

# ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ & ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΦΥΤΩΝ



## Γενετική Βελτίωση Φυτών\_2 (εφαρμογές)

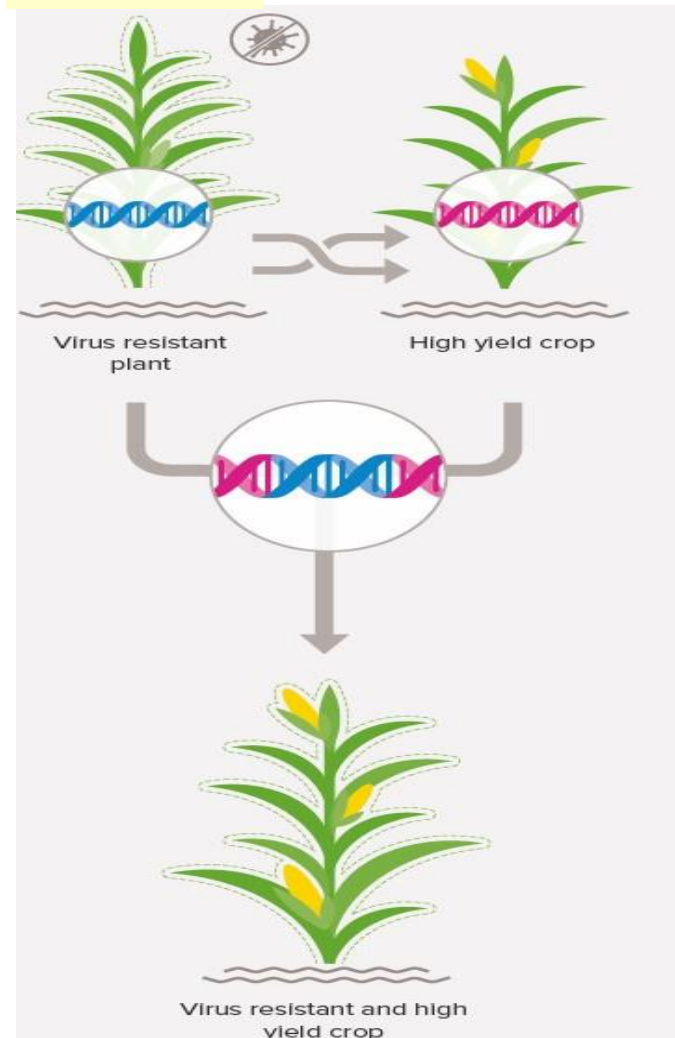
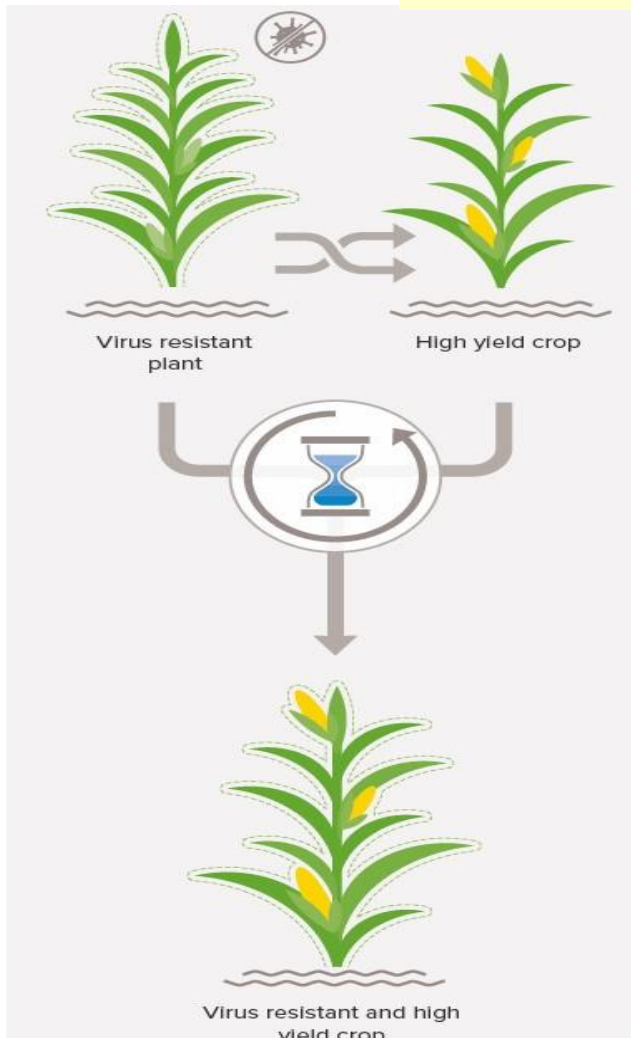
*Ιωάννης Τοκατλίδης*



# ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ

Κλασική

Μοριακή

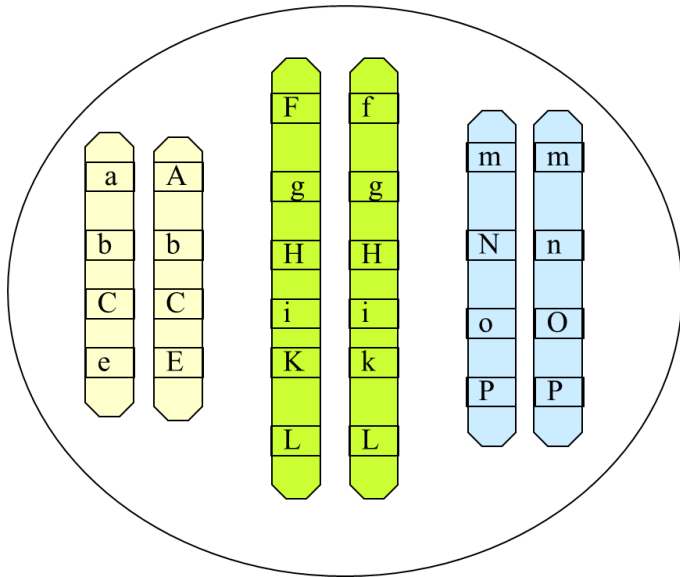


# ΚΛΑΣΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ

# Στόχοι της βελτίωσης

Δημιουργία νέων ποικιλιών με βελτιωμένα χαρακτηριστικά:

- υψηλότερες αποδόσεις
- καλύτερη προσαρμοστικότητα και σταθερότητα συμπεριφοράς (ομοιόσταση)
- αντοχή σε βιοτικά και αβιοτικά stress
- ύψος φυτού, ή ύψος έκπτυξης καρπού
- μειωμένη καρπόπτωση
- πρωίμιση ή οψίμιση παραγωγής
- βελτίωση ποιότητας



Ποσοτικά γνώρισμα (μειωμένη κληρονομικότητα)

