
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΙΓΑΙΟΥ ΤΜΗΜΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

**Π.Μ.Σ. Περιβαλλοντική Πολιτική και Διατήρηση της
Βιοποικιλότητας**



***Ex situ* διατήρηση απειλούμενων πληθυσμών: Μέθοδοι για την
αποφυγή της γενετικής προσαρμογής τους στις συνθήκες
αιχμαλωσίας**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

της

Φατσέα Παναγιώτας

Επιβλέπων καθηγητής: Θεοδώρου Κωνσταντίνος

Ιούνιος 2018

Περίληψη

Οι παρόντες ρυθμοί εξαφάνισης ειδών έχουν αναδείξει την *ex situ* διατήρηση ως μια δημοφιλή λύση «τελευταίας στιγμής» για πολλά είδη. Ο στόχος της γενετικής διαχείρισης είναι η διατήρηση της δημογραφικής σταθερότητας και η εξουδετέρωση επιβλαβών γενετικών αλλαγών, όπως η γενετική προσαρμογή στην αιχμαλωσία. Στην παρούσα έρευνα εξετάζουμε και συγκρίνουμε την αποδοτικότητα δύο εκδοχών της μεθόδου κυκλικής αναπαραγωγής, μία μεταξύ ετεροθαλών αδελφών (Half-sib) και μία μεταξύ πρώτων εξαδέλφων (Cousins), καθώς και της μεθόδου ελαχιστοποίησης του μέσου βαθμού συγγένειας (Gc/mc) ως προς τη γενετική προσαρμογή στις συνθήκες αιχμαλωσίας. Συγκεκριμένα εξετάσαμε τις παραμέτρους μέση γενοτυπική τιμή, γενοτυπική διασπορά καθώς και την αρμοστικότητα κατά την επανεισαγωγή μετά από 50 γενιές. Επιπλέον έγινε διερεύνηση της περιβαλλοντικής διακύμανσης και της έντασης της επιλογής σε περιβάλλον αιχμαλωσίας. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων κατέταξε ως βέλτιστη τη μέθοδο Half-Sib, επόμενη την Cousins και μετά τη Gc/mc. Παρόλα αυτά το επίπεδο ομομιξίας που συνεπάγεται η μέθοδος Half-Sib, τη καθιστά απαγορευτική για μικρούς πληθυσμούς με μικρό ρυθμό αναπαραγωγής, και συνεπώς η προτεινόμενη από τα αποτελέσματα μέθοδος είναι η Cousins.

Abstract

The current extinction rates have highlighted *ex situ* conservation as a popular last-minute solution for many species. The goal of genetic management is to maintain demographic stability and to neutralize harmful genetic changes such as genetic adaptation to captivity. In the present study we examine and compare the efficiency of two versions of the Circular Mating method, one between half-sib and one among the first cousins, and a method of minimizing the average kinship (Gc/mc) with respect to genetic adaptation to captive conditions. Specifically, we examined the parameters of mean genotypic value, genotypic variance as well as relative fitness at reintroduction after 50 generations. In addition, environmental variation and the intensity of selection in a captive environment were investigated. The comparison of the results ranked as the best the Half-Sib method, followed by Cousins and then Gc/mc. However, the level of inbreeding involved in the Half-Sib method makes it prohibitive for small populations with a low reproductive rate, and therefore the proposed method is Cousins.

Περιεχόμενα

Περίληψη / Abstract.....	3
1. Η σημασία της <i>ex situ</i> διαχείρισης	4
2. Αρνητικές πτυχές της <i>ex situ</i> διαχείρισης	8
3. Μέθοδοι για την αποτροπή της γενετικής προσαρμογής	14
4. Ερευνητικά ερωτήματα	19
5. Μεθοδολογία.....	20
6. Αποτελέσματα.....	25
7. Συμπεράσματα συζήτηση	33
Βιβλιογραφία	35

Περιβαλλοντική Καταστροφή και εξαφάνιση ειδών

Οι τρέχοντες ρυθμοί εξαφάνισης έχουν εκτιμηθεί ότι είναι 50-500 φορές υψηλότεροι και αυξάνονται. Περίπου 3.000-30.000 είδη εξαφανίζονται ετησίως. Τις επόμενες δεκαετίες απειλείται με εξαφάνιση περίπου το 21% των θηλαστικών, το 13% των πτηνών, το 19% των ερπετών, και το 32% των αμφιβίων [IUCN 2017]. Οι κυριότερες πιέσεις που ασκούνται στους πληθυσμούς των απειλούμενων ειδών είναι η περιβαλλοντική υποβάθμιση, η απώλεια των ενδιαιτημάτων που διαβιούν, η υπερεκμετάλλευση των πόρων και η αντιμετώπιση των βιολογικών εισβολών. Οι πρωταρχικοί παράγοντες που συμβάλλουν σε αυτές τις πιέσεις σχετίζονται άμεσα ή έμμεσα με ανθρώπινους παράγοντες. Δεδομένου ότι ο ανθρώπινος πληθυσμός αναπτύσσεται ταχέως, οι επιπτώσεις αυτών των παραγόντων αυξάνονται συνεχώς. Ο ανθρώπινος πληθυσμός έφθασε τα 6 δισεκατομμύρια στις 12 Οκτωβρίου 1999, ενώ η τελευταία αύξηση του δισεκατομμυρίου (20%) σημειώθηκε μόλις σε 12-14 χρόνια. Ο ανθρώπινος πληθυσμός θα συνεχίσει να αυξάνεται. Μέχρι το 2050, ο πληθυσμός αναμένεται να ανέλθει στα 8,9 δισεκατομμύρια, σε ένα εύρος μεταξύ 7,3 και 10,7 δισεκατομμυρίων. Κατά συνέπεια, οι ανθρώπινες επιπτώσεις στα άγρια ζώα και τα φυτά θα συνεχίσουν να επιδεινώνονται στο ορατό μέλλον [Frankham 2002].

Μια βασική επίδραση της ανάπτυξης του ανθρώπινου πληθυσμού είναι ότι καταστρέφονται τα φυσικά ενδιαιτήματα. Τα εναπομείναντα ενδιαιτήματα κατακερματίζονται περαιτέρω σε μικρότερα και μικρότερα τεμάχια με αυξανόμενη απόσταση μεταξύ αυτών. Επίσης, οι ανθρώπινες υποδομές όπως οι δρόμοι, οι σιδηρόδρομοι και άλλες κατασκευές μπορεί να μειώσουν την κίνηση των πληθυσμών και να επιβάλουν εμπόδια στη μετανάστευση. Αυτά τα κατακερματισμένα ενδιαιτήματα δεν είναι σε θέση πολλές φορές να συντηρήσουν το ελάχιστο βιώσιμο μέγεθος πληθυσμού.

Πρόσθετοι τυχαίοι (στοχαστικοί) δημογραφικοί, περιβαλλοντικοί, καταστροφικοί και γενετικοί παράγοντες αυξάνουν τον κίνδυνο εξαφάνισης σε μικρούς πληθυσμούς. Οι παράγοντες που σχετίζονται με τον άνθρωπο μπορούν να μειώσουν τα είδη σε μέγεθος πληθυσμού όπου είναι επιρρεπές σε στοχαστικές επιδράσεις. Πρόκειται για φυσικές διακυμάνσεις που παρατηρούνται σε μικρούς πληθυσμούς και μπορεί να έχουν περιβαλλοντικές, καταστροφικές, δημογραφικές ή γενετικές συνέπειες (ομομικτικός υποβιβασμός και απώλεια γενετικής ποικιλότητας). Ακόμη και αν καταργηθεί η αρχική αιτία της μείωσης του πληθυσμού, εξακολουθούν να υπάρχουν προβλήματα που σχετίζονται με το μικρό μέγεθος του πληθυσμού, όπως αναφέρεται και παρακάτω.

Τι προσπαθούμε να προστατέψουμε και γιατί;

Κριτήρια Ταξινόμησης Ειδών

Η Παγκόσμια Ένωση για τη Διατήρηση της Φύσης (International Union for Conservation of Nature - IUCN) έχει καθορίσει κριτήρια για την ταξινόμηση των ειδών σε κρίσιμα απειλούμενα, απειλούμενα, ευάλωτα και χαμηλότερα επίπεδα κινδύνου [IUCN 1996]. Ένα απειλούμενο είδος ορίζεται ως ένα είδος με υψηλό κίνδυνο εξαφάνισης μέσα σε σύντομο

χρονικό διάστημα. Η IUCN θέσπισε απλούς κανόνες για τον ορισμό αυτών των κατηγοριών σε σχέση με τον ρυθμό μείωσης του μεγέθους του πληθυσμού, τον περιορισμό στην περιοχή των οικοτόπων, το σημερινό μέγεθος του πληθυσμού ή/και την πιθανότητα εξαφάνισης. Έχει επίσης ορίσει κατηγορίες εξαφανισμένων, εξαφανισμένων στο φυσικό περιβάλλον, εξαρτημένων από τη συντήρηση, σχεδόν απειλούμενων και ελλιπών δεδομένων.

Βιοποικιλότητα

Υπάρχουν τέσσερα επιχειρήματα για τη διατήρηση της βιοποικιλότητας: Η οικονομική αξία των βιολογικών πόρων, οι υπηρεσίες που μας παρέχουν τα οικοσυστήματα (παραγωγή οξυγόνου από τα φυτά, έλεγχος του κλίματος από τα δάση, κύκλος θρεπτικών ουσιών, επικονίαση φυτών κλπ.), η αισθητική και το δικαίωμα των ζώντων οργανισμών να υπάρχουν [Frankham 2002].

Τα γονίδια, τα είδη και τα οικοσυστήματα είναι τρία κύρια επίπεδα βιοποικιλότητας που αναγνωρίζονται από την IUCN. Υπήρξε κάποια διαμάχη ως προς το ποιο επίπεδο πρέπει να λάβει προτεραιότητα για προσπάθειες διατήρησης. Ωστόσο, είναι σαφές ότι και τα τρία επίπεδα πρέπει να διατηρηθούν για την επιτυχή διατήρηση της βιοποικιλότητας. Για παράδειγμα, είναι άσκοπη η προστασία ειδών χωρίς την ύπαρξη μεγάλων και υγιών οικοσυστημάτων για να διαβιούν [Allendorf 2007]. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι αυτό του αφρικανικού ρινόκερου, το οποίο προστατεύεται κυρίως στους ζωολογικούς κήπους και τα μικρά φυσικά καταφύγια, αλλά για το οποίο υπάρχει σήμερα μικρό ενδιαίτημα (απαλλαγμένο από λαθροθήρες). Χωρίς τη διατήρηση τεράστιων οικοτόπων για μελλοντικούς πληθυσμούς ρινόκερων, φαίνεται άσκοπο να προστατεύονται οι ρινόκεροι σε μικρά φυσικά καταφύγια που περιβάλλονται από ένοπλους φρουρούς και φράκτες. Υπάρχουν τεράστιοι βιότοποι και οι ρινόκεροι θα μπορούσαν να είναι επιτυχείς σε αυτά τα ενδιαίτηματα εάν εξαλειφθεί η λαθροθηρία. Εκτός από τη διατήρηση των ειδών ρινόκερου και των ενδιαιτημάτων τους, είναι επίσης σημαντικό να διατηρηθεί η γενετική ποικιλότητα των ειδών ρινόκερου, διότι αποτελεί προϋπόθεση για μακροπρόθεσμη προσαρμοστικότητα και αποφυγή της πτώσης της αρμοστικότητας μέσω του ομομοικτικού υποβιβασμού. Είναι σαφές ότι είναι σημαντικό να αναγνωριστούν και να διατηρηθούν όλα τα επίπεδα βιοποικιλότητας: οικοσυστήματα, είδη και γονίδια [Allendorf 2007].

Τέλος, υπάρχει ένα τέταρτο επίπεδο βιοποικιλότητας, αυτό των γενετικά διακριτών τοπικών πληθυσμών και θεωρείται το πιο σημαντικό επίπεδο για την εστίαση των προσπαθειών διατήρησης [Hobbs 1998]. Η διατήρηση πολλαπλών, γενετικά διακριτών πληθυσμών είναι απαραίτητη για την εξασφάλιση μακροπρόθεσμης επιβίωσης των ειδών και την λειτουργία των οικοσυστημάτων [Luck 2003]. Απαιτείται η διατήρηση πολλών διαφορετικών πληθυσμών προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η εξελικτική δυνατότητα ενός είδους και να ελαχιστοποιηθούν οι μακροπρόθεσμοι κίνδυνοι εξαφάνισης του. Επιπλέον, η εστίαση σε πολλούς μικρούς πληθυσμούς θα βοηθούσε στην πρόληψη προγραμμάτων διατήρησης «τελευταίας στιγμής» που συμβαίνουν όταν παραμένουν μόνο ένας ή δύο μικροί πληθυσμοί ενός είδους [Allendorf 2007].

Οι προσπάθειες διατήρησης μέχρι σήμερα έχουν δώσει έμφαση στις ανησυχίες για μεμονωμένα είδη. Για παράδειγμα, η ESA (Endangered Species Act) υπήρξε η νομική κινητήρια δύναμη για μεγάλο μέρος των προσπαθειών διατήρησης στις Ηνωμένες Πολιτείες. Ωστόσο, είναι απογοητευτικό να βλέπουμε να δαπανώνται τεράστιοι πόροι σε ορισμένα είδη υψηλού προφίλ, όταν ελάχιστα δαπανώνται για λιγότερο χαρισματικά είδη ή για την πρόληψη της περιβαλλοντικής υποβάθμισης που θα ωφελήσει πολλά είδη. Είναι σαφές ότι απαιτείται μια πιο ολοκληρωμένη και προορατική στρατηγική διατήρησης που θα δίνει

έμφαση στην προστασία του οικοτόπου και των οικοσυστημάτων, παρά των ειδών. Η διατήρηση απαιτεί μια ισορροπημένη προσέγγιση που βασίζεται στην προστασία των ενδιατημάτων, η οποία λαμβάνει επίσης υπόψη τη φυσική ιστορία και τη βιωσιμότητα των επιμέρους ειδών. Η προστασία των μεταναστευτικών ειδών για παράδειγμα απαιτεί συνδυασμό μέτρων για τα ενδιατήματα και δράσεις διαχείρισης που λαμβάνουν υπόψη το πολύπλοκο ιστορικό ζώης αυτών των ειδών.

***Ex Situ* Διαχείριση**

Η αναπαραγωγή σε αιχμαλωσία είναι μια μέθοδος ενίσχυσης του μεγέθους του πληθυσμού που περιλαμβάνει την αναπαραγωγή μέρους του πληθυσμού σε αιχμαλωσία και στη συνέχεια την απελευθέρωση των απογόνων που βρίσκονται σε αιχμαλωσία ξανά στη φύση. Εάν τα αιχμάλωτα άτομα έχουν υψηλά ποσοστά επιβίωσης σε σύγκριση με εκείνα των άγριων ατόμων και εάν οι απόγονοί τους μπορούν να επιστραφούν με επιτυχία στο φυσικό περιβάλλον, η αναπαραγωγή σε αιχμαλωσία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αύξηση του μεγέθους του πληθυσμού και για τη μείωση του κινδύνου εξαφάνισής του [Ford 2002].

Η IUCN έχει ορίσει την *ex situ* διατήρηση ως «τη διατήρηση των συνιστωσών της βιολογικής ποικιλομορφίας εκτός των φυσικών ενδιατημάτων τους». Υπάρχει μια ποικιλία τεχνικών *ex situ* που είναι δυναμικά πολύτιμα εργαλεία για τη διατήρηση μιας ευρείας ποικιλίας ταξινομικών κατηγοριών που απειλούνται με εξαφάνιση. Η IUCN ορίζει την επανεισαγωγή ως «μια προσπάθεια δημιουργίας ενός είδους σε μια περιοχή που ήταν κάποτε μέρος του προηγούμενου ιστορικού εύρους του». Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ο ορισμός της επανεισαγωγής από την IUCN δεν κάνει καμία αναφορά στην προέλευση (δηλ. άγρια ή γεννημένη σε αιχμαλωσία) του αρχικού πληθυσμού [Kristen 2008].

Τα *ex situ* προγράμματα διατήρησης επιδιώκουν: (i) να διατηρήσουν τα αναπαραγωγικά άτομα σε αιχμαλωσία - αλλιώς θα εξαφανιστούν - μέχρις ότου το μέγεθός τους καθώς και οι περιβαλλοντικές συνθήκες να επιτρέψουν την επανεισαγωγή τους στο φυσικό περιβάλλον ή (ii) να ενισχύσουν τον πληθυσμό με επαναλαμβανόμενες εισαγωγές αιχμαλώτων ατόμων [Theodorou 2004]. Τυπικά, αυτό μπορεί να είναι δυνατό μόνο αφού ο ανθρώπινος πληθυσμός έχει υποστεί μια δημογραφική μετάβαση, απελευθερώνοντας κατάλληλο βιότοπο για απειλούμενα είδη [Soule 1986]. Κατά συνέπεια, πολλά είδη μπορούν να περάσουν πολλές γενιές σε αιχμαλωσία [Gilligan 2003]. Σε κάθε περίπτωση πρέπει να καταβληθούν όλες οι προσπάθειες για να εξασφαλιστεί η επιτυχία της επανεισαγωγής του πληθυσμού στο φυσικό περιβάλλον. Το κρίσιμο σημείο από γενετική άποψη είναι η διατήρηση των υψηλότερων δυνατών επιπέδων γενετικής ποικιλότητας, έτσι ώστε να μην διακυβεύεται η εξελικτική ικανότητα του πληθυσμού (η ικανότητα αντιμετώπισης νέων περιβαλλοντικών προκλήσεων) και η πρόληψη της προσαρμογής στις συνθήκες αιχμαλωσίας [Fernandez 2001].

Μόνο για τα χερσαία σπονδυλωτά εκτιμάται ότι 2000-3000 είδη θα απαιτήσουν αναπαραγωγή σε αιχμαλωσία τα επόμενα 200 χρόνια για να σωθούν από την εξαφάνιση [Soule 1986, Tudge 1995]. Η πρόσφατη αμφίβια κρίση διπλασίασε περίπου αυτόν τον αριθμό [Frankham 2008]. Ήδη 25 είδη ζώων, συμπεριλαμβανομένου του άδακα (*Addax nasomaculatus*), του Αραβικού όρνυγος (*Oryx leucoryx*), του κόνδορα της Καλιφόρνια (*Gymnogyps californianus*), του ελαφιού του Pere David (*Elaphurus davidianus*), του αλόγου του Przewalski και 11 ειδών σαλιγκαριού του γένους *Partula* καθώς και αρκετά φυτά, συμπεριλαμβανομένου του δέντρου του Franklin (*Franklinia alatamaha*), έχουν διατηρηθεί σε αιχμαλωσία μετά από εξαφάνιση στο φυσικό περιβάλλον. Επιπλέον, πολλά απειλούμενα

είδη έχουν αιχμάλωτους πληθυσμούς που λειτουργούν ως δικλείδα ασφαλείας κατά της εξαφάνισης στο φυσικό περιβάλλον.

