



ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СОСТОЯНИЯ И МЕТОДЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ЖИВОТНЫХ ГОРОДСКИХ ОСОБО ОХРАНЯЕМЫХ ПРИРОДНЫХ ТЕРРИТОРИЙ (НА ПРИМЕРЕ МОДЕЛЬНЫХ ВИДОВ В ГОРОДЕ МОСКВЕ)¹

Эколого-генетическая диагностика состояния популяций включает: оценку разнообразия генофонда и прогноз длительности существования популяций, который дается на основании их эффективной численности. Диагностика позволяет количественно охарактеризовать степень антропогенного изменения состояния генофонда городских популяций и связать состояние генофонда с необходимостью его оздоровления. Снижение генетического разнообразия на 10-20% характеризует генофонд как стабильный, от 20 до 60% – как кризисный, от 60% и выше – как катастрофический. При соответствии уровня генетического разнообразия двум последним градациям генофонд популяции нуждается в оздоровлении. Представлены результаты эксперимента по оздоровлению (обогащению) генофонда четырех городских популяций модельного вида наземного моллюска – кустарниковой улитки, *Bradybaena fruticum* (Mull.). Контроль и расчет сдвига частот аллелей по признаку полосатости раковин проведен у молодежи следующего поколения улиток.

В.М. Макеева
А.В. Смуров

Музей земледелия МГУ
им. М.В. Ломоносова

г. Москва, 119992, Russia

E-mail: vmmakeeva@yandex.ru

Ключевые слова: эколого-генетическая диагностика, популяция, генофонд, частоты аллелей, эффективная численность, оздоровление генофонда.

Введение

Одна из наиболее актуальных проблем современности – сохранение биоразнообразия экосистем антропогенных и урбанизированных ландшафтов, занимающих более 60% территории планеты. В антропогенных ландшафтах биоразнообразие сохраняется, главным образом, на особо охраняемых природных территориях (ООПТ). Причем, в последнее десятилетие стали активно создаваться городские особо охраняемые природные территории, располагающиеся в условиях предельно фрагментированного ландшафта, в которых до последнего времени также осуществлялась исключительно территориальная охрана биоразнообразия [1, 2]. В Москве создана сеть городских ООПТ, охватывающих около 16% территории города. Однако, проблема устойчивого сохранения биоразнообразия и, прежде всего видов животных, в рамках традиционного подхода в них не была решена. Доля исчезающих видов позвоночных животных, внесенных в Красную книгу города Москвы, составляет: млекопитающих – 40%, птиц – 50%, рептилий – 60%, амфибий – 70%. В Европе под угрозой исчезновения находится от 40% до 70% видов животных, обитающих на городских ООПТ [3].

Многолетние (с 1975 г.) исследования динамики генофонда популяций модельных объектов (животных), обитающих в условиях антропогенной фрагментации ландшафта Москвы и Подмосковья [4-8], показали, что традиционный подход к охране биоразнообразия, связанный с выделением заповедных территорий (парков, заказников и других особо охраняемых природных территорий), в условиях фрагментированного ландшафта не достаточен для обеспечения устойчивого сохранения биоразнообразия, являющегося основой устойчивости городских экосистем. Это связано с резким изменением состояния генофонда охраняемых мелких изолированных городских популяций, происходящего вследствие отрицательных генетических процессов – дрейфа генов и

¹ Работа выполнена за счет государственного целевого финансирования Департамента природопользования и охраны окружающей среды города Москвы.



инбридинга [9-11]. Проведённая оценка состояния генофонда (на базе впервые созданной системы городского эколого-генетического мониторинга в г. Москве) выявила резкое обеднение (до 70%) разнообразия генофонда более 50% городских популяций модельных видов животных, по сравнению с эталонными природными [5, 6].

Для решения проблемы устойчивого сохранения биоразнообразия антропогенных экосистем авторами был разработан эколого-генетический подход (методология, концепция, стратегия, технологии), апробированный [4, 8] в системе городских ООПТ, учитывающий состояние экосистем на популяционно-генетическом уровне их организации и те необратимые изменения генофонда, которые возникли в результате антропогенной фрагментации ландшафта. Его разработка началась одновременно с созданием в начале 21 века городских особо охраняемых территорий в г. Москве, когда возникла проблема сохранения и восстановления их биоразнообразия, которая стала решаться в рамках государственной программы по «Восстановлению биоразнообразия города Москвы» (2002-2003гг). Концепция и стратегия охраны для урбанизированных территорий на этом уровне до последнего времени отсутствовала.

