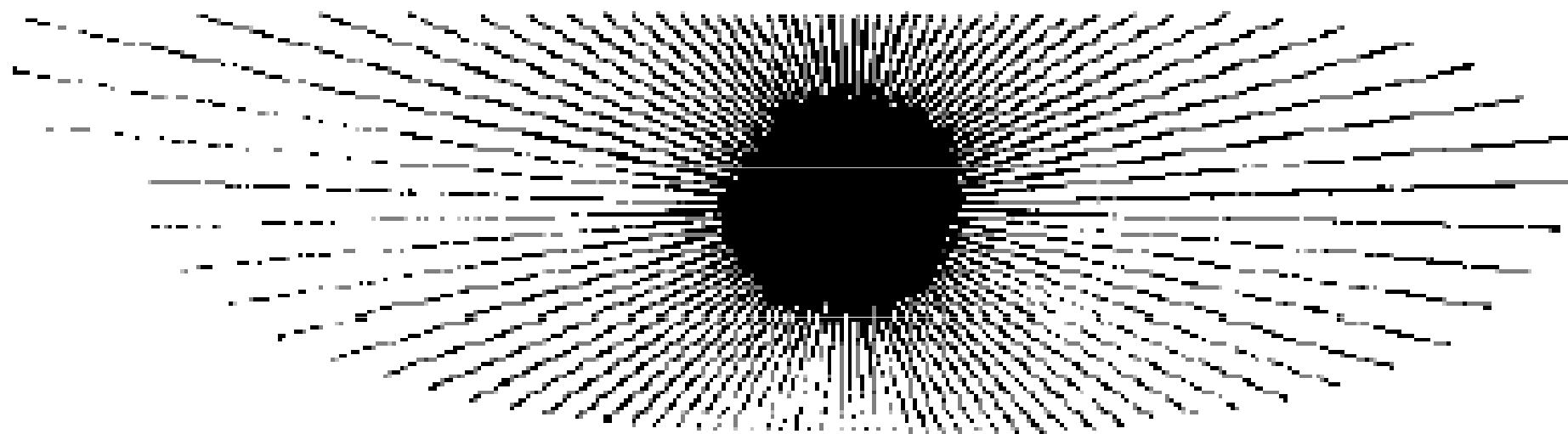
harmonické složky  
(harmonics), koeficienty



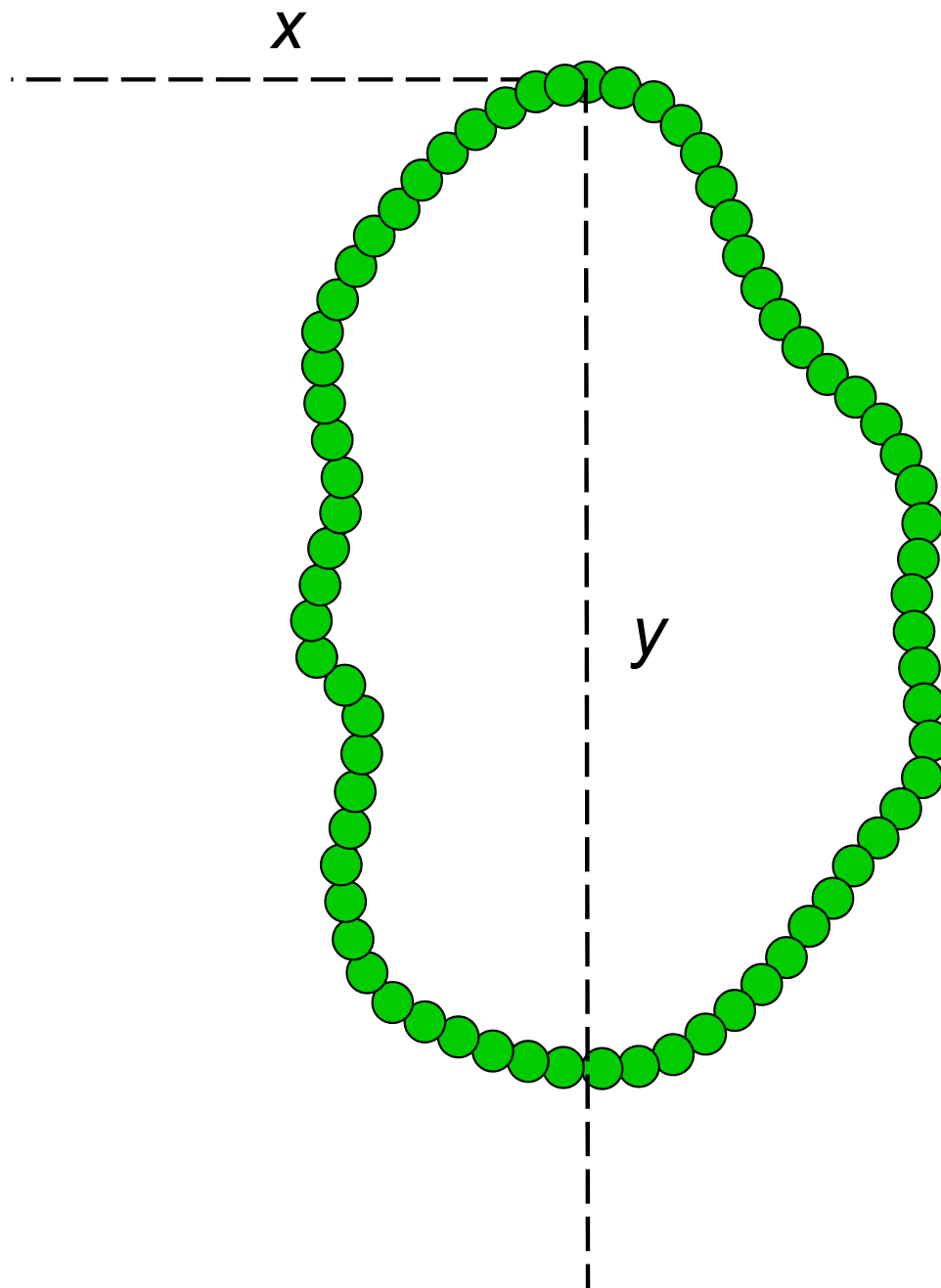
Tradiční Fourierova a.

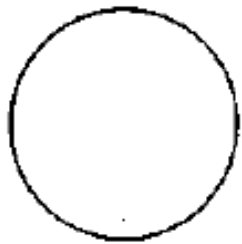
$$r_{\theta} = a_0 + \sum_{i=1}^k (a_i \cos_i \theta + b_i \sin_i \theta)$$

$$a_0 = \sqrt{\frac{1}{p} \sum_{i=1}^p \theta_i} \quad a_i = \sqrt{\frac{2}{p} \sum_{i=1}^p \theta_i \cos_i \theta_i} \quad b_i = \sqrt{\frac{2}{p} \sum_{i=1}^p \theta_i \sin_i \theta_i}$$



# Eliptická Fourierova a.





.



.



\*



.



|

o

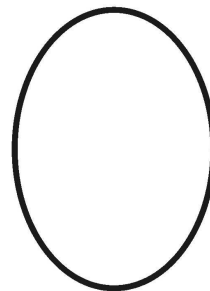
.

.

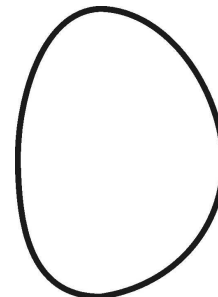
.

.

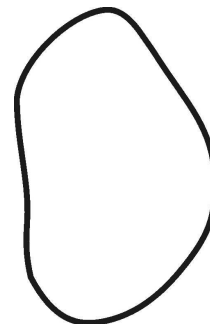
|



**n=1**



**n=2**



**n=5**



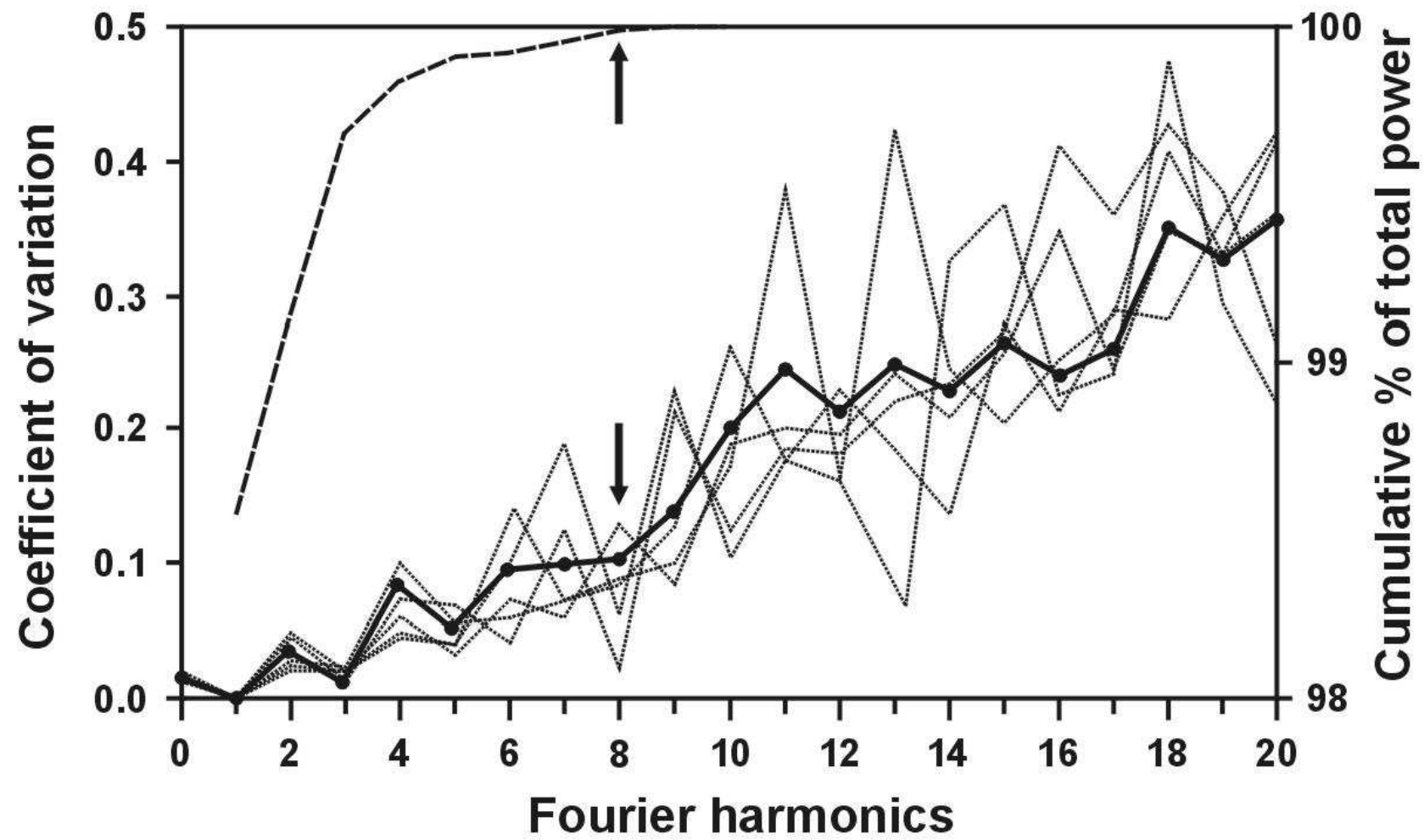
**n=8**



**n=10**



**n=20**





# Geometrická morfometrie II.

## Analýza význačných bodů

význačné body (landmarks)

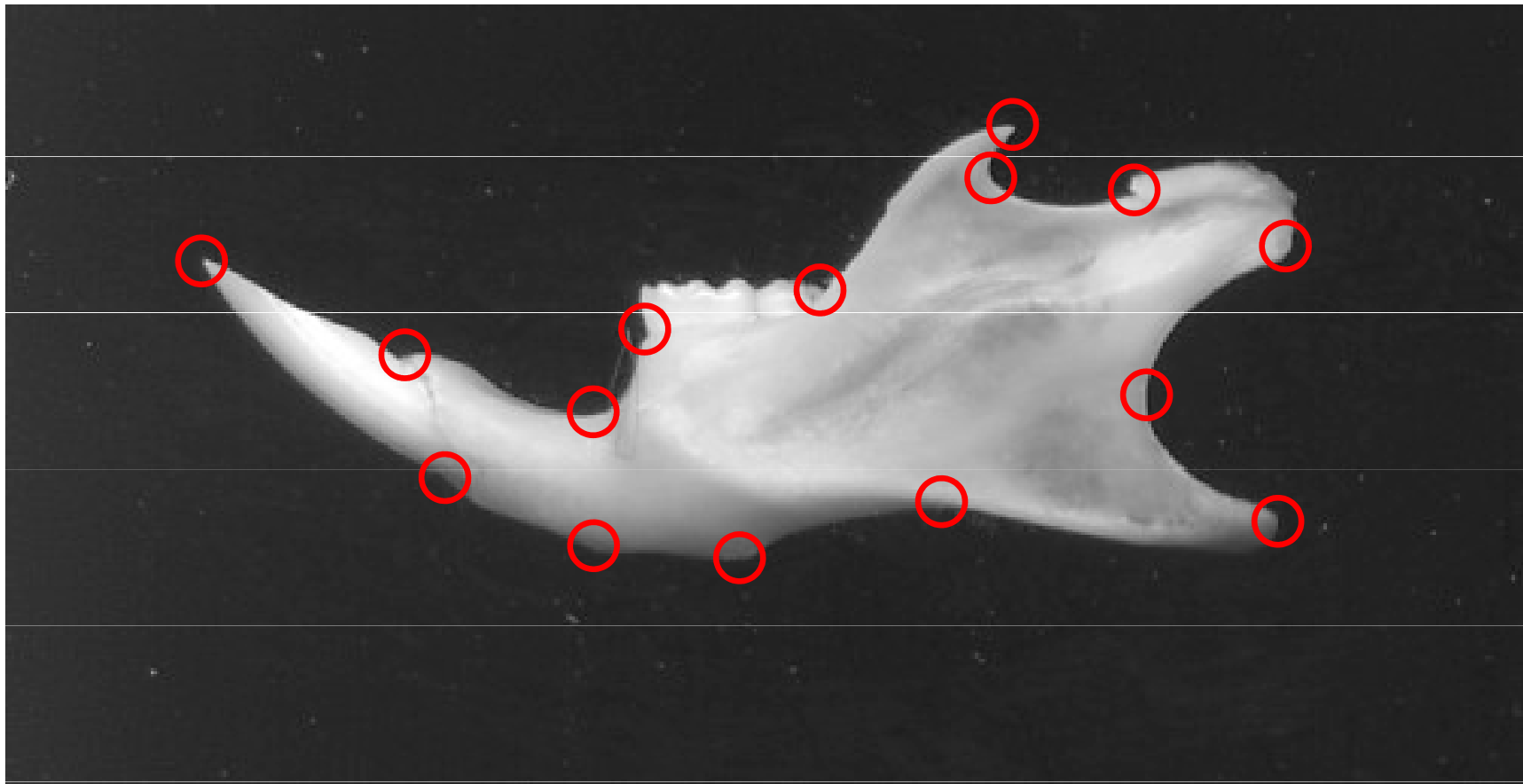
kvantifikace tvaru pomocí tvarových koordinát odlišení různých tvarových složek

informace o tvaru zachována po celou dobu matematické analýzy

velikostní standardizace a možnost samostatné práce s vektorem velikosti

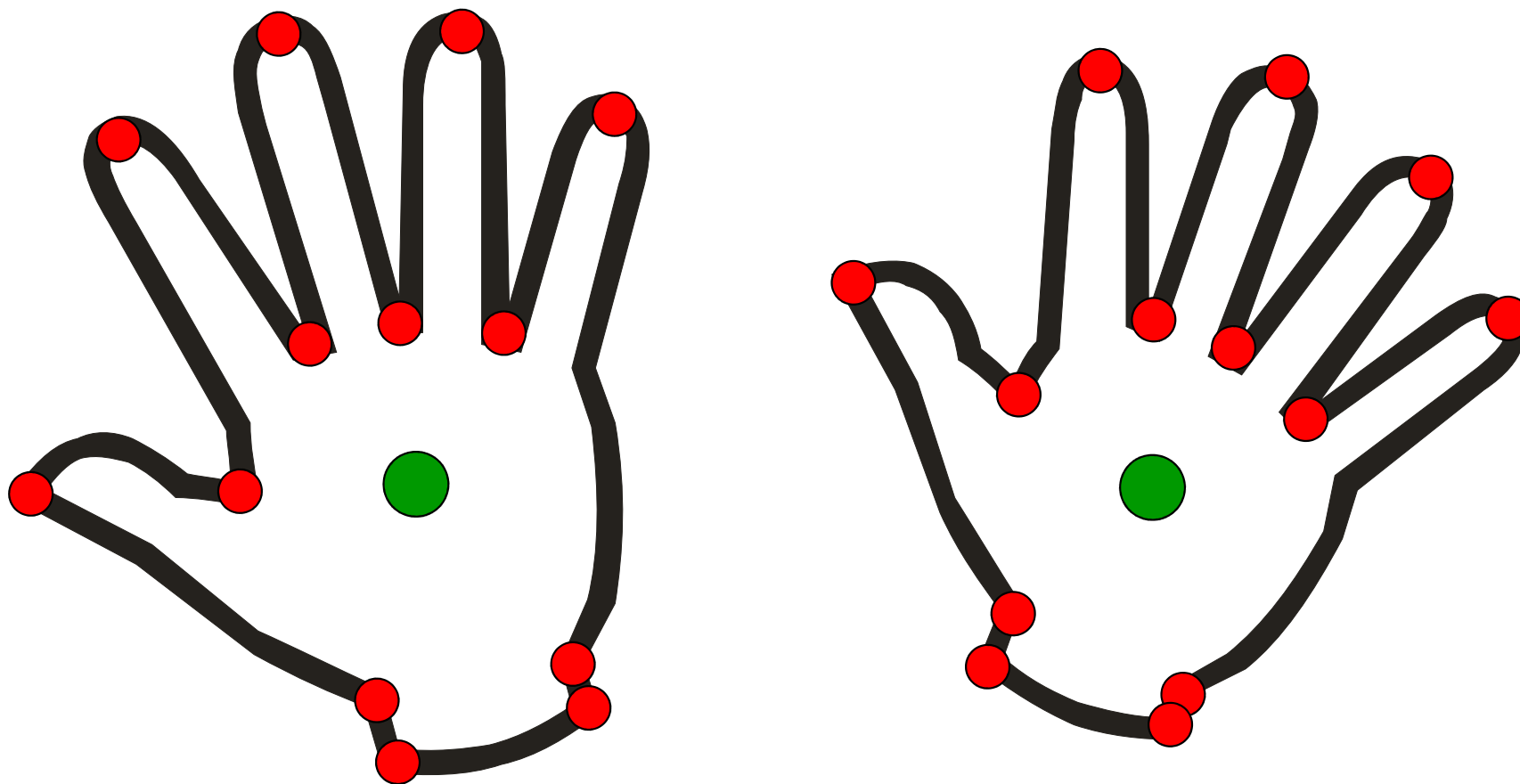
možnost zpracování dat pomocí tradičního morfometrického aparátu

**význačné body (landmarks)** = body, které lze přesně lokalizovat a které jsou alespoň v geometrickém smyslu mezi objekty homologické



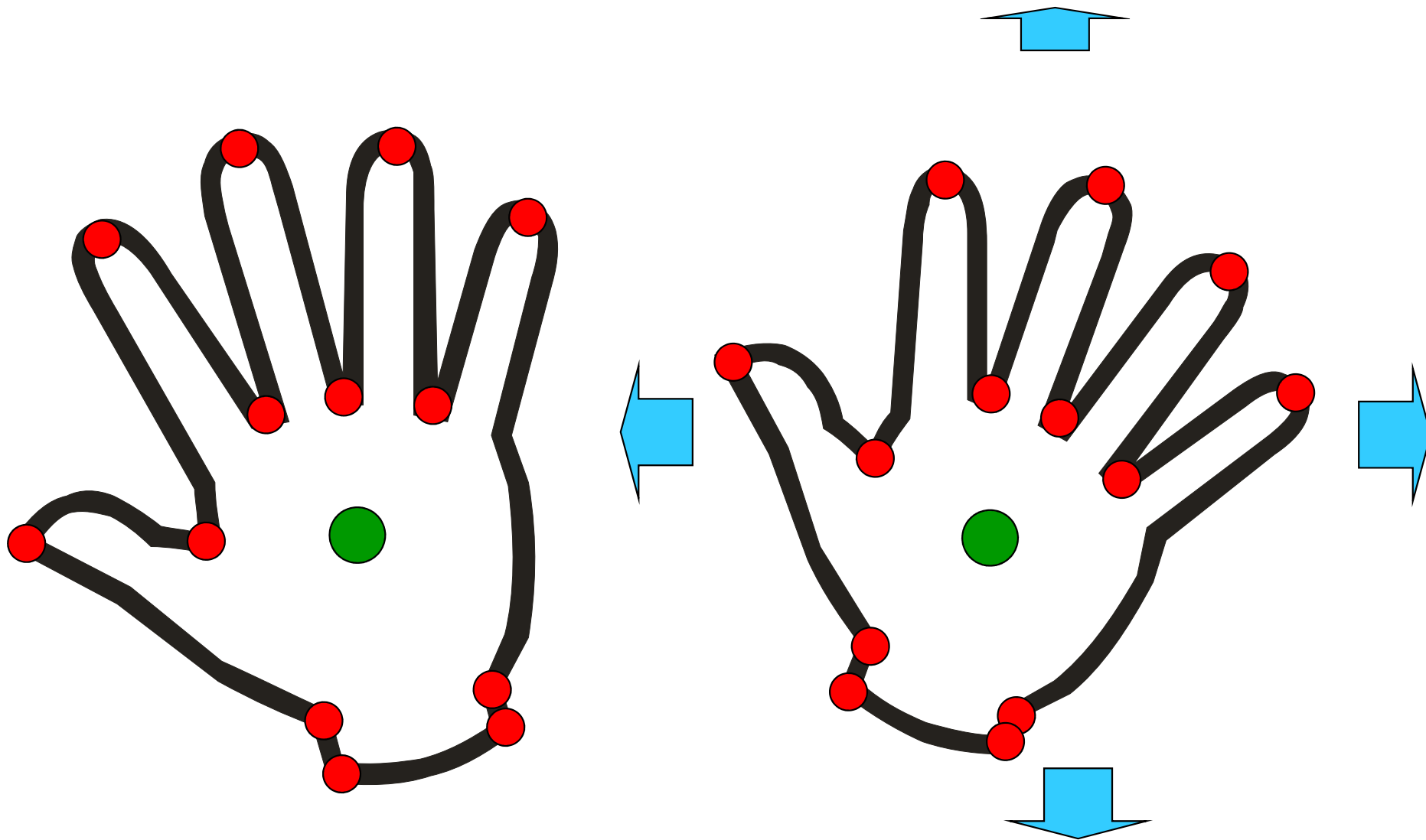
# Prokrustovská superpozice = GLS (Generalized Least Squares)