Παραδοσιακά, ο στόχος των προγραμμάτων αιχμαλωσίας αναπαραγωγής ήταν απλώς η διατήρηση ειδών, καθώς και η αύξηση του πληθυσμού τους. Τώρα, οι υπεύθυνοι των ζωολογικών κήπων, των βοτανικών κήπων και των πάρκων άγριας ζωής δέχονται σχεδόν καθολικά την αναγκαιότητα να διατηρούν τα είδη ως δυναμικές εξελικτικές οντότητες και να διατηρούν τη γενετική «υγεία» τους τόσο για μακροπρόθεσμη βιωσιμότητα όσο για τη ζητούμενη μεταγενέστερη απελευθέρωση στα φυσικά ενδιαίτημά τους. Η IUCN έχει αναγνωρίσει την κρίσιμη αξία των προγραμμάτων αιχμαλωσίας αναπαραγωγής [Frankham 2002]. Τα προγράμματα απελευθέρωσης των αναπαραγόμενων σε αιχμαλωσία (Captive Breeding Release Programs - CBRPs) έχουν αποδώσει ορισμένες επιτυχίες (π.χ., ο κόνδορας της Καλιφόρνια (*Gymnogyps californianus*) και το μαυροπόδαρο κουνάβι (*Mustela nigripes*)), αλλά τέτοια προγράμματα συχνά δεν επιτυγχάνουν το επιθυμητό αποτέλεσμα [McCleery 2014]. Μελέτες έδειξαν ότι οι μετατοπίσεις και οι επανεισαγωγές ειδών που απειλούνται με εξαφάνιση για λόγους διατήρησης έχουν μέσο ποσοστό επιτυχίας που κυμαίνεται από 11% έως 53%. Η χρήση μετατοπίσεων και επανεισαγωγών ως εργαλείο διατήρησης πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω και να βελτιωθεί, προκειμένου να διασφαλιστεί ότι πρόκειται για βιώσιμες επιλογές [Kristen 2008].

Αρνητικές πτυχές της *ex situ* διαχείρισης

Εισαγωγή

Υπάρχουν πολλοί κίνδυνοι που συνεπάγεται η *ex situ* διαχείριση. Ένα βασικό ζήτημα είναι ότι τα ζώα που βρίσκονται σε αιχμαλωσία συχνά παρουσιάζουν απώλεια φυσικών συμπεριφορών που σχετίζονται με την αρμοστικότητα στο φυσικό περιβάλλον. Ανεπάρκειες παρατηρούνται στην αναζήτηση τροφής ή θηράματος, στις κοινωνικές τους αλληλεπιδράσεις, στην αναπαραγωγή και στη φώλεοποίηση, και στις κινητικές ικανότητες τους [Kristen 2008]. Άλλες συνέπειες περιλαμβάνουν την έλλειψη ανοσίας των γεννημένων σε αιχμαλωσία ζώων σε ιούς και ασθένειες που επικρατούν στους άγριους πληθυσμούς του είδους τους. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα προγράμματα που χρησιμοποιούν ζώα που έχουν γεννηθεί σε αιχμαλωσία είναι λιγότερο πιθανό να είναι επιτυχημένα από προγράμματα που χρησιμοποιούν ζώα γεννημένα στο φυσικό περιβάλλον [Mathews 2008].

Η αναπαραγωγή σε αιχμαλωσία και επανεισαγωγή μπορεί να θεωρηθεί ως διαδικασία που περιλαμβάνει έξι στάδια [Frankham 2002]: 1) Μείωση του άγριου πληθυσμού και οι γενετικές συνέπειες αυτής. 2) Δημιουργία ενός αιχμάλωτου πληθυσμού. 3) Αύξηση των αιχμάλωτων πληθυσμών σε ένα ασφαλές μέγεθος. 4) Διαχείριση του αιχμάλωτου πληθυσμού από γενιά σε γενιά. 5) Επιλογή ατόμων για επανεισαγωγή. 6) Διαχείριση του επανεισαγόμενου πληθυσμού (πιθανώς κατακερματισμένου) στην άγρια φύση. Καθώς ο πληθυσμός πλησιάζει το επιθυμητό μέγεθος, η προσοχή στρέφεται στην γενετική διαχείριση. Ο στόχος της γενετικής διαχείρισης είναι η διατήρηση της δημογραφικής σταθερότητας και η εξουδετέρωση επιβλαβών γενετικών αλλαγών, όπως:

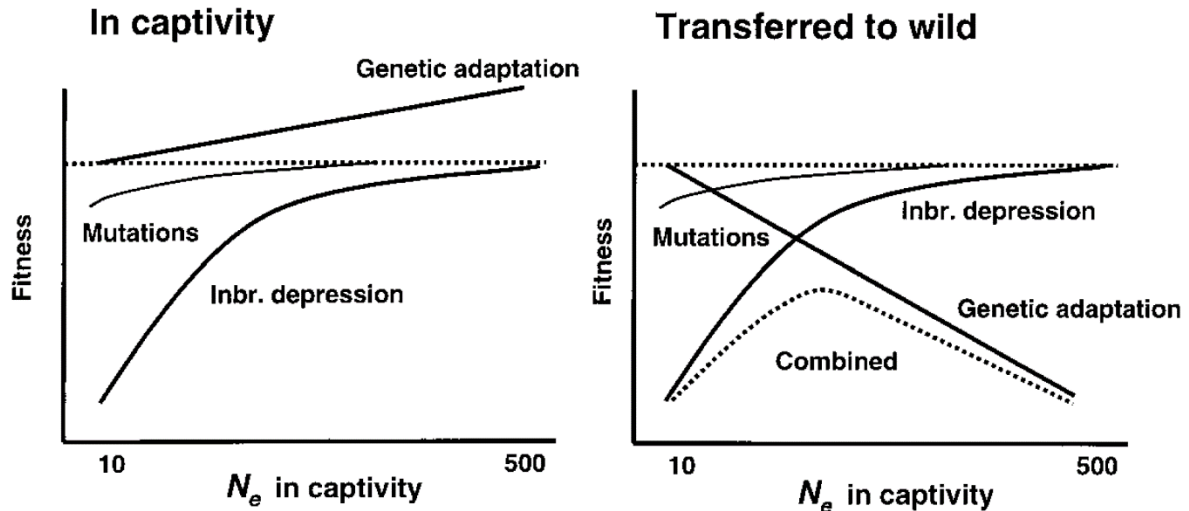
- Ομομικτικός υποβιβασμός
- Απώλεια γενετικής ποικιλότητας
- Συσσώρευση επιβλαβών μεταλλάξεων
- Γενετικές προσαρμογές στην αιχμαλωσία

Αυτοί οι παράγοντες έχουν διαφορετικές επιπτώσεις, λειτουργούν σε διαφορετικές χρονικές κλίμακες και έχουν διαφορετικές σχέσεις με το μέγεθος του πληθυσμού. Ο ομομικτικός υποβιβασμός, η απώλεια γενετικής ποικιλότητας και η γενετική προσαρμογή στην αιχμαλωσία αναμένονται σε όλους τους απομονωμένους πληθυσμούς σε αιχμαλωσία. Η συσσώρευση νέων επιβλαβών μεταλλάξεων είναι κυρίως μακροπρόθεσμη ανησυχία και είναι άγνωστης σημασίας. Η πιο άμεση απειλή κατά την ίδρυση είναι ο ομομικτικός υποβιβασμός [Frankham 2002].

Μελέτη των Woodworth *et al* έδειξε ότι οι αιχμάλωτοι πληθυσμοί που επανεισάχθηκαν στο φυσικό περιβάλλον έδειξαν πολύ γρήγορη γενετική αλλοίωση στην αναπαραγωγική αρμοστικότητα. Αυτές οι αλλαγές επήλθαν εξαιτίας της γενετικής προσαρμογής στην αιχμαλωσία και του ομομικτικού υποβιβασμού, με το πρώτο να επηρεάζει περισσότερο μεγάλους πληθυσμούς και το δεύτερο τους μικρούς [Woodworth 2002].

Συγκρίνοντάς τους μεταξύ τους, οι επιπτώσεις του ομομικτικού υποβιβασμού, της απώλειας της γενετικής ποικιλότητας και της συσσώρευσης μεταλλάξεων είναι πιο σοβαρές σε μικρούς από ότι σε μεγάλους πληθυσμούς. Αντίθετα, η γενετική προσαρμογή στην αιχμαλωσία είναι πιο εκτεταμένη στους μεγαλύτερους πληθυσμούς. Η γενετική προσαρμογή αυξάνει την αρμοστικότητα στο περιβάλλον αιχμαλωσίας, αλλά αναμένεται να είναι επιβλαβής όταν οι πληθυσμοί επιστρέψουν στους φυσικούς τους οικότοπους. Ο ομομικτικός υποβιβασμός

καθώς και η συσσώρευση μεταλλάξεων είναι επιβλαβείς τόσο στην αιχμαλωσία όσο και στο φυσικό περιβάλλον, αλλά η μείωση της αρμοστικότητας αναμένεται να είναι μεγαλύτερη στο πιο αντίξοο φυσικό περιβάλλον από ότι στην αιχμαλωσία [Woodworth 2002]. Όλες οι αλλαγές στην αιχμαλωσία είναι πιθανό να είναι πιο επιβλαβείς όταν οι πληθυσμοί επανεισαχθούν στο φυσικό περιβάλλον [Frankham 2002].



Εικόνα 1: Η γενετική αλλοίωση της αιχμαλωσίας και η επίδρασή της στην επιτυχία της επανεισαγωγής. Προβλεπόμενες σχέσεις αναπαραγωγικής ικανότητας ως προς το δραστικό μέγεθος πληθυσμού (N_e) λόγω των επιπτώσεων του ομομικτικού υποβιβασμού (Inbreeding depression), της συσσώρευσης επιβλαβών μεταλλάξεων (Mutations) και της γενετικής προσαρμογής στην αιχμαλωσία (Genetic adaptation). Η αναπαραγωγική ικανότητα υπό συνθήκες αιχμαλωσίας εμφανίζεται στα αριστερά και για αιχμαλωτισμένους πληθυσμούς που μεταφέρονται στο φυσικό περιβάλλον στα δεξιά. Η διακεκομμένη γραμμή είναι η αρμοστικότητα ενός μεγάλου άγριου πληθυσμού. Η καμπύλη με την ένδειξη «Combined» είναι ο σύνθετος αντίκτυπος του ομομικτικού υποβιβασμού και της γενετικής προσαρμογής στην αιχμαλωσία. Λαμβάνεται υπόψη ένα μακροπρόθεσμο χρονικό πλαίσιο (~50 γενιές). Τα μεγέθη των επιπτώσεων θα διαφέρουν μεταξύ των ειδών και του περιβάλλοντος, αλλά οι κατευθύνσεις των αλλαγών θα είναι αντίστοιχες. Εικόνα από [Frankham 2002].

Όταν υφίσταται ταυτόχρονα και ομομικτικός υποβιβασμός και γενετική προσαρμογή στην αιχμαλωσία, αναμένεται μια πιο σύνθετη σχέση ανάμεσα από το μέγεθος πληθυσμού και την αρμοστικότητα κατά την επανεισαγωγή στο φυσικό περιβάλλον (Εικόνα 1).

Ομομικτικός υποβιβασμός

Ομομιξία είναι το ζευγάρι συγγενικών ατόμων. Λόγω των μικρών τους μεγεθών, οι *ex situ* διατηρούμενοι πληθυσμοί οδηγούνται αναπόφευκτα στην ομομιξία. Με τον καιρό, όλα τα άτομα αποκτάνε μεταξύ τους συγγένεια, οπότε δεν είναι δυνατό το ζευγάρι μεταξύ μη συγγενικών ατόμων. Η ομομιξία έχει προφανή σημασία στους πληθυσμούς της *ex situ* διαχείρισης, καθώς οδηγεί σε μείωση της ετεροζυγωτίας, και κατά συνέπεια σε μειωμένη αναπαραγωγή και επιβίωση και αυξημένο κίνδυνο εξαφάνισης, τον λεγόμενο ομομικτικό υποβιβασμό. Φυσικά, αυτό αφορά και οποιονδήποτε μικρό πληθυσμό βρίσκεται στο φυσικό περιβάλλον (πχ σε κατακερματισμένα ενδιαίτηματα). Φυσικοί πληθυσμοί που συχνά υφίστανται (και επιβιώνουν από) πληθυσμιακούς στενωπούς αναμένεται να είναι λιγότερο ευαίσθητοι σε αυτόν από ότι είναι μεγαλύτεροι ετερομικτικοί πληθυσμοί [Brook 2002]. Η ένταση του ομομικτικού υποβιβασμού εξαρτάται συνεπώς από προηγούμενα γεγονότα του πληθυσμού, όπως ο αριθμός και η συχνότητα θνησιγόνων αλληλόμορφων. Ο αριθμός των γενεών στους μικρούς πληθυσμούς που οδηγεί στην ομομιξία εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον αριθμό των μη-συγγενικών ιδρυτών τους. Συνεπώς, οι κλειστοί πληθυσμοί θα βρεθούν σε κίνδυνο αργά ή γρήγορα.

Ο ομομικτικός υποβιβασμός είναι πιο εμφανής για χαρακτήρες/χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την αναπαραγωγική αρμοστικότητα. Για παράδειγμα, η αναπαραγωγή, η επιβιωσιμότητα και το πλήθος απογόνων αναδεικνύουν περισσότερο από ότι το μέγεθος, τον ομομικτικό υποβιβασμό στα ζώα. Στη μελέτη των Xu *et al* [Xu 2007] έδειξαν ότι το ποσοστό των αναπαραγόμενων τίγρεων της μελέτης ήταν αρνητικά συσχετισμένο με το επίπεδο ομομιξίας, υποδηλώνοντας ότι η ομομιξία μειώνει την ικανότητα αναπαραγωγής αυτού του υποείδους. Στις αναφορές τους περιλαμβάνονται ακόμα μελέτες όπου η χαμηλή γονιμότητα και συχνότητα γενεών χρησιμοποιείται επίσης ως ένας δείκτης ομομικτικού υποβιβασμού σε άλλα αιλουροειδή όπως το Τσίτα (*Acinonyx jubatus*), και τον Πάνθηρα της Florida (*Felis concolor coryi*), τα οποία παρουσίασαν και τα δύο χαμηλή ποιότητα σπέρματος.

Ο ομομικτικός υποβιβασμός είναι μεγαλύτερος για τη συνολική αρμοστικότητα παρά για τα επιμέρους στοιχεία που αποτελείται η αναπαραγωγική αρμοστικότητα. Η στοχαστική φύση του ομομικτικού υποβιβασμού υπονοεί ότι διαφορετικά είδη και πληθυσμοί θα ποικίλουν στα επιμέρους στοιχεία της αρμοστικότητας που επηρεάζονται από την ομομιξία. Επαναληπτικά πειράματα διέφεραν στα συστατικά της αρμοστικότητας που επηρεάζοντουσαν από την ομομιξία κατά τη μελέτη ποντικών (Oldfield mouse) [Lacy 1996].

Ο ομομικτικός υποβιβασμός μπορεί να μειωθεί, ή να απαλειφθεί μέσω της επιλογής κατά των θνησιγόνων αλληλόμορφων. Αυτό μπορεί να βελτιώσει τον ομομικτικό υποβιβασμό, αλλά είναι δύσκολο να τον εξαλείψει. Επιπλέον αντιστρέφεται με την διασταύρωση μη συγγενών ατόμων [Frankham 2002].

Απώλεια γενετικής ποικιλότητας

Η γενετική ποικιλότητα είναι ένα από τα σημαντικότερα γνωρίσματα κάθε φυσικού πληθυσμού και προκύπτει από τις αλληλεπιδράσεις των ατόμων που τον αποτελούν με το περιβάλλον, καθώς και μεταξύ τους. Παράγοντες που επηρεάζουν τη γενετική ποικιλότητα των ειδών είναι εξής [Thermos 2017]:

Γενετική Παρέκκλιση: Η γενετική παρέκκλιση είναι οι τυχαίες διακυμάνσεις των συχνοτήτων των αλληλόμορφων σε έναν πληθυσμό από τη μια γενιά στην επόμενη. Μπορεί να φαίνεται ότι οι τυχαίες αλλαγές θα έχουν μικρές επιπτώσεις στη γενετική σύνθεση των πληθυσμών. Ωστόσο, η τυχαία επιλογή γαμετών σε μικρούς πληθυσμούς έχει τρεις συνέπειες μείζονος σημασίας για την εξέλιξη και τη διατήρηση: 1) Τυχαίες αλλαγές στις συχνότητες αλληλόμορφων από τη μια γενιά στην άλλη, 2) απώλεια της γενετικής ποικιλομορφίας και σταθεροποίηση (fixation) των αλληλόμορφων στους πληθυσμούς, και 3) διαφοροποίηση μεταξύ αναπαραγόμενων πληθυσμών από την ίδια αρχική πηγή (π.χ. κατακερματισμένοι πληθυσμοί) [Frankham 2002].

Πληθυσμιακοί Στενωποί (Bottlenecks): Ως πληθυσμιακή στενωπός (bottleneck) περιγράφεται η ραγδαία και απότομη μείωση στο μέγεθος ενός πληθυσμού λόγω εξωγενών παραγόντων, όπως η έντονη περιβαλλοντική διακύμανση, οι φυσικές καταστροφές και οι ανθρωπογενείς δραστηριότητες, με αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση της γενετικής ποικιλότητας. Τέτοια συμβάντα μπορούν να αυξήσουν τη δημογραφική στοχαστικότητα, τα ποσοστά ομομιξίας, την απώλεια γενετικής ποικιλότητας και τη σταθεροποίηση ήπιων θνησιγόνων αλληλόμορφων [Luikart 1998].

Η γενετική ποικιλότητα επιτρέπει στους πληθυσμούς να αντέχουν ένα ευρύ φάσμα περιβαλλοντικών ακραίων καταστάσεων. Αυτές περιλαμβάνουν την ικανότητα να ανεχτούν ακραίες κλιματολογικές συνθήκες, ρύπους βαρέων μετάλλων, ζιζανιοκτόνα, εντομοκτόνα κλπ. Οι άνθρωποι παράγουν αυξανόμενους ρυθμούς περιβαλλοντικών μεταβολών. Για παράδειγμα, η αύξηση των επιπέδων αερίων θερμοκηπίου προκαλεί παγκόσμια κλιματική αλλαγή. Εάν οι πληθυσμοί πρόκειται να αντιμετωπίσουν αυτούς τους παράγοντες, απαιτούν

γενετική ποικιλότητα. Η γενετική ποικιλότητα περιγράφεται τυπικά με τον πολυμορφισμό, την μέση ετεροζυγωτία και ποικιλότητα αλληλόμορφων [Frankham 2002].

Συσσώρευση επιβλαβών μεταλλάξεων

Σε έναν μικρό πληθυσμό η πιθανότητα επικράτησης επιβλαβών αλληλόμορφων είναι ιδιαίτερα αυξημένη λόγω μη απομάκρυνσής τους μέσω της φυσικής επιλογής, και συσσωρεύση τους διαμέσου της γενετικής παρέκκλισης [Thermos 2017]. Στην αιχμαλωσία συγκεκριμένα, η συσσωρευση επιβλαβών μεταλλάξεων θα μπορούσε να ενισχυθεί όχι μόνο λόγω του συνήθως μικρού μεγέθους των αιχμάλωτων πληθυσμών αλλά και λόγω της χαλαρωμένης επιλογής. Οι ευνοϊκές συνθήκες στους ζωολογικούς κήπους (απουσία θήρευσης, ιατρική περίθαλψη κλπ.) μπορεί να οδηγήσουν σε χαλάρωση των πιέσεων της επιλογής κατά των επιβλαβών αλληλόμορφων που διαφορετικά θα διατηρούνται σε χαμηλές συχνότητες σε φυσικούς πληθυσμούς. Ως αποτέλεσμα, η επανεισαγωγή ατόμων σε αιχμαλωσία στο φυσικό περιβάλλον μπορεί να αυξήσει το γενετικό φορτίο και συνεπώς τον κίνδυνο εξαφάνισης φυσικών πληθυσμών [Theodorou 2004].