Эколого-генетический подход [8] к охране биоразнообразия антропогенных экосистем, включает диагностику состояния экосистем (прогноз и оценку состояния генофонда) и генетические методы восстановления (оздоровления) генофонда ключевых и исчезающих видов охраняемых экосистем. Проведение оценки позволяет оценить степень отклонения генетических параметров (популяций) антропогенных экосистем от природных (эталонных), а также дать прогноз степени их устойчивости и наметить стратегию их стабилизации и восстановления.

Таким образом, эколого-генетический аспект сохранения биоразнообразия заключается в сохранении и восстановлении генофонда популяций с помощью организации искусственных потоков генов.

Генетический дрейф в популяциях может быть уравновешен искусственными миграциями [12]. Это теоретическое положение является основополагающим для разработки эколого-генетического аспекта стратегии сохранения биоразнообразия охраняемых экосистем урбанизированных ландшафтов, т.к. объясняет, каким образом быстрые генетические изменения, происходящие в мелких изолированных популяциях вследствие дрейфа генов и инбридинга, могут быть замедлены или прекращены.

Поток генов не изменяет значения частоты аллелей у вида в целом, а изменяет частоты в поколениях популяций, если они различны у доноров и реципиентов.

Теоретический анализ [13, 14] позволяет утверждать, что скорость миграции порядка 1-2 особей на поколение предотвращает действие дрейфа генов. Однако для целей восстановления популяций животных антропогенных экосистем такой поток явно недостаточен, так как генофонд большинства исследованных популяций находится в критическом состоянии.

Для того чтобы планировать обогащение популяции, необходимо учесть, что изменение частоты гена вычисляется по формуле [15]:

$$\Delta q = m (p_0 q_m - p_m q_0), \quad (1)$$

где p_0, q_0 – частоты генов в городской популяции; p_m, q_m – частоты генов в группе иммигрантов; m – вносимое количество иммигрантов.

При организации искусственного потока генов число мигрантов определяется конкретными сроками восстановительных работ и зависит от состояния генофонда восстанавливаемых и донорских популяций.

Однако, необходимо помнить, что искусственная миграция, необходимая для выживания популяций животных в антропогенных ландшафтах, оказывается фактором, прекращающим эволюционные изменения в этих популяциях. Не вызывает сомнения, что в настоящее время искусственный поток генов дает возможность сохранить генетическое разнообразие в качестве необходимого источника для будущих эволюционных изменений.

Подробно результаты оценки состояния генофонда [5, 6], содержащие обширные таблицы, нет необходимости излагать. Мы представим лишь основные методики и итоговые обобщающие данные прогноза и оценки состояния генофонда, необходимые в качестве основы для разработки практических рекомендаций по оздоровлению



генофонда популяций животных. Кроме того, приведены оригинальные данные результатов эксперимента по обогащению (оздоровлению) популяций с эродированным генофондом.

Материал и методы исследования

Материал. Созданная впервые в России и в мире система городского эколого-генетического мониторинга популяций модельных видов животных состоит из 36 популяций, из них 21 популяция из ООПТ города Москвы. Всего обследовано 20 популяций кустарниковых улиток, из которых 12 обитают на ООПТ г. Москвы, и 16 популяций бурых лягушек, из них 9 городских популяций. Остальные популяции животных были собраны в 5 пунктах Северо-Западного Подмосковья, Новгородской и Калужской областях. Всего исследовано более 30000 раковин моллюсков и более 9000 особей методом электрофореза (1975–2005 гг.), из них около 3000 улиток – по 13 полиморфным изоферментным локусам (2002–2003 гг.). Исследовано 554 лягушки по 7 полиморфным локусам, 21 аллелю.

Методика оценки состояния генофонда городских популяций животных заключается в сравнении состояния их генофонда с генофондом крупных природных эталонных популяций по одним и тем же локусам [5].

Оценка генетического разнообразия популяций проводилась на основе значений частот аллелей исследованных генных локусов, являющихся количественными параметрами популяций [6].