tvar = vše kromě informace o velikosti, pozici a orientaci objektu

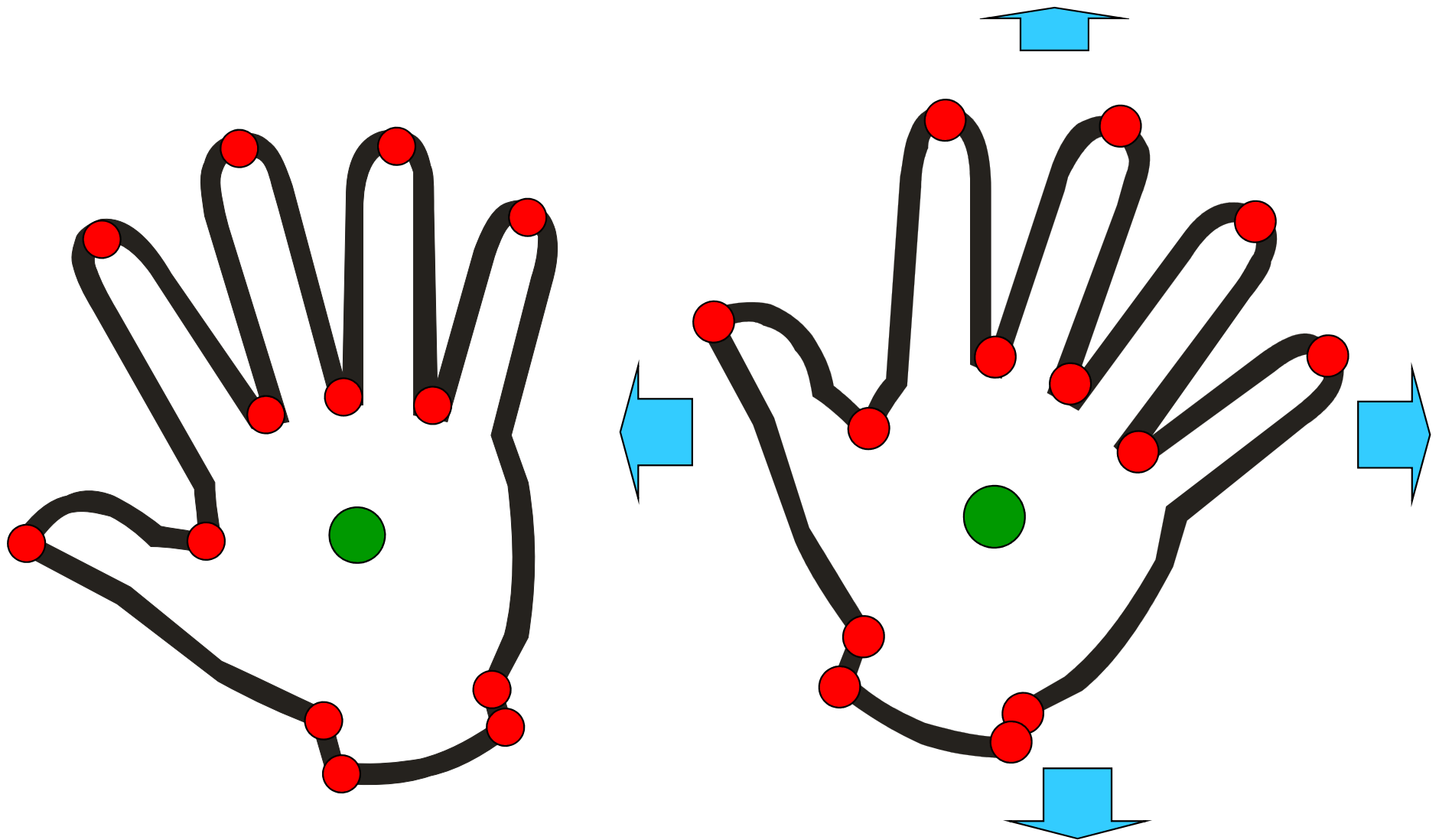


OBRAZOVÝ PROSTOR:  $p$  – rozměrů,  $k$  – bodů;  $n = pk$

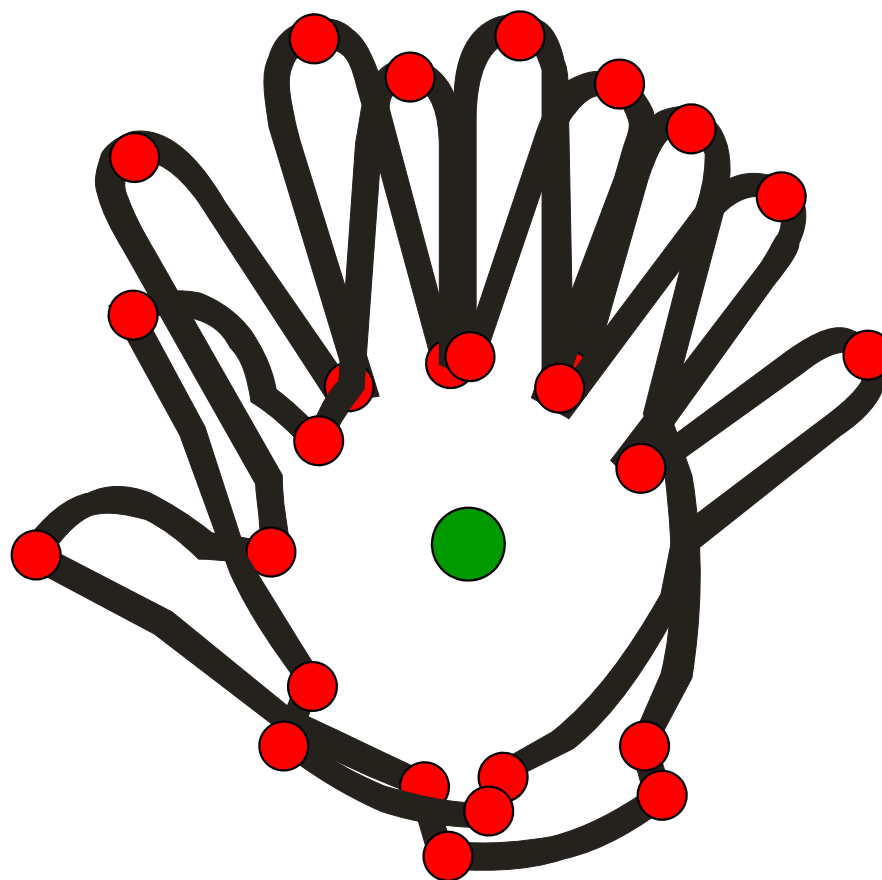
# Prokrustovská superpozice 1.



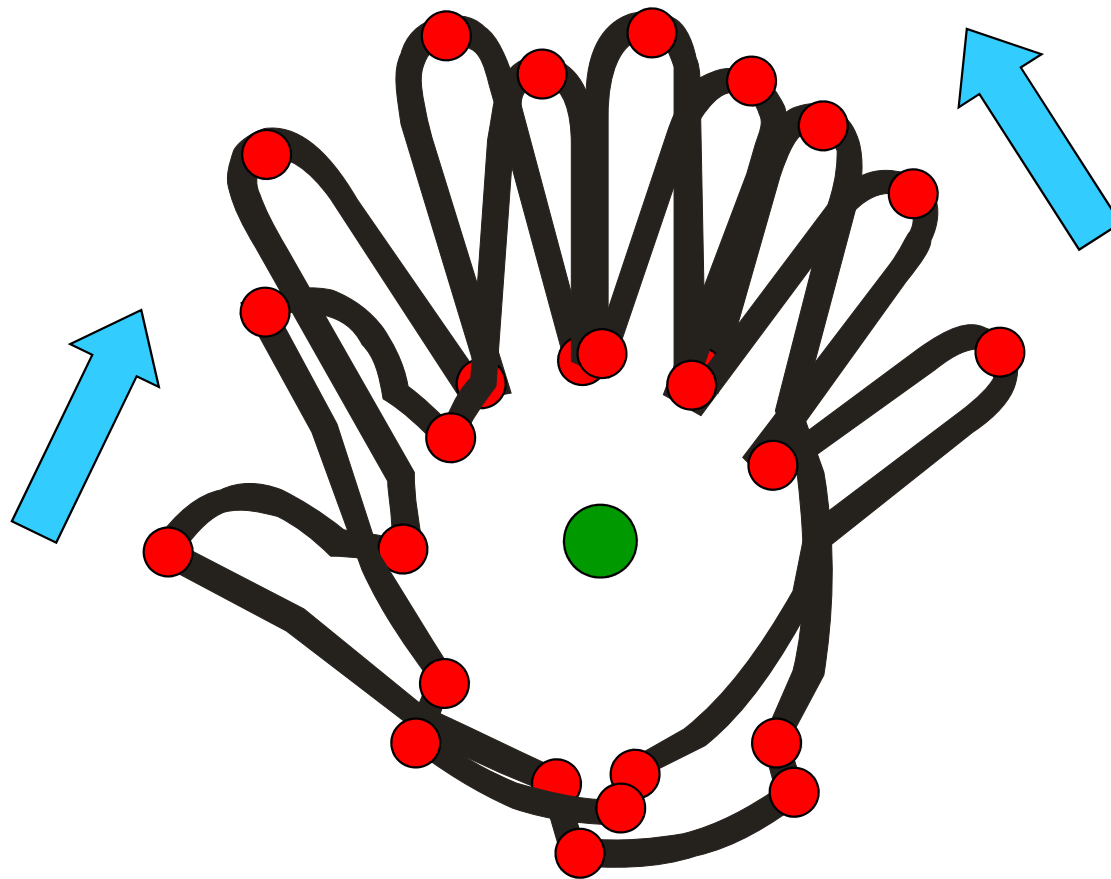
# Prokrustovská superpozice 1.



## Prokrustovská superpozice 2.

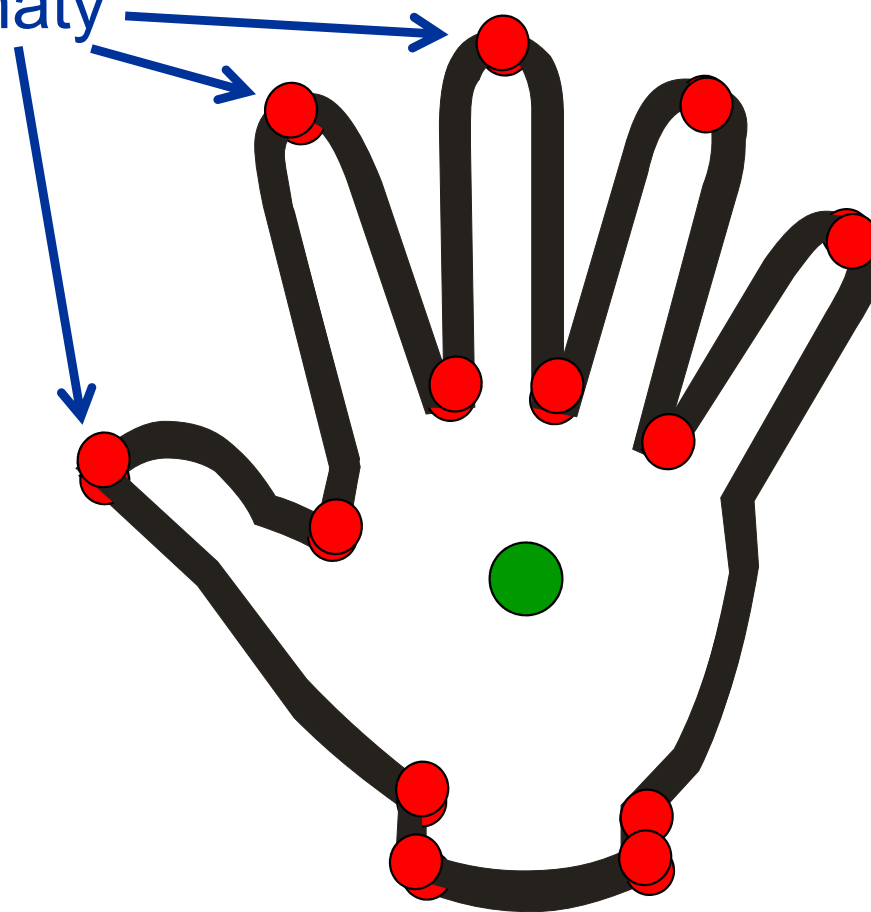


## Prokrustovská superpozice 3.



## Prokrustovská superpozice 3.

Tvarové koordináty

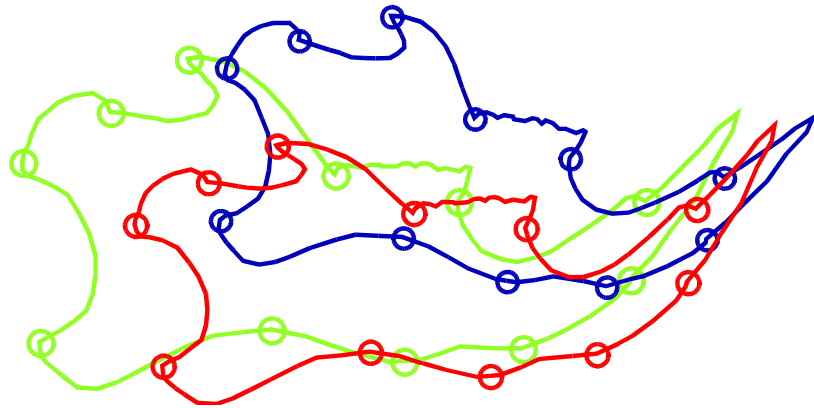


TVAROVÝ PROSTOR:  $n = pk - k - k(k-1)/2 - 1$

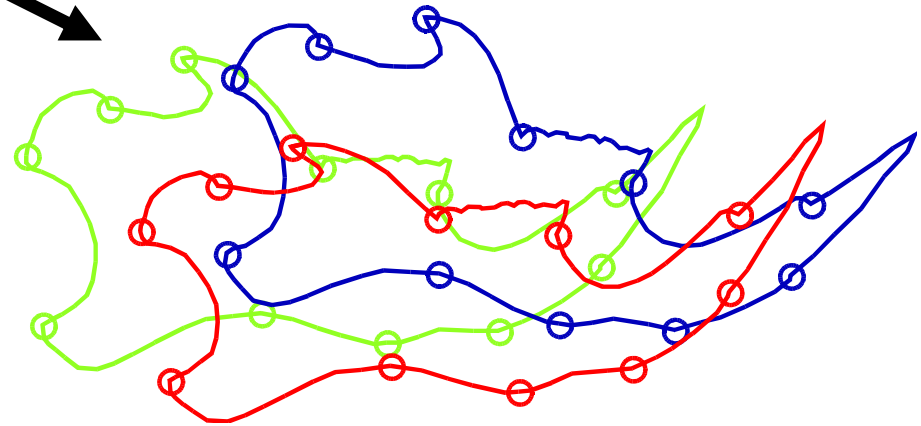


# Extracting shape information: Procrustes superposition

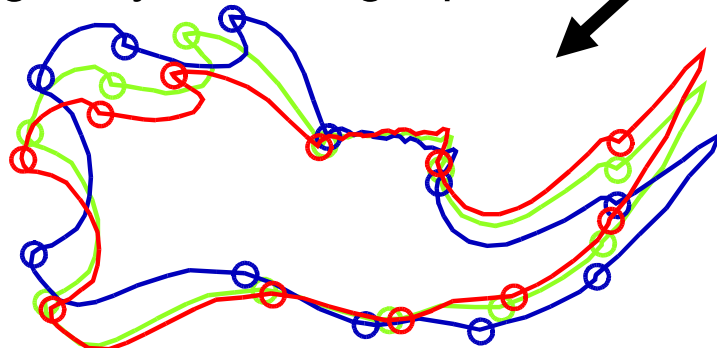
Original landmark configurations



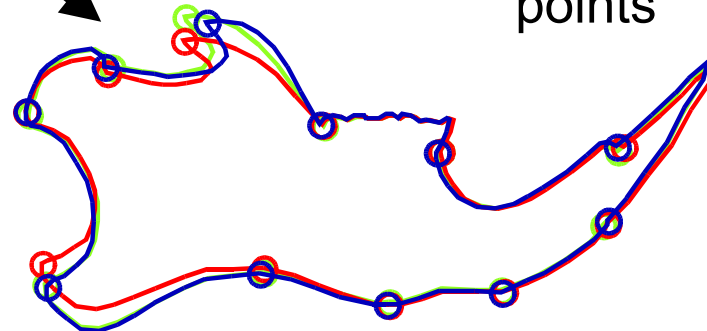
1. Change scale so that all configurations have the same size

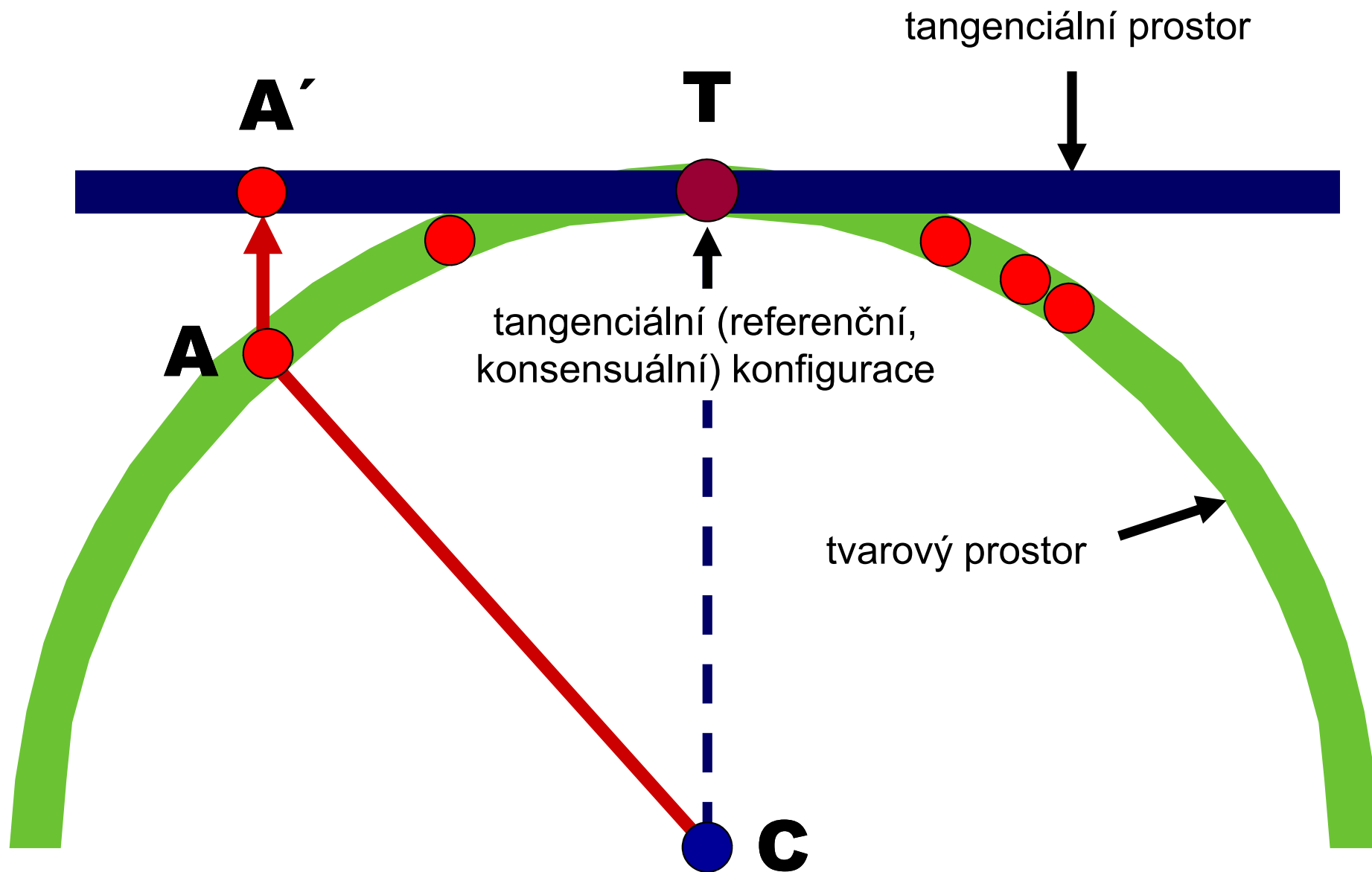


2. Superposition of the centers of gravity on a single point

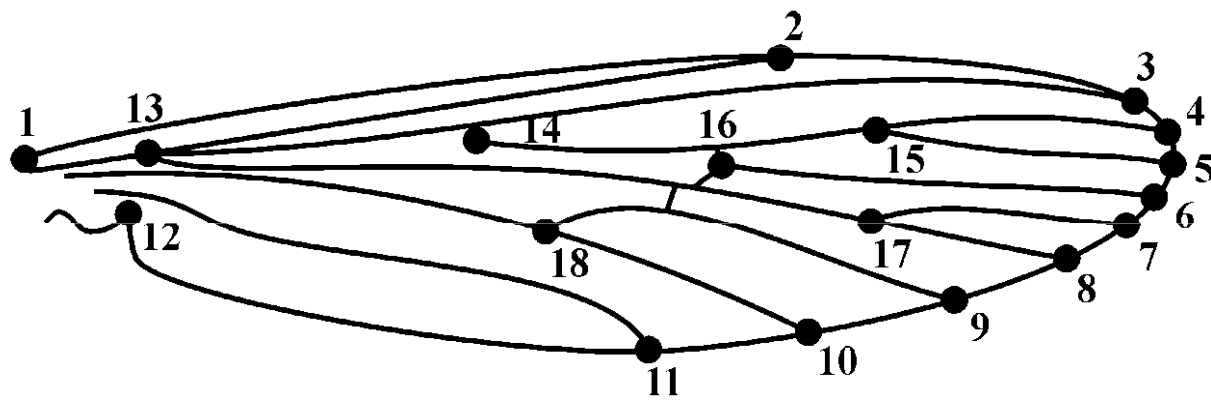


3. Rotation to minimize the dispersion of corresponding points

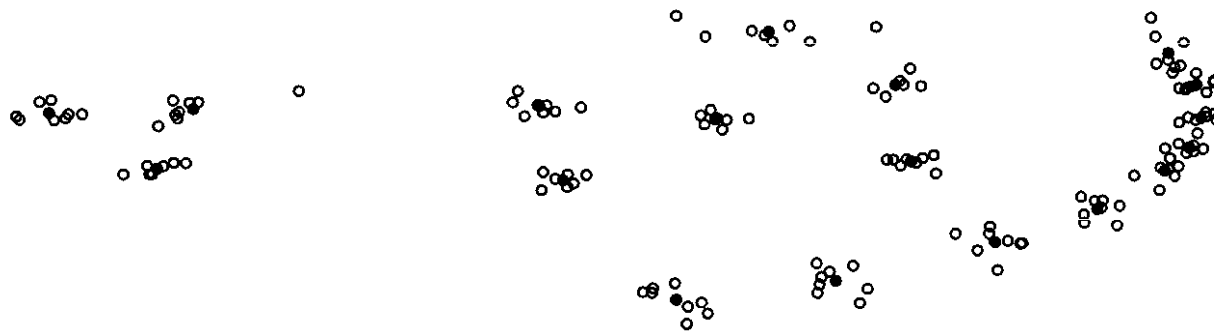




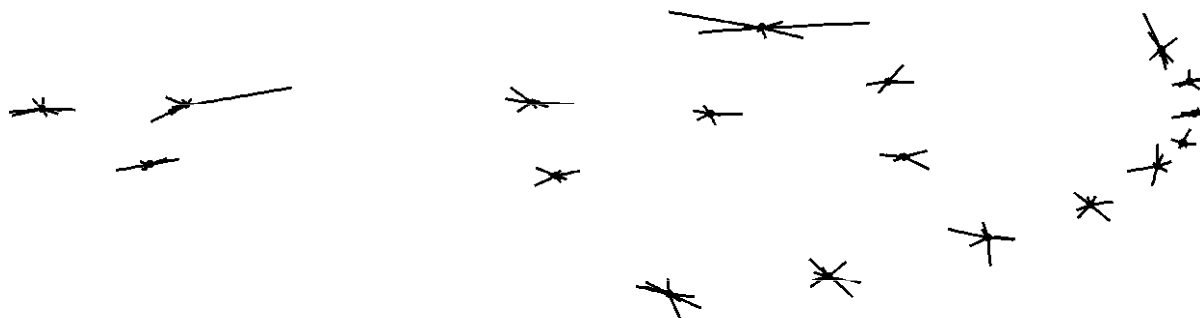
a)



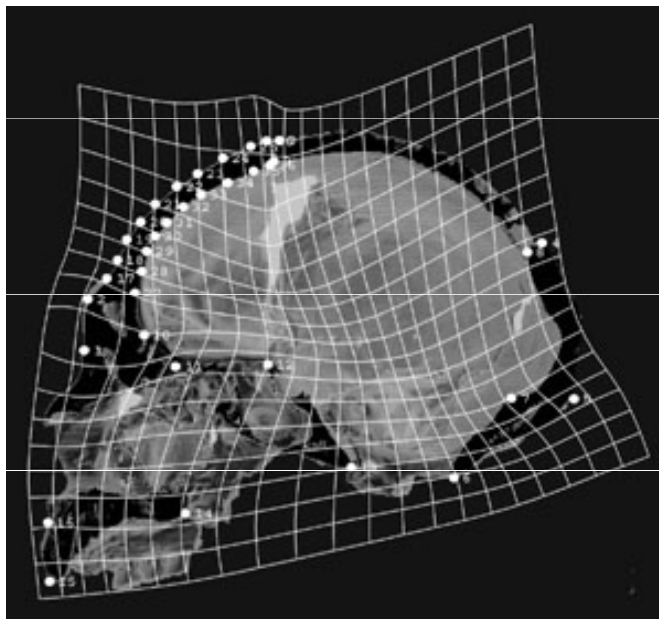
b)