Γενετική προσαρμογή στην αιχμαλωσία

Στα προγράμματα αιχμαλωσίας αναπαραγωγής μια πρόσθετη πηγή γενετικής αλλαγής είναι η γενετική προσαρμογή στην αιχμαλωσία. Η γενετική προσαρμογή στην αιχμαλωσία προκαλείται τόσο από φυσική όσο και από τεχνητή επιλογή στον οργανισμό στο περιβάλλον αιχμαλωσίας [Williams 2009]. Η επιλογή που συμβαίνει στην αιχμαλωσία μπορεί να είναι επιβλαβής επειδή τα γνωρίσματα που είναι πλεονεκτικά στο περιβάλλον αιχμαλωσίας μπορεί να μην είναι πλεονεκτικά στο φυσικό περιβάλλον. Αν η κατανομή ενός χαρακτηριστικού σε έναν άγριο πληθυσμό είναι σε ένα βέλτιστο, διαμορφωμένο από την επιλογή στο φυσικό περιβάλλον, η απελευθέρωση ατόμων, τα οποία έχουν μια διαφορετική κατανομή, η οποία έχει προκύψει από επιλογή στην αιχμαλωσία θα οδηγήσει σε μια μείωση της μέσης αρμοστικότητας του πληθυσμού. Αν η υποστηρικτική αναπαραγωγή διαρκέσει για πολλές γενιές, η κατανομή του χαρακτηριστικού μπορεί να απομακρυνθεί πολύ από το βέλτιστο του φυσικού περιβάλλοντος [Ford 2002].

Διάφορα μπορεί να είναι τα αίτια της διαφοροποιημένης φυσικής επιλογής (Differential Natural Selection) στην αιχμαλωσία. Οι Frankham *et al* [Frankham 1992] στο πείραμά τους στις *Drosophila* θεωρούν ως πιο σημαντικές διαφορές τον αυξημένο συνωστισμό και την αλλαγή τροφής. Ο συνωστισμός είναι συχνά μεγαλύτερος στους αιχμάλωτους πληθυσμούς σε σχέση με την άγρια φύση και η διατροφή μπορεί να αλλοιωθεί. Επιπλέον τα σαρκοφάγα δεν είναι πλέον σε θέση να κυνηγήσουν. Τα αρπακτικά ζώα συνήθως απουσιάζουν και οι ασθένειες και τα παράσιτα συνήθως ελέγχονται. Η επιλογή των υπάκουων ατόμων είναι σχεδόν αναπόφευκτη.

Η προσαρμογή αναμένεται να είναι μεγαλύτερη στους μεγαλύτερους πληθυσμούς, δεδομένου ότι διαθέτουν μεγαλύτερη γενετική ποικιλότητα από ότι οι μικρότεροι πληθυσμοί [Gilligan 2003]. Οι μεγάλοι πληθυσμοί παρουσιάζουν μεγαλύτερες προσαρμοστικές εξελικτικές δυνατότητες από τους μικρούς, απειλούμενους πληθυσμούς. Είδη παρασιτικών εντόμων, με πληθυσμούς σε εκατομμύρια, έχουν εξελιχθεί να μάχονται ένα μεγάλο εύρος επιθέσεων (π.χ. εντομοκτόνα) που χρησιμοποιούν οι άνθρωποι για να τα αντιμετωπίσουν. Αντιθέτως, πολλοί μικροί πληθυσμοί σε νησιά οδηγήθηκαν στην εξαφάνιση, λόγω των επιδράσεων που είχαν νεοφερμένοι κυνηγοί, η ανταγωνιστικότητα και οι αρρώστιες [Frankham 2002].

Τα χαρακτηριστικά που επιλέγονται σε συνθήκες αιχμαλωσίας λειτουργούν μειονεκτικά στο φυσικό περιβάλλον. Αυτή η επιρροή έχει αναφερθεί για γαλοπούλες, αμφίβια, φυτά και πολλά είδη ψαριών και εντόμων. Τα στοιχεία από τα ψάρια είναι εκτενή και δείχνουν εξαιρετικά επιβλαβείς επιδράσεις. Για παράδειγμα, ένα απόθεμα του σολομού *Chinook* (*Oncorhynchus tshawytscha*) στον Καναδά, εξελίχθηκε να έχει μικρότερα αυγά, και η συμπλήρωση άγριων πληθυσμών από αυτό το απόθεμα οδήγησε στη μείωση του μεγέθους των αυγών του άγριου πληθυσμού και συνεπώς, σε μειωμένη αρμοστικότητα. Η δια βίου αναπαραγωγική επιτυχία ψαριών από ενισχυτικά αποθέματα, όταν αυτά επιστρέφουν στο φυσικό περιβάλλον έχει βρεθεί να είναι 5-15% σε σχέση με τα ελεύθερα ψάρια [Frankham 2008].

Αξιοσημείωτη είναι και η μελέτη των Christie *et al* [Christie 2012] όπου παρατηρήθηκε προσαρμογή σε μόλις μια γενιά της πέστροφας steelhead (*Oncorhynchus mykiss*), συγκρίνοντας τον αριθμό των απογόνων που έφτασαν σε ενηλικίωση. Αυτό καταδεικνύει ότι μια μοναδική γενεά στην αιχμαλωσία μπορεί να οδηγήσει σε μια ουσιαστική αλλαγή στην επιλογή σχετικά με τα χαρακτηριστικά που είναι ευεργετικά στην αιχμαλωσία αλλά προβληματικά στο φυσικό περιβάλλον. Παράγοντες που επιδεινώνουν την προσαρμογή στην αιχμαλωσία περιλαμβάνουν ισχυρές πιέσεις επιλογής, μεγάλα δραστικά μεγέθη πληθυσμού, υψηλή γενετική ποικιλομορφία και πολλαπλές γενιές σε αιχμαλωσία. Η πέστροφα είναι γενετικά ποικίλη, εξαιρετικά γόνιμη (χιλιάδες αυγά ανά θηλυκό). Οι αιχμάλωτοι πληθυσμοί ζώων με λιγότερο γόνιμα είδη, όπως ορισμένα θηλαστικά και πτηνά, ενδέχεται να μην προσαρμοστούν τόσο γρήγορα στην αιχμαλωσία, με την προϋπόθεση ότι δεν φυλάσσονται σε αιχμαλωσία για πολλές γενεές. Η επιτυχία της απελευθέρωσης των ατόμων που χρησιμοποιούνται για επανεισαγωγή συσχετίζεται αρνητικά με τον χρόνο στην αιχμαλωσία, υποδεικνύοντας ότι γρήγορα προσαρμόζονται γενετικά στην αιχμαλωσία. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η προσαρμογή στο περιβάλλον αιχμαλωσίας μπορεί να προκαλέσει μια ταχεία μείωση της αρμοστικότητας του ψαριού ενισχυτικής ιχθυοκαλλιέργειας στο φυσικό περιβάλλον. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι αφενός ο άγριος πληθυσμός περιείχε την απαιτούμενη γενετική ποικιλότητα για ταχεία προσαρμογή στην αιχμαλωσία. Αφετέρου, λιγότερες από μία γενεές σε αιχμαλωσία δημιούργησαν τις πιέσεις επιλογής που είναι απαραίτητες για την πρόκληση μιας ταχείας πτώσης της αρμοστικότητας στο φυσικό περιβάλλον.

Οι Lewis *et al* [Lewis 2001] ερεύνησαν γνωρίσματα σχετικά με τη διασπορά και την αναπαραγωγή σε μια καλλιέργεια της μεγάλης λευκής πεταλούδας *Pieris brassicae* (L.), που είχε αιχμαλωτιστεί για 100-150 γενεές, και ένα πρόσφατο άγριο απόθεμα που εκτρέφονται ταυτόχρονα σε ένα κοινό περιβάλλον. Αυτή η μελέτη για το *Pieris brassicae* απέδειξε ότι η προσαρμογή στην αιχμαλωσία μπορεί να συμβεί σχετικά γρήγορα και ανέδειξε διαφορές τόσο στα μορφολογικά όσο και στα φυσιολογικά / συμπεριφορικά χαρακτηριστικά μεταξύ αιχμάλωτων και άγριων πληθυσμών. Τα άτομα στην αιχμαλωσία ήταν πιο βαριά, με μικρότερες αναλογίες φτερού και κατώτερου πτερυγίου. Τα θηλυκά στην αιχμαλωσία έδωσαν περισσότερα αυγά και είχαν μεγαλύτερη μάζα ωοθηκών την εποχή της μέγιστης παραγωγής αυγών. Συγκριτικά, τα άγρια θηλυκά έδωσαν πολύ λιγότερα αυγά κάτω από τις πειραματικές συνθήκες. Οι διαφορές αυτές συνάδουν με την προσαρμογή στις συνθήκες δέσμευσης. Με την πάροδο του χρόνου, παρόμοιες εξελικτικές μεταβολές μπορεί να επηρεάσουν ασπόνδυλα που εκτρέφονται σε *ex situ* προγράμματα διατήρησης, μειώνοντας την πιθανότητα να επανεισαχθούν αυτά τα είδη στη φύση.

Το ενδεχόμενο της ταχείας προσαρμογής στην αιχμαλωσία να ισχύει σε πολλά είδη, δημιουργεί σημαντικές επιπτώσεις για την *ex situ* διατήρηση. Ακόμη και αν ο ομομικτικός υποβιβασμός και η απώλεια σπάνιων αλληλόμορφων μπορούν να αποφευχθούν σε μεγάλους

αιχμάλωτους πληθυσμούς, οι εξελικτικές μεταβολές στα μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά μπορούν να επηρεάσουν την επιτυχία - προσπάθειες εγκατάστασης.

Μέθοδοι για την αποτροπή της γενετικής προσαρμογής

Εισαγωγή

Βασικός στόχος των *ex situ* προγραμμάτων διαχείρισης είναι η επιτυχής επανεισαγωγή των μεγαλωμένων στην αιχμαλωσία ατόμων πίσω στο φυσικό τους περιβάλλον. Ως «επιτυχία» σε αυτή τη διαδικασία, ορίζεται η «ίδρυση ενός αυτοσυντηρούμενου και βιώσιμου πληθυσμού» [Fischer 2000, Williams 2009]. Οι Griffith *et al* [Griffith 1989] στην ανασκόπηση που έκαναν σχετικά με μετακίνηση και απελευθέρωση ατόμων στο περιβάλλον για το διάστημα 1973-1986 βρήκαν 38% επιτυχία για 34 περιπτώσεις αιχμάλωτων ατόμων έναντι 75% επιτυχία για 163 περιπτώσεις όπου έγινε μεταφορά ατόμων πιασμένων στη φύση. Η ανασκόπηση των Fischer *et al* [Fischer 2000] βρήκε 13% επιτυχία για τις 52 περιπτώσεις ατόμων από αιχμαλωσία, σε αντιδιαστολή με 31% επιτυχία για τις 45 περιπτώσεις που έγινε μεταφορά άγριων ατόμων. Αξιοσημείωτο είναι επίσης ότι έδωσαν βάρος στον ορισμό της «επιτυχούς επανεισαγωγής». Μια πιο πρόσφατη ανασκόπηση [Germano 2009], η οποία επικεντρώνει σε αμφίβια και ερπετά, έδωσε 31% επιτυχία για τα αμφίβια, ανεξάρτητα από το αν τα άτομα επανεισάγονται από την αιχμαλωσία, ή είναι μεταφορά από άλλο ενδιαίτημα.

Τα παραπάνω στοιχεία αναδεικνύουν τη βαρύτητα των συνεπειών που συνεπάγεται η *ex situ* διαχείριση. Είναι σαφές ότι υπάρχει δυνατότητα βελτίωσης στα χαμηλά αυτά ποσοστά επιτυχίας. Οι Champagnon *et al* [Champagnon 2012] έδωσαν μερικές γενικές συμβουλές για την επιτυχία αντίστοιχων προγραμμάτων ενισχυτικής εκτροφής. Αυτές περιλαμβάνουν τη μείωση της επιλογής μέσω της προσομοίωσης του φυσικού περιβάλλοντος καθώς και τη μείωση της ανθρώπινης επαφής. Επιπλέον, τονίζουν την ανάγκη της παρακολούθησης των ατόμων και μετά την επανεισαγωγή, καθώς επίσης και την ανάγκη για περαιτέρω μελέτες και επανέλεγχο παλαιότερων αποτελεσμάτων. Οι Reading *et al* [Reading 2013] δίνουν βάρος στις συμπεριφορικές αλλαγές που μπορούν να προκύψουν ως προσαρμογή στην αιχμαλωσία. Θεωρούν ότι για να αποφευχθούν, απαιτείται το κατάλληλο περιβάλλον, καθώς και ευκαιρίες να εκφράσουν τις φυσικές συμπεριφορές, μεταξύ άλλων.

Μέθοδοι Μείωσης Γενετικής Προσαρμογής στην αιχμαλωσία

Με βάση μια σειρά μελετών που αφορούσαν τη *Drosophila* και άλλα είδη, ο Richard Frankham [Frankham 2008] μοντελοποίησε τις επιπτώσεις της γενετικής προσαρμογής στους αιχμάλωτους πληθυσμούς. Κατασκεύασε την παρακάτω εξίσωση που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη της συσσωρευμένης γενετικής αλλαγής στην αναπαραγωγική αρμοστικότητα με την πάροδο του χρόνου στην αιχμαλωσία (GA_t) με βάση την εξίσωση του εκτροφέα (Breeder's Equation - [Arnold 1992]) για ποσοτική γενετική απόκριση στην επιλογή:

$$GA_t \sim Sh^2 \sum \left(1 - \frac{1}{2N_e}\right)^{t-1}$$

Όπου S είναι το διαφορικό επιλογής, δηλαδή η διαφορά του μέσου όρου όλου του πληθυσμού σε ένα χαρακτηριστικό, με το μέσο όρο των ατόμων που συνεισφέρουν στην επόμενη γενιά. Το h^2 είναι η κληρονομικότητα, η οποία εξαρτάται από τη γενετική ποικιλότητα για αναπαραγωγική αρμοστικότητα. N_e είναι το δραστικό μέγεθος πληθυσμού, και t είναι ο αριθμός γενεών σε αιχμαλωσία. Η απόκριση στην επιλογή στην πρώτη γενιά αντιπροσωπεύεται από τον όρο Sh^2 , και ο τύπος μετά το σύμβολο της άθροισης είναι η απώλεια γενετικής ποικιλότητας εξαιτίας της γενετικής παρέκκλισης σε συνεχόμενες γενιές [Frankham 2008]. Η εξίσωση προβλέπει ότι η γενετική προσαρμογή στην αιχμαλωσία θα σχετίζεται θετικά με τον αριθμό των γενεών στην αιχμαλωσία, την ένταση της επιλογής, τη γενετική ποικιλότητα και το δραστικό μέγεθος πληθυσμού.

Από την εξίσωση αυτή προβλέπεται ότι η γενετική προσαρμογή μπορεί να μειωθεί, όταν ελαχιστοποιείται: 1) Ο αριθμός των γενεών στην αιχμαλωσία, 2) η επιλογή, 3) η γενετική ποικιλότητα και 4) το δραστικό μέγεθος πληθυσμού. Επιπλέον, η εισαγωγή ατόμων από άγριο πληθυσμό μπορεί να μειώσει τη γενετική προσαρμογή [Frankham 2008].

1-Μείωση των γενεών σε αιχμαλωσία

Ο ρυθμός γενετικής προσαρμογής στην αιχμαλωσία αναμένεται να είναι αντιστρόφως ανάλογος με τη διάρκεια των γενεών. Κατά συνέπεια, οι παραδείγματα χάρη αιχμάλωτοι πληθυσμοί εντόμων, με μικρή διάρκεια γενιάς, αναμένεται να προσαρμοστούν ταχύτερα σε σχέση με πληθυσμούς μεγάλων σπονδυλωτών [Frankham 2008]. Η ελαχιστοποίηση του αριθμού των γενεών που ο πληθυσμός παραμένει σε αιχμαλωσία (t) πριν από την επανεισαγωγή στο φυσικό περιβάλλον μειώνει τον αριθμό των γενεών για επιλογή για να δράσει επί του πληθυσμού, μειώνοντας έτσι το επίπεδο προσαρμογής που είναι δυνατόν. Η μείωση του χρόνου που περνάνε τα είδη στην αιχμαλωσία πριν από την επανεισαγωγή είναι η πιο άμεση και βέλτιστη μέθοδος για την εξασφάλιση της επιβίωσης των αιχμαλώτων πληθυσμών [Frankham 2008].

Στοιχεία που να συσχετίζουν την προσαρμογή στην αιχμαλωσία με το πλήθος γενεών σε αυτή εμφανίζονται στη βιβλιογραφία από το 1965, σε πειραματικούς πληθυσμούς της *Drosophila serrata* [Ayala 1965]. Παρόμοια αποτελέσματα συσχέτισης έχουν βρει και οι Gilligan *et al* [Gilligan 2003] για τη *Drosophila melanogaster*. Στη προσομοίωσή του, ο Alexander Robert [Robert 2009] θεωρεί τη διάρκεια της αιχμαλωσίας ως τον πιο καθοριστικό παράγοντα για την επιτυχία των επανεισαγωγών, όπου τα καλύτερα αποτελέσματα επιτυγχάνονταν σε ενδιάμεσους χρόνους. Το σκεπτικό είναι ότι θα υπάρξουν αρκετές γενιές ώστε να απελευθερωθούν αρκετά άτομα, όχι όμως τόσα πολλά ώστε να υπάρξει προσαρμογή.

Η διάρκεια της γενιάς μπορεί να χειραγωγηθεί αυξάνοντας τη μέση ηλικία των γονέων, π.χ. ο διπλασιασμός της ηλικίας των γονέων αναμένεται να μειώσει κατά το ήμισυ το ρυθμό της γενετικής προσαρμογής στην αιχμαλωσία. Μια τέτοια πρόταση μπορεί να συνεπάγεται πρακτικές δυσκολίες, αλλά θα μπορούσε να προβλεφθεί να λειτουργήσει με αναπαραγωγή ατόμων όταν είναι νέα, αλλά, όπου είναι δυνατόν, χρησιμοποιώντας τους πιο πρόσφατους απογόνους τους ως γονείς στην επόμενη γενιά [Williams 2009]. Η επιμήκυνση της διάρκειας της γενιάς επιβραδύνει επίσης τον ρυθμό απώλειας της γενετικής διακύμανσης. Παρόλα αυτά, η επανεισαγωγή είναι πρακτική μόνο για είδη για τα οποία τα προβλήματα που οδήγησαν στην ανάγκη για *ex situ* διατήρηση έχουν λυθεί. Για τα είδη που πρέπει να παραμείνουν σε αιχμαλωσία, η ελαχιστοποίηση των γενεών γίνεται με 2 προσεγγίσεις: Καθυστερημένη αναπαραγωγή και κρυοδιατήρηση.