Расчет прогноза длительности существования популяций проведен в соответствии с формулой, предложенной М.Э. Сулеем [16]:

$$t = 1.5 N_e, \quad (2)$$

где t – число поколений, N_e – эффективная численность популяции.

Для составления прогноза необходимо знание эффективной численности популяции, то есть количества особей, достигших репродуктивного возраста. Она вычисляется по формуле, выведенной на основании формулы Райта [9]:

$$N_e = \frac{4N_m \cdot N_f}{N_m + N_f}, \quad (3)$$

где N_e – эффективная численность популяции, N_m – число самцов, N_f – число самок.

Достоверность сдвига частот аллелей в эксперименте оценивалась с помощью критерия χ -квадрат и F-критерия Фишера [17].

Результаты исследования

Результаты исследования выявили, уменьшение генетического разнообразия 77% популяций животных в городе Москве и 23% популяций в Подмосковье более, чем на 50% [5, 6]. Выявлены причины и механизм уменьшения генетического разнообразия популяций – дрейф генов и инбридинг, активизирующиеся вследствие антропогенной фрагментации ландшафта.

Временной прогноз существования популяций на городских ООПТ рассчитан по результатам мониторинга численности, возрастной и половой структуры популяций (по данным 2002–2003 гг.) [8]. Проведена оценка эффективной численности популяций и дан прогноз длительности существования популяций модельных видов на ООПТ города Москвы: 60% популяций может исчезнуть в ближайшие 100–150 лет, из них 33% – в ближайшие 25–40 лет, 84% популяций могут исчезнуть за 160–200 лет. Менее 20% популяций имеет шанс на длительное существование (около 500 лет).

Выявление степени антропогенного изменения генофонда позволило количественно охарактеризовать его состояние (используя примерные количественные градации), и связать его с необходимостью оздоровления генофонда популяций.

Снижение генетической изменчивости на 10–20% характеризует генофонд популяций как стабильный, от 20 до 60% – как кризисный, от 60% и выше – как катастрофический. Если уровень генетической изменчивости обследованной популяции соответствует двум последним градациям, то её генофонд нуждается в контроле и оздоровлении.



Необходимо подчеркнуть, что генофонд всех популяций, находящихся в критическом состоянии, никогда не восстановится сам, а может быть восстановлен только с помощью человека. Применение генетических технологий оздоровления позволяет восстановить генофонд практически любой популяции исчезающего вида, при условии, что это не единственная существующая популяция.

Результаты эксперимента по обогащению исчезающих популяций кустарниковой улитки.

Нами было проведено экспериментальное подтверждение действенности эколого-генетических методов восстановления популяций [4]. Для этой цели были выбраны популяции, обитающие на ООПТ города Москвы, эффективная численность и генофонд которых был оценен как критический.

Для учета и контроля результатов обогащения были использован полиморфный признак – наличие или отсутствие полосы на раковине.

Обогащение было проведено в 2003 году, контроль – в 2005 г. при обследовании потомства (сеголеток из обогащенных популяций).

Для обогащения использовались несколько популяций доноров из Северо-Западного Подмосковья (Звенигород, Городок, Мешково), а также популяции из Москвы (Лосиный остров, Узкое), т.к. учитывались результаты оценки состояния генофонда [5], в том числе - разнонаправленные изменения частот одного и того же полиморфного локуса исследованных ферментов.

Оценка результатов проведенного эксперимента по обогащению подтвердила эффективность восстановления популяций животных на генетическом уровне. Как показывает табл. 1 во всех случаях выявлен достоверный сдвиг частоты аллеля полосатости раковин (в том числе - в двух случаях при $P = 99\%$). Полученные результаты подтверждают возможность использования обогащения (оздоровления) генофонда в целях сохранения и длительного устойчивого использования популяций животных, обитающих на ООПТ, расположенных в урбанизированных ландшафтах [4].

Необходимо отметить, что при обогащении популяций нами было внесено заведомо большое количество особей, достаточное для сдвига частот. Это было сделано не только с целью подтверждения самой возможности изменения генофонда с помощью генетических технологий, но, прежде всего – с практической целью – восстановления генетического разнообразия исчезающих популяций с наиболее сильно эродированным генофондом, что даст им возможность сохраниться в парках города Москвы.