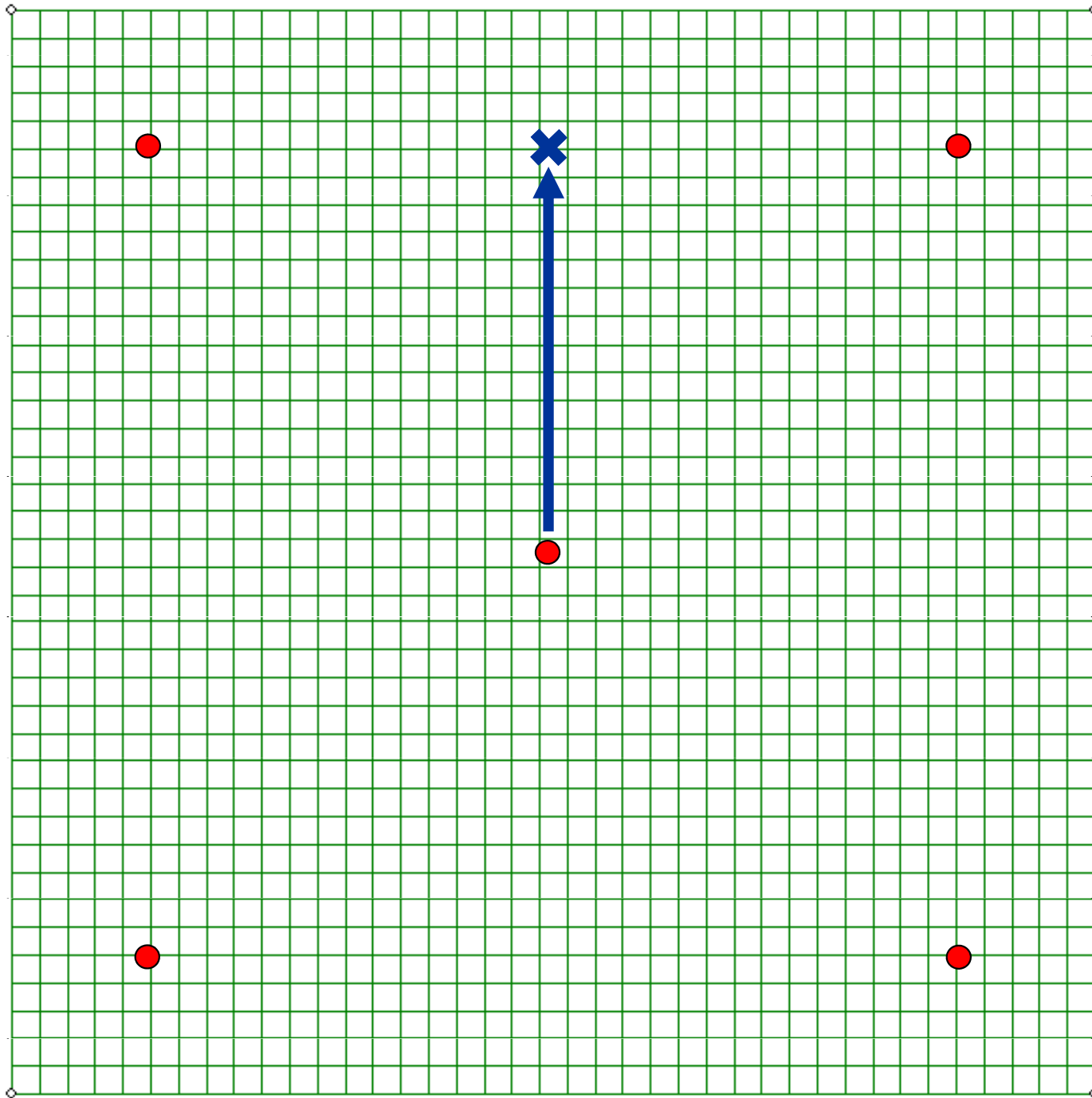
c)

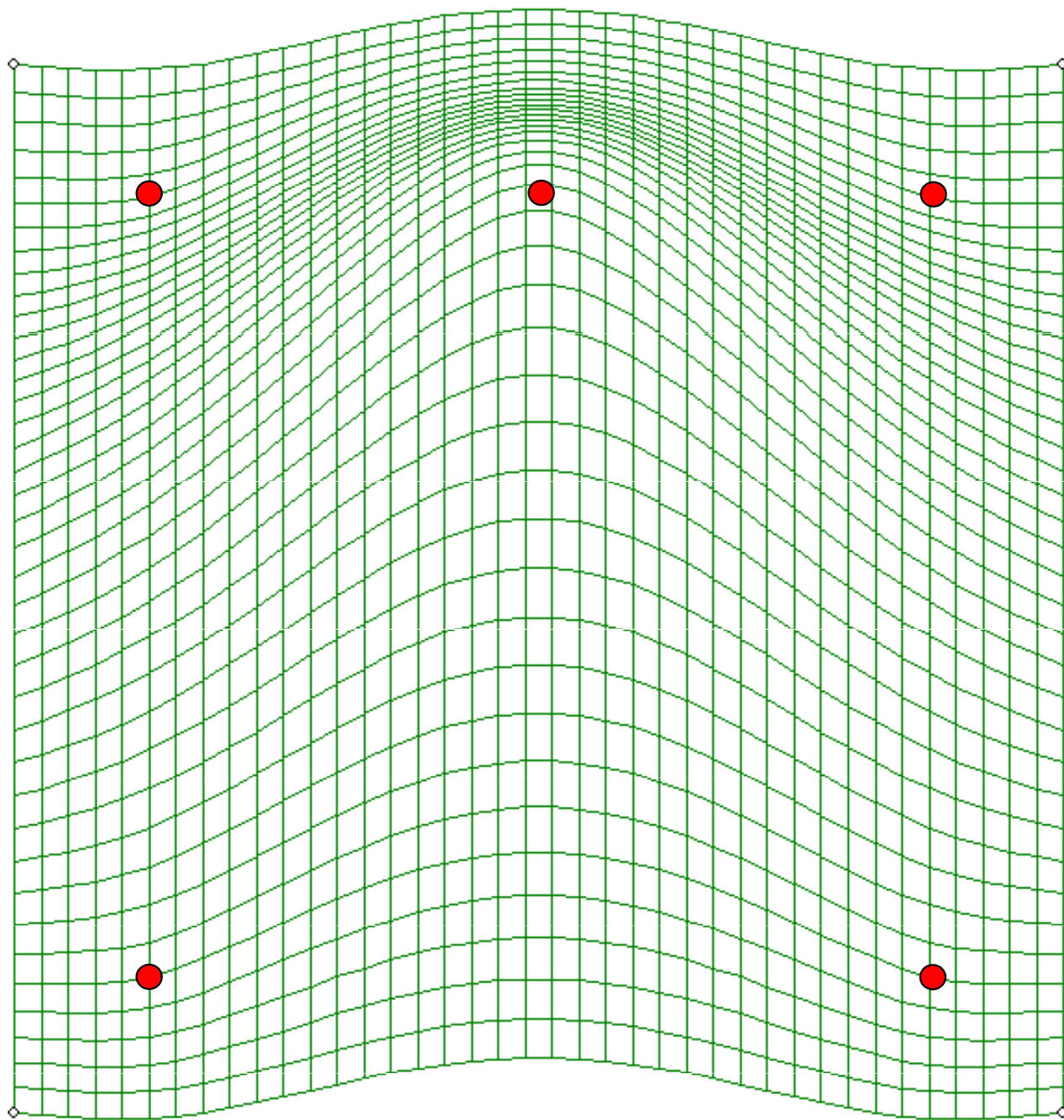


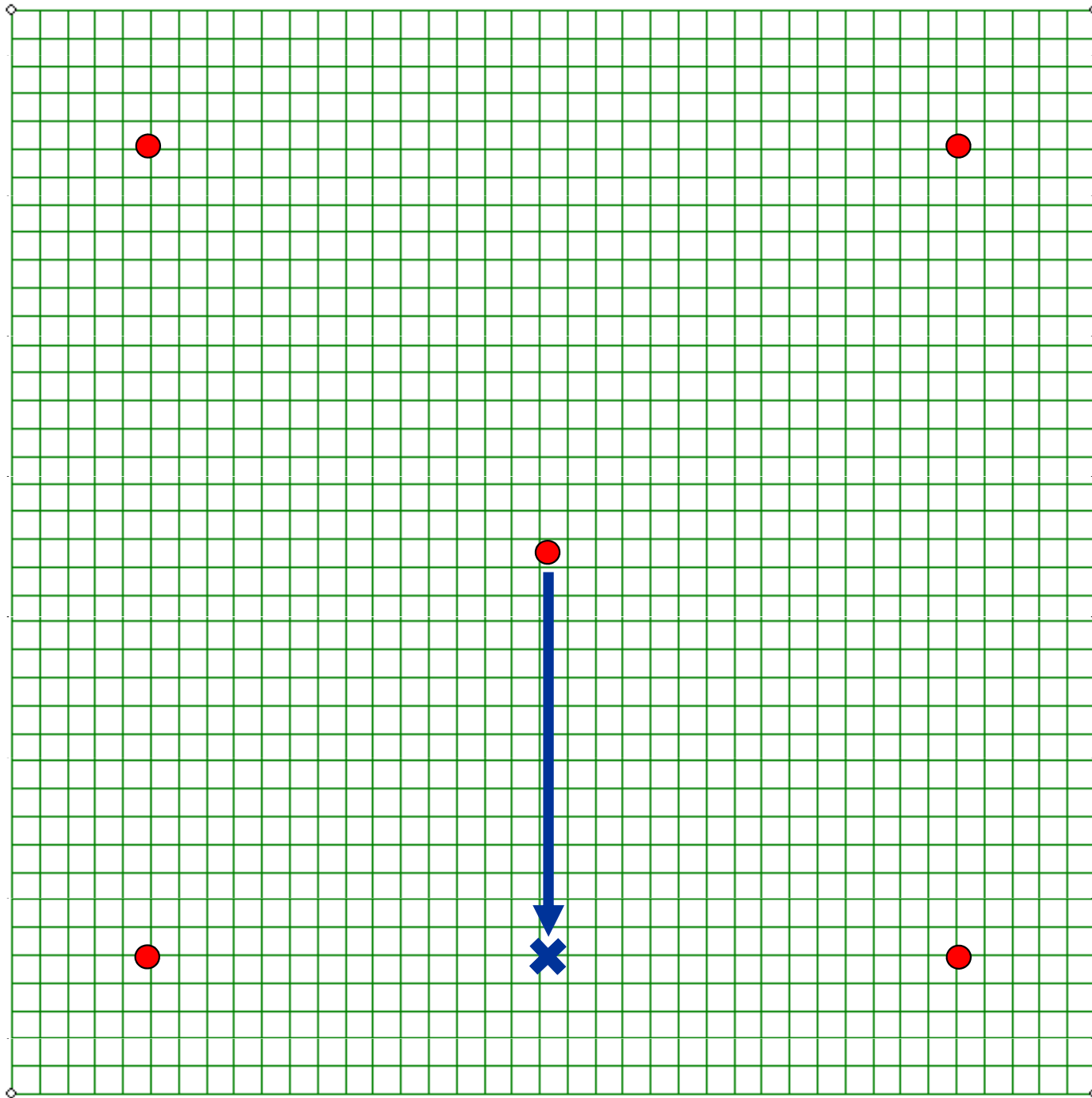
## Deformace souřadnicové sítě TPS (Thin-Plate Spline)

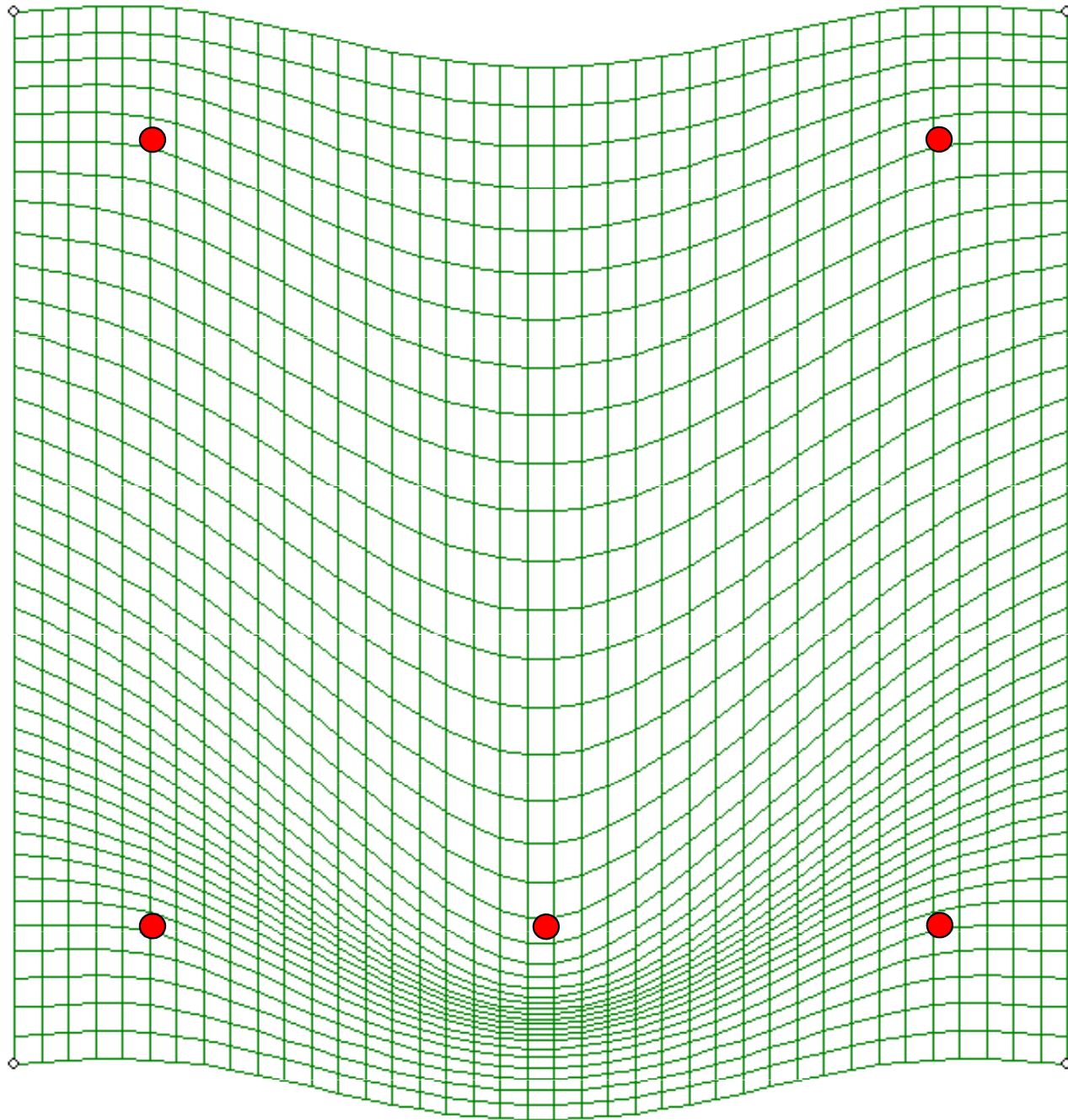


metafora nekonečně velkého, nekonečně tenkého kovového plátu











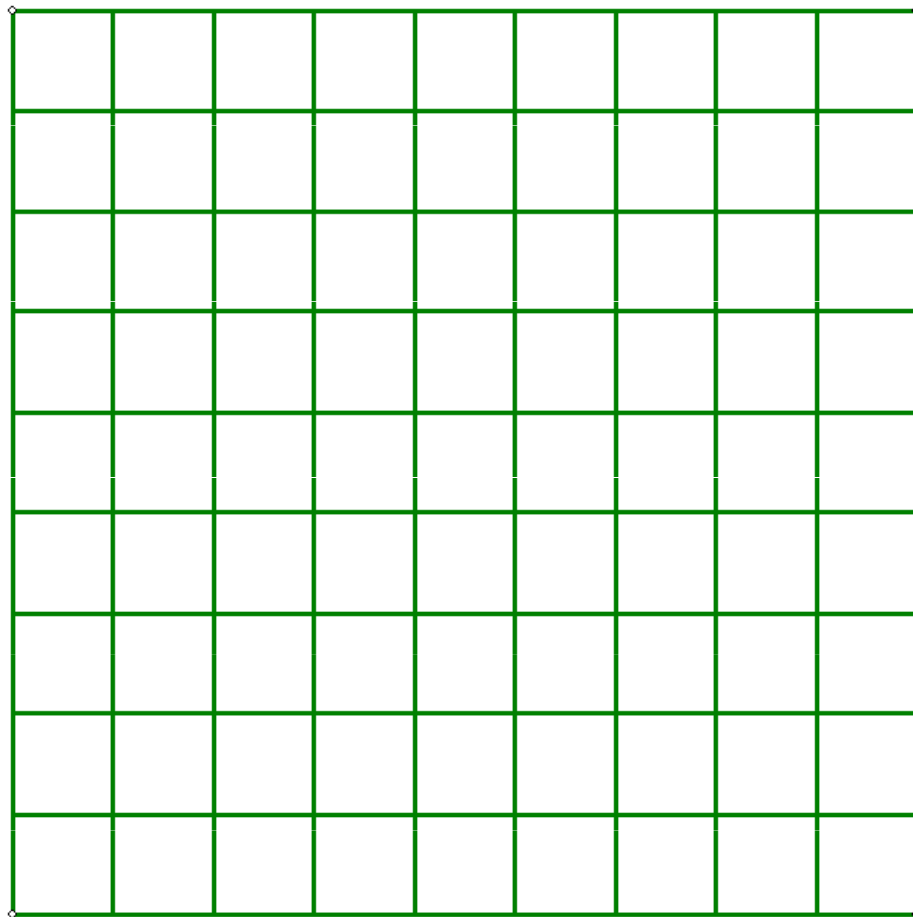
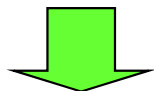
# Deformace souřadnicové sítě TPS (Thin-Plate Spline)

energie nutná k deformaci plátu = **deformační energie**  
(bending energy)

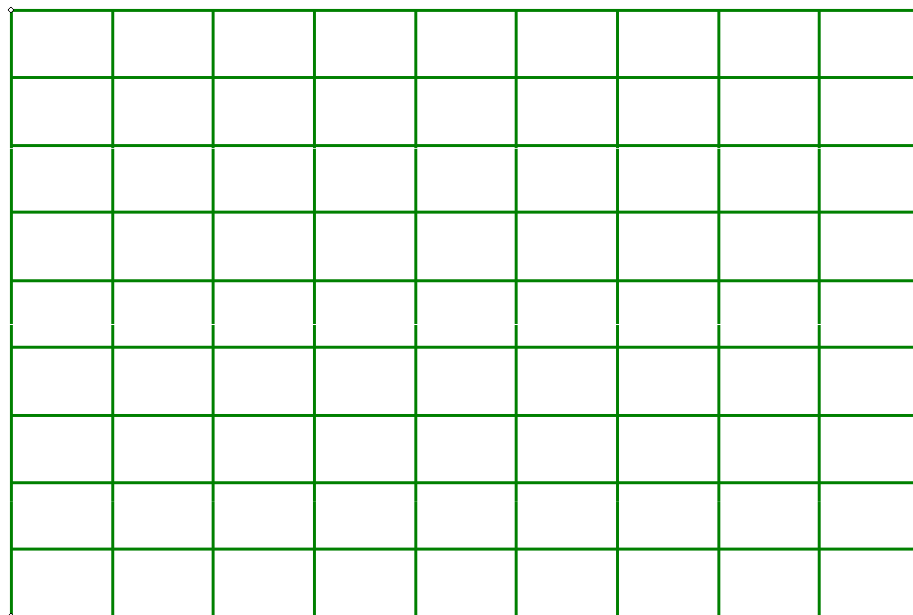
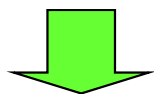
odlišení afinní a neafinní změny tvaru

projekce latentních kořenů deformační energie  
do jednotlivých os = **parciální deformace (partial warps)**  
parciální deformace 0 ~ uniformní složce