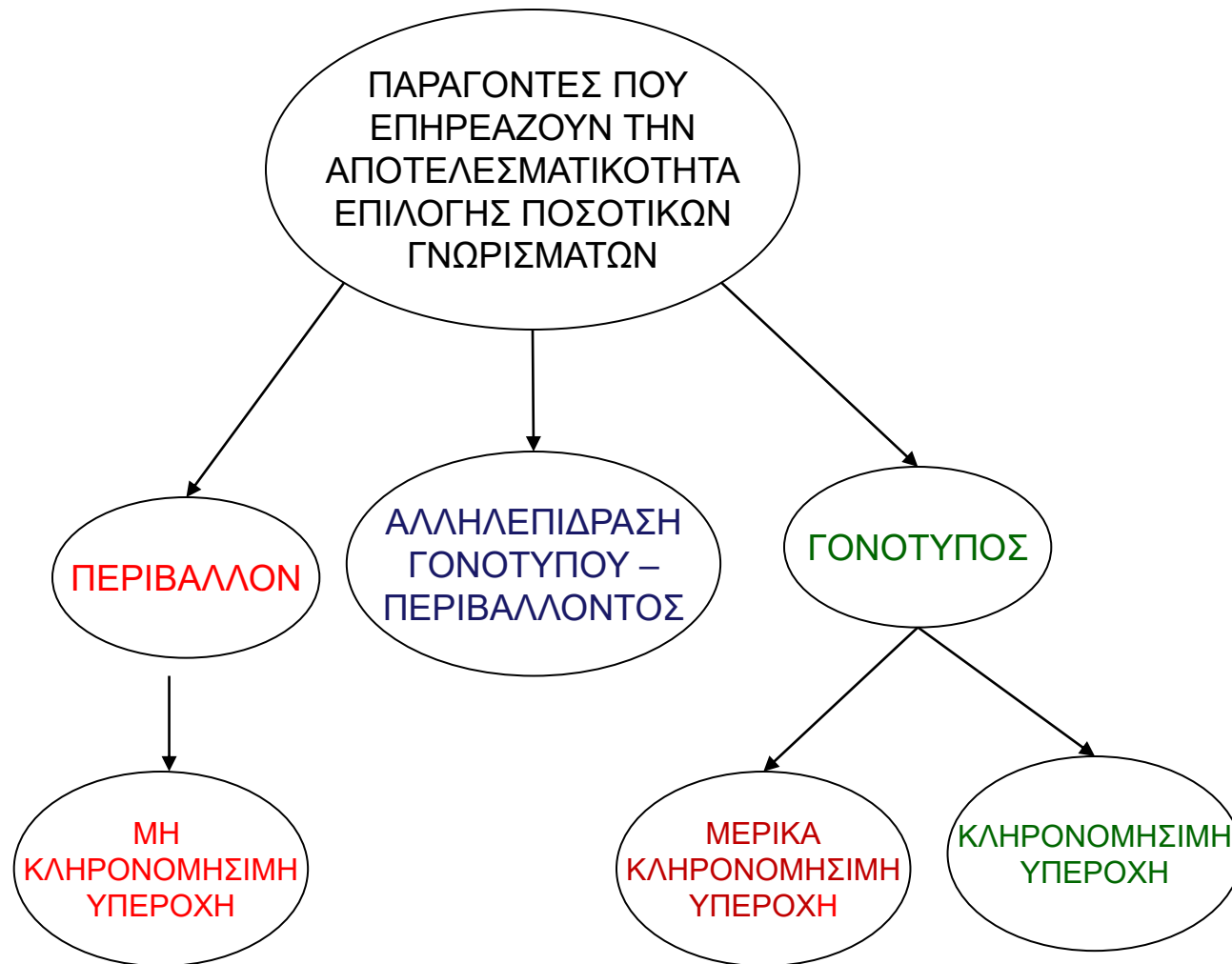
- γενετική σύνθεση
- κυριαρχία/επίσταση
- περιβάλλον



ΜΕΙΩΜΕΝΗ  
ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑ



ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΓΑΛΟΥ  
ΑΡΙΘΜΟΥ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ



# ΠΕΡΙΓΡΑΜΜΑ ΒΕΛΤΙΩΤΙΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

## 0. ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ/ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ



1. ΕΠΙΛΟΓΗ ΕΠΙΘΥΜΗΤΩΝ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ



(διαδοχικές γενεές)

2-6. ΑΠΟΓΟΝΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΕΠΙΛΟΓΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ



ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΝΕΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ



*ΕΓΓΡΑΦΗ ΝΕΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΣΤΟΝ ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΟΙΝΟΤΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΓΟ*

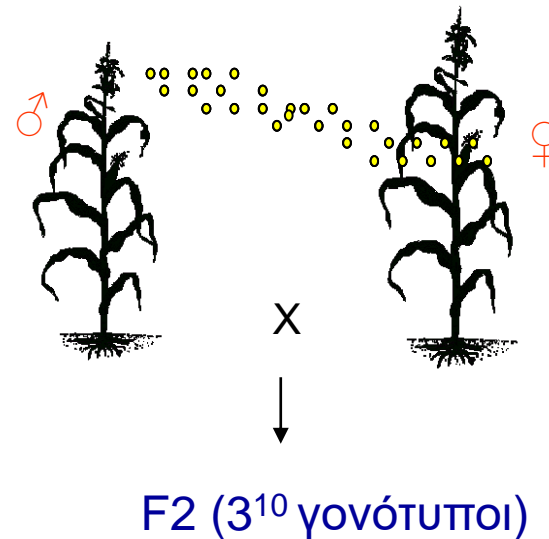