Методические рекомендации по восстановлению генетического разнообразия животных антропогенных экосистем.

Результаты проведенной работы позволяют сформулировать следующие практические рекомендации по оздоровлению генофонда популяций видов животных антропогенных экосистем, большая часть которых универсальна.

1. Для конкретных экосистем выделить набор конкретных популяций видов, которые подлежат восстановлению. Необходимо анализировать популяции не только исчезающих, но и ключевых видов экосистем.

2. Оценить состояние генофонда по возможно большему количеству ферментов и локусов (не менее 5-6 ферментов и 10-12 локусов).

3. Обязательным условием обогащения является генетическое обследование популяций доноров, т.е. крупных природных популяций, желательно из этого же региона, обитающих в аналогичных климатических условиях. Результаты проведенных нами исследований показали, что генофонд донорских популяций (около 23%), обитающих в антропогенных ландшафтах Подмосковья, может быть сильно обеднен.

4. Необходимо учитывать, что в разных популяциях в одном и том же локусе могут происходить разные по направлению изменения частот аллелей, происходящие вследствие процесса фиксации аллелей при дрейфе генов.

5. Для обогащения лучше всего использовать несколько популяций-доноров, у которых возможны противоположные тенденции закрепления аллеля одного и того же локуса.



6. В дальнейшем необходим контроль за состоянием генофонда обогащенных популяций.

Проведение практических мероприятий по обогащению популяций исчезающих видов животных позволит увеличить гетерозиготность и связанную с ней жизнеспособность популяций, что будет способствовать восстановлению всех связей (пищевых, энергетических, информационных и др.) в экосистемах, а значит – устойчивости экосистем в целом.

Эти рекомендации были разработаны и внедрены в практику в рамках государственной программы по восстановлению биоразнообразия города Москвы в 2002–2003 гг. при выполнении трёх целевых проектов по «Восстановлению генетического разнообразия популяций исчезающих видов беспозвоночных и позвоночных животных на ООПТ города Москвы (на примере кустарниковой улитки и бурых лягушек)». В настоящее время они используются при восстановлении биоразнообразия в других крупных городах России, в том числе в С.-Петербурге.

Таблица 1

Результаты эксперимента по обогащению генофонда популяций (сравнительные данные 2003–2005 гг., по частоте аллеля полосатости)

Пункт сбора, численность популяции (N)	Исходная частота аллеля полосатости	Частота аллеля полосатости после обогащения	Изменение частоты аллеля полосатости	F-критерий, степень свободы V	Частота аллеля полосатости; количество экземпляров доноров по возрастным группам – 1, 2, 3)			
					3	2	1	сумма
Воробьевы горы, 250	0.2257	0.4985	0.273	110.13 370	0.5849 38	0.5000 72	0.6164 100	0.3280 210
Битцевский лес, 300	0.5222	0.4132	0.109	7.86 124	0.3651 30	0.3464 50	0.4629 70	0.4082 150
Ботанический сад, 500	0.4706	0.4009	0.070	3.96 247	0.3162 30	0.3873 40	0.3801 90	0.3708 160
Кузьминки, 300	0.1313	0.4472	0.316	125.59 176	0.5774 30	0.5164 30	0.5345 70	0.5407 130

Примечание: стандартные значения F-критерия Фишера: $V_1 = 1$; при $V_2 = 125$, $F_{st} = 3.92–6.84, 11.38$; при $V_2 = 300$, $F_{st} = 3.87, 6.72, 10.83$.

Частоты аллелей полосатости до и после обогащения вычислялись по первой возрастной группе.

Результаты проведенных нами исследований по оценке состояния генофонда, научно обоснованный прогноз длительности существования городских популяций животных и эксперименты по обогащению генофонда исчезающих популяций явились основанием для разработки эколого-генетической концепции и стратегии охраны животных, обитающих на городских ООПТ.

Главная идея эколого-генетической концепции охраны животных антропогенных экосистем [4, 8] состоит в признании необходимости и возможности восстановления, сохранения и устойчивого использования природных популяций диких животных, обитающих в городских охраняемых природных экосистемах (ООПТ), используемых в целях рекреации. Эта идея соответствует генеральной линии современной стратегии охраны биоты, сформулированной в конвенции «О биологическом разнообразии»: сохранении в процессе устойчивого использования [18].