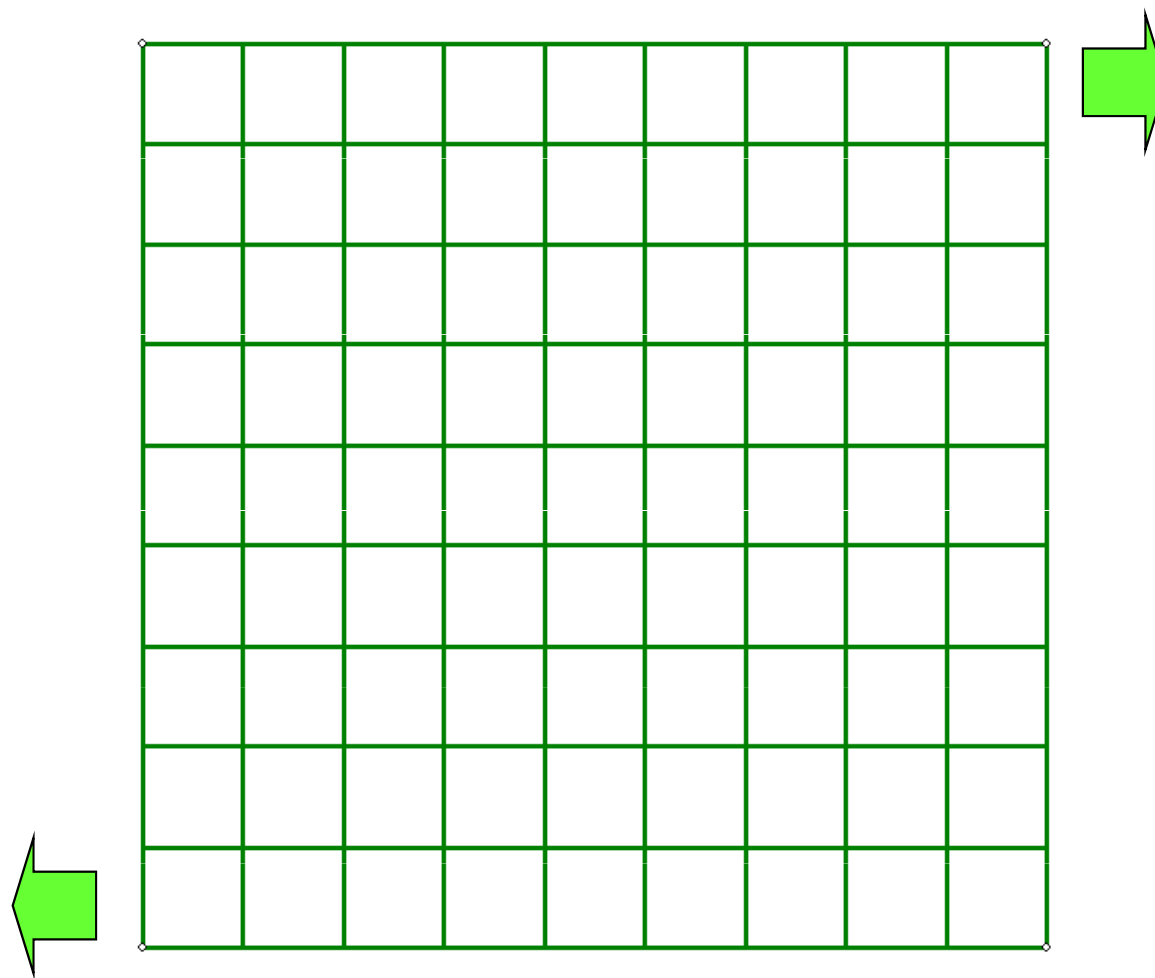
# Afinní (uniformní) změna tvaru



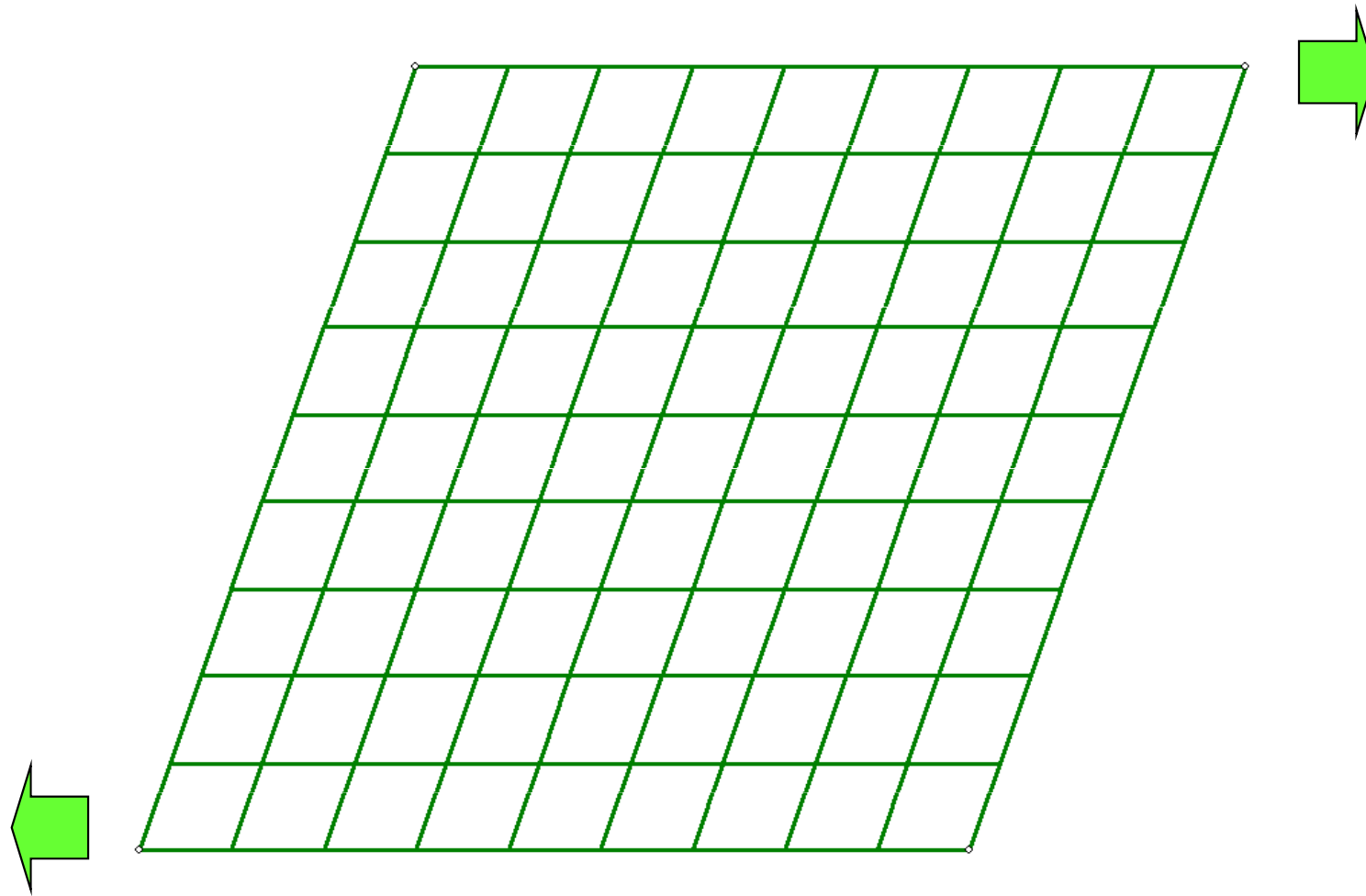
# Afinní (uniformní) změna tvaru



# Afinní (uniformní) změna tvaru

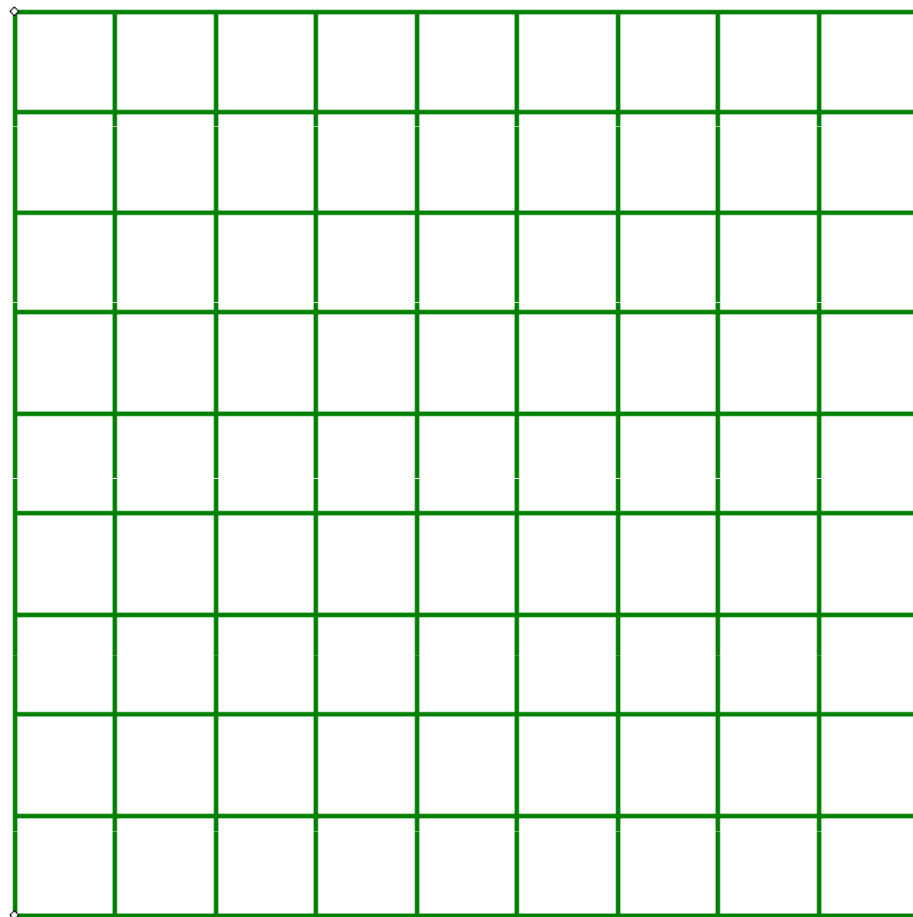


# Afinní (uniformní) změna tvaru

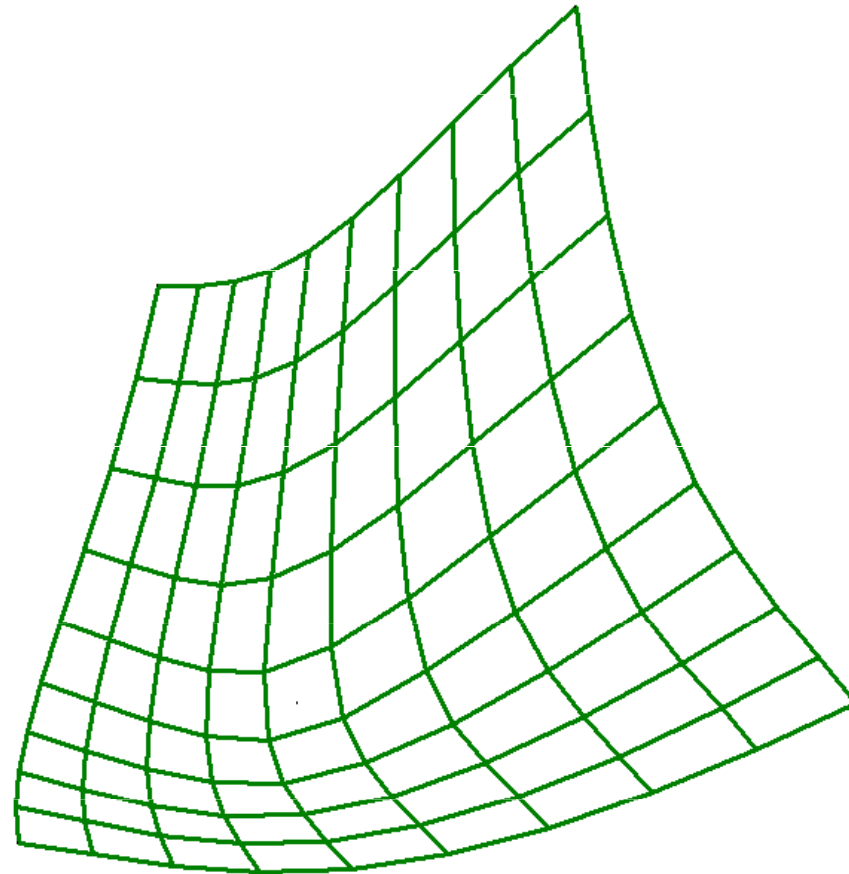


rovnoběžky zůstávají rovnoběžné

# Neafinní (neuniformní) změna tvaru

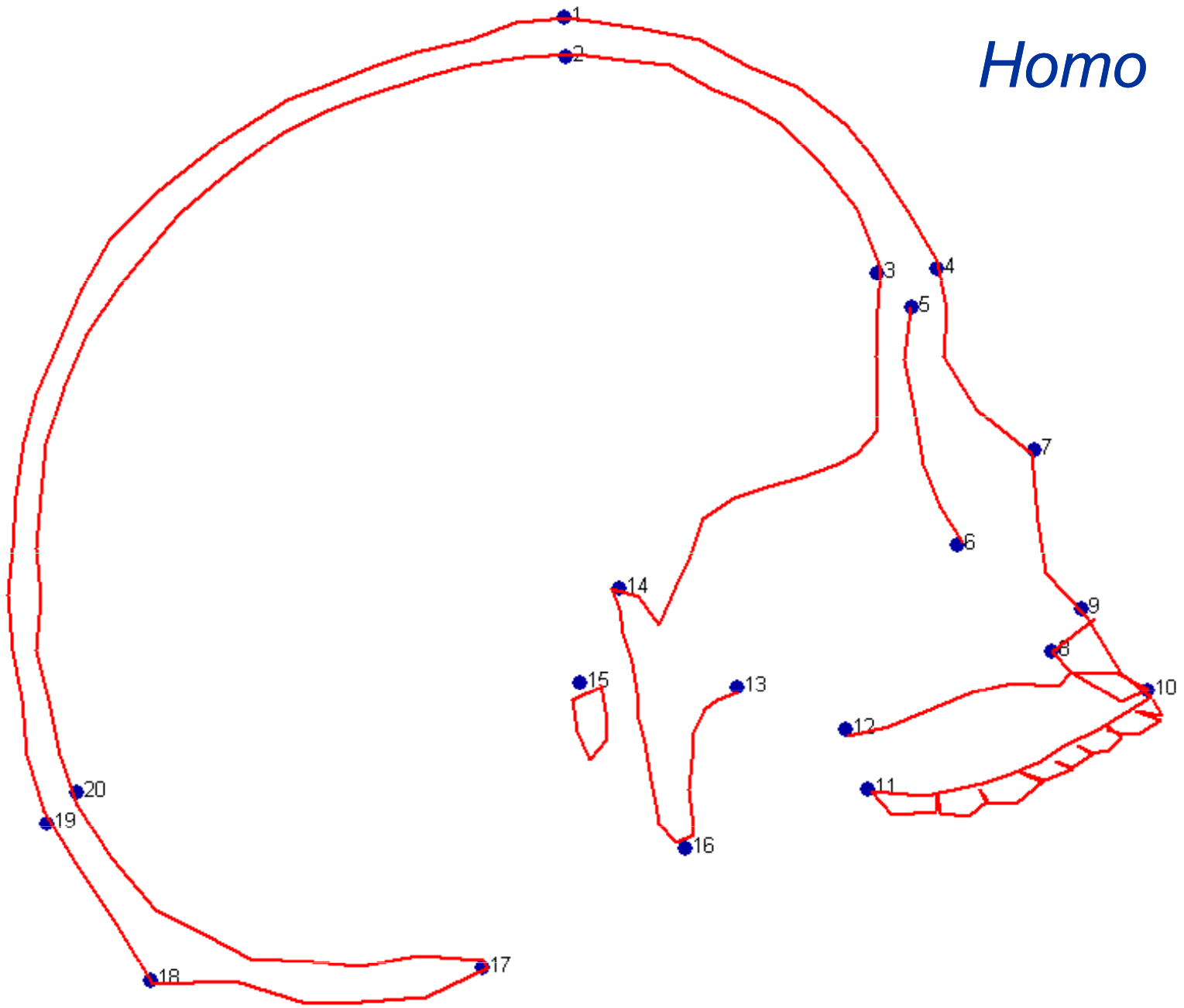


## Neafinní (neuniformní) změna tvaru



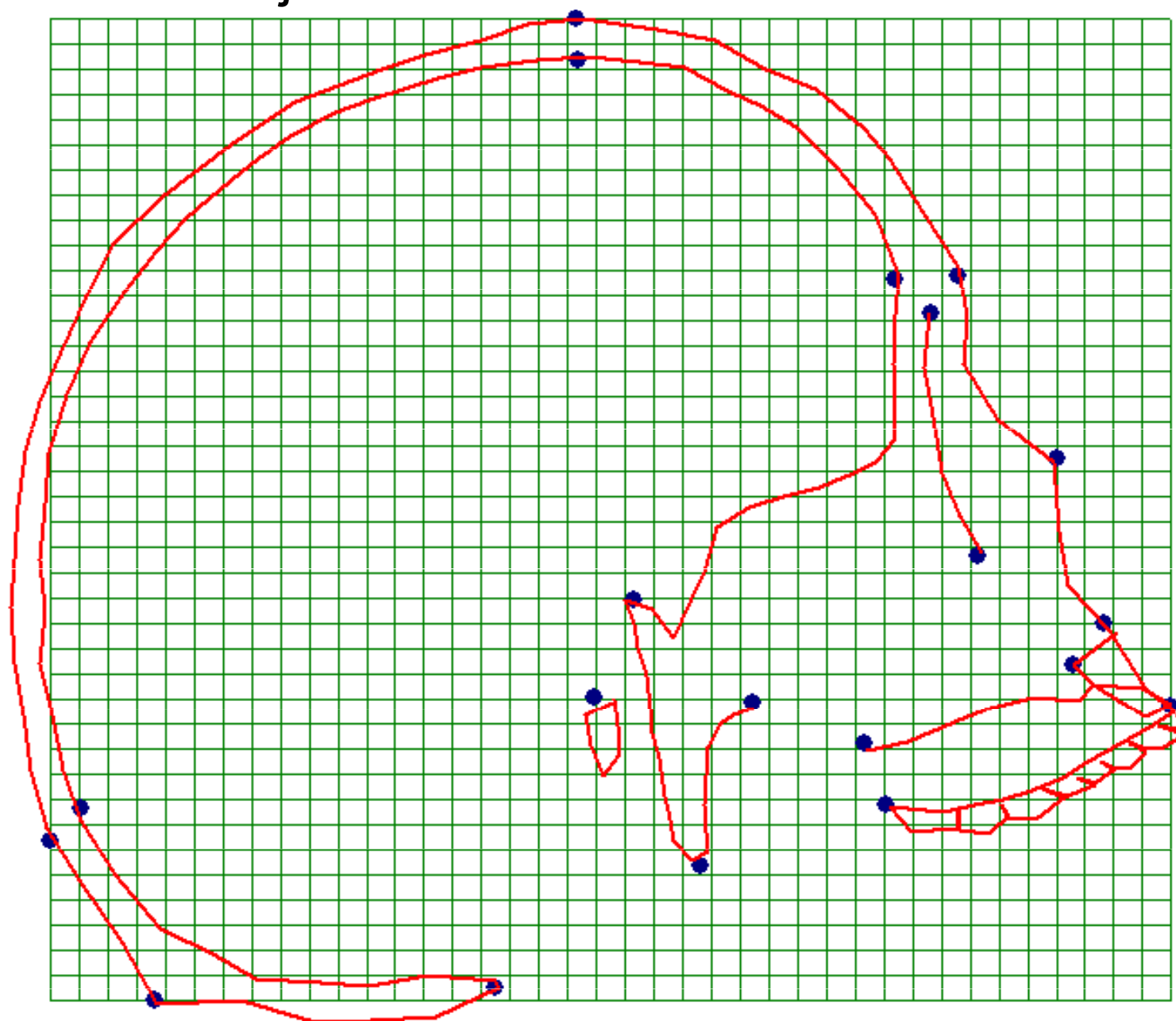