-Καθυστερημένη αναπαραγωγή: Η καθυστερημένη αναπαραγωγή ατόμων σε αιχμαλωσία μπορεί να συμβεί απλά διαχωρίζοντας τα αρσενικά και θηλυκά άτομα σε ξεχωριστές ομάδες.

Ωστόσο, ο διαχωρισμός των αρσενικών και των θηλυκών μπορεί να έχει μειονεκτήματα λόγω ανάγκης χώρου. Άλλοι τρόποι να επιτευχθεί είναι η χρήση αντισυλληπτικών των οποίων η επιρροή είναι αντιστρέψιμη [Cope 2017]. Παρόλα αυτά, η χρήση των αντισυλληπτικών εξαρτάται από το είδος, καθώς εμφανίζουν διάφορες συμπεριφορικές αλλαγές [Asa 2005]. Τέλος, η καθυστερημένη αναπαραγωγή είναι αποτελεσματική για είδη με μεγάλη διάρκεια ζωής και υψηλούς ρυθμούς αναπαραγωγής, καθώς η γονιμότητα μπορεί να μειωθεί με την ηλικία.

-Κρυοδιατήρηση: Είναι η μακροπρόθεσμη διατήρηση του γενετικού υλικού και χρησιμοποιείται επίσης ως μέσο διατήρησης της βιοποικιλότητας [Johnston 1995]. Η πρώτη επιτυχής κρυοδιατήρηση κυττάρων θηλαστικών έγινε το 1949, σε σπερματοζώαρια [FAO 2012]. Έκτοτε η τεχνική αυτή εξελίχθηκε, στο βαθμό της επιτυχούς γέννησης θηλαστικών από κατεψυγμένα έμβρυα [Swanson 2004].

2-Η επιλογή

Υπάρχουν διάφοροι τύποι επιλογής που πρέπει να αποφεύγονται σε πληθυσμούς που εκτρέφονται σε αιχμαλωσία. Αφενός υπάρχει η ασυνείδητη τεχνητή επιλογή που μπορεί να συμβεί ακούσια στους ζωολογικούς κήπους, όταν μόνο τα άτομα που αναπαράγονται καλά σε αιχμαλωσία ή είναι συνεργάσιμα με τους ανθρώπους, μπορούν να συνεισφέρουν τα γονίδια τους στην επόμενη γενιά. Όταν άτομα με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά συνεισφέρουν απογόνους, αυτό συνεπάγεται αύξηση του διαφορικού επιλογής S. Ένας άλλος τύπος επιλογής είναι αποτέλεσμα του περιβάλλοντος αιχμαλωσίας. Η έλλειψη κυνηγών, το άφθονο νερό και τροφή, η περίθαλψη, συνεισφέρουν σε μια ακούσια, τυχαία επιλογή που οδηγεί σε προσαρμογή στο περιβάλλον αιχμαλωσίας.

Οι Frankham *et al* [Frankham 2008] υποδεικνύουν δύο στρατηγικές για τη μείωση της επιρροής της επιλογής σε είδη που εκτρέφονται σε αιχμαλωσία. Πρώτον, η χρήση συγκεκριμένων στρατηγικών αναπαραγωγής μπορεί να ελαχιστοποιήσει την επίδραση της ασυνείδητης επιλογής. Δεύτερον, μια στρατηγική στην οποία το περιβάλλον αιχμαλωσίας είναι παρόμοιο με τον φυσικό βίοτοπο, μπορεί να μειώσει τυχαία επιλογή.

3-Γενετική ποικιλότητα

Η γενετική ποικιλότητα συνδέεται με την κληρονομικότητα και συνεπώς με την παραπάνω εξίσωση μέσω της σχέσης [Byers 2008]:

$$h^2 = \frac{V_G}{V_P}$$

Όπου V_G είναι η γενετική ποικιλότητα, και V_P η φαινοτυπική ποικιλότητα. Σύμφωνα με τους Frankham *et al* [Frankham 1992] η γενετική ποικιλότητα μπορεί να ελεγχθεί με δύο τρόπους: Ο πρώτος είναι να περιοριστεί η επιλογή εντός των οικογενειών, με το να εξισώνονται τα οικογενειακά μεγέθη (EFS – Equalization of Family Sizes). Η εξίσωση των οικογενειακών μεγεθών σημαίνει την ίση συνεισφορά των ατόμων στην επόμενη γενιά χωρίς να εκπροσωπούνται κάποια άτομα περισσότερο από άλλα, και αποτελεί μια στρατηγική αναπαραγωγής. Ο δεύτερος τρόπος είναι η εξομοίωση του περιβάλλοντος αιχμαλωσίας με το φυσικό περιβάλλον, καθώς η γενετική ποικιλότητα τείνει να είναι μεγαλύτερη όταν το περιβάλλον αιχμαλωσίας διαφέρει από το φυσικό περιβάλλον. Αυτό ενισχύει το επιχείρημα

για τη πλησιέστερη προσομοίωση του φυσικού περιβάλλοντος στους ζωολογικούς κήπους και τα πάρκα άγριας ζωής.

4-Μείωση του δραστικού μεγέθους πληθυσμού

Η γενετική προσαρμογή στην αιχμαλωσία μπορεί να μειωθεί με τον κατακερματισμό των πληθυσμών των απειλούμενων ειδών. Ο μικρός N_e και η γενετική παρέκκλιση θα μειώσουν επαρκώς την γενετική ποικιλότητα σε μεμονωμένους πληθυσμούς [Frankham 2008].

Οι Woodworth *et al* [Woodworth2002]. Εξέτασαν αυτή την παράμετρο με πειραματικούς πληθυσμούς της *Drosophila* για να μιμηθούν την αναπαραγωγή σε αιχμαλωσία. Αξιολόγησαν την προσαρμογή στην αιχμαλωσία υπό συνθήκες αιχμαλωσίας για 50 γενεές χρησιμοποιώντας δραστικά μεγέθη πληθυσμού ίσα με 25, 50, 100, 250 και 500. Οι μικροί πληθυσμοί κατέδειξαν μειωμένη αρμοστικότητα μετά από 50 γενιές λόγω του ομομικτικού υποβιβασμού. Οι μεγάλοι πληθυσμοί επέδειξαν την ταχύτερη προσαρμογή στις συνθήκες αιχμαλωσίας. Η ελάχιστη γενετική αλλαγή στην αιχμαλωσία παρατηρήθηκε σε πληθυσμούς ενδιάμεσου μεγέθους όπως αυτή μετρήθηκε μετακινώντας τους πληθυσμούς σε προσομοιωμένες άγριες συνθήκες. Αυτοί οι συγγραφείς πρότειναν ότι η προσαρμογή στην αιχμαλωσία μπορεί να ελαχιστοποιηθεί με την υποδιαίρεση ή τον κατακερματισμό του αιχμάλωτου πληθυσμού σε μια σειρά πληθυσμών ενδιάμεσου μεγέθους. Το δραστικό μέγεθος κάθε πληθυσμού πρέπει να είναι αρκετά μεγάλο ώστε να ελαχιστοποιεί τις βλαβερές συνέπειες της αναπαραγωγής και της γενετικής μετατόπισης, αλλά αρκετά μικρό ώστε να ελαχιστοποιείται η ταχεία προσαρμογή στις συνθήκες αιχμαλωσίας, όπως φαίνεται στο Σχήμα 1 στο Κεφάλαιο 2.

Στρατηγικές αναπαραγωγής

Όπως προτάθηκε παραπάνω, από τους Frankham *et al* [Frankham 2008] μια στρατηγική για τη μείωση της επιρροής της επιλογής σε είδη που εκτρέφονται σε αιχμαλωσία είναι η χρήση συγκεκριμένων στρατηγικών αναπαραγωγής. Παρόλα αυτά, έχει δειχθεί ότι οι στρατηγικές αναπαραγωγής επηρεάζουν και άλλα στοιχεία πέραν της επιλογής στην εξίσωση της γενετικής αλλαγής. Για παράδειγμα, οι Wang *et al* [Wang 2016] δείχνουν πώς αναλόγως την στρατηγική αναπαραγωγής, επηρεάζεται και ο τρόπος με τον οποίο υπολογίζεται το δραστικό μέγεθος πληθυσμού. Ως εκ τούτου, οι στρατηγικές αναπαραγωγής έχουν μια πιο σύνθετη επιρροή στην γενετική προσαρμογή στην αιχμαλωσία.

Στη βιβλιογραφία συναντήθηκαν οι εξής στρατηγικές αναπαραγωγής:

1. Εξισορρόπηση των οικογενειακών μεγεθών (EFS) [Williams 2009]. Η EFS είναι μία στρατηγική αναπαραγωγής κατά την οποία, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, δίνεται ίση δυνατότητα στα άτομα του πληθυσμού να συνεισφέρουν στην επόμενη γενιά. Με αυτό τον τρόπο επιλέγονται άτομα από όλο τον πληθυσμό. Παρόλα αυτά, δεν είναι ιδιαίτερα πρακτική σε περιπτώσεις απειλούμενων ειδών, ή ειδών με μειωμένη αναπαραγωγική ικανότητα.
2. Μέση Συγγένεια (Mean Kinship - MK). Η λογική αυτής της μεθόδου είναι ότι η επιλογή των αναπαραγωγικών ζευγών γίνεται βάση της ελαχιστοποίησης της συγγένειας.
3. Group Coancestry / Minimized Coancestry [Fernandez 2001b]. Η μέθοδος αυτή περιγράφεται στο Κεφάλαιο «Μεθοδολογία». Η ιδέα αυτής της μεθόδου είναι επίσης η ελαχιστοποίηση της συγγένειας μεταξύ των ατόμων των αναπαραγωγικών ζευγών

αλλά σε αντίθεση με την EFS, αντί να εκπροσωπούνται όλα τα άτομα του πληθυσμού, υπολογίζεται για κάθε άτομο ο αριθμός των απογόνων που πρέπει να συνεισφέρουν στην επόμενη γενιά, και στη συνέχεια τα αναπαραγωγικά ζευγάρια επιλέγονται με βάση την ελάχιστη κοινή συγγένεια.

4. Half-Sib / Circular Mating [Kimura 1963]. Αυτή η στρατηγική προτάθηκε πρόσφατα [Theodorou 2010, Theodorou 2015] ως μέθοδο διατήρησης αιχμάλωτων πληθυσμών. Σε αυτή τη στρατηγική, η αναπαραγωγή επιτρέπεται μεταξύ ετεροθαλών αδελφών. Η μέθοδος αυτή προτείνεται επιπλέον με κάποιες παραλλαγές (αδέλφια, ετεροθαλή αδέλφια, ξαδέρφια). Περιγράφεται στο Κεφάλαιο «Μεθοδολογία».

Ερευνητικά ερωτήματα

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση και σύγκριση διαφορετικών στρατηγικών *ex situ* αναπαραγωγής ως προς τη γενετική προσαρμογή που μπορεί να συμβεί στις συνθήκες αιχμαλωσίας. Η διερεύνηση έγινε με τη χρήση ενός στοχαστικού κώδικα στον οποίο προσομοιώνονται οι πιθανότητες επιβίωσης και αναπαραγωγής των προγραμμάτων *ex situ* διαχείρισης.

Οι μέθοδοι οι οποίες διερευνήθηκαν ήταν: Μια μέθοδος κυκλικής αναπαραγωγής μεταξύ ετεροθαλών αδελφών (Half-Sib), μια μέθοδος κυκλικής αναπαραγωγής μέσω πρώτων εξάδελφων (Cousins) [Theodorou 2015], καθώς και μια μέθοδος ελαχιστοποίησης κοινής συγγένειας (Gc/mc) [Fernandez 2001b]. Επιπλέον, οι ίδιες προσομοιώσεις έγιναν και για μια μέθοδο τυχαίας επιλογής ζευγαριών (Monogamy), ως σημείο αναφοράς.

Οι Theodorou *et al* [Theodorou 2010] έδειξαν ότι η Half-Sib στρατηγική αναπαραγωγής επιτυγχάνει δύο βασικούς στόχους της *ex situ* διαχείρισης. Τη διατήρηση υψηλών επιπέδων γενετικής ποικιλότητας, καθώς και τη μείωση του γενετικού φορτίου, με αποτέλεσμα την αυξημένη βιωσιμότητα των επανεισαγμένων πληθυσμών. Το 2013, οι Ivy *et al* [Ivy 2013] κατέδειξαν την Gc/mc ως τη βέλτιστη MK μέθοδο, όσον αφορά τη γενετική ποικιλότητα καθώς και την αρμοστικότητα του πληθυσμού. Οι Theodorou *et al* [Theodorou 2015] σύγκριναν τις μεθόδους Half-Sib και Gc/mc, και έδειξαν ότι η Half-Sib επιβραδύνει την προσαρμογή στο περιβάλλον αιχμαλωσίας και διατηρεί υψηλότερα επίπεδα γενετικής ποικιλότητας. Παρόλα αυτά, όπως τονίζεται από τους ίδιους και τους Caballero *et al* [Caballero 2016], αυτή η μέθοδος μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη πιθανότητα εξαφάνισης λόγω του ομομικτικού υποβιβασμού, ιδιαίτερα στην περίπτωση μικρών πληθυσμών, και ειδών με χαμηλό αναπαραγωγικό ρυθμό. Αυτό οδήγησε στη μελέτη του Thermos 2017, όπου προτάθηκαν άλλες παραλλαγές της κυκλικής αναπαραγωγής, είτε με περιοδική προσθήκη ετερογαμίας, είτε με πιο ήπιο βαθμό ομομιξίας (Πρώτα ξαδέλφια). Τα αποτελέσματα της έρευνας ανέδειξαν τη μέθοδο Cousins ως την καταλληλότερη για τη διατήρηση της αρμοστικότητας και της γενετικής ποικιλότητας, μειώνοντας ταυτόχρονα και τον κίνδυνο εξαφάνισης.

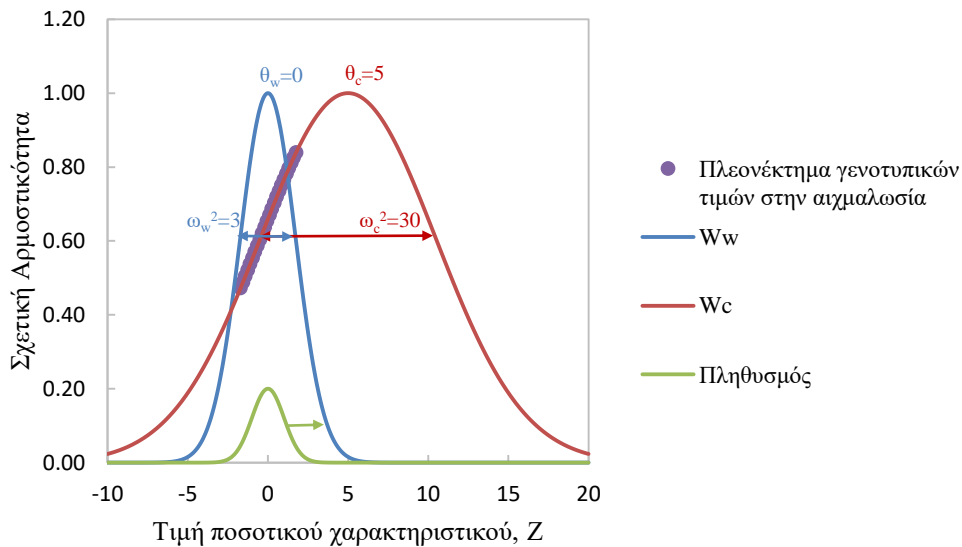
Στην παρούσα εργασία εξετάζονται συμπληρωματικοί δείκτες για την αξιολόγηση των *ex situ* στρατηγικών αναπαραγωγής. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν οι εξής δείκτες: Η μετατόπιση της μέσης φαινοτυπικής τιμής, η γενοτυπική διασπορά καθώς και η σχετική αρμοστικότητα κατά την επανεισαγωγή στην 50^η γενιά.

Εκτός από τις στρατηγικές αναπαραγωγής, διερευνήθηκαν δύο ακόμα παράμετροι. Πρώτον, στην περίπτωση της περιβαλλοντικής διακύμανσης, εξετάστηκαν δύο διαφορετικές τιμές ώστε να εξεταστούν χαρακτηριστικά που εξαρτώνται σε μεγαλύτερο ποσοστό από τον γενότυπο. Δεύτερον, μελετήθηκε ένα εύρος τιμών της έντασης της επιλογής στην αιχμαλωσία σε σχέση με το φυσικό περιβάλλον.

Ποσοτικό γενετικό μοντέλο

Το γενετικό μοντέλο βασίζεται στο μοντέλο που αναπτύχθηκε από [Burger 1995, Ford 2002] και χρησιμοποιήθηκε από Theodorou *et al* [Theodorou 2015]. Στην Εικόνα 2 παρουσιάζεται η βασική σχηματική περιγραφή του μοντέλου αυτού.

Φαινοτυπικό μοντέλο



Εικόνα 2 : Η βασική ιδέα του φαινοτυπικού μοντέλου. Εικόνα από [Ford 2002] με τροποποιημένες τιμές. Η μετατοπισμένη κορυφή στο περιβάλλον αιχμαλωσίας αναδεικνύει το πλεονέκτημα στην αρμοστικότητα που θα έχουν τα άτομα του αιχμάλωτου πληθυσμού με τιμή φαινοτυπικού χαρακτηριστικού Z πλησιέστερα στην βέλτιστη φαινοτυπική τιμή στο περιβάλλον αιχμαλωσίας θ_c .

Η καμπύλη W_w είναι η συνάρτηση της αρμοστικότητας ενός ατόμου με τιμή χαρακτηριστικού Z στο φυσικό περιβάλλον. Πιο συγκεκριμένα, θεωρείται ότι η αρμοστικότητα ενός ατόμου με φαινότυπο Z είναι:

$$W_q(Z) = \exp \left[-\frac{(Z - \theta_i)^2}{2\omega_i^2} \right]$$

Όπου το ω^2 είναι αντιστρόφως ανάλογο με τη δύναμη της σταθεροποιητικής επιλογής και θ_i είναι ο βέλτιστος φαινότυπος στο περιβάλλον i . Η Gaussian συνάρτηση για την αρμοστικότητα φαίνεται να αποτελεί την κατάλληλη επιλογή για πολλά ποσοτικά χαρακτηριστικά [Theodorou 2015]. Η αρμοστικότητα στο φυσικό περιβάλλον μεγιστοποιείται για άτομα με φαινοτυπική τιμή $Z=\theta_w$. Αντίστοιχα η καμπύλη W_c περιγράφει την αρμοστικότητα σε περιβάλλον αιχμαλωσίας, με βέλτιστη τιμή χαρακτηριστικού $Z=\theta_c$. Τα πλάτη των καμπυλών αρμοστικότητας, και συνεπώς η δύναμη της επιλογής, περιγράφονται από τις μεταβλητές ω_c και ω_w για το περιβάλλον αιχμαλωσίας, και το φυσικό περιβάλλον αντίστοιχα ($\omega_c^2 = 10 * \omega_w^2 = 30$). Η μικρή καμπύλη «Πληθυσμός» περιγράφει έναν πληθυσμό ο οποίος εξελίχθηκε με μέσο φαινότυπο τον βέλτιστο φαινότυπο του φυσικού

περιβάλλοντος. Η φαινοτυπική διακύμανση θεωρείται σταθερή. Αν ο πληθυσμός αυτός μεταφερθεί στην αιχμαλωσία και χρησιμοποιηθεί για υποστηρικτική αναπαραγωγή, το πλεονέκτημα που υπάρχει στο περιβάλλον αιχμαλωσίας για Z εγγύτερα στο θ_c , θα προκαλέσει μετατόπιση της καμπύλης του πληθυσμού προς το βέλτιστο του περιβάλλοντος αιχμαλωσίας $Z=\theta_c$ [Ford 2002].