Разработанная эколого-генетическая стратегия охраны биоразнообразия антропогенных экосистем, нацелена на переход от исключительно территориальной пассивной охраны и невмешательства к активному восстановлению генофонда популяций, т.е. восстановлению их устойчивости и длительности существования [5, 6, 19].



Цель разработанной эколого-генетической стратегии – создание и внедрение генетических механизмов сохранения и восстановления природных популяций видов животных антропогенных экосистем, в том числе исчезающих и внесенных в Красную книгу города.

Главным условием осуществления новой эколого-генетической стратегии является разработка и внедрение новых генетических методов и технологий [4, 20] сохранения и рационального использования генетических ресурсов в антропогенных экосистемах.

Технология включает несколько последовательных этапов, в которые входит определение, восстановление, поддержание и контроль генетических параметров устойчивости популяций.

Таким образом, при организации режима научного управления городскими ООПТ, осуществляющими охрану биоразнообразия в процессе интенсивной эксплуатации территории в целях рекреации, необходимо использовать разработанный комплексный эколого-генетический подход (методологию, концепцию, стратегию, технологии). Результаты проведенного эксперимента доказали, что этот подход, наряду с территориальным, позволяет эффективно и экономически выгодно планировать мероприятия по сохранению генетического разнообразия, восстановлению популяций исчезающих видов животных и поддержанию устойчивости деградирующих экосистем в целом.

Заключение

В заключение необходимо отметить, что серия работ по разработке и апробации эколого-генетического подхода к охране животных антропогенных экосистем заложила основы нового научного перспективного направления – геноурбаноэкологии (синтез системной экологии и генетики) [4, 8, 21]. Цель геноурбаноэкологии состоит в познании генетических параметров и закономерностей сохранения устойчивости и восстановления экосистем антропогенных и, особенно, – урбанизированных ландшафтов. С позиций геноурбаноэкологии стратегической задачей научной организации городских ООПТ является сохранение генетических параметров экосистем, что означает восстановление качества генофонда популяций одновременно с сохранением и восстановлением их минимальной численности [7, 8]. Очевидно, что эколого-генетическая диагностика является базой для успешного восстановления исчезающих видов, сообществ и антропогенно измененных экосистем. Не вызывает сомнения, что эколого-генетическая диагностика является неотъемлемой частью классической диагностики [22] и роль её в будущем будет только возрастать.

Список литературы

1. Реймерс Н.Ф., Штильмарк Ф.Р. Особо охраняемые природные территории. – М.: Мысль, 1978. – 296 с.
2. Банников А.Г., Рустамов А.К. Охрана природы. – М.: Колос, 1977. – 208 с.
3. Красная книга города Москвы. – М.: АБФ, 2001. – 610 с.
4. Макеева В.М. Эколого-генетические основы охраны животных антропогенных экосистем (на примере Москвы и Подмосковья): автореферат дисс... д-ра биол. наук. – М., 2008. – 47 с.
5. Макеева В.М., Белокопф М.М., Малюченко О.П. Оценка состояния генофонда природных популяций беспозвоночных животных в условиях фрагментированного ландшафта Москвы и Подмосковья (на примере кустарниковой улитки, *Bradybaena fruticum* (Mull.)) // Генетика. – 2005. – № 11. – С. 1495-1510.
6. Макеева В.М., Белокопф М.М., Малюченко О.П., Леонтьева О.А. Оценка состояние генофонда природных популяций позвоночных животных в условиях фрагментированного ландшафта Москвы и Подмосковья (на примере бурых лягушек) // Генетика. – 2006. – Т. 42. – № 4. – С. 1-15.
7. Макеева В.М., Смулов А.В. Эколого-генетические принципы сохранения разнообразия и численности животных антропогенных экосистем (на примере модельных видов в Москве и Подмосковье). Сборник трудов 3-ей Международной научно-практической конференции «Сохранение разнообразия животных и охотничье хозяйство России» (19-20 февраля 2009 г.). – М., 2009. – С. 58-61.