rovnoběžky nezůstávají rovnoběžné

*Homo*

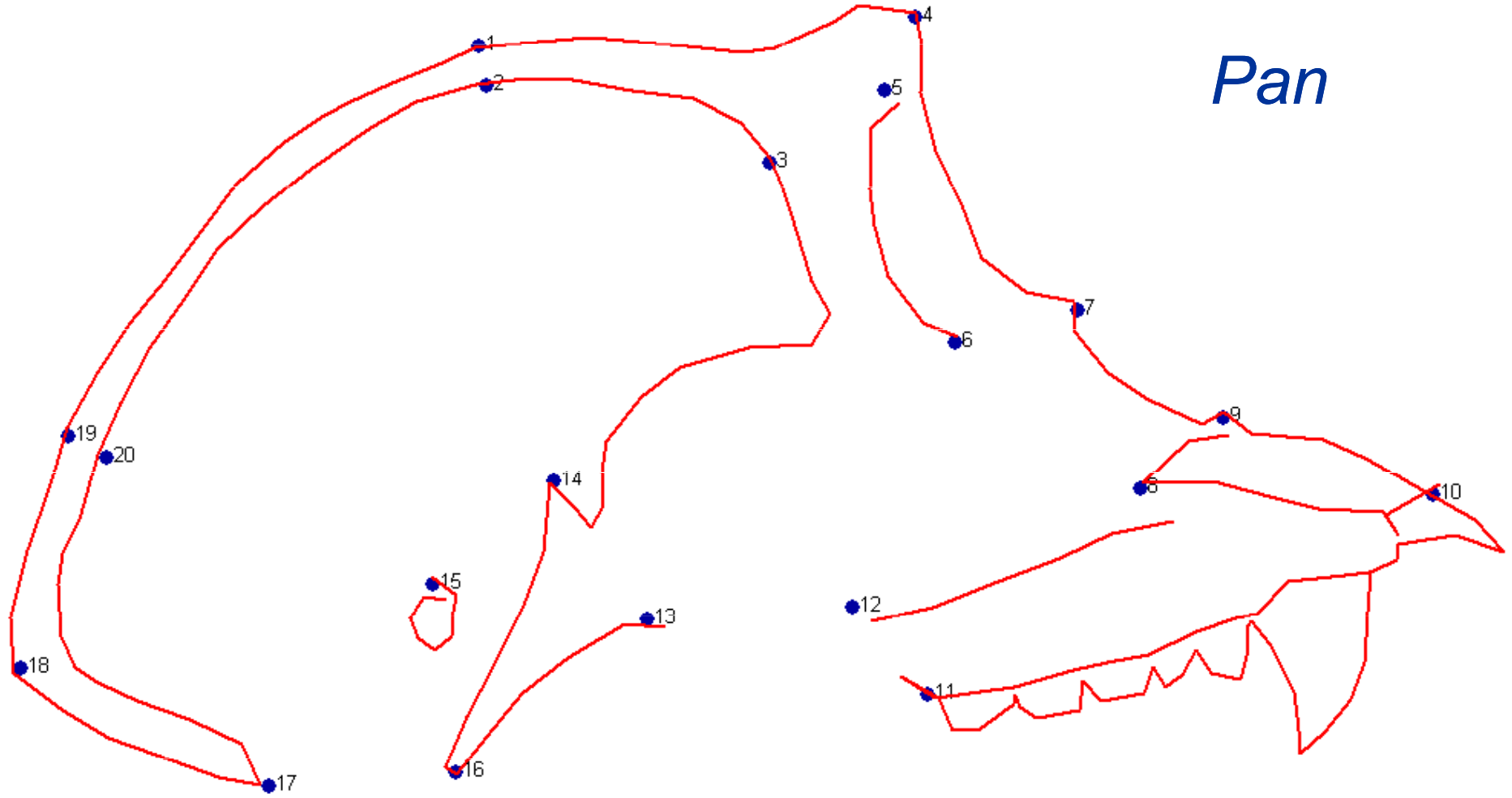




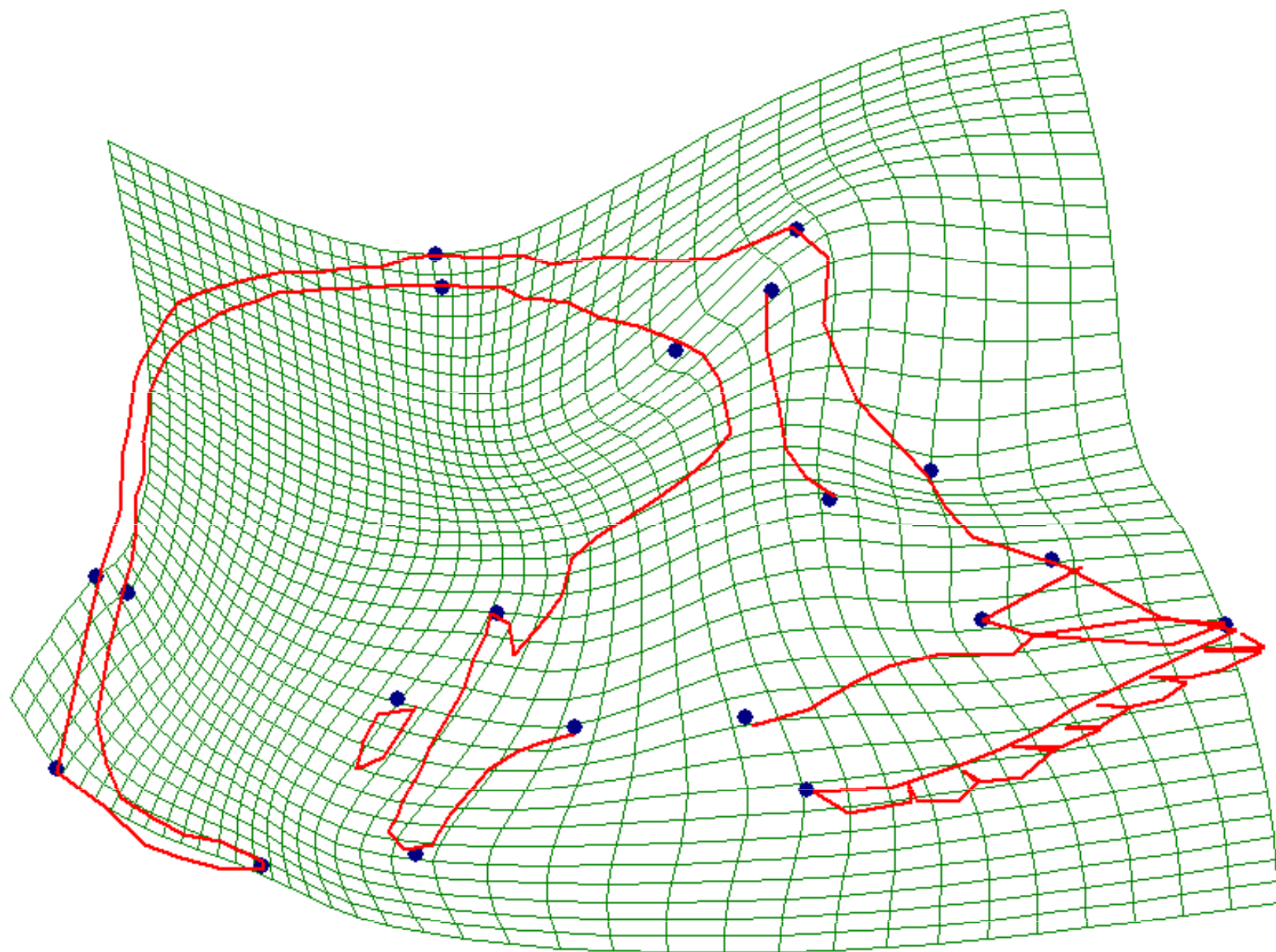
referenční objekt

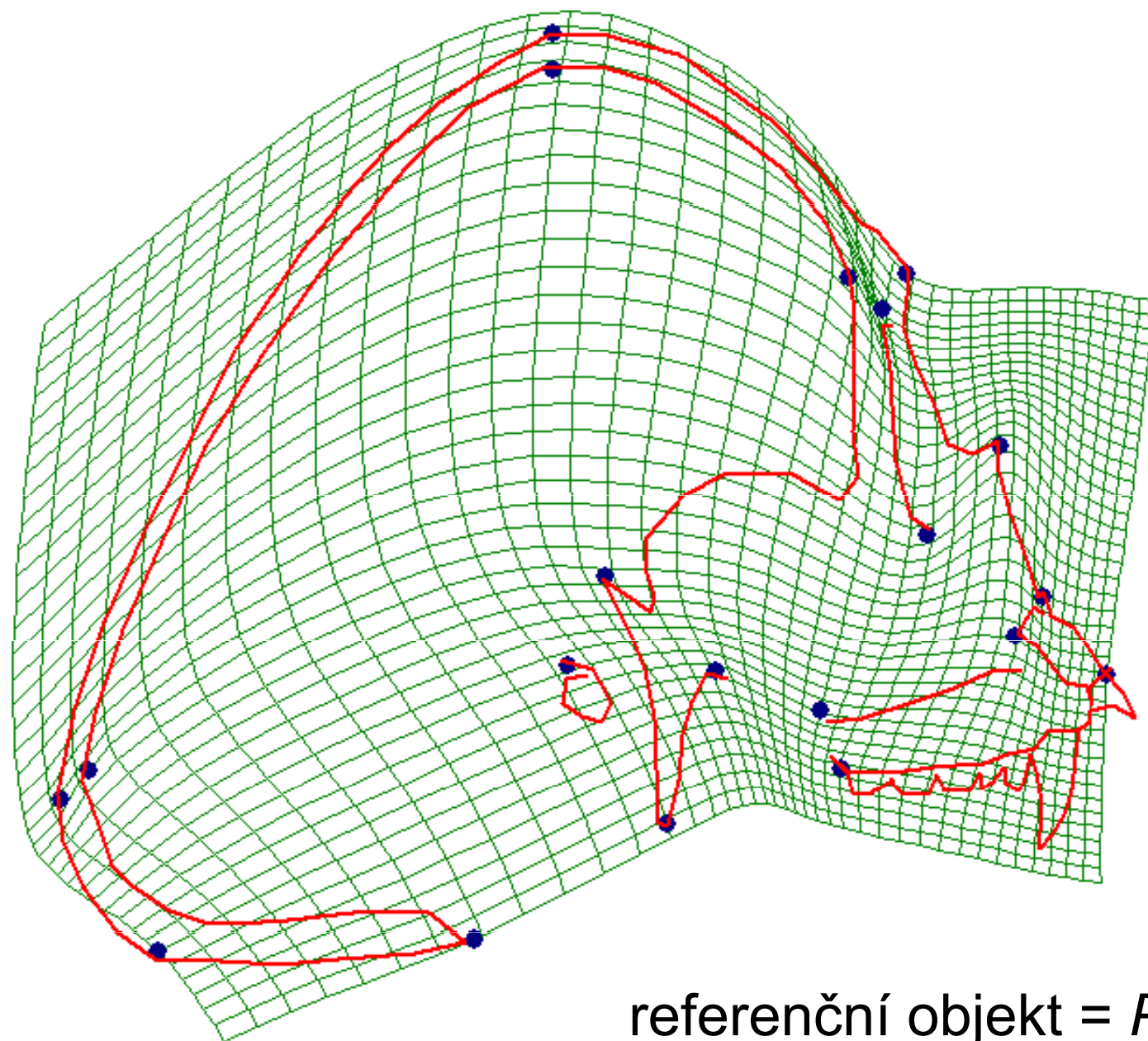


*Pan*



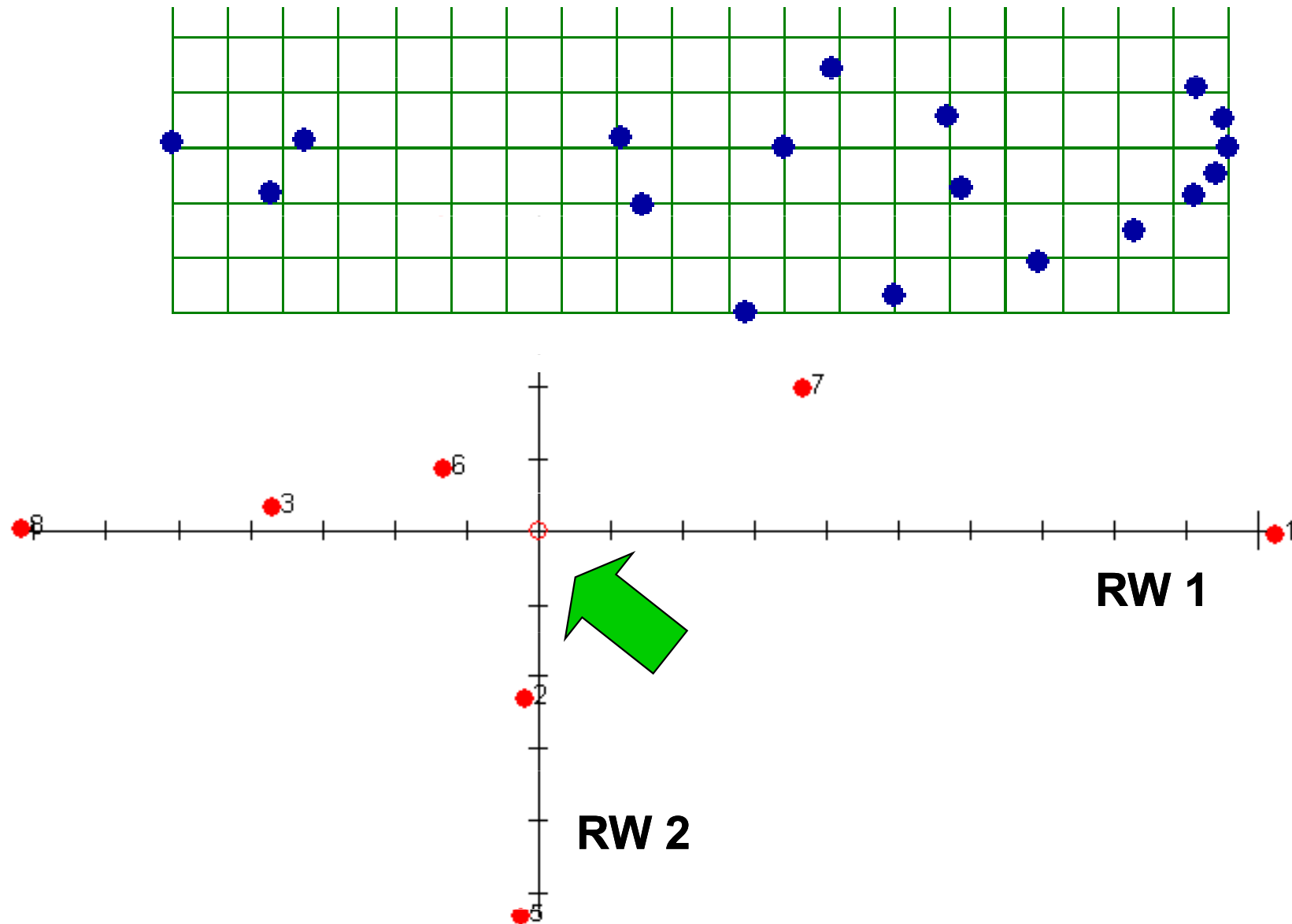
referenční objekt = *Homo*

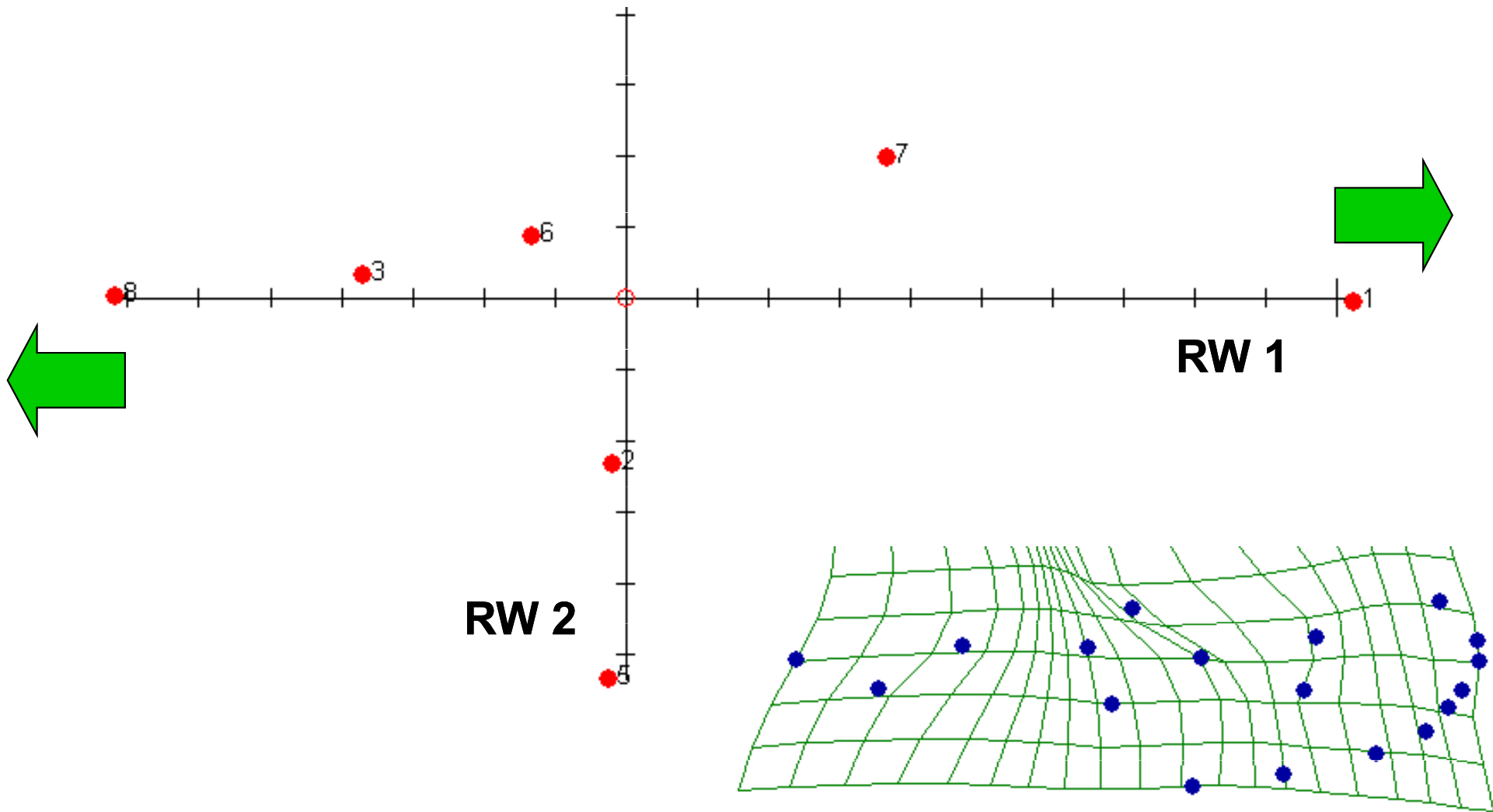
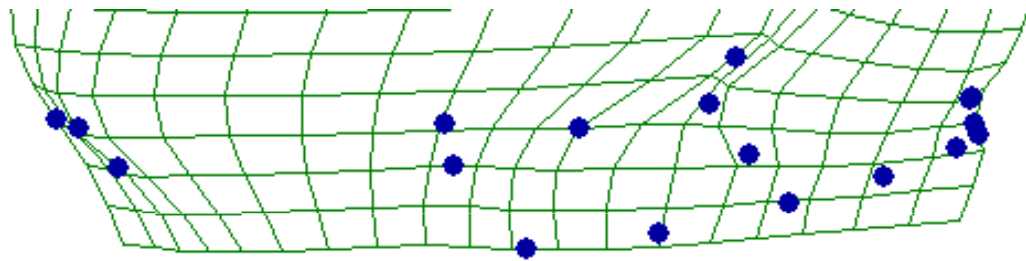




referenční objekt = *Pan*

# >2 vzorky: TPSRW (Thin-Plate Spline Relative Warps)





8

3

6

7

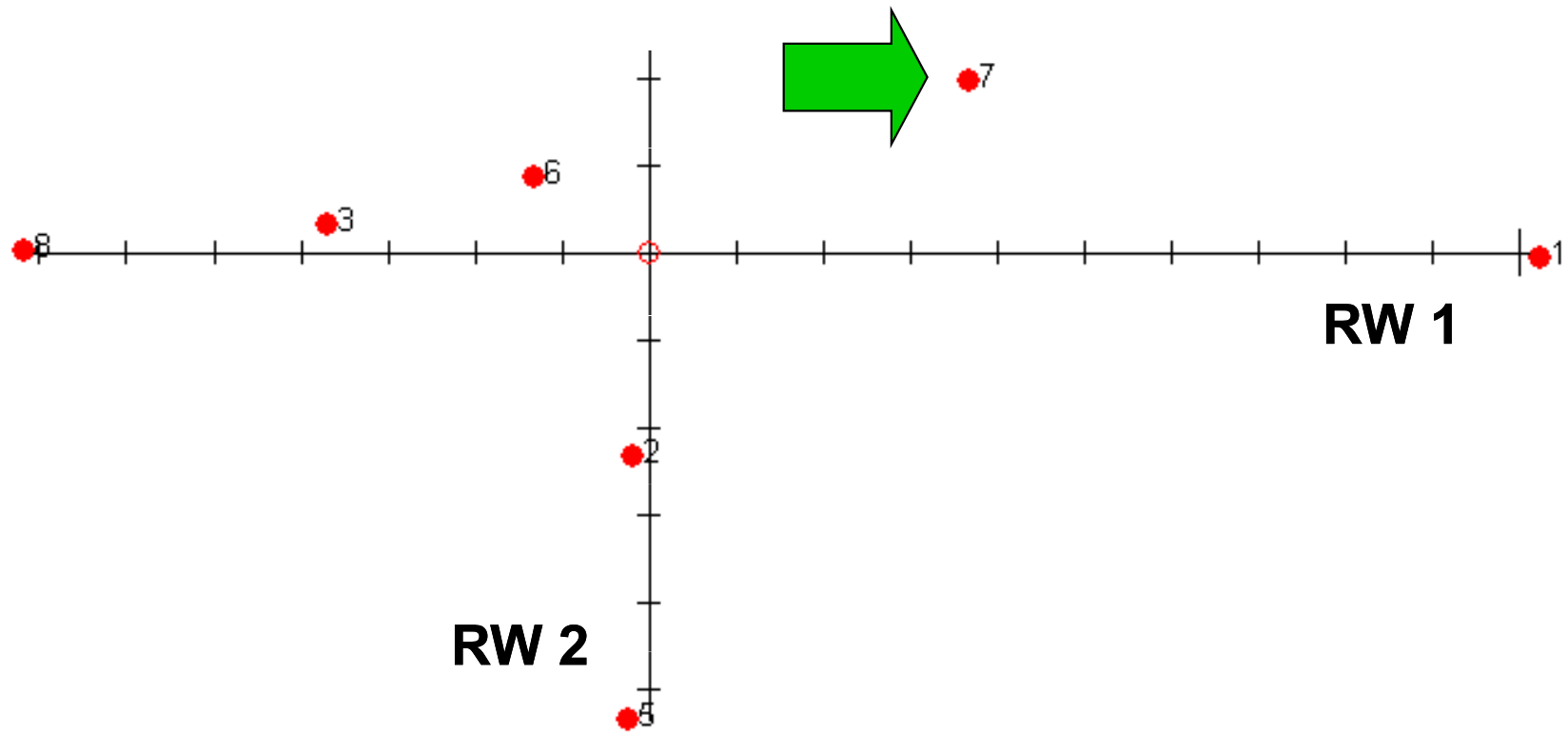
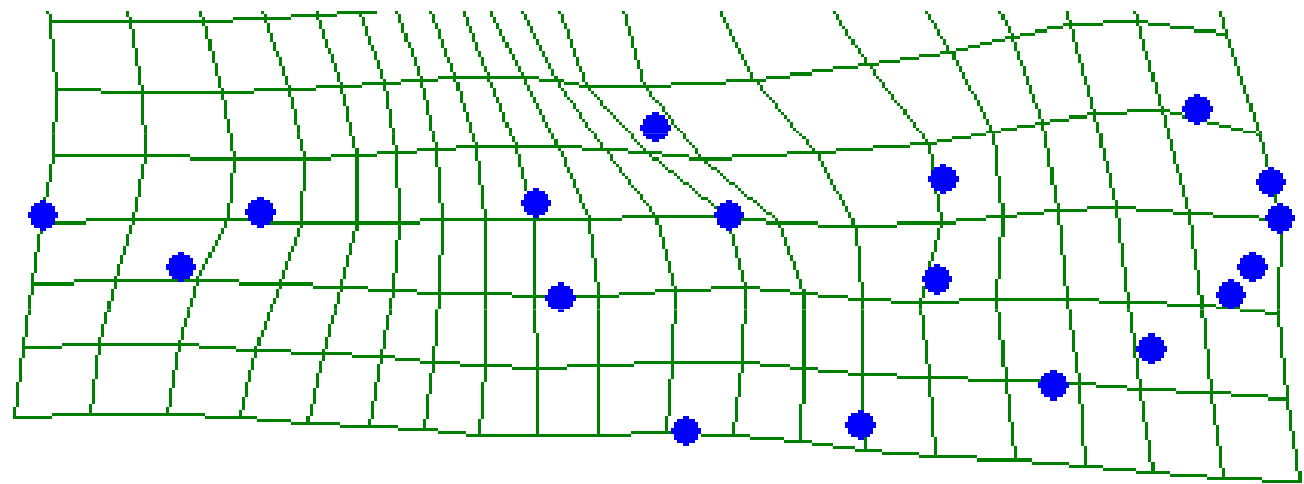
1