Συνοπτικά, στο παρόν μοντέλο, το περιβάλλον αιχμαλωσίας διαφέρει από το άγριο σε δύο σημεία: Πρώτον, η αρμοστικότητα στο φυσικό περιβάλλον μεγιστοποιείται για τα άτομα με τιμή χαρακτηριστικού $Z = \theta_w$, ενώ η βέλτιστη τιμή χαρακτηριστικού στην αιχμαλωσία είναι $Z = \theta_c$. Ως εκ τούτου, υπάρχει διαφορά στον βέλτιστο φαινότυπο μεταξύ των δύο περιβάλλοντων $\Delta\theta=|\theta_w-\theta_c|$ (βλ. Σχήμα 2 [Ford 2002]). Δεύτερον, η επιλογή στην αιχμαλωσία είναι ασθενέστερη σε σύγκριση με τη φύση. Στις προσομοιώσεις μας, η δύναμη της επιλογής στη φύση έχει οριστεί σε $\omega_w^2 = 3$ όπως προτείνεται στη βιβλιογραφία [Estes 2007]. Στην αιχμαλωσία, υποθέσαμε ότι η επιλογή είναι 10 φορές ασθενέστερη ($\omega_c^2 = 30$). Επίσης, έγιναν προσομοιώσεις για διάφορες τιμές του ω_c με σκοπό να συγκριθούν τα αποτελέσματα των διαφόρων στρατηγικών αναπαραγωγής.

Μελετήθηκε η εξέλιξη ενός μοναδικού χαρακτηριστικού (trait) και η υπόθεση είναι ότι η γενοτυπική τιμή G του χαρακτηριστικού αυτού προσδιορίζεται από $L=50$ ελεύθερα ανασυνδυασμένους γενετικούς τόπους. Τα αποτελέσματα των αλληλόμορφων στο χαρακτηριστικό είναι αθροιστικά τόσο σε κάθε τόπο όσο και κατά μήκος αυτών. Αυτό συνεπάγεται ότι δεν υπάρχει γενετική ποικιλότητα λόγω κυριαρχικής ή επιστατικής αλληλεπίδρασης [Burger 1995] και η συνολική γενετική ποικιλότητα ισούται με την αθροιστική γενετική ποικιλότητα, σύμφωνα με την εξίσωση [Byers 2008]:

$$V_G = V_A + V_D(= 0) + V_I(= 0) \rightarrow V_G = V_A$$

Η φαινοτυπική τιμή ενός ατόμου είναι το άθροισμα της γενετικής συμβολής και ενός κανονικά κατανομημένου περιβαλλοντικού παράγοντα με μέση τιμή μηδέν και $\sigma_e^2 = 1$ [Burger 1995]. Υποθέσαμε ότι η σταθεροποιητική επιλογή ενεργεί στο φαινοτυπικό χαρακτηριστικό [Theodorou 2015].

Ο αριθμός αλληλόμορφων που είναι δυνατόν να συνυπάρχουν σε κάθε γενετικό τόπο είναι απεριόριστος. Το αποτέλεσμα του νέου αλληλόμορφου πάνω στο φαινοτυπικό χαρακτηριστικό - σε σχέση με την παλιά τιμή - καθορίζεται από δειγματολήψια από μια κανονική κατανομή με μέση τιμή μηδέν και διακύμανση a^2 . Οι μεταλλάξεις εμφανίζονται ανεξάρτητα σε έναν γενετικό τόπο σε κάθε γαμέτη με πιθανότητα μ . Ο ρυθμός μετάλλαξης διπλοειδών γονιδίων ρυθμίστηκε στο $U=2L\mu=0.02$ και η διακύμανση της επίδρασης του αλληλόμορφου στο $a^2=0.05$ [Theodorou 2015].

Για να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα των διαφορετικών στρατηγικών αναπαραγωγής για την ελαχιστοποίηση της γενετικής προσαρμογής στις συνθήκες αιχμαλωσίας, χρησιμοποιήσαμε τρία μέτρα: (i) τη μετατόπιση της μέσης γενοτυπικής τιμής του πληθυσμού προς τη βέλτιστη γενοτυπική τιμή στο περιβάλλον αιχμαλωσίας, (ii) την αθροιστική γενετική ποικιλότητα του πληθυσμού, και (iii) την αρμοστικότητα όταν ο πληθυσμός επανεισαχθεί στο φυσικό περιβάλλον, μετά από 50 γενιές στην αιχμαλωσία. Υποθέσαμε ότι το πρόγραμμα αρχικοποιείται από άτομα που προέρχονται από τη φύση. Ως εκ τούτου, η κατανομή χαρακτηριστικών στην αρχική γενιά στην αιχμαλωσία είναι σε ένα βέλτιστο που έχει διαμορφωθεί στο φυσικό περιβάλλον (δηλαδή, $M_g(t=0)=0$). Ορίστηκε η διαφορά στον βέλτιστο φαινότυπο μεταξύ της αιχμαλωσίας και της φύσης, $\Delta\theta=5$, η οποία αντιστοιχεί σε μεγάλες διαφορές μεταξύ των δύο περιβάλλοντων (πέντε φορές την αρχική γενετική

προσθετική διασπορά $V_g(t=0)=1$). Η συνολική αρμοστικότητα κάθε ατόμου ορίζεται ως η αρμοστικότητα που προκύπτει σε σχέση με το ποσοτικό χαρακτηριστικό:

$$W_i = W_q$$

ενώ παράλληλα επηρεάζει την γονιμότητα και την επιβίωση με επιρροή $\sqrt{W_i}$ σε κάθε συντελεστή [Fernandez 2001a]. Πιο συγκεκριμένα:

$$W_{surv(ival)} = \sqrt{W_i} = \sqrt{W_q}$$

$$W_{fec(undity)} = F_{max} * \sqrt{W_i} = F_{max} * \sqrt{W_q}$$

με το F_{max} να αποτελεί έναν συντελεστή κλιμάκωσης ως προς τον αριθμό των απογόνων. Για την αρχικοποίηση του πληθυσμού επιλέγονται N γενετικά μη σχετιζόμενα άτομα με τυχαία αλληλόμορφα για τον έλεγχο του ποσοτικού χαρακτηριστικού. Στη συνέχεια, κανονικοποιούμε τα αλληλόμορφα έτσι ώστε η γενετική διασπορά του πληθυσμού να έχει μηδενική μέση και μοναδιαία τυπική απόκλιση $N(0,1)$ [Bjorklund 2009]. Τα αρχικά άτομα είναι προσαρμοσμένα στο φυσικό περιβάλλον, δηλαδή η αρχική μέση γενότυπη τιμή, M_g , συμπίπτει με τον βέλτιστο φαινότυπο στην φύση ($\theta_w=0$). Διεξήγαμε 1000 επαναλήψεις για κάθε σενάριο και υπολογίστηκε ο μέσος όρος κάθε παραμέτρου ενδιαφέροντος (μέση γενότυπη τιμή, γενότυπη διασπορά) σε κάθε γενιά του αιχμάλωτου πληθυσμού καθώς και η αρμοστικότητα κατά την επαναεισαγωγή μετά από 50 γενιές. Όλες οι προσομοιώσεις εκτελέστηκαν στο Delphi 7 και ο κώδικας είναι διαθέσιμος κατόπιν αιτήματος.

Κύκλος ζωής

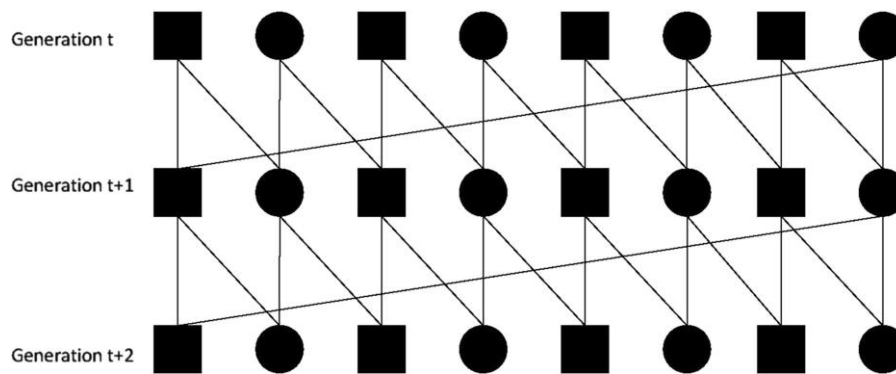
Οι προσομοιώσεις μας θεωρούν έναν αιχμάλωτο πληθυσμό που ιδρύεται από N άτομα γεννημένα στη φύση. Το αρχικό μέγεθος του πληθυσμού, N , είναι ίσο με τη φέρουσα ικανότητα στην αιχμαλωσία, δηλαδή οι πληθυσμοί μπορεί να μειωθούν αλλά ποτέ δεν μπορούν να υπερβούν το N . Το φύλο κατανέμεται τυχαία στα άτομα. Σε κάθε γενιά, η σειρά των γεγονότων ήταν η μετάλλαξη, η αναπαραγωγή, και η επιλογή βιωσιμότητας. Οι γενιές είναι διακριτές και μη επικαλυπτόμενες.

Στρατηγικές ζευγαρώματος

-**Η μέθοδος Gc/mc.** Πρόκειται για μια μέθοδο ζευγαρώματος, η οποία επιδιώκει να ελαχιστοποιήσει τη μέση συγγένεια ανάμεσα στα άτομα του πληθυσμού και προτείνεται από τους Fernandez και Caballero [Fernandez 2001b]. Σε αυτή τη μέθοδο προσδιορίζονται οι συνεισφορές έκαστου ατόμου στην επόμενη γενιά, βρίσκοντας τον συνδυασμό που να ελαχιστοποιεί τον βαθμό συγγένειας του απογόνου με τον συνολικό πληθυσμό. Περιλαμβάνεται ένας περιορισμός ο οποίος εξασφαλίζει ότι οι συνεισφορές από τα αρσενικά είναι ίσες με τις συνεισφορές από τα θηλυκά. Η βελτιστοποίηση γίνεται με τη χρήση του αλγόριθμου “*simulated annealing*” όπως περιγράφεται από τους Fernandez και Toro [Fernandez 1999]. Στο τέλος, ο αλγόριθμος υπολογίζει τον αριθμό των απογόνων όπου κάθε γονέας πρέπει να συνεισφέρει στην επόμενη γενιά. Στη συνέχεια, η μέθοδος ζευγαρώματος είναι η *Minimum coancestry (mc)*. Σε αυτή τη μέθοδο υπολογίζεται για κάθε πιθανό ζεύγος ο βαθμός συγγένειας μεταξύ τους, και στη συνέχεια ο μέσος όρος βαθμού συγγένειας όλων των αναπαραγωγικών ζευγαριών. Στόχος είναι η εύρεση των αναπαραγωγικών ζευγαριών, με τον ελάχιστο μέσο όρο του βαθμού συγγένειας μεταξύ τους. Για να γίνει αυτό, κατασκευάζονται 2 λίστες, μια για κάθε φύλο. Αυτές περιέχουν έκαστο γονέα σε πλήθος

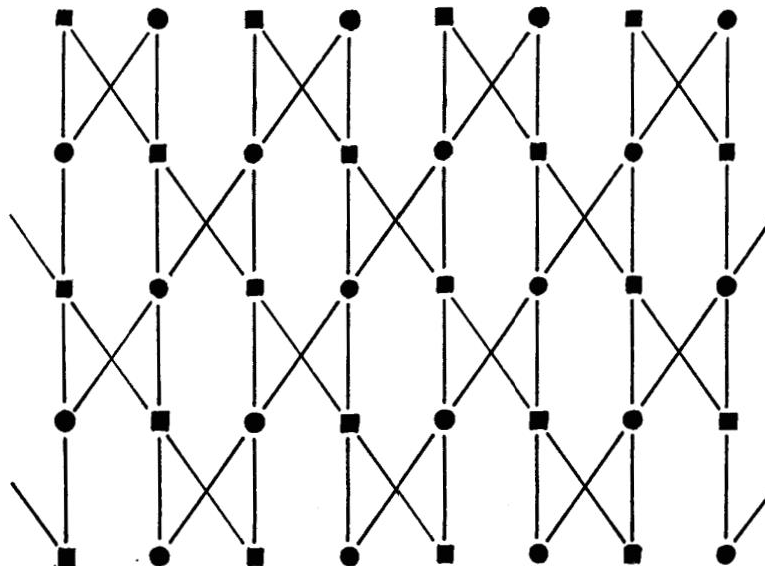
ανάλογο της υπολογισμένης από το προηγούμενο βήμα συνεισφοράς τους. Με τη χρήση του “Hungarian algorithm” [Kuhn 1955], εντοπίζεται ο βέλτιστος συνδυασμός με τον ελάχιστο μέσο όρο βαθμού συγγένειας μεταξύ των γονέων. Για τα ζευγάρια που απέτυχαν να αναπαραχθούν επιλέγονται από το απόθεμα οι απόγονοι που εμφανίζουν τον μικρότερο συνολικό βαθμό συγγένειας με τον πληθυσμό.

-Η μέθοδος Half-Sib/Circular. Η μέθοδος αυτή [Wright 1920, Kimura 1963] έχει στόχο να ελαχιστοποιήσει τη γενετική προσαρμογή στην αιχμαλωσία [Theodorou 2015]. Τα αναπαραγωγικά ζευγάρια προκύπτουν από το ζευγάρι ετεροθαλών αδελφών. Ως προς την αναπαραγωγή, στην περίπτωση της αναπαραγωγικής αποτυχίας ενός ζεύγους η επιλογή του συμπληρωματικού απογόνου από το απόθεμα γίνεται με κριτήριο την ύπαρξη ενός κοινού γονέα. Στην περίπτωση που δεν υπήρχε τέτοιος διαθέσιμος απόγονος, η επιλογή γίνεται τυχαία από το συμπληρωματικό απόθεμα. Σχηματικά περιγράφεται από την Εικόνα 3:



Εικόνα 3: Σχηματική περιγραφή της μεθόδου Half-sib. Εικόνα από [Theodorou 2015].

-Η μέθοδος Cousins. Εφαρμόζοντας τη μέθοδο αυτή, τα αναπαραγωγικά ζευγάρια σχηματίζονται μεταξύ πρώτων εξάδελφων [Wright 1920]. Στην Εικόνα 4 παρουσιάζεται σχηματική αναπαράσταση της μεθόδου.



Εικόνα 4: Σχηματική περιγραφή της μεθόδου Cousins. Σύστημα αναπαραγωγής με διασταυρώσεις μεταξύ πρώτων εξάδελφων σε ένα πληθυσμό $N=8$ ατόμων. Εικόνα από [Wright 1920].

-Η μέθοδος Monogamy (Τυχαία αναπαραγωγή). Σύμφωνα με αυτό τον τρόπο αναπαραγωγής, τα άτομα επιλέγονται τυχαία με σκοπό να δημιουργηθούν $N/2$

αναπαραγωγικά ζευγάρια. Σκοπός αυτής της μεθόδου είναι η προσομοίωση ενός μη διαχειριζόμενου, τυχαίου συστήματος με στόχο να αποτελέσει σημείο αναφοράς για τις υπόλοιπες μεθόδους.

Σε όλες τις μεθόδους, η διαδικασία επιλογής βιωσιμότητας και παραγωγής απογόνων είναι κοινή, και περιγράφεται παρακάτω:

Επιβιωσιμότητα και παραγωγή απογόνων

Στο μοντέλο έχουν περιληφθεί και στοχαστικά μοντέλα, έτσι ώστε το μοντέλο να προσομοιώνει όσο το δυνατόν περισσότερο την πραγματικότητα. Εφαρμόζονται μέθοδοι παρόμοιες με αυτές των Theodorou *et al* [Theodorou 2010]. Συγκεκριμένα, κάθε ζευγάριωμα έχει $F_{fm}(t)$ πιθανότητα να δώσει έναν βιώσιμο απόγονο, όπου $F_{fm}(t) = \sqrt{F_f(t)F_m(t)}$ είναι η αναμενόμενη γονιμότητα του ζευγαριού. Η γονιμότητα κάθε γονέα ορίζεται από τη σχέση $W_{fec(undity)} = F_i(t) = F_{max}\sqrt{W_i}$, $i=f,m$ με το F_{max} να αποτελεί έναν συντελεστή κλιμάκωσης ως προς τον αριθμό των απογόνων, και το W_i είναι η αρμοστικότητα αυτού. Στη συνέχεια υπολογίζεται η αρμοστικότητα επιβίωσης του απογόνου, και συγκρίνεται με έναν τυχαίο αριθμό από μια ομοιόμορφη κατανομή στο διάστημα $[0,1]$ για να ελεγχθεί η βιωσιμότητά του. Ένας από τους επιβιώσαντες απόγονους χρησιμοποιείται για την επόμενη γενιά, ενώ οι υπόλοιποι επιβιώσαντες απόγονοι σχηματίζουν ένα απόθεμα σε περίπτωση ανάγκης για τη συνέχεια. Αν κάποιο ζευγάρι δεν καταφέρει να συνεισφέρει στην επόμενη γενιά, χρησιμοποιείται ένα άτομο από το απόθεμα.