8. Макеева В.М., Смуров А.В. Эколого-генетический подход к охране биоразнообразия антропогенных экосистем // Известия Самарского научного центра РАН. – 2010. – Т. 12. – № 1(6). – С. 14101-1406.
9. Wright S. Coefficient of inbreeding and relationship // Amer. Natur. – 1922. – Vol. 56. – P. 330-338.
10. Дубинин Н.П. Генетико-автоматические процессы и их влияние на механизмы эволюции // Журн. эксперим. биол. – 1931. – Т. 7. – № 5/7. – С. 463-478.
11. Макеева В.М. Судьба диких животных в городе: теория неизбежности их вымирания. Материалы второй научно-практической конференции «Животные в городе» 15-17 апреля 2002 г. – М.: ИПЭЭ РАН им. А.Н. Северцова, 2003. – С. 7-9.
12. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях: Учебное пособие. 3-е издание, переработанное и доп. – М.: ИКЦ Академкнига, 2003. – 431 с.
13. Wright S. Evolution in Mendelian populations // Genetics. – 1931. – Vol. 16. – P. 97-109.
14. Айала Ф., Кайгер Д. Современная генетика. – М.: Мир, 1987. – Т. 1. – 195 с.
15. Грант В. Эволюция организмов. – М.: Мир, 1980. – 408 с.
16. Сулей М.Э. Пороги для выживания: поддержание приспособленности и эволюционного потенциала // Биология охраны природы. – М.: Мир, 1983. – С. 177-197.
17. Зайцев Г.Н. Методика биометрических расчетов. – М.: Наука, 1973. – 255 с.
18. Конвенция о биологическом разнообразии // Текст и приложение: UNEP/CBD/94/1.D. December 1995. – 34 p.
19. Макеева В.М., Белокоп М.М., Малюченко О.П., Алтухов Ю.П. Эколого-генетический аспект стратегии охраны диких животных антропогенных экосистем // Вестник Томского университета. Приложение. Докл. IV междунар. конф. «Проблемы вида и видообразования». – Томск, 2006. – № 10. – С. 55-53.
20. Макеева В.М., Смуров А.В., Белокоп М.М., Нанаева И.В. Эколого-генетические методы сохранения разнообразия и численности животных антропогенных экосистем (на примере модельных видов животных в Москве и Подмоскowie). Труды съезда генетиков и селекционеров, посвященного 200-летию со дня рождения Ч. Дарвина и Пятого съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров (Москва, 21-27 июня 2009 г.). – М., 2009. – С.122.
21. Макеева В.М. О целесообразности выделения геноурбанографии в качестве самостоятельного научного направления // Сб. трудов VII Международной научной конференции «Новые идеи в науках о Земле». Т. 4. – М.: Изд-во МГРИ, 2005. – С. 28.
22. Смуров А.В. Основы экологической диагностики. Биологические и информационные аспекты. – М.: Ойкос, 2003. – 188 с.

ECOLOGICAL AND GENETIC DIAGNOSIS OF THE CONDITION AND METHODS OF RESTORING ANIMAL POPULATIONS IN PROTECTED AREAS AS EXEMPLIFIED BY MODEL SPECIES IN MOSCOW

**V.M. Makeeva
A.V. Smurov**

*Museum of the Sciences of the Earth,
Lomonosov Moscow State University
Moscow, 199992, Leninskie goru
(Leninskie Hills)
E-mail: vmmakeeva@yandex.ru*

Ecological and genetic diagnosis of the animal population condition includes: assessing the diversity of the genofond and prognosis of the duration of the existence of population, which is made on the basis of their efficient number. The diagnosing enables to quantify the degree of anthropogenic change in the gene pool condition of city populations and, on the basis of the condition of the gene pool, to make conclusions as to the necessity of its improvement. A reduction in population genetic diversity by 10–20% shows the stability of the gene pool. Any reduction by 20–60% characterizes the gene pool as critical or being in a crisis. The figure above 60% shows a catastrophic condition of the gene pool. The latter 2 grades (20–60%, above 60%) is a sign that the population needs improvement. The article presents some results of an experiment in improvement (enriching) the gene pool of four city populations of a model species – that is a land snail, bush snail *Bradybaena fruticum*, (Mull.). Control and calculation in the shift in allele frequencies on the basis of the lineation of the shells has been carried out on juveniles of the next generation of snails.

Key words: ecological and genetic diagnosis, population, genofond, allele frequencies, efficient number, genofond improvement.