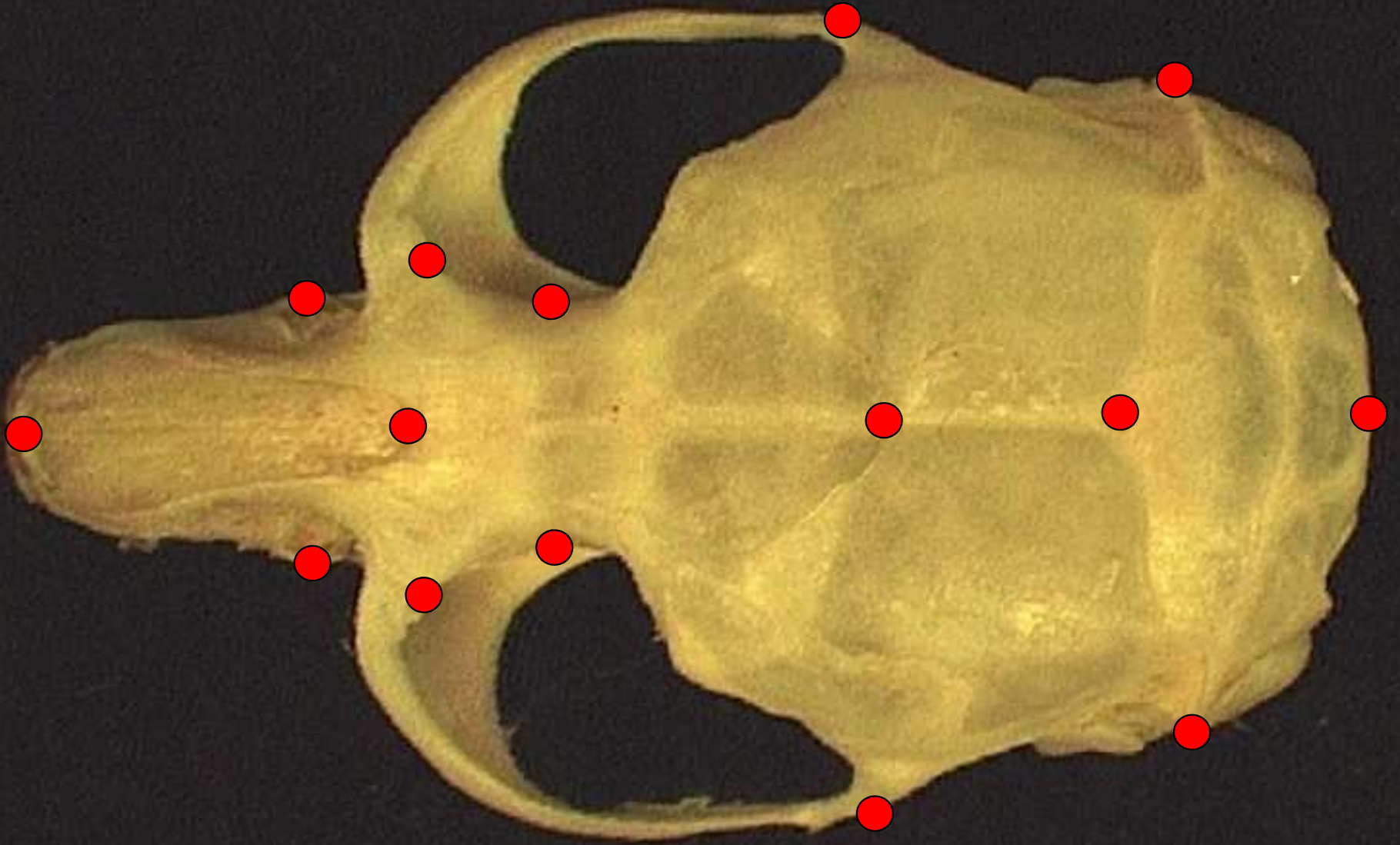
RW 1

RW 2

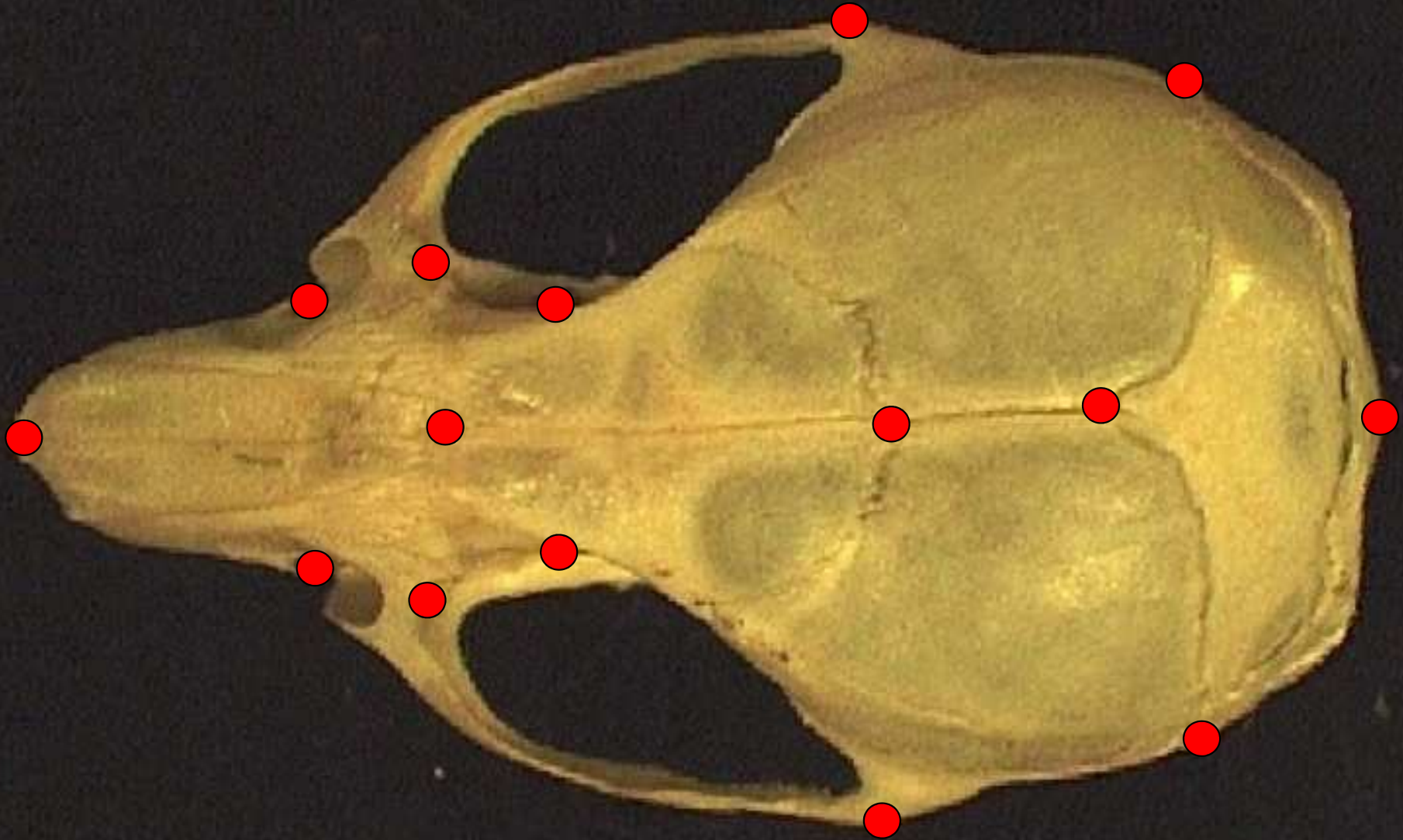
5

2











## Software:

**tpsDig:** úprava obrázků, digitalizace bodů, měření rozměrů

**tpsSplin:** TPS

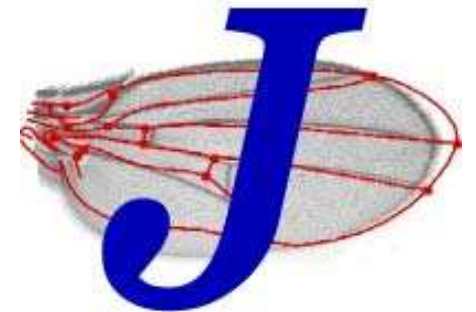
**tpsRelw:** TPS Relative Warps

**tpsRegr:** regrese na nezávislou proměnnou

**tpsPLS:** metoda parciálních nejmenších čtverců  
(např. korelace 2 sad bodů)

**tpsSuper:** deformace obrázků („unwarping“)

**tpsTree:** analýza tvarových změn podél větví  
fylogenetického

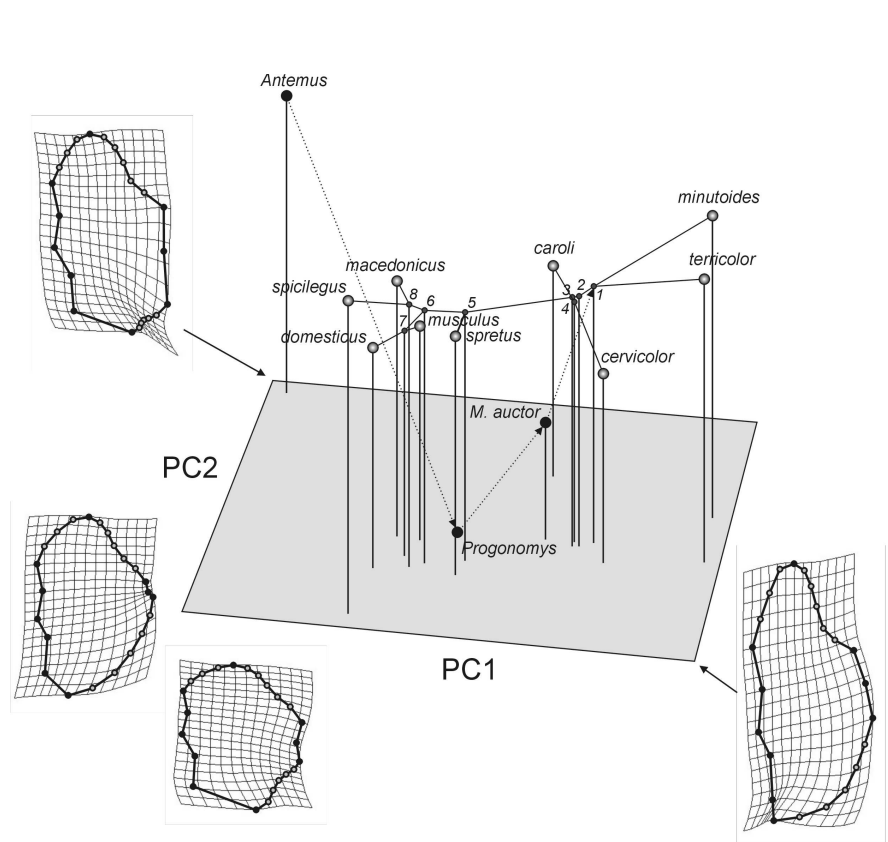
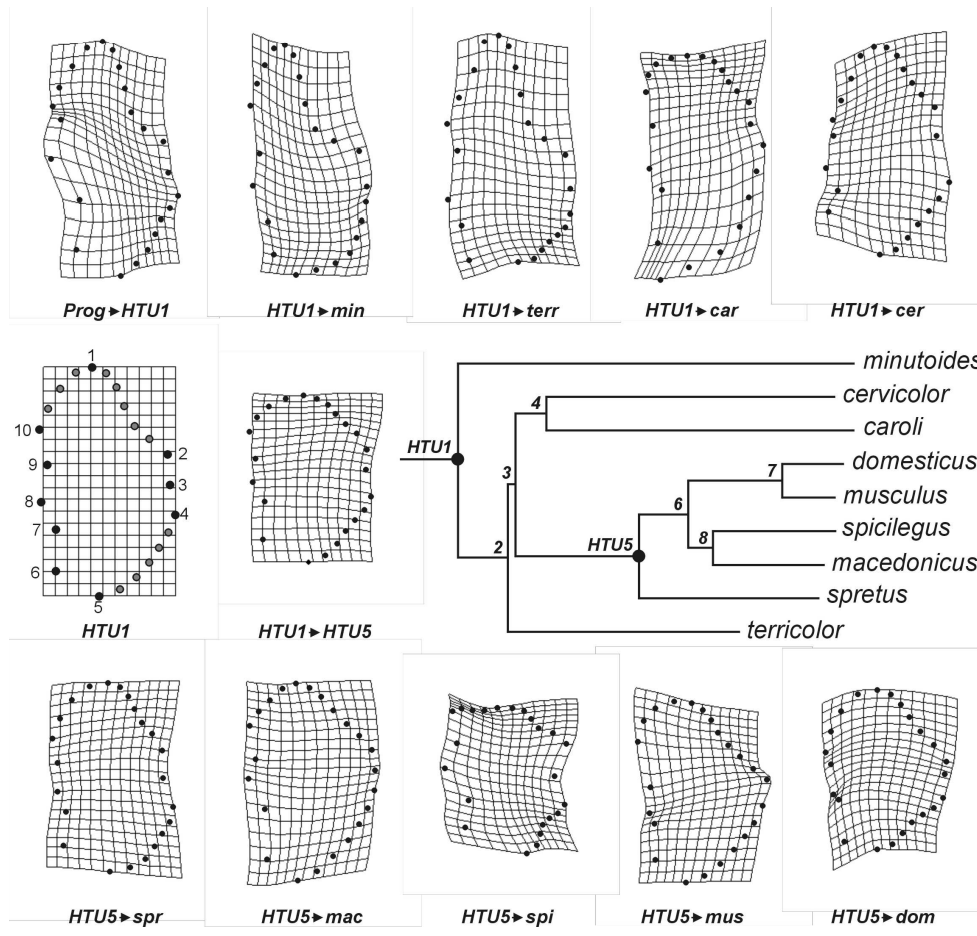


<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>

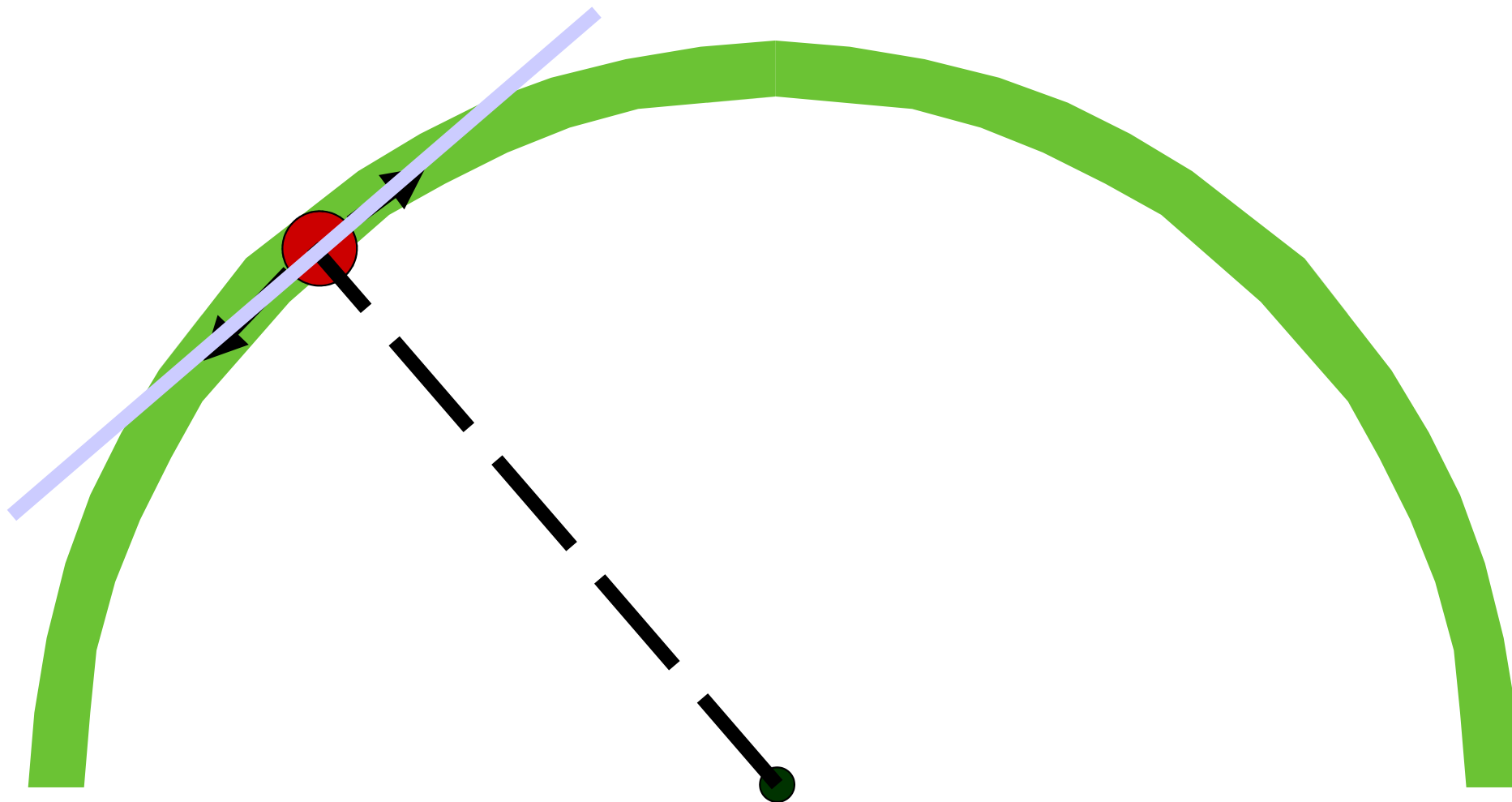
# Morfometrie a fylogeneze

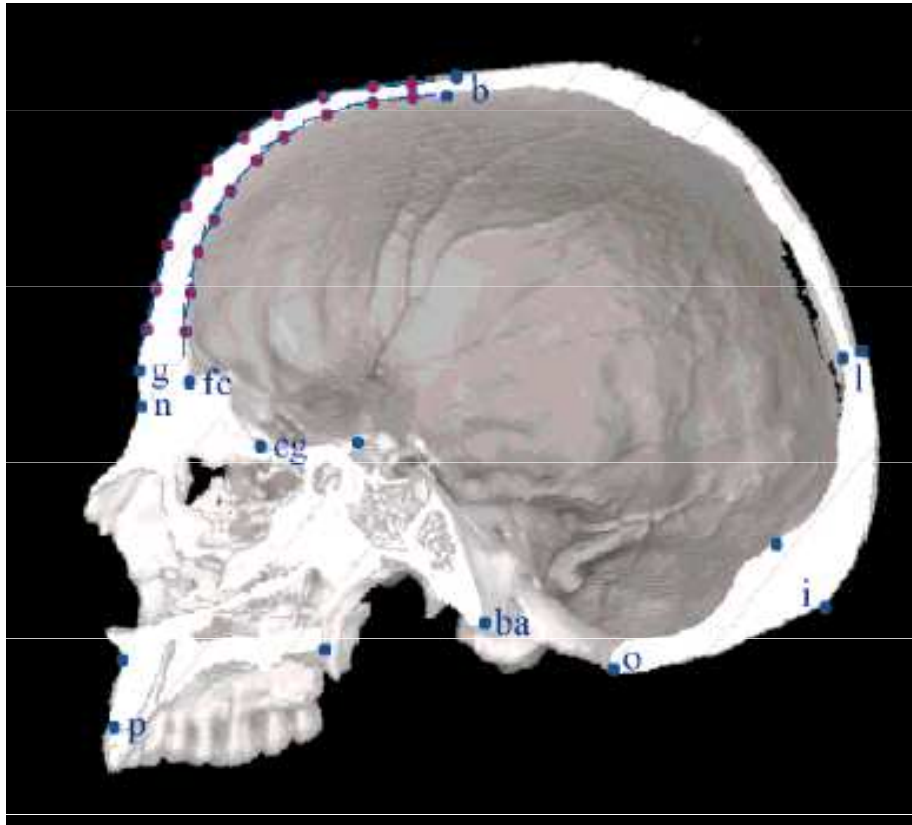
tpsTree

mapování tvarových změn

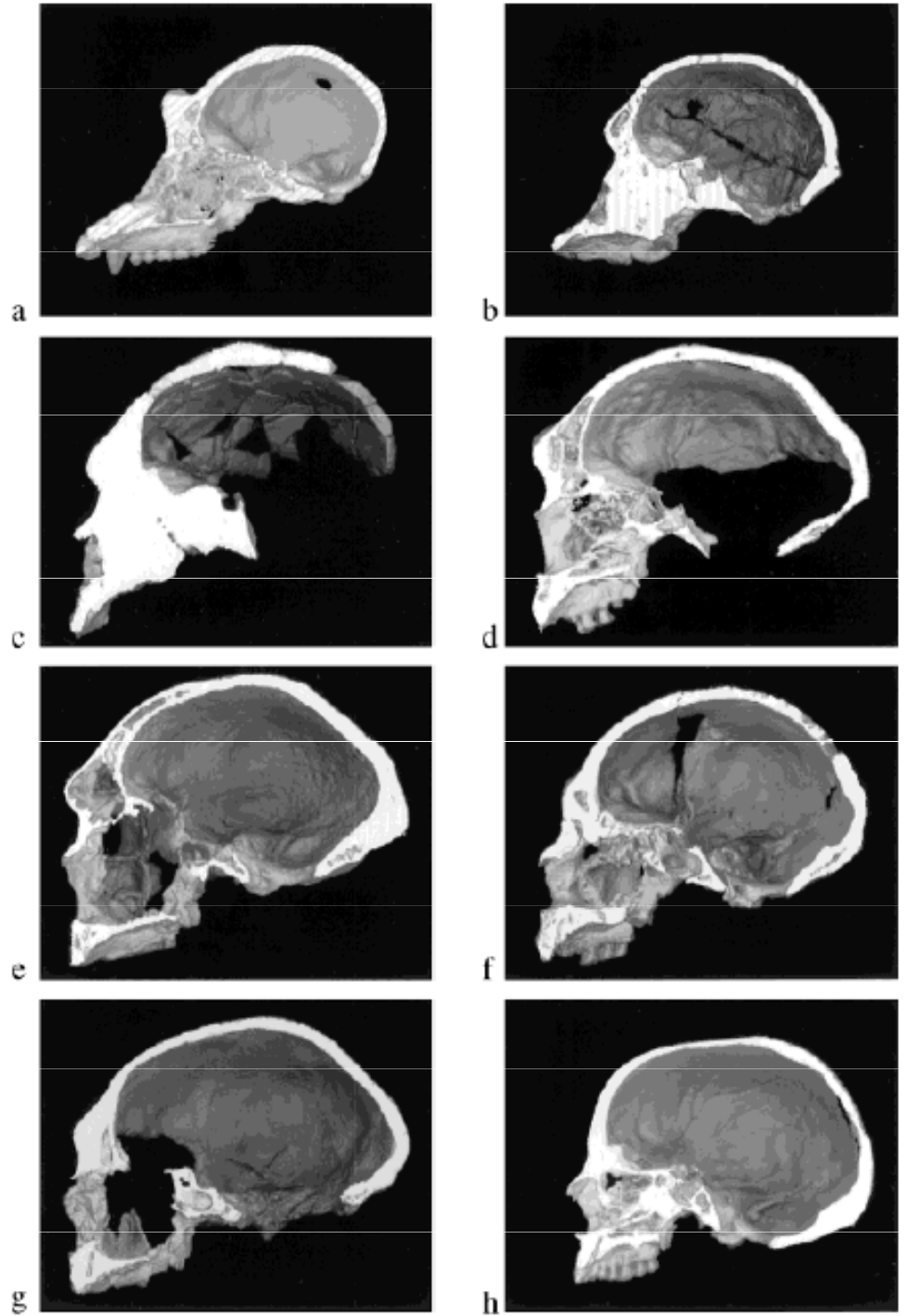


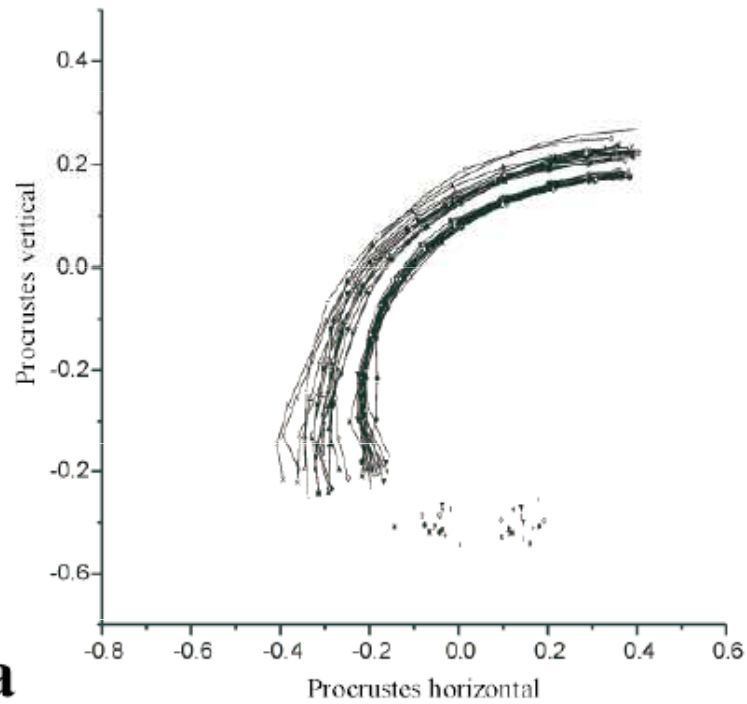
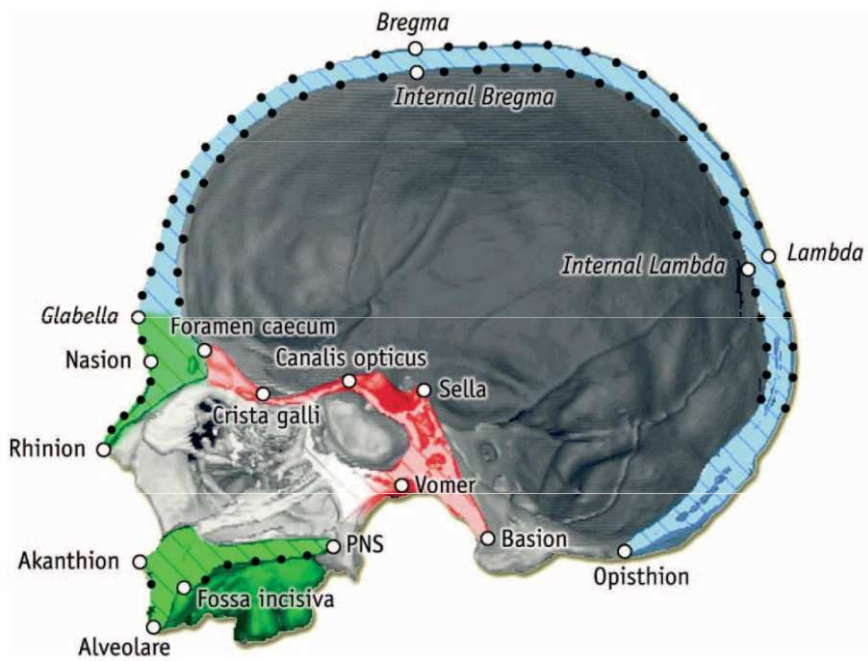
# Metody založené na význačných bodech bez landmarků – „sliding semilandmarks“



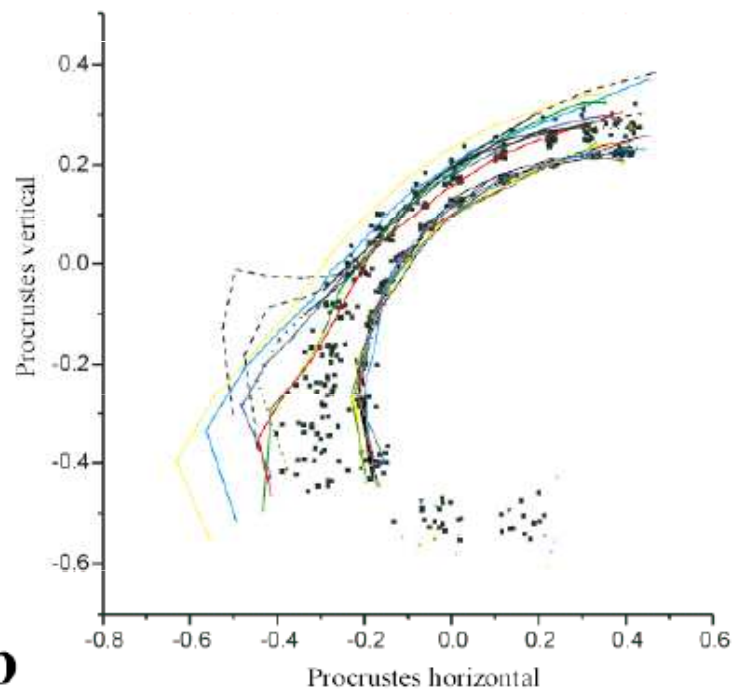
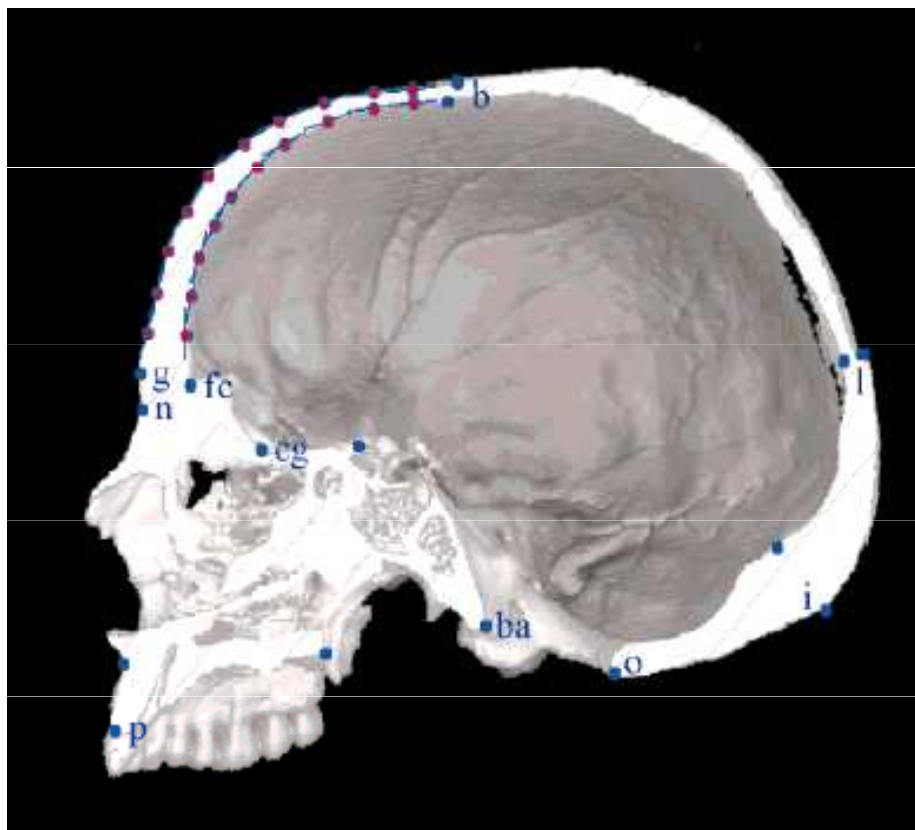


Bookstein et al.,  
 Anat. Record (1999)