Αποτελέσματα

Εισαγωγή

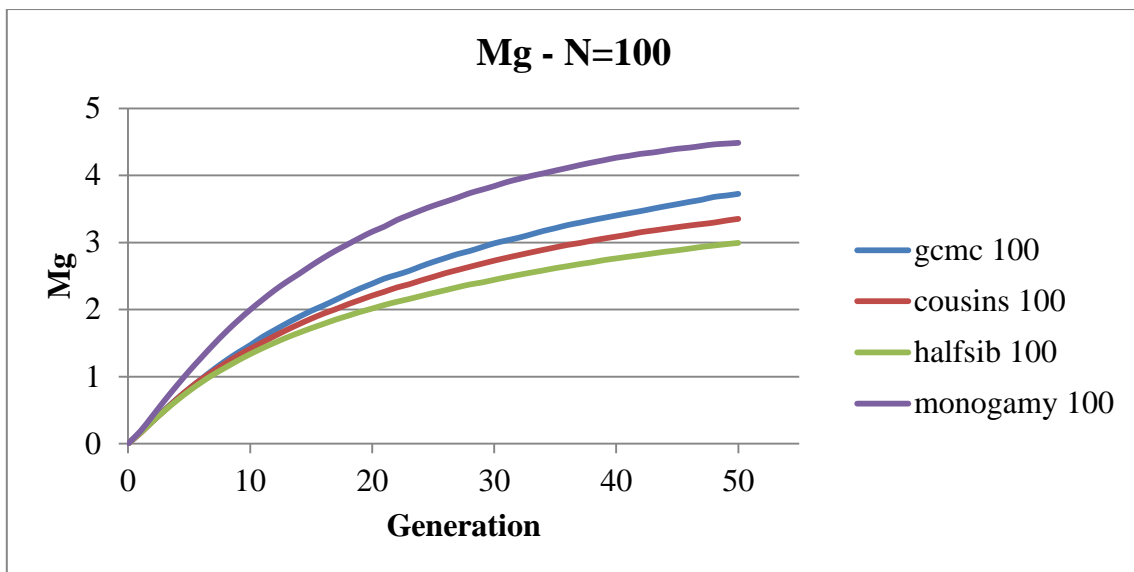
Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εκτελέστηκαν προσομοιώσεις για την προσαρμογή στην αιχμαλωσία βάση του μοντέλου που αναπτύχθηκε στα προηγούμενα κεφάλαια. Κατά την εκτέλεση των προσομοιώσεων, διερευνήθηκαν οι παρακάτω παράμετροι:

- Μέγεθος πληθυσμού $N=20, 40, 60, 80, 100$.
- Μέθοδος αναπαραγωγής = Ελαχιστοποίηση μέσου βαθμού συγγένειας (Gc/mc), Κυκλική αναπαραγωγή μεταξύ ετεροθαλών αδελφών (Half-sib), Κυκλική αναπαραγωγή μεταξύ πρώτων εξάδελφών (Cousins), Τυχαία αναπαραγωγή (Monogamy).
- Πλήθος γενεών=50.
- Ένταση της επιλογής στην αιχμαλωσία, $\omega_c^2=6, 12, 18, 24, 30$.
- Περιβαλλοντική διακύμανση $\sigma_e^2=0.2$ και 1.0.

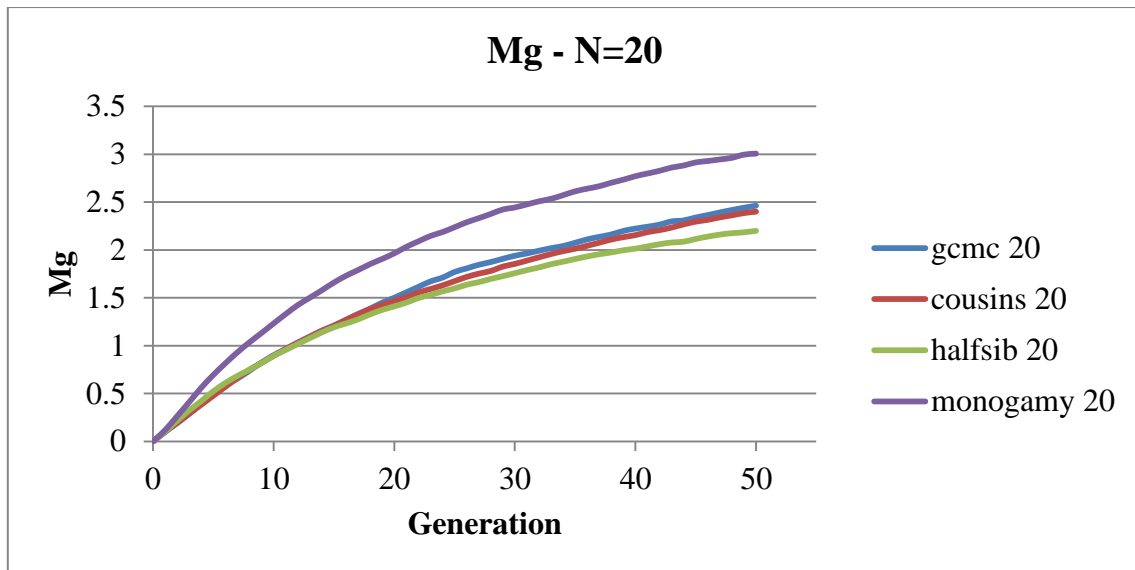
Σε κάθε περίπτωση θα παρουσιάζονται αναλυτικά οι συνθήκες των προσομοιώσεων.

Mg – Μέση γενοτυπική τιμή

Σκοπός αυτών των μετρήσεων είναι η σύγκριση των μεθόδων αναπαραγωγής μεταξύ τους ως προς τον ρυθμό μετατόπισης του φαινοτυπικού χαρακτηριστικού κατά την παραμονή των πληθυσμών στην αιχμαλωσία. Εκτελέστηκαν προσομοιώσεις με τις εξής παραμέτρους: Μέγεθος πληθυσμού $N=20, 40, 60, 80, 100$.

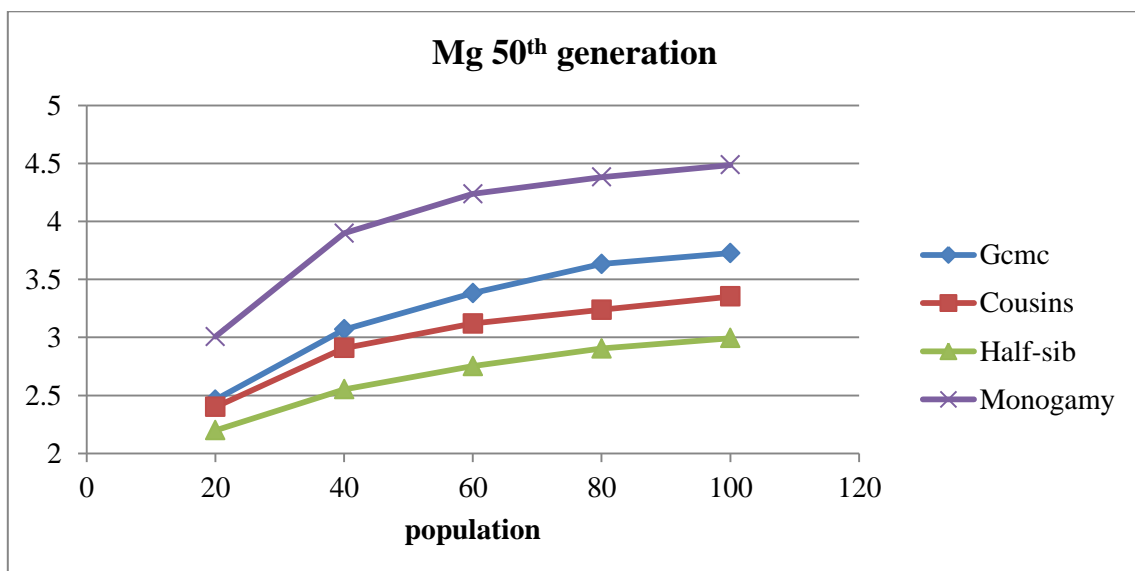


Διάγραμμα 1: Αποτελέσματα της μέσης γενοτυπικής τιμής των ατόμων για πληθυσμό 100 ατόμων. Αναπαραγωγική ικανότητα $F_{max}=2.5$. Πλήθος γενεών=50. Ένταση της επιλογής στην αιχμαλωσία, $\omega_c^2=30$.



Διάγραμμα 2: Αποτελέσματα της μέσης γενετικής τιμής των ατόμων για πληθυσμό 20 ατόμων.

Στα Διαγράμματα 1 και 2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τις προσομοιώσεις για τη μέση γενετική τιμή κάθε πληθυσμού για μέγεθος πληθυσμού $N=100$ και $N=20$ αντίστοιχα. Σε όλες τις περιπτώσεις, η καμπύλη του M_g σε σχέση με τη γενιά σε αιχμαλωσία ξεκινάει από τη τιμή «0» (βέλτιστος γενότυπος στο φυσικό περιβάλλον) και αυξάνεται πλησιάζοντας ασυμπτωτικά τη τιμή «5» (βέλτιστος γενότυπος στο περιβάλλον αιχμαλωσίας). Όσον αφορά τις περιπτώσεις για μέγεθος πληθυσμού $N=40$, 60 και 80 στο Διάγραμμα 3 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μέσης γενετικής τιμής για την 50^η γενιά, για όλα τα μεγέθη πληθυσμού.

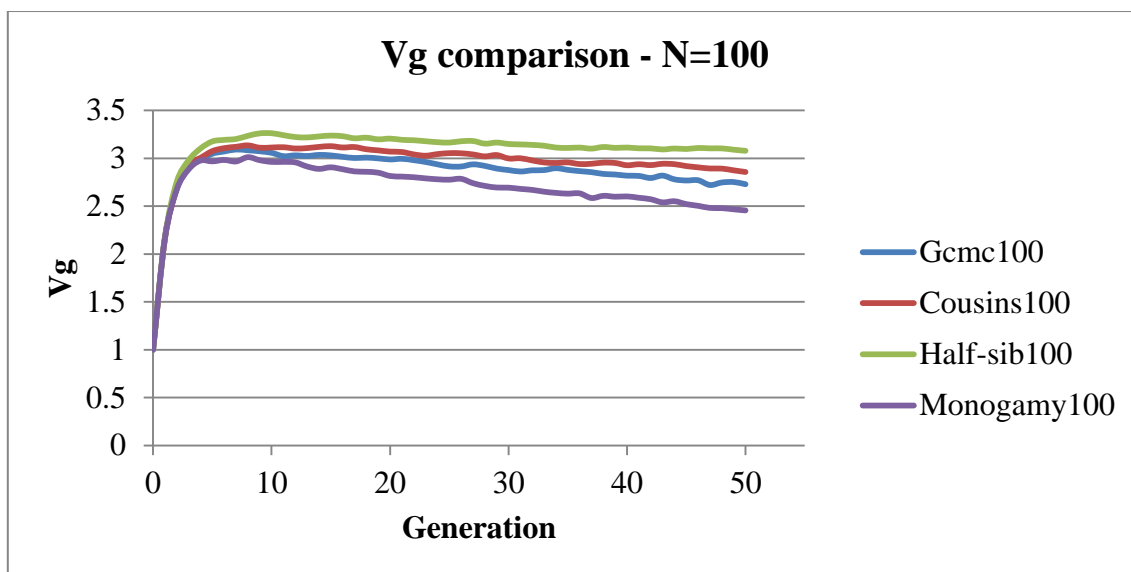


Διάγραμμα 3: Αποτελέσματα της μέσης γενετικής τιμής για την 50^η γενιά ως προς τη μέθοδο αναπαραγωγής και το μέγεθος του προσομοιωμένου πληθυσμού.

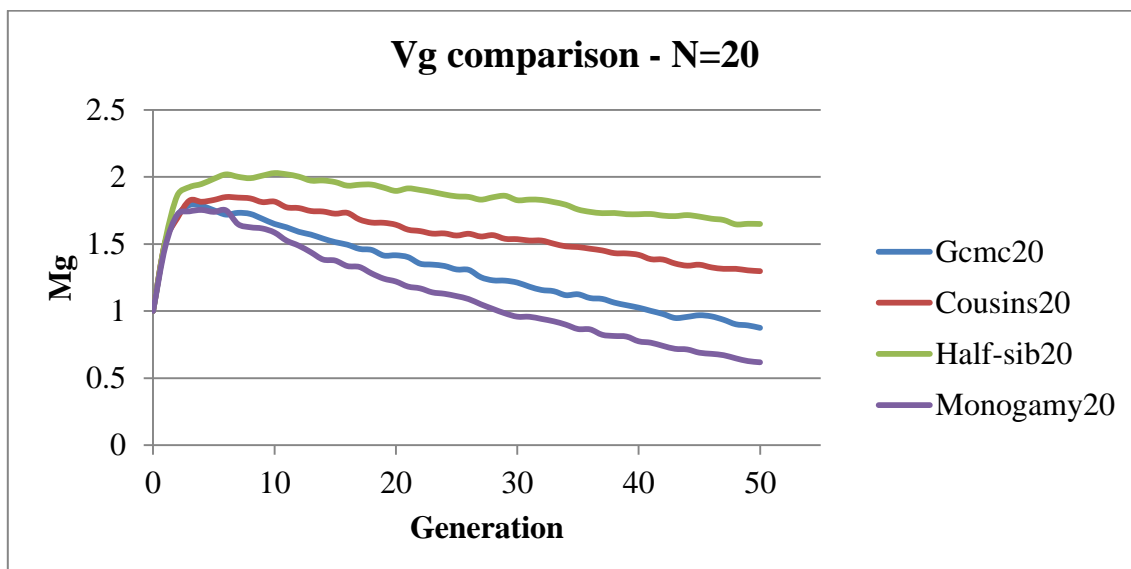
Για όλα τα μεγέθη πληθυσμού η μέθοδος Half-sib παρουσίασε τη μικρότερη μετατόπιση του M_g συγκριτικά με τις υπόλοιπες μεθόδους. Οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των μεθόδων δείχνουν να αυξάνουν μαζί με το N , καθώς όσο μεγαλώνει ο προσομοιωμένος πληθυσμός, αυξάνουν και αυτές.

Vg – Γενοτυπική διασπορά

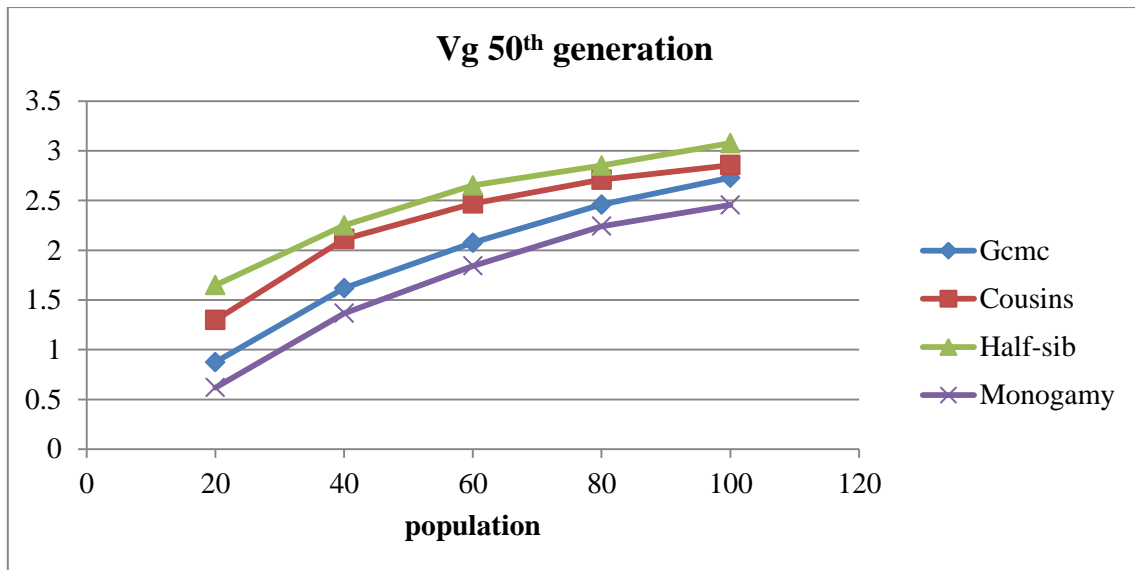
Οι προσομοιώσεις εκτελέστηκαν με τις ίδιες παραμέτρους με παραπάνω. Στα διαγράμματα 4 και 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων για τη γενοτυπική διασπορά κάθε πληθυσμού για τις ακραίες τιμές N=100 και N=20 αντίστοιχα. Όσον αφορά τις περιπτώσεις για μέγεθος πληθυσμού N=40, 60 και 80 στο Διάγραμμα 6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της γενοτυπικής διασποράς για την 50^η γενιά, για όλα τα μεγέθη πληθυσμού. Όλες οι καμπύλες ξεκινάνε με γενοτυπική διασπορά «1» στην αρχική γενιά. Στη συνέχεια η διασπορά αυξάνει μέχρι κάποια μέγιστη τιμή, κοντά στη 10^η γενιά. Μετά τη 10^η γενιά οι καμπύλες έχουν τη μορφή φθίνουσας ευθείας. Για τη καλύτερη σύγκριση των αποτελεσμάτων, τα μέρη των καμπυλών μετά τη 10^η γενιά προσεγγίστηκαν με ευθείες της μορφής $y=ax+b$, με τη παράμετρο a να δίνει το ρυθμό μεταβολής των καμπυλών.



Διάγραμμα 4: Αποτελέσματα της γενοτυπικής διασποράς των ατόμων για πληθυσμό 100 ατόμων



Διάγραμμα 5: Αποτελέσματα της γενοτυπικής διασποράς των ατόμων για πληθυσμό 20 ατόμων



Διάγραμμα 6: Αποτελέσματα της γενετικής διασποράς για την 50η γενιά ως προς τη μέθοδο αναπαραγωγής και το μέγεθος του προσομοιωμένου πληθυσμού.

Όπως φαίνεται στα διαγράμματα, η μέθοδος Half-sib και για όλες τις τιμές του N παρέχει μεγαλύτερη γενετική διασπορά σε σχέση με τις άλλες μεθόδους αναπαραγωγής. Τα αποτελέσματα για την κλίση των καμπυλών παρουσιάζονται παρακάτω πίνακα:

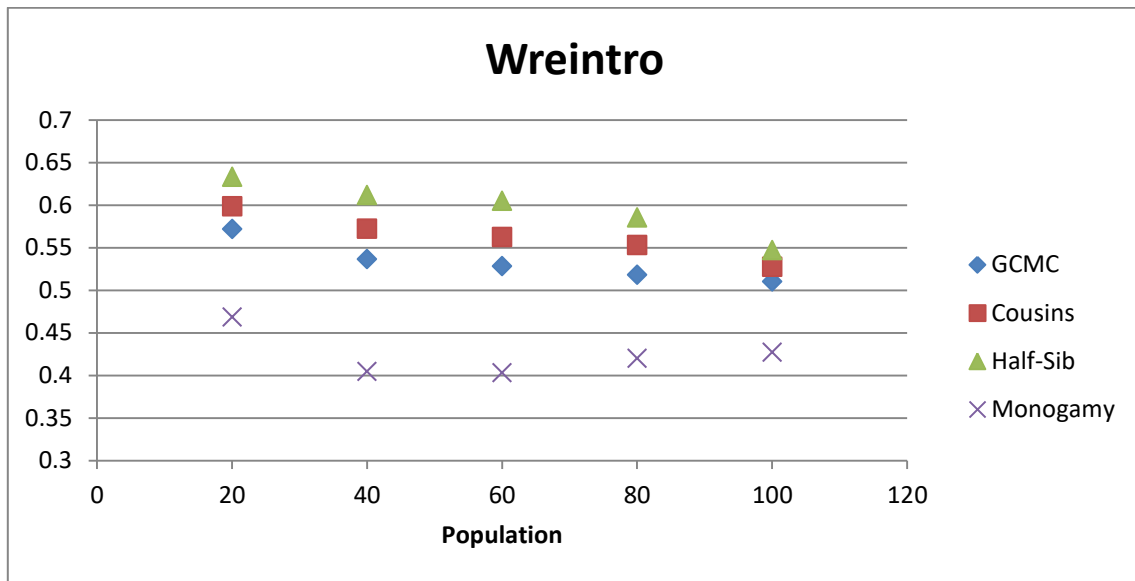
Πίνακας 1

Ρυθμός Μεταβολής Vg/gen (x0.01)		
	N=100	N=20
halfsib	-0.42	-0.90
cousins	-0.65	-1.26
gcmc	-0.81	-1.97
monogamy	-1.26	-2.39

Όπως φαίνεται, με τη μέθοδο Half-sib η γενετική διασπορά μειώνεται με τον μικρότερο ρυθμό σε σχέση με τις υπόλοιπες μεθόδους. Έτσι παρουσιάζει ταυτόχρονα και την μέγιστη τιμή κατά την 50^η γενιά, αλλά και τον μικρότερο ρυθμό μείωσης, σε σχέση με τις άλλες μεθόδους.