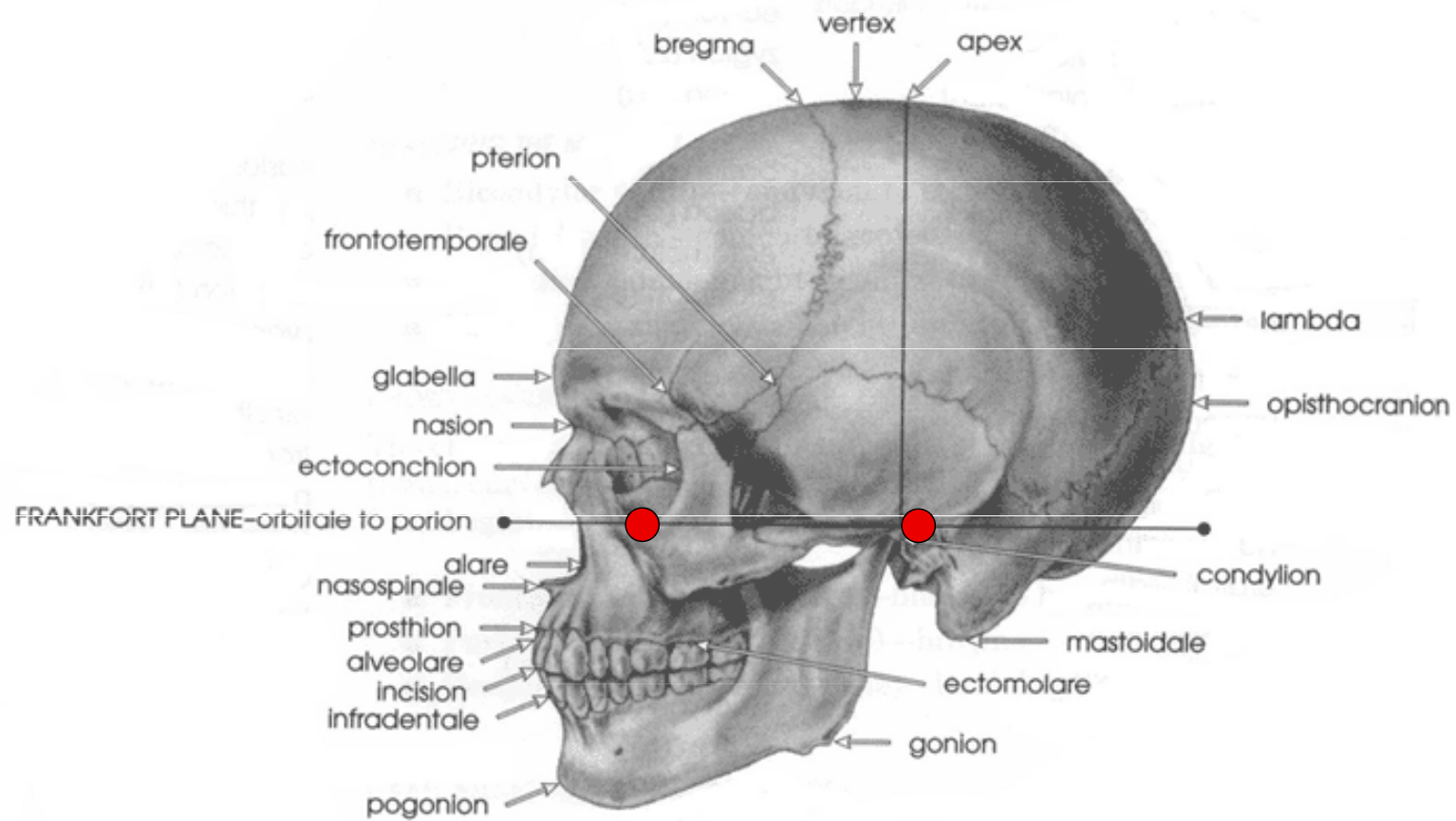


**a**



**b**

### Craniometric Points, Lateral View

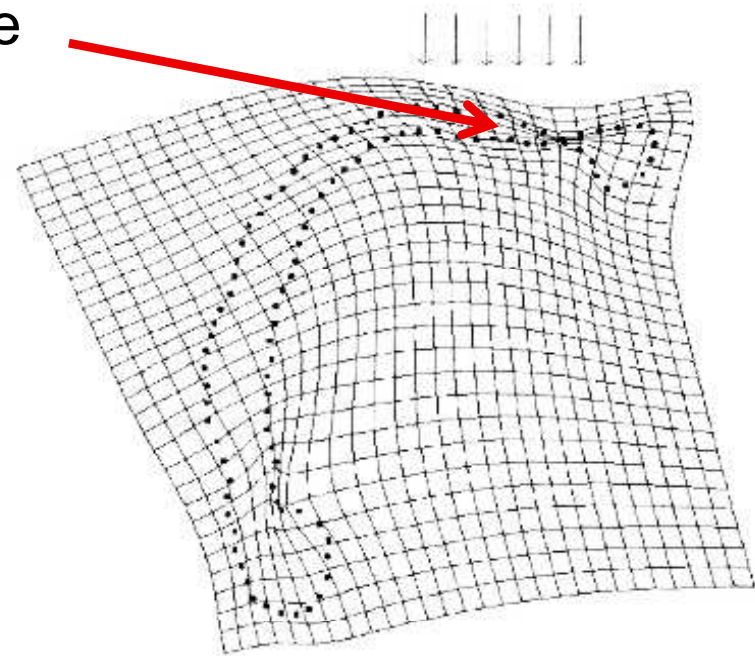




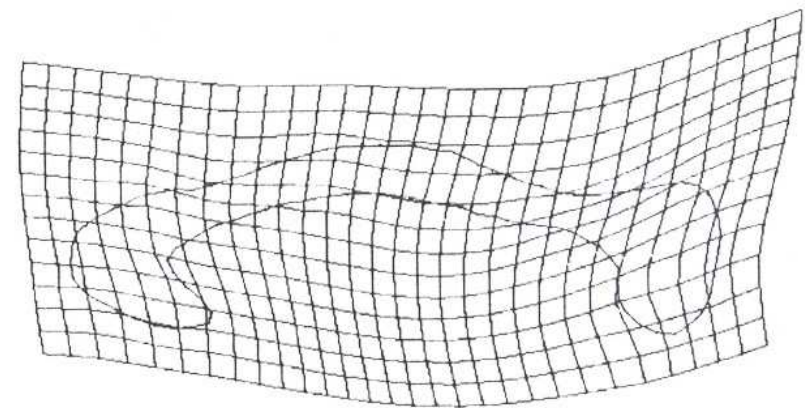
*corpus callosum*



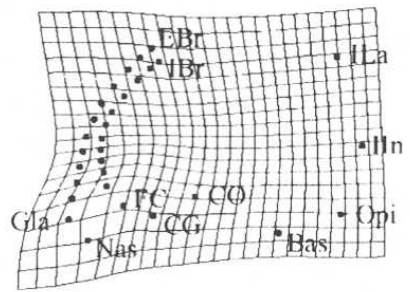
crease



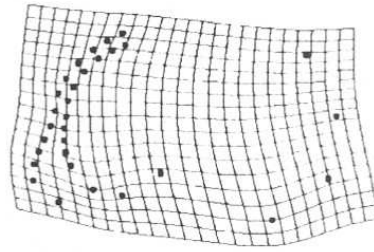
Extremum of Deformation Tensor:  
Male → Female  
(Extrapolated -2.42-Fold to a Crease)



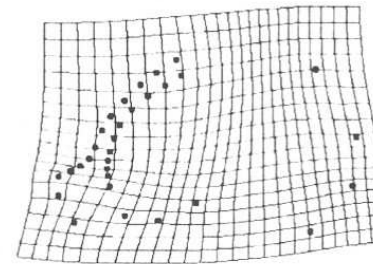
Deformation: Male → Female (x2)



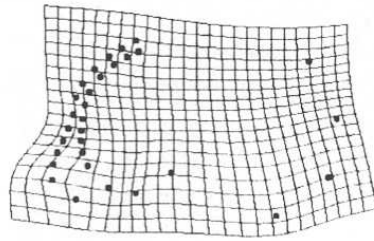
Modern *Homo* → Archaic *Homo*



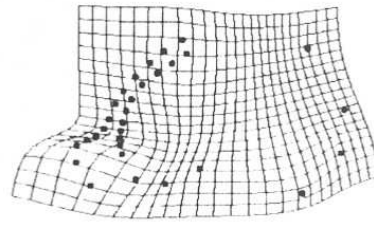
Archaic *Homo* → STS5



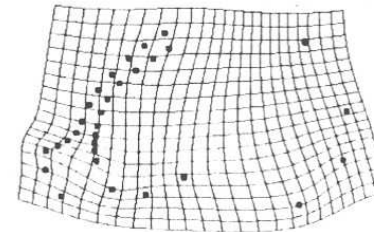
STS5 → *Pan*



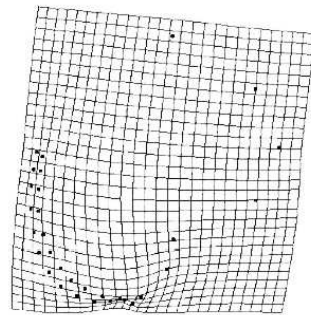
Modern *Homo* → STS5



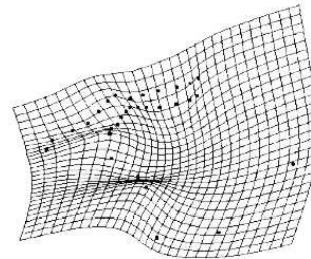
Modern *Homo* → *Pan*



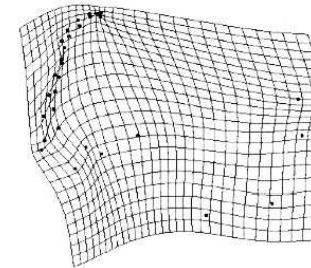
Archaic *Homo* → *Pan*



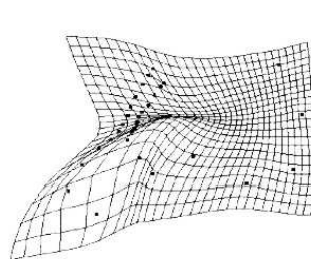
Modern *Homo* → Archaic *Homo*  
(Positive Crease, Strain = 2.362)



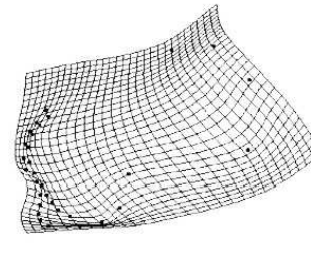
Archaic *Homo* → STS5  
(Positive Crease, Strain = 1.377)



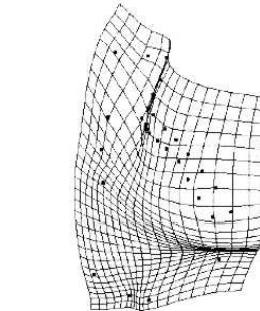
STS5 → *Pan*  
(Negative Crease, Strain = 0.693)



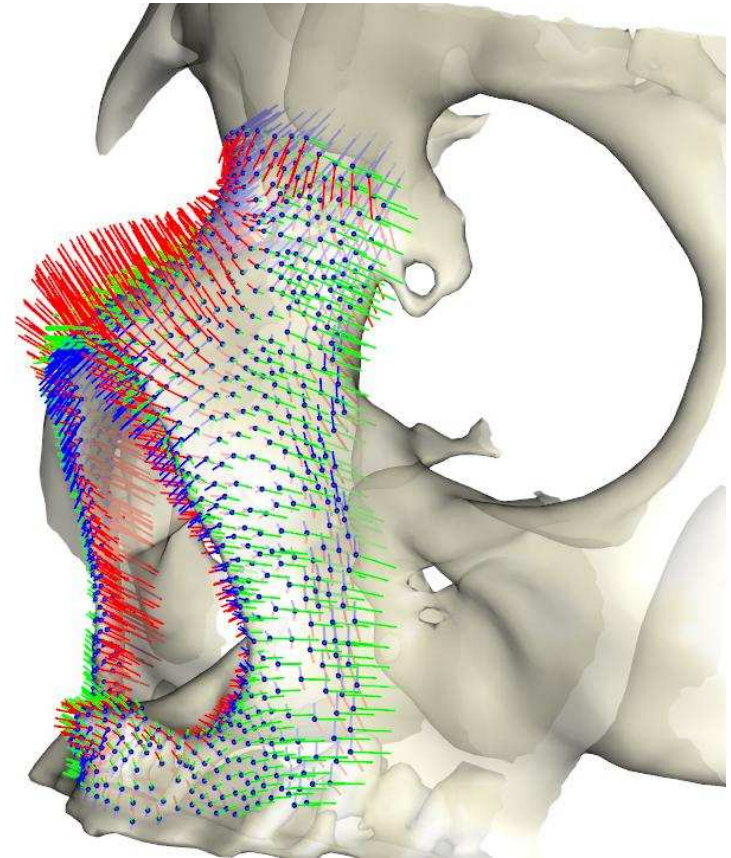
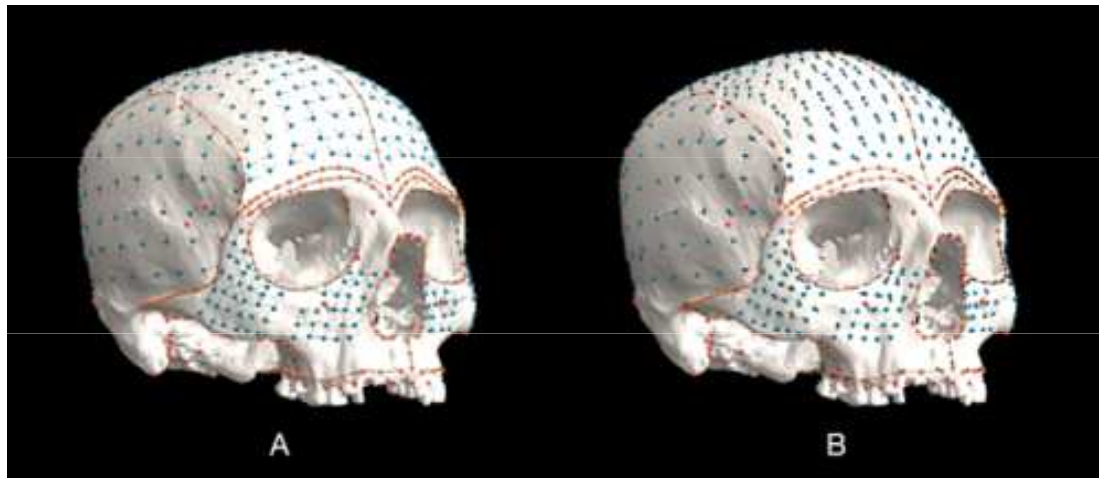
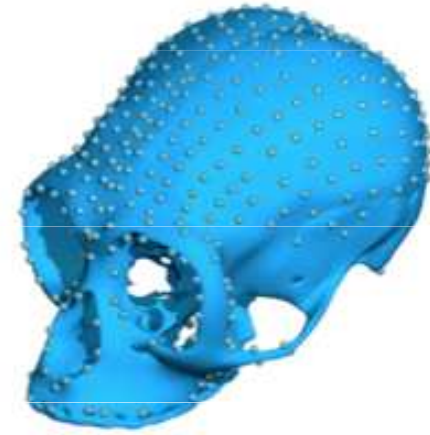
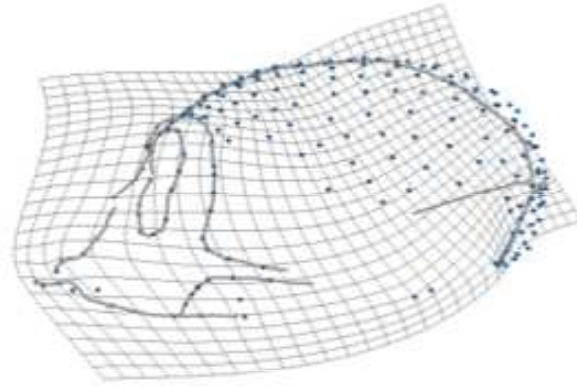
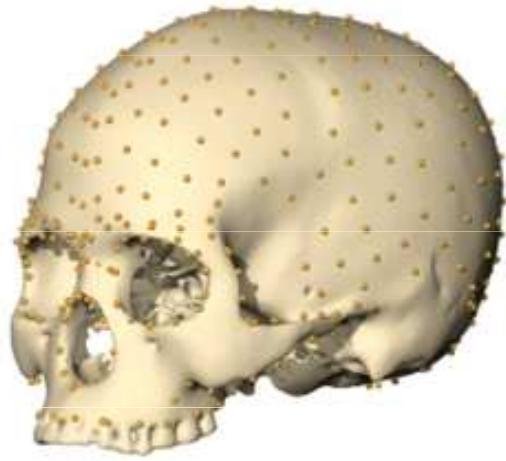
Modern *Homo* → Archaic *Homo*  
(Negative Crease, Strain = 0.701)

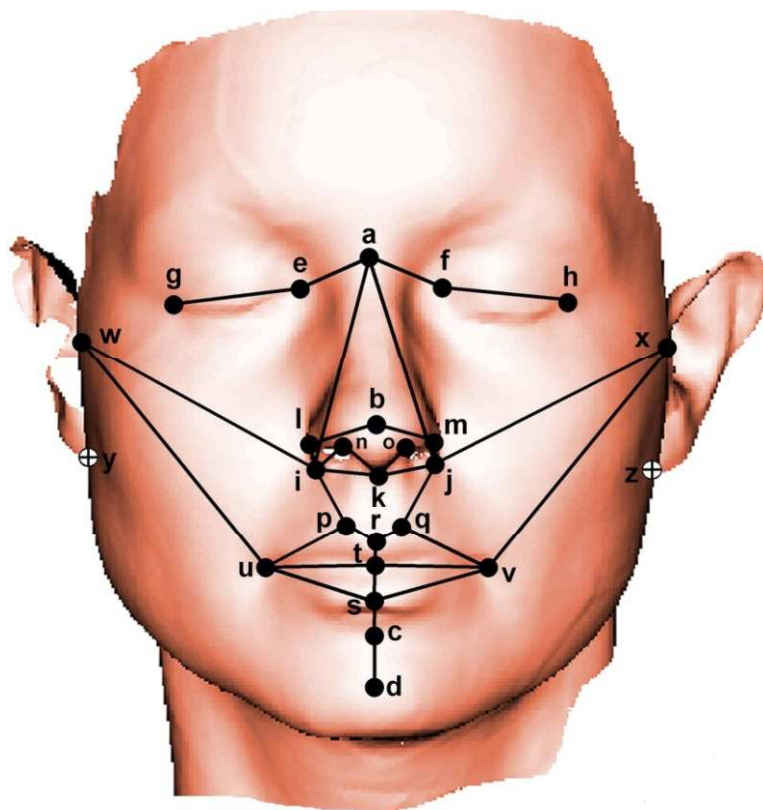
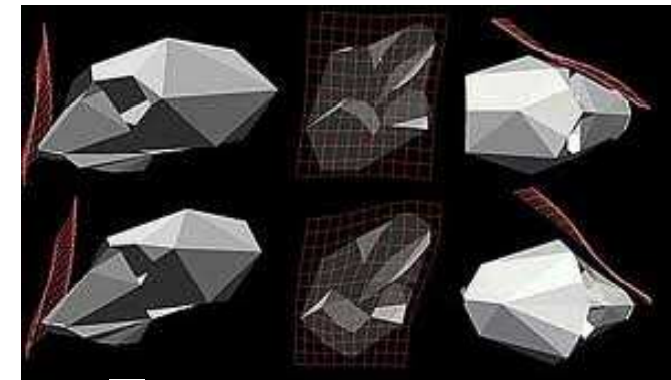
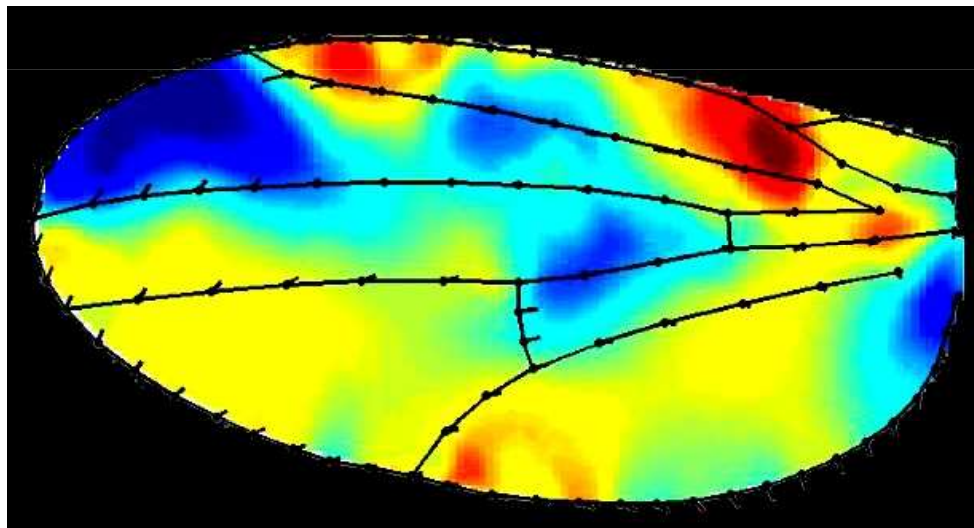


Archaic *Homo* → STS5  
(Positive Crease, Strain = 0.553)

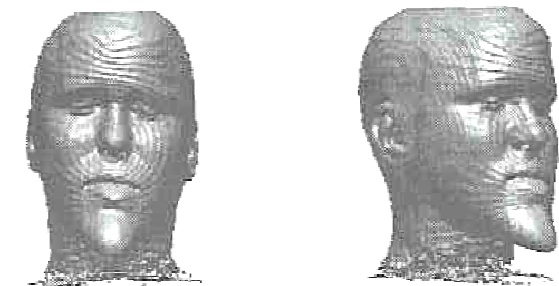


STS5 → *Pan*  
(Positive Crease, Strain = 2.362)

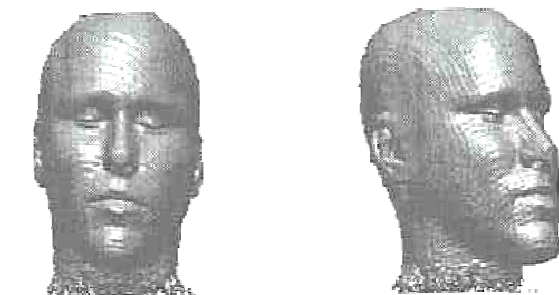




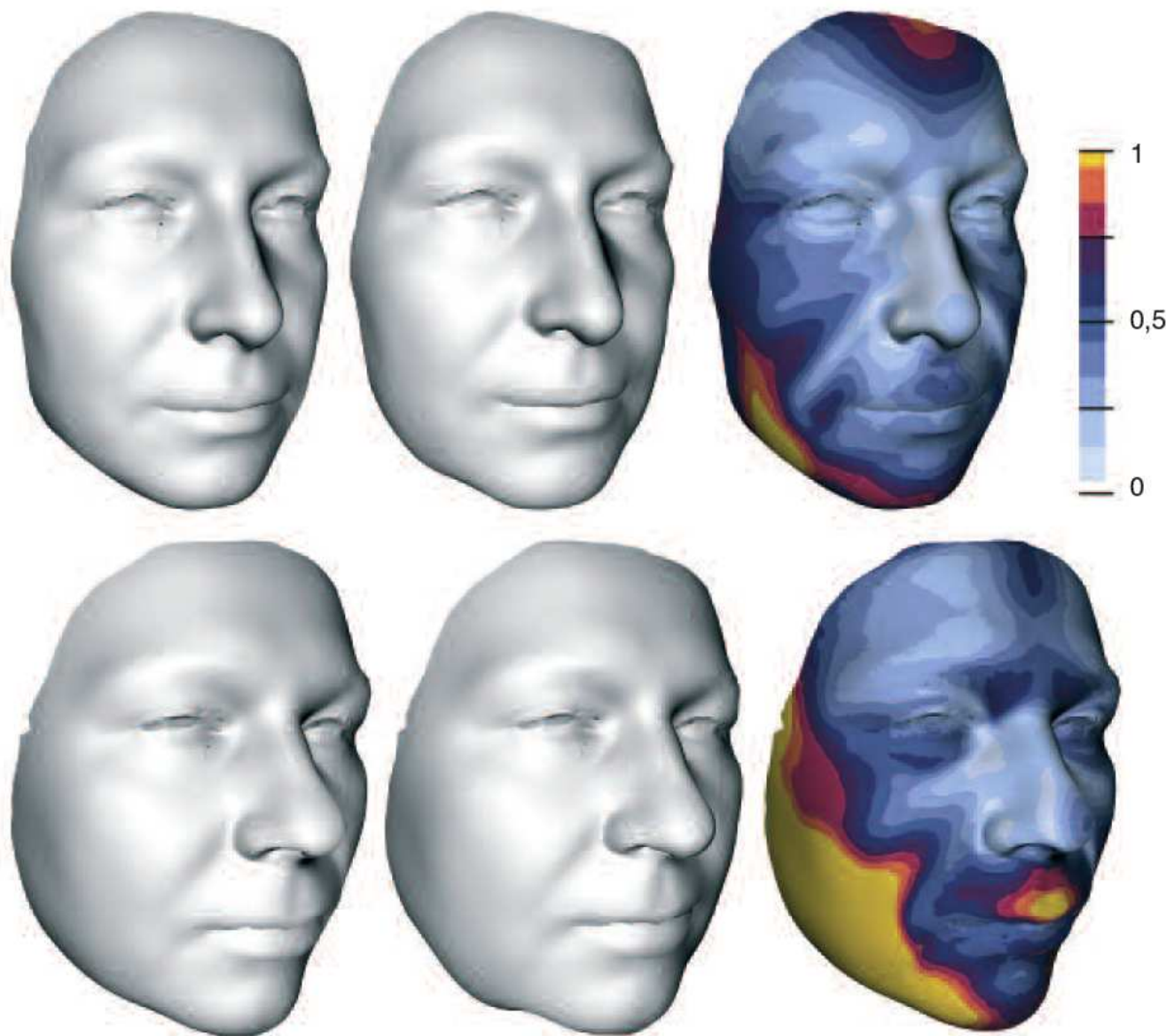
(a) Original MR image



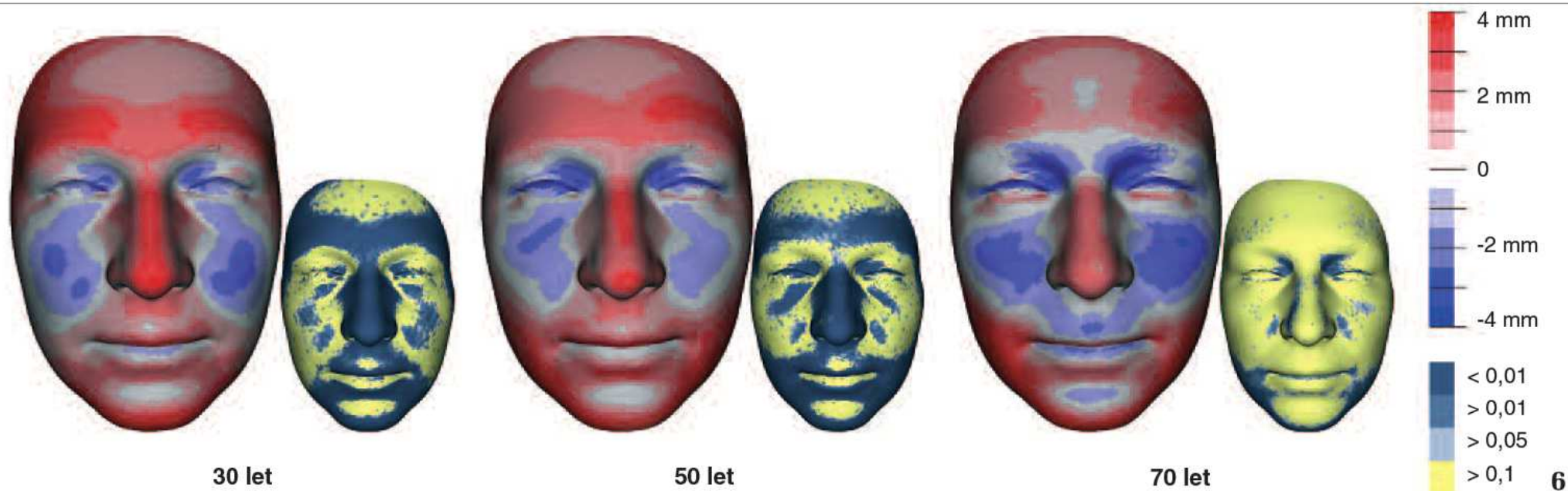
(b) Elongated chin



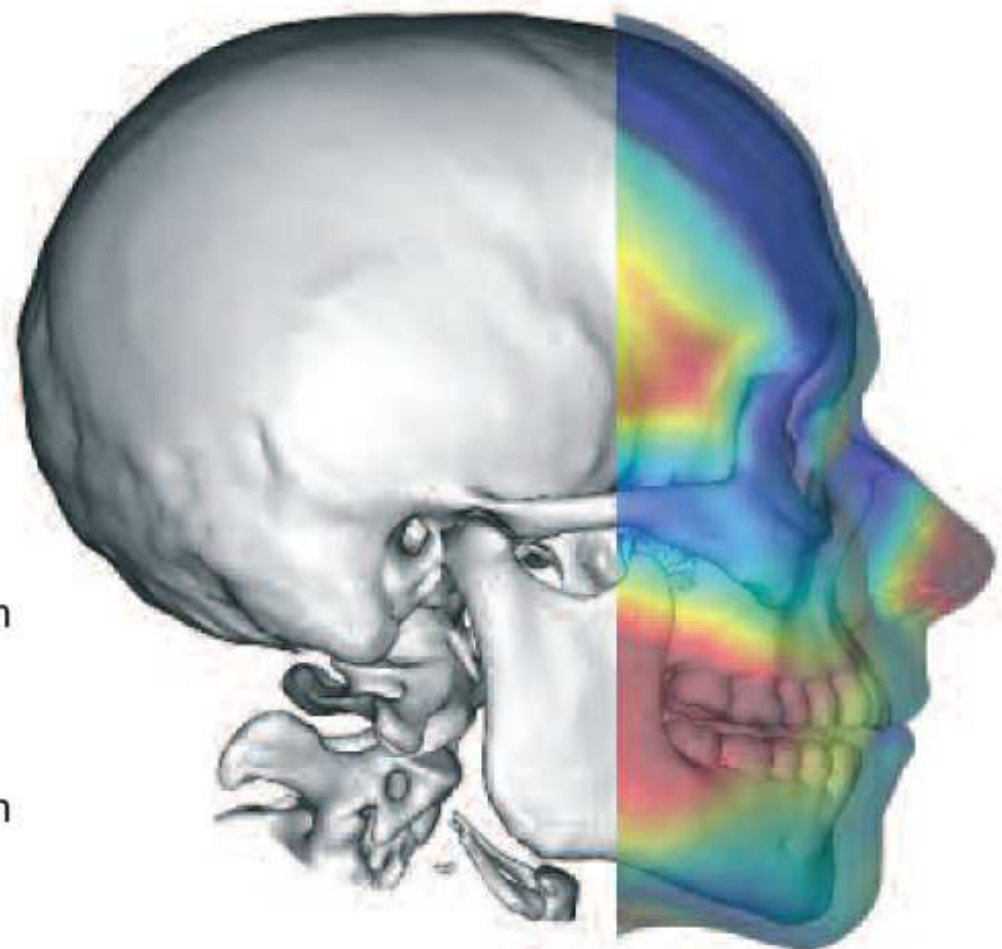
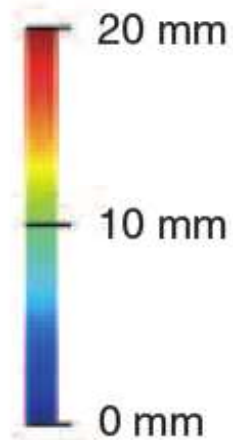
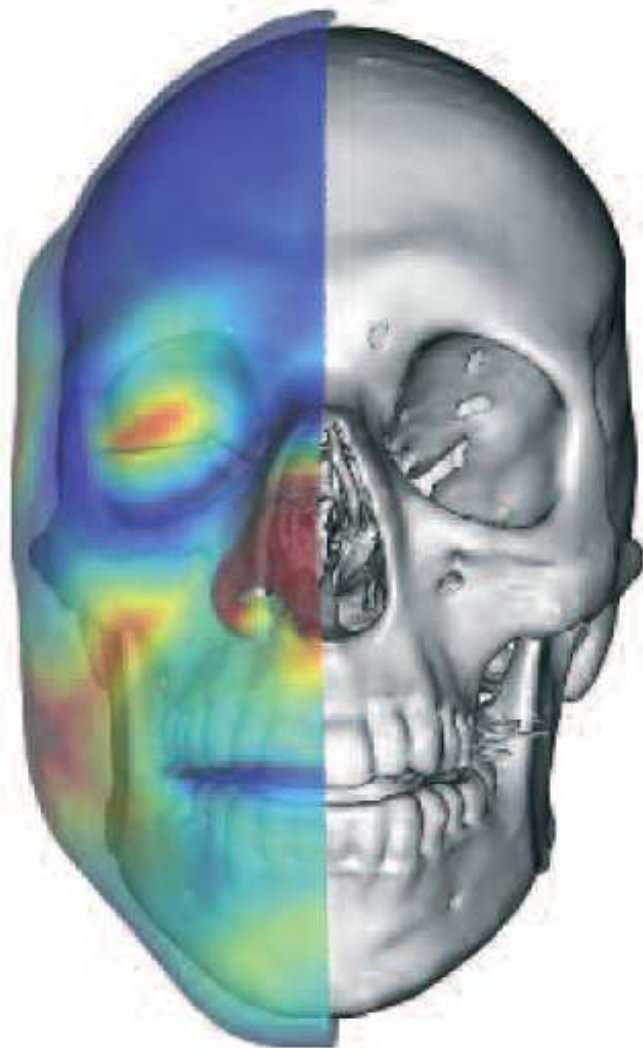
(c) Changing the angle of the forehead



**5** Vizualizace predikčního algoritmu pro období dospělého věku od 20 do 70 let, podle kterého lze omladit/zestárnout obličej v daném věkovém rozmezí. V horní řadě obličej ženy ve věku 29 let (vlevo), který podle algoritmu senescence žen (vpravo) zestárnul do věku 70 let života (uprostřed). Vizualizaci zestárnutí 23letého muže do věku 70 let ukazuje spodní řada. Je patrné, že muži prodělávají v daném věkovém intervalu výraznější morfologické změny než ženy – laterální rozšíření obličej, méně vystupující horní ret. U žen dochází věkem k zešikmení především centrální oblasti čela.

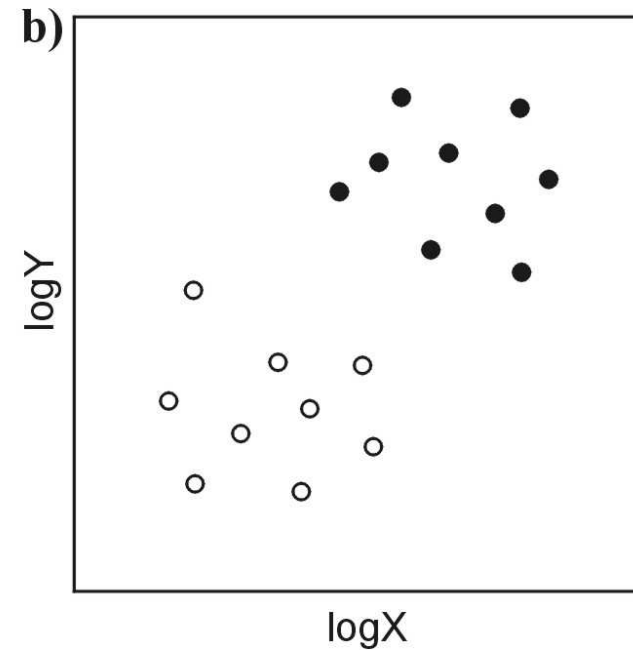
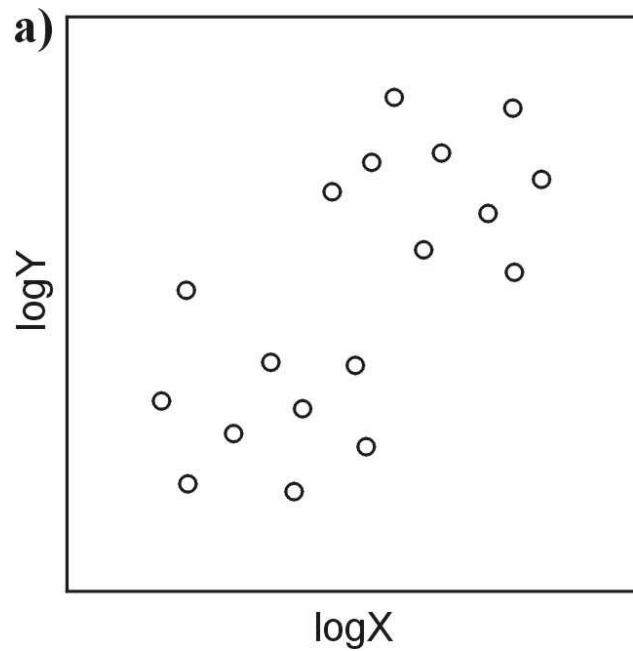
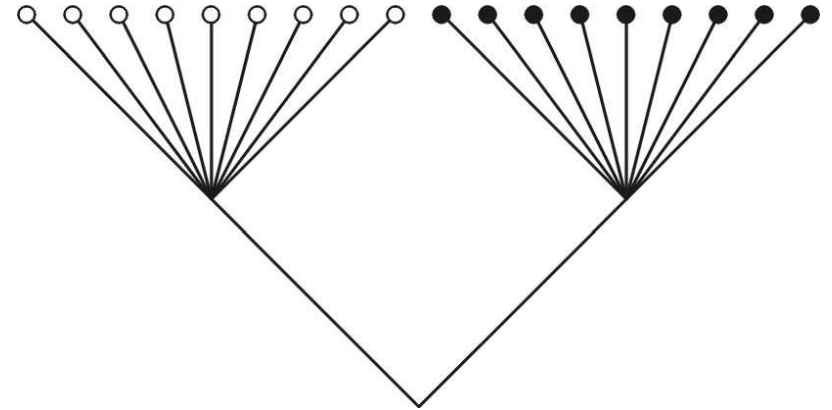
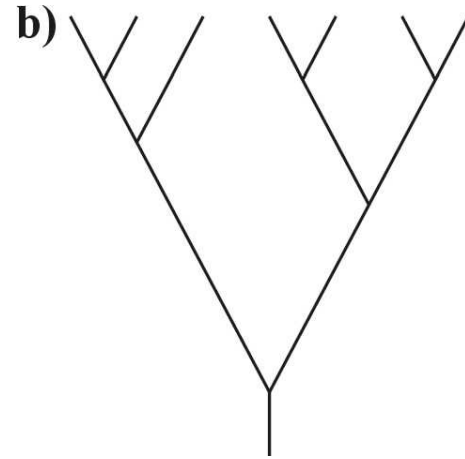
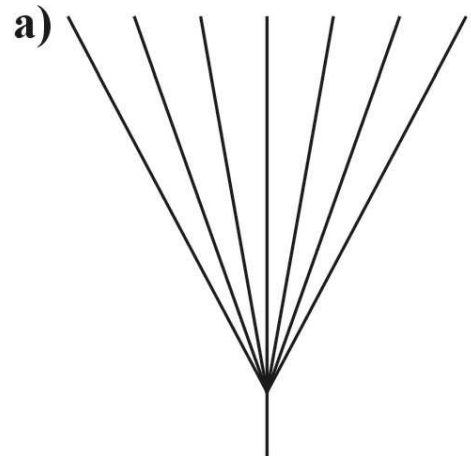


**6** Vizualizace vývoje sexuálního dimorfismu v průměrném věku 30, 50 a 70 let. Větší obličej ukazují znaky pohlavně dimorfní ve prospěch mužů (červená barva) a žen (modrá). Menší obličej zobrazují mapy signifikance, kde odstíny modré barvy znázorňují oblasti s průkaznými rozdíly mezi mužským a ženským pohlavím. Z těchto žlutomodrých map zřetelně vidíme, že sexuální dimorfismus obličej se s věkem výrazně snižuje.



**7** Segmentace lebky na základě snímků z počítačové tomografie hlavy člověka. Měkké tkáně jsou znázorněny průsvitně jen na části lebky a pomocí barevné mapy je odstupňována tloušťka měkkých tkání, zásadní pro rekonstrukci obličeje podle lebky (vlevo pohled zepředu, vpravo ze strany).  
Všechny orig.: J. Dupej a J. Velemínská

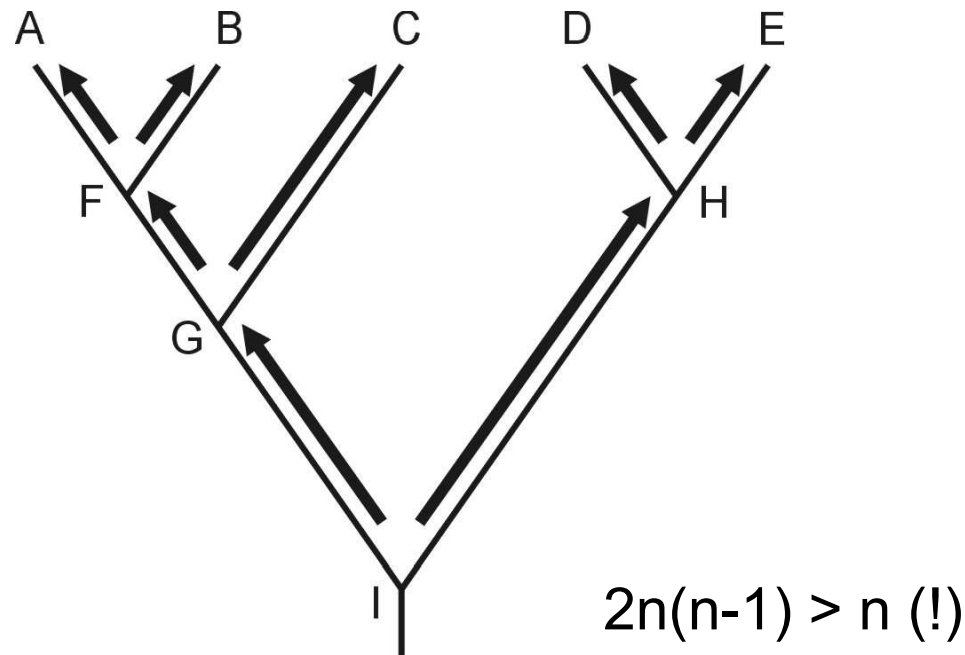
# Komparativní analýza





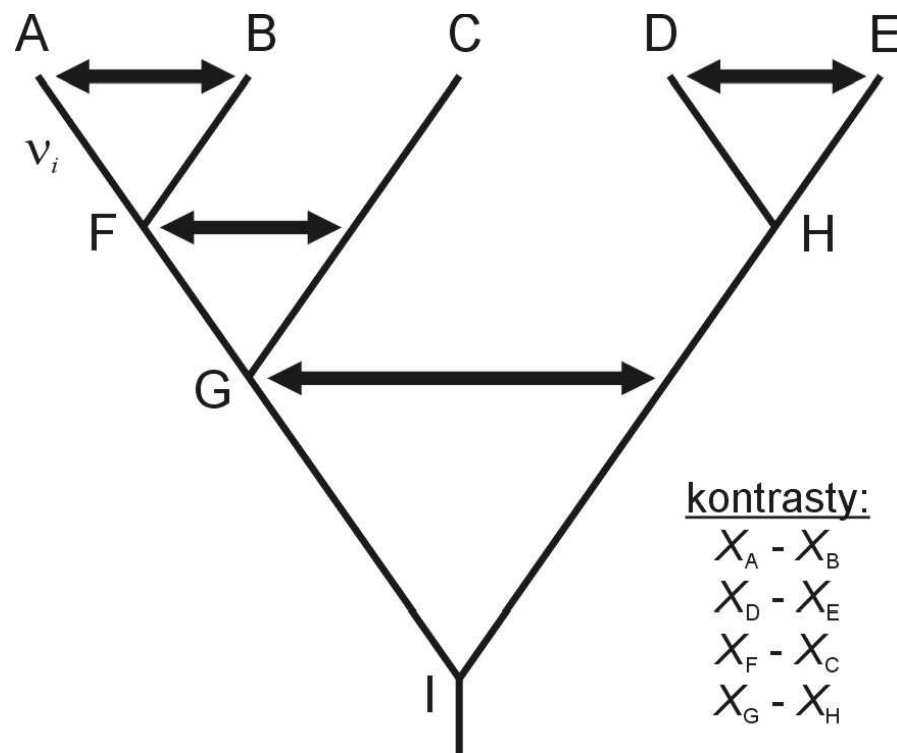
# fylogenetická korelace (phylogenetic inertia)

inference změn podél větví stromu – zpravidla parsimonie



⇒ ve skutečnosti neřeší problém fylogenetické nezávislosti!

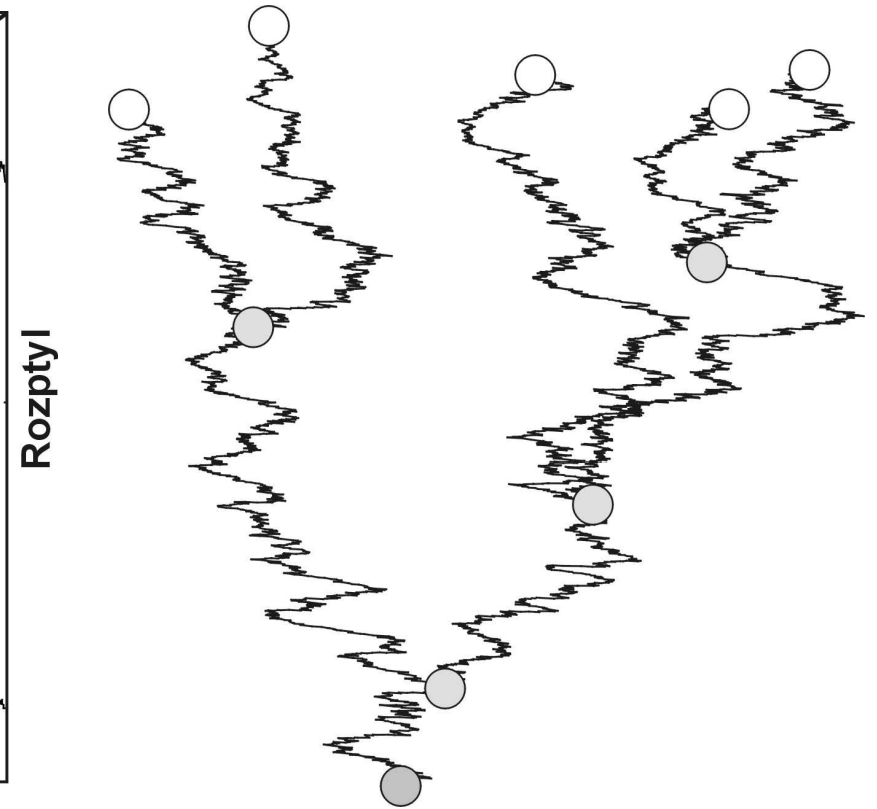
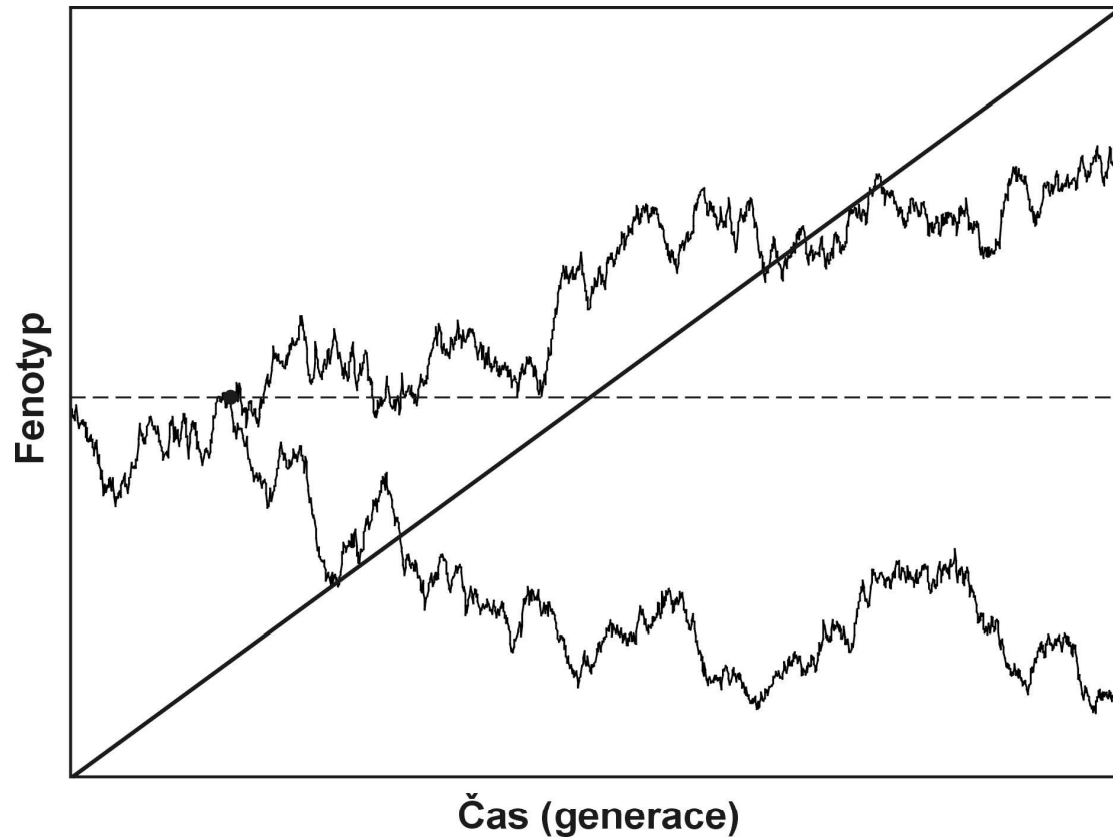
## Nezávislé kontrasty (independent contrasts)



předpoklad: Brownův pohyb!

Alternativy: PGLS (*phylogenetic generalized least squares*)  
Ize využít i jiné modely než Brownův pohyb

# Model Brownova pohybu



# Ornstein-Uhlenbeckův model