Τόσο το Mg όσο και το Vg δείχνουν να έχουν εξάρτηση από τον μέγεθος πληθυσμού, για όλες τις μεθόδους αναπαραγωγής. Πιο συγκεκριμένα και τα δύο αυξάνουν όταν αυξάνεται το μέγεθος προσομοιωμένου πληθυσμού. Μεγαλύτερος πληθυσμός συνεπάγεται περισσότερες πιθανότητες να εμφανιστούν άτομα με γενετικές τιμές μακριά από τον μέσο όρο. Με αυτό τον τρόπο μεγαλώνει η γενετική διασπορά. Επειδή θα εμφανιστούν περισσότερες ακραίες γενετικές τιμές, αλλά θα έχουν πλεονέκτημα μόνο όσες είναι κοντά στο βέλτιστο γενότυπο στην αιχμαλωσία, εξηγείται το γιατί το Mg παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές για μεγαλύτερους πληθυσμούς. Η Half-Sib δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα στο εύρος πληθυσμών που εξετάστηκε τόσο στο Vg όσο και στο Mg.

Σχετική αρμοστικότητα κατά την επαναεισαγωγή



Διάγραμμα 7: Σχετική αρμοστικότητα κατά την επαναεισαγωγή μετά από 50 γενιές στην αιχμαλωσία.

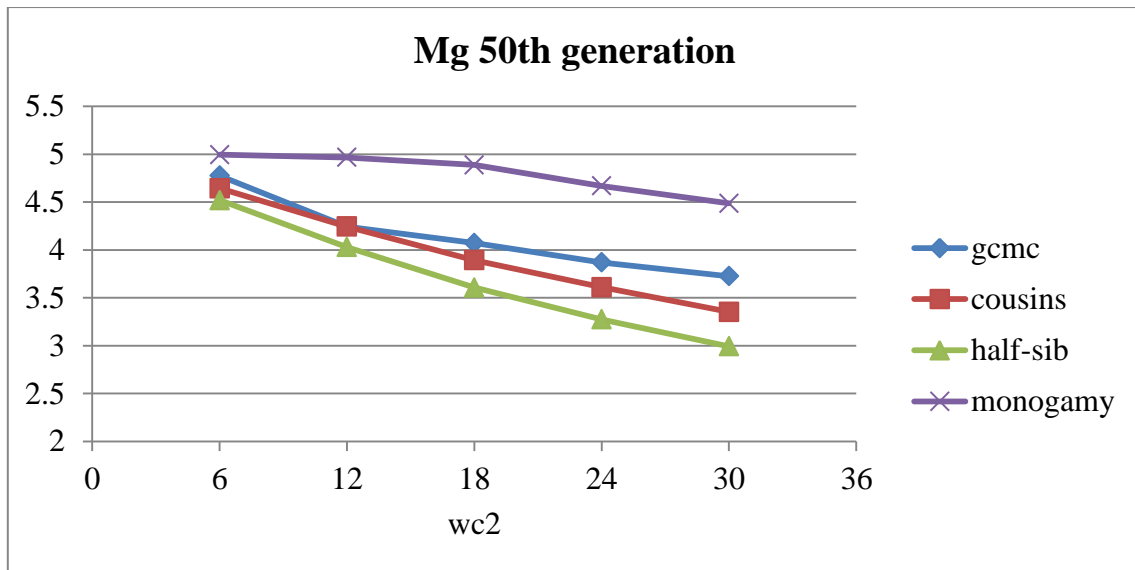
Στο Διάγραμμα 7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για την σχετική αρμοστικότητα κατά την επαναεισαγωγή, μετά από 50 γενιές στην αιχμαλωσία. Ίδιες τιμές παραμέτρων με πριν. Σε κάθε περίπτωση η μέθοδος Half-Sib δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα, αλλά οι διαφορές μεταξύ των μεθόδων αυξάνονται για τα ενδιάμεσα N.

Διερεύνησης της παραμέτρου ω_c^2

Παρακάτω παρατίθενται τα αποτελέσματα από τις προσομοιώσεις που πραγματοποιήθηκαν για τη διερεύνηση του παράγοντα ω_c^2 . Συγκεκριμένα κρατήθηκε σταθερό το $\omega_n^2=3$ και μεταβλήθηκε ο λόγος ω_c^2/ω_n^2 για τιμές 2 έως 10 με βήμα 2. Αυτό αντιστοιχεί σε $\omega_c^2=6, 12, 18, 24$ και 30. Ο παραπάνω λόγος αντιστοιχεί στον λόγο των εντάσεων επιλογής ανάμεσα στις συνθήκες αιχμαλωσίας και φύσης. Όσο πιο μικρός είναι ο λόγος, τόσο πιο έντονη είναι η επιλογή στην αιχμαλωσία συγκριτικά με τη φύση. Αν το ω_c^2 είναι μικρό τότε σημαίνει ότι άτομα με γενότυπο που αποκλίνει έστω και λίγο από τον βέλτιστο φαινότυπο θα έχουν χαμηλή αρμοστικότητα.

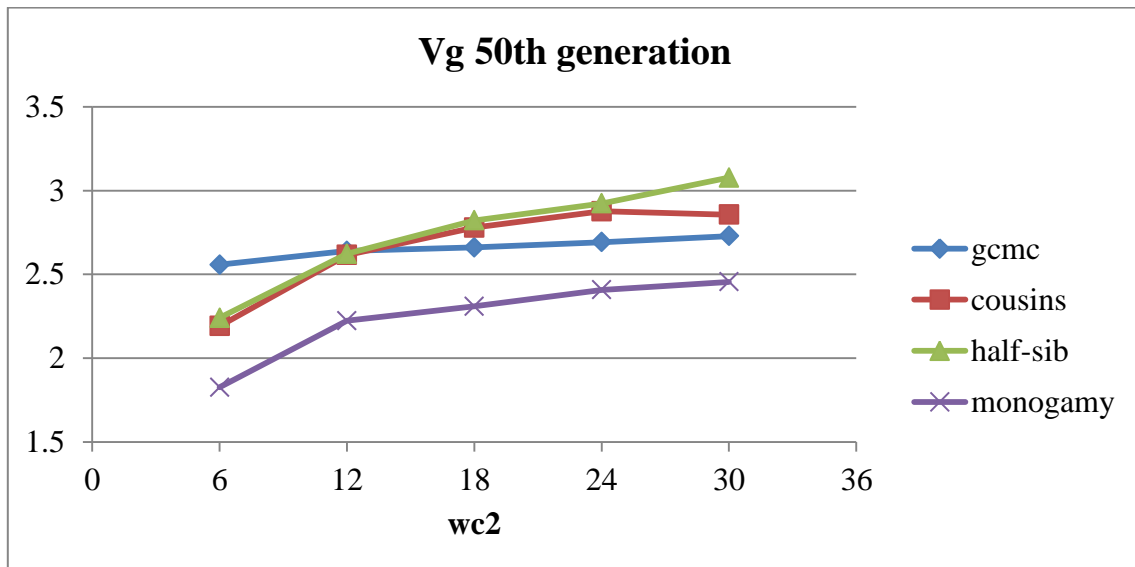
Τα σενάρια που εκτελέστηκαν περιλαμβάνουν και τις τέσσερις μεθόδους αναπαραγωγής για τη μεταξύ τους σύγκριση. Συγκεκριμένα:

- Μέγεθος πληθυσμού N=100
- Μέθοδος αναπαραγωγής Gc/mc, half-sib mating, cousins mating, monogamy
- Αναπαραγωγική ικανότητα $F_{max}=2.5$
- Πλήθος γενεών=50
- Πλήθος επαναλήψεων=1000



Διάγραμμα 8

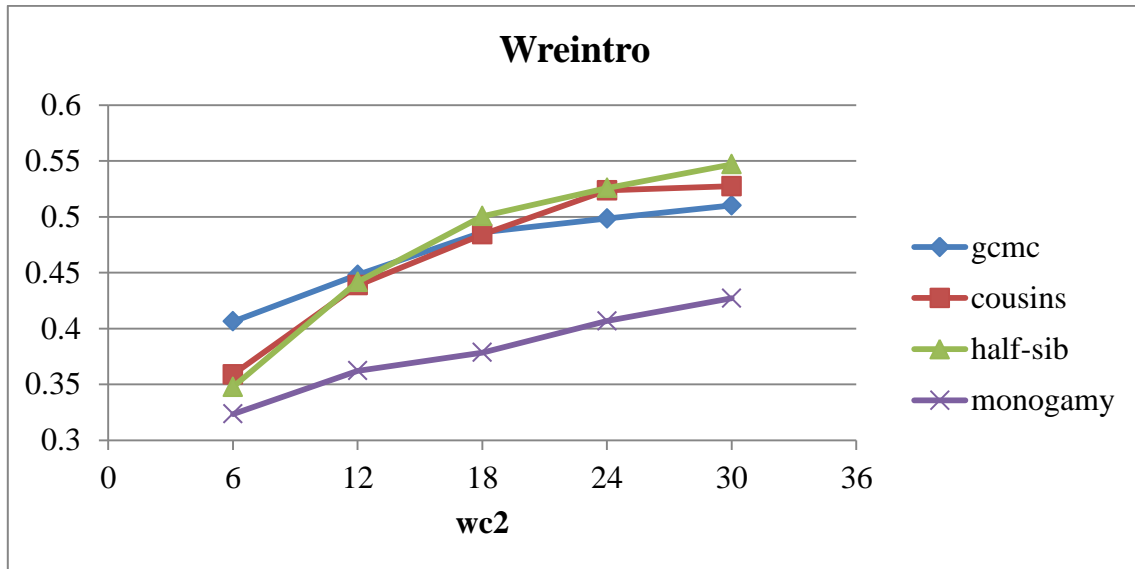
Στο Διάγραμμα 8 απεικονίζεται το Mg στη 50^η γενιά σε σχέση με το ω_c^2 για όλες τις μεθόδους αναπαραγωγής. Όλα τα προηγούμενα αποτελέσματα είχαν $\omega_c^2=30=10*\omega_n^2$. Παρατηρείται πως όσο μειώνεται το ω_c^2 , τόσο αυξάνει το Mg για όλες τις μεθόδους. Όλες οι μέθοδοι εκτός από τη monogamy εμφανίζουν παρόμοια μορφή καμπύλης και οι διαφοροποιήσεις μεταξύ τους ελαττώνονται όσο ελαττώνεται το ω_c^2 , όσο δηλαδή αυξάνεται η ένταση της επιλογής. Αξίζει να αναφερθεί πως η monogamy παρουσιάζει πλήρη προσαρμογή στην αιχμαλωσία (Mg=5) για τιμές $\omega_c^2 < 18$.



Διάγραμμα 9

Στο Διάγραμμα 9 απεικονίζεται το Vg στη 50^η γενιά σε σχέση με το ω_c^2 για όλες τις μεθόδους αναπαραγωγής. Παρατηρείται πως η μέθοδος gc/mc δείχνει να επηρεάζεται ελάχιστα από το ω_c^2 . Αντιθέτως, οι άλλες μέθοδοι παρουσιάζουν εμφανή μείωση του Vg όσο μειώνεται το ω_c^2 , και για $\omega_c^2 < 30$ οι μέθοδοι cousins και half-sib δίνουν ταυτόσημα

αποτελέσματα. Αξιοσημείωτο είναι πως για $\omega_c^2 < 12$, η gc/mc δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα.



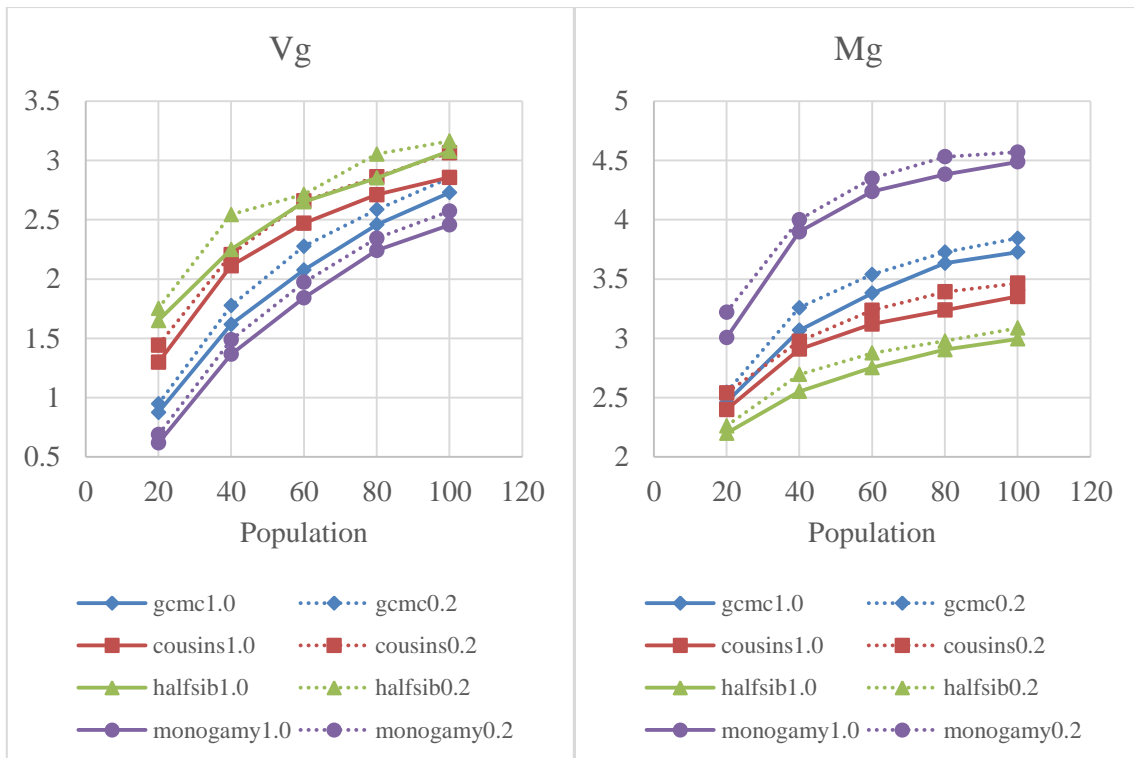
Διάγραμμα 10

Στο Διάγραμμα 10 απεικονίζεται το Wreintro σε σχέση με το ω_c^2 για όλες τις μεθόδους αναπαραγωγής. Παρατηρείται πως η καμπύλη της gc/mc είναι πιο γραμμική σε σχέση με τις άλλες μεθόδους. Ακόμα οι μέθοδοι cousins και half-sib παρουσιάζουν ποιοτικά όμοια αποτελέσματα καθ'όλο το υπό μελέτη εύρος του ω_c^2 . Όπως και παραπάνω, για ισχυρή επιλογή ($\omega_c^2 < 18$), η Gc/mc δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα.

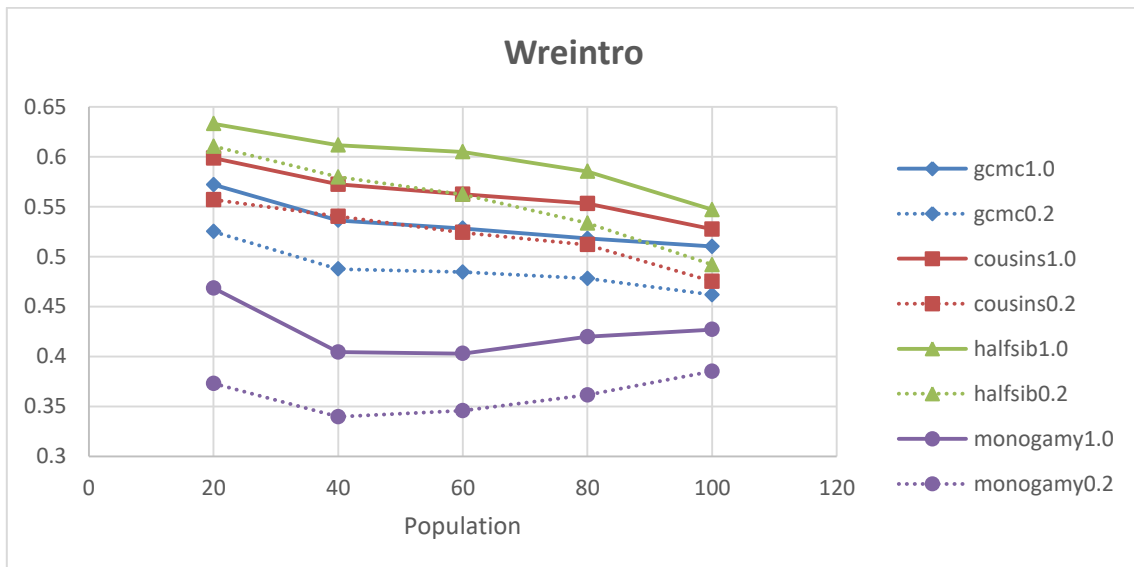
Διερεύνηση περιβαλλοντικής παραμέτρου σ_e^2

Στα πλαίσια της μεταπτυχιακής εργασίας εκτελέστηκαν προσομοιώσεις στις οποίες η περιβαλλοντική διασπορά σ_e^2 πήρε την τιμή 0.2, σε αντιπαράθεση με τις υπόλοιπες προσομοιώσεις ($\sigma_e^2 = 1$). Οι υπόλοιπες παράμετροι παρέμειναν ίδιες.

Στο διάγραμμα 11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τη σύγκριση γενοτυπικής διασποράς και μέσης γενοτυπικής τιμής στην 50^η γενιά για όλες τις μεθόδους αναπαραγωγής και όλα τα μεγέθη πληθυσμού. Η μείωση του σ_e^2 από «1» σε «0.2» προκαλεί μικρές αλλαγές στα αποτελέσματα. Στο Vg δείχνει να λειτουργεί ευεργετικά, σε αντίθεση με το Mg. Στο Mg, καθώς και στο Wreintro, σε κάθε συνδυασμό μεγέθους πληθυσμού και μεθόδου αναπαραγωγής, η μείωση του σ_e^2 λειτουργεί αρνητικά.



Διάγραμμα 11: Σύγκριση γενετυπικής διασποράς και μέσης γενετυπικής τιμής στην 50^η γενιά για όλες τις μεθόδους αναπαραγωγής και όλα τα μεγέθη πληθυσμού. Οι solid γραμμές αντιστοιχούν σε $\sigma_e^2=1$ και οι dotted γραμμές σε $\sigma_e^2=0.2$.



Διάγραμμα 12: Σχετική αρμοστικότητα κατά την επαναεισαγωγή για όλες τις μεθόδους αναπαραγωγής και όλα τα μεγέθη πληθυσμού. Οι solid γραμμές αντιστοιχούν σε $\sigma_e^2=1$ και οι dotted γραμμές σε $\sigma_e^2=0.2$.

Συμπεράσματα - Συζήτηση

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση και σύγκριση διαφορετικών στρατηγικών αναπαραγωγής που εφαρμόζονται σε *ex situ* προγράμματα, και συγκεκριμένα, ως προς το πρόβλημα της γενετικής προσαρμογής που συμβαίνει στην αιχμαλωσία. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η μετατόπιση της μέσης φαινοτυπικής τιμής, η γενοτυπική διασπορά καθώς και η σχετική αρμοστικότητα κατά την επανεισαγωγή στην 50^η γενιά. Επιπλέον, εξετάστηκαν δύο διαφορετικές τιμές της περιβαλλοντικής διακύμανσης, ώστε να εξεταστούν χαρακτηριστικά που εξαρτώνται σε μεγαλύτερο ποσοστό από τον γενότυπο. Ακόμα, μελετήθηκε ένα εύρος τιμών της έντασης της επιλογής στην αιχμαλωσία σε σχέση με το φυσικό περιβάλλον.

Ανασκόπηση κυρίων αποτελεσμάτων

Στα πλαίσια της μέσης γενοτυπικής τιμής – Mg, η μέθοδος Half-Sib έδωσε για όλα τα σενάρια τα καλύτερα αποτελέσματα, παρουσιάζοντας τη μικρότερη μετατόπιση. Αυτό ισχύει για όλα τα μεγέθη πληθυσμού στην 50^η γενιά. Οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των μεθόδων είναι πιο εμφανείς για τα μεγάλα μεγέθη πληθυσμού, ενώ στα χαμηλά μεγέθη τα αποτελέσματα των μεθόδων τείνουν να εξισωθούν. Επιπλέον, οι μεγαλύτερες μετατοπίσεις της γενοτυπικής τιμής παρατηρούνται για τους μεγάλους πληθυσμούς. Η μέθοδος Cousins έδωσε τα δεύτερα καλύτερα αποτελέσματα ενώ η Gc/mc ακολουθεί τρίτη.

Σχετικά με την γενοτυπική διασπορά - Vg, πάλι η Half-Sib δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα, διατηρώντας υψηλές τιμές, με εξαίρεση τα σενάρια διερεύνησης της έντασης της επιλογής στην αιχμαλωσία ω_c^2 . Αυτό επιβεβαιώνεται και από το γεγονός ότι παρουσιάζει και τον μικρότερο ρυθμό απώλειας σε σχέση με τις υπόλοιπες μεθόδους. Εδώ, οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των μεθόδων μεγιστοποιούνται στα μικρά μεγέθη πληθυσμών, και μεγάλα μεγέθη πληθυσμού συνεπάγονται μεγάλες τιμές γενοτυπικής διασποράς. Και εδώ, τα επόμενα καλύτερα αποτελέσματα έρχονται από τη μέθοδο Cousins και ακολουθεί η Gc/mc.

Όσον αφορά την σχετική αρμοστικότητα κατά την επανεισαγωγή, για άλλη μια φορά η Half-Sib δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα, με τις Cousins και Gc/mc να ακολουθούν αντίστοιχα. Οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των μεθόδων μεγιστοποιούνται στα ενδιάμεσα μεγέθη πληθυσμού.

Κατά τη διερεύνηση της έντασης της επιλογής ω_c^2 παρατηρήθηκαν τα εξής: Όσο μειώνεται το ω_c^2 , τόσο αυξάνει το Mg για όλες τις μεθόδους. Όλες οι μέθοδοι εκτός από τη monogamy εμφανίζουν παρόμοια μορφή καμπύλης και οι διαφοροποιήσεις μεταξύ τους ελαττώνονται όσο ελαττώνεται το ω_c^2 , όσο δηλαδή αυξάνεται η ένταση της επιλογής. Για το Vg, παρατηρείται πως η μέθοδος Gc/mc δείχνει να επηρεάζεται ελάχιστα από το ω_c^2 . Αντιθέτως, οι άλλες μέθοδοι παρουσιάζουν εμφανή μείωση του Vg όσο μειώνεται το ω_c^2 , και για τιμές μικρότερες του 30 οι μέθοδοι cousins και Half-Sib δίνουν ταυτόσημα αποτελέσματα. Αξιοσημείωτο είναι πως για τιμές μικρότερες του 12, η Gc/mc δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα. Όσον αφορά την αρμοστικότητα κατά την επανεισαγωγή, η Gc/mc παρατηρήθηκε να είναι πιο γραμμική σε αλλαγές της έντασης της επιλογής, σε σχέση με τις άλλες μεθόδους.

Τέλος, σχετικά με τη περιβαλλοντική παράμετρο σ_e^2 . Η μείωση του από τιμή «1» σε «0.2» έγινε με σκοπό να μελετηθούν περιπτώσεις με χαρακτηριστικά που καθορίζονται σε

μεγαλύτερο βαθμό από τον γενότυπο. Αυτή η αλλαγή οδήγησε σε μικρές αλλαγές στα αποτελέσματα των Mg και Vg. Στο Vg λειτουργεί ευεργετικά, σε αντίθεση με το Mg. Στο Mg, καθώς και στο Wreintro, σε κάθε συνδυασμό μεγέθους πληθυσμού και μεθόδου αναπαραγωγής, η μείωση του σ_e^2 λειτουργεί αρνητικά.

Συζήτηση

Στα πλαίσια της προσαρμογής στην αιχμαλωσία, και της γενοτυπικής διασποράς, η μέθοδος Half-Sib, δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα. Δύο κύριοι λόγοι μπορούν να εξηγήσουν γιατί αυτή η στρατηγική μειώνει την προσαρμογή στην αιχμαλωσία και διατηρεί υψηλότερη διασπορά του ποσοτικού χαρακτηριστικού. Πρώτον, η Half-Sib στρατηγική είναι μια μέθοδος η οποία υποδιαιρεί το πληθυσμό σε οικογένειες, οδηγώντας σε μικρούς, μερικώς απομονωμένους υποκλάδους στενά συγγενών ατόμων. Αυτή η στρατηγική εξαλείφει την αναπαραγωγική διακύμανση μεταξύ των οικογενειών, καθώς η επιλογή των ζευγαριών περιορίζεται στην επιλογή εντός των οικογενειών. Υπό αυτό το πρίσμα, το ζευγάρι ετεροθαλών αδελφών είναι ισοδύναμο με την εξίσωση των οικογενειακών μεγεθών. Δεύτερον, διαφορετικά αλληλόμορφα τείνουν να σταθεροποιηθούν στους απομονωμένους υποκλάδους στενά συγγενών ατόμων και αυτό προκαλεί έναν πιο αργό τελικό ρυθμό σύγκλισης προς γενετική ομοιογένεια σε σχέση με μεθόδους ελαχιστοποίησης της κοινής συγγένειας [Theodorou 2015].

Παρόλα αυτά, αυτές οι δύο παράμετροι δεν είναι οι μόνες που μας απασχολούν σε ένα πρόγραμμα *ex situ* διαχείρισης. Σε προηγούμενη μελέτη [Thermos 2017] η μέθοδος Half-Sib παρουσίασε τις μεγαλύτερες πιθανότητες εξαφάνισης σε αντίστοιχα σενάρια, με πιο έντονη επιρροή σε είδη με μικρούς ρυθμούς αναπαραγωγής. Αιτία για αυτό είναι ο ομομικτικός υποβιβασμός που συμβαίνει σε τέτοιες στρατηγικές Κυκλικής αναπαραγωγής. Το βασικότερο πρόβλημα που εμφανίζεται είναι ο ανεπαρκής «καθαρισμός» των δηλητηριωδών αλληλόμορφων, και η σταθεροποίησή τους.

Λαμβάνοντας υπόψιν τα παραπάνω, συμπεραίνεται ότι η μέθοδος με τα περισσότερα θετικά χαρακτηριστικά, είναι η μέθοδος Cousins. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων τα αποτελέσματά της είναι κοντινά των αποτελεσμάτων της μεθόδου Half-Sib, φέροντας τα οφέλη που συνεπάγονται των μεθόδων της Κυκλικής αναπαραγωγής, και ταυτόχρονα μειώνοντας τις επιπτώσεις τις ομομιξίας στη λογική των μεθόδων ελαχιστοποίησης της συγγένειας. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα από το Thermos 2017.

Στα πλαίσια της διερεύνησης της παραμέτρου ω_c^2 τα αποτελέσματα για τα οποία η επιλογή είναι ισχυρή, σχεδόν ίση με του φυσικού περιβάλλοντος, ως προς τη μέση γενοτυπική τιμή είναι πρακτικά ίδια για όλες τις μεθόδους. Όσον αφορά τη γενοτυπική διασπορά, και τη σχετική αρμοστικότητα κατά την επανεισαγωγή, η Gc/mc υπερτερεί των άλλων μεθόδων. Παρόλα αυτά, στη πλειονότητα της βιβλιογραφίας, τα περιβάλλοντα αιχμαλωσίας περιγράφονται ως «περιβάλλοντα με καλές συνθήκες, με περίθαλψη, αφθονία τροφής και έλλειψη αρπακτικών». Με αυτό κατά νου, και τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, η μέθοδος Gc/mc ενδείκνυται για περιπτώσεις διαχείρισης στις οποίες εξομοιώνεται το φυσικό περιβάλλον.

- [Allendorf 2007] Allendorf, Fred W., and Gordon Luikart. *Conservation and the genetics of populations*. John Wiley & Sons, 2009.
- [Arnold 1992] Arnold, Stevan J. "Constraints on phenotypic evolution." *The American Naturalist* 140 (1992): S85-S107.
- [Asa 2005] Asa, Cheryl S., and Ingrid J. Porton, eds. *Wildlife contraception: issues, methods, and applications*. JHU Press, 2005.
- [Ayala 1965] Ayala, Francisco J. "Evolution of fitness in experimental populations of *Drosophila serrata*." *Science* 150.3698 (1965): 903-905.
- [Bjorklund 2009] Björklund, Mats, et al. "Quantitative trait evolution and environmental change." *PLoS One* 4.2 (2009): e4521.
- [Brook 2002] Brook, Barry, et al. Contribution of inbreeding to extinction risk in threatened species. *Conservation Ecology* 6.1 (2002).
- [Burger 1995] Bürger, Reinhard, Günter P. Wagner, and Franz Stettinger. "How much heritable variation can be maintained in finite populations by mutation–selection balance?." *Evolution* 43.8 (1989): 1748-1766.
- [Byers 2008] Byers, D. "Components of phenotypic variance." *Nature education* 1.1 (2008): 161.
- [Caballero 2016] Caballero, Armando, Isabel Bravo, and Jinliang Wang. "Inbreeding load and purging: implications for the short-term survival and the conservation management of small populations." *Heredity* 118.2 (2017): 177.
- [Champagnon 2012] Champagnon, Jocelyn, et al. "Conspecifics can be aliens too: a review of effects of restocking practices in vertebrates." *Journal for Nature Conservation* 20.4 (2012): 231-241.
- [Christie 2012] Christie, Mark R., et al. "Genetic adaptation to captivity can occur in a single generation." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109.1 (2012): 238-242.
- [Cope 2017] Cope, Holly R., et al. "A role for selective contraception of individuals in conservation." *Conservation Biology* 32.3 (2018): 546-558.

- [Estes 2007] Estes, Suzanne, and Stevan J. Arnold. "Resolving the paradox of stasis: models with stabilizing selection explain evolutionary divergence on all timescales." *The American Naturalist* 169.2 (2007): 227-244.
- [FAO 2012] Food and Agriculture Organization of the United Nations. Cryoconservation of animal genetic resources. Animal. Production and Health Guidelines No 12. (2012)
- [Fernandez 1999] Fernández, By J., and M. A. Toro. "The use of mathematical programming to control inbreeding in selection schemes." *Journal of Animal Breeding and Genetics* 116.6 (1999): 447-466.
- [Fernandez 2001a] Fernández, Jesús, and Armando Caballero. "Accumulation of deleterious mutations and equalization of parental contributions in the conservation of genetic resources." *Heredity* 86.4 (2001): 480.
- [Fernandez 2001b] Fernández, Jesús, and Armando Caballero. "A comparison of management strategies for conservation with regard to population fitness." *Conservation Genetics* 2.2 (2001): 121-131.
- [Ford 2002] Ford, Michael J. "Selection in captivity during supportive breeding may reduce fitness in the wild." *Conservation Biology* 16.3 (2002): 815-825.
- [Frankham 1992] Frankham, Richard, and David A. Loebel. "Modeling problems in conservation genetics using captive *Drosophila* populations: rapid genetic adaptation to captivity." *Zoo Biology* 11.5 (1992): 333-342.
- [Frankham 2002] Frankham, Richard, David A. Briscoe, and Jonathan D. Ballou. *Introduction to conservation genetics*. Cambridge university press, 2002.
- [Frankham 2008] Frankham, Richard. "Genetic adaptation to captivity in species conservation programs." *Molecular ecology* 17.1 (2008): 325-333.
- [Fischer 2000] Fischer, Julia, and David B. Lindenmayer. "An assessment of the published results of animal relocations." *Biological conservation* 96.1 (2000): 1-11.
- [Germano 2009] Germano, Jennifer M., and Phillip J. Bishop. "Suitability of amphibians and reptiles for translocation." *Conservation Biology* 23.1 (2009): 7-15.

- [Gilligan 2003] Gilligan, Dean M., and Richard Frankham. "Dynamics of genetic adaptation to captivity." *Conservation Genetics* 4.2 (2003): 189-197.
- [Griffith 1989] Griffith, Brad, et al. "Translocation as a species conservation tool: status and strategy." *Science* 245.4917 (1989): 477-480.
- [Hobbs 1998] Hobbs, Richard J., and Harold A. Mooney. "Broadening the extinction debate: population deletions and additions in California and Western Australia." *Conservation Biology* 12.2 (1998): 271-283.
- [IUCN 1996] IUCN. 1996. 1996 IUCN Red List of Threatened Animals. IUCN, Gland, Switzerland.
- [IUCN 2017] IUCN. 2017. 2017 IUCN Red List of Threatened Animals. IUCN, Gland, Switzerland.
- [Johnston 1995] Johnston, L. A., and R. C. Lacy. "Genome resource banking for species conservation: selection of sperm donors." *Cryobiology* 32.1 (1995): 68-77.
- [Kimura 1963] Kimura, Motoo, and James F. Crow. "On the maximum avoidance of inbreeding." *Genetics Research* 4.3 (1963): 399-415.
- [King 1939] King, Helen Dean. "Life processes in gray Norway rats during fourteen years in captivity." *American Anatomical Memoirs*(1939).
- [Kristen 2008] Jule, Kristen R., Lisa A. Leaver, and Stephen EG Lea. "The effects of captive experience on reintroduction survival in carnivores: a review and analysis." *Biological conservation*141.2 (2008): 355-363.
- [Kuhn 1955] Kuhn, Harold W. "The Hungarian method for the assignment problem." *Naval Research Logistics (NRL)* 2.1-2 (1955): 83-97.
- [Lacy 1996] Lacy, Robert C., Glen Alaks, and Allison Walsh. "Hierarchical analysis of inbreeding depression in *Peromyscus polionotus*." *Evolution* 50.6 (1996): 2187-2200.
- [Ivy 2013] Ivy, Jamie A., and Robert C. Lacy. "A comparison of strategies for selecting breeding pairs to maximize genetic diversity retention in managed populations." *Journal of Heredity* 103.2 (2012): 186-196.
- [Lewis 2001] Lewis, Owen T., and Chris D. Thomas. "Adaptations to captivity in the butterfly *Pieris brassicae* (L.) and the implications for ex situ conservation." *Journal of Insect Conservation* 5.1 (2001): 55-63.

- [Luck 2003] Luck, Gary W., Gretchen C. Daily, and Paul R. Ehrlich. "Population diversity and ecosystem services." *Trends in Ecology & Evolution* 18.7 (2003): 331-336.
- [Luikart 1998] Luikart, G., et al. "Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks." *Journal of heredity* 89.3 (1998): 238-247.
- [Masel 2011] Masel, Joanna. "Genetic drift." *Current Biology* 21.20 (2011): R837-R838.
- [Mathews 2008] Mathews, F., et al. "Keeping fit on the ark: assessing the suitability of captive-bred animals for release." *Biological Conservation* 121.4 (2005): 569-577.
- [McCleery 2014] McCleery, Robert, Jeffrey A. Hostetler, and Madan K. Oli. "Better off in the wild? Evaluating a captive breeding and release program for the recovery of an endangered rodent." *Biological conservation* 169 (2014): 198-205.
- [Reading 2013] Reading, Richard P., Brian Miller, and David Shepherdson. "The value of enrichment to reintroduction success." *Zoo Biology* 32.3 (2013): 332-341.
- [Robert 2009] Robert, Alexandre. "Captive breeding genetics and reintroduction success." *Biological Conservation* 142.12 (2009): 2915-2922.
- [Soule 1986] Soulé, Michael, et al. "The millenium ark: how long a voyage, how many staterooms, how many passengers?." *Zoo biology* 5.2 (1986): 101-113.
- [Swanson 2004] Swanson, W. F., and J. L. Brown. "International training programs in reproductive sciences for conservation of Latin American felids." *Animal reproduction science* 82 (2004): 21-34.
- [Tanton 1994] Tanton, John H. "End of the migration epoch." *The Social Contract* 4.3 (1994): 162-173.
- [Theodorou 2004] Theodorou, Konstantinos, and Denis Couvet. "Introduction of captive breeders to the wild: Harmful or beneficial?." *Conservation Genetics* 5.1 (2004): 1-12.
- [Theodorou 2010] Theodorou, Konstantinos, and Denis Couvet. "Genetic management of captive populations: the advantages of circular mating." *Conservation genetics* 11.6 (2010): 2289-2297.

- [Theodorou 2015] Theodorou, K., and D. Couvet. "The efficiency of close inbreeding to reduce genetic adaptation to captivity." *Heredity* 114.1 (2015): 38.
- [Thermos 2017] Θερμός, Αλέξανδρος. Διερεύνηση βέλτιστων αναπαραγωγικών στρατηγικών σε ex-situ προγράμματα διατήρησης απειλούμενων ειδών. Μεταπτυχιακή εργασία. Πανεπιστήμιο Αιγαίου. (Απρίλιος 2017).
- [Wang 2016] Wang, J., E. Santiago, and Armando Caballero. "Prediction and estimation of effective population size." *Heredity* 117.4 (2016): 193.
- [Williams 2009] Williams, Sara E., and Eric A. Hoffman. "Minimizing genetic adaptation in captive breeding programs: a review." *Biological conservation* 142.11 (2009): 2388-2400.
- [Woodworth 2002] Woodworth, Lynn M., et al. "Rapid genetic deterioration in captive populations: causes and conservation implications." *Conservation Genetics* 3.3 (2002): 277-288.
- [Wright 1920] Wright, Sewall. "Systems of mating. II. The effects of inbreeding on the genetic composition of a population." *Genetics* 6.2 (1921): 124-143.
- [Xu 2007] Xu, Y. C., S. G. Fang, and Z. K. Li. "Sustainability of the South China tiger: implications of inbreeding depression and introgression." *Conservation Genetics* 8.5 (2007): 1199-1207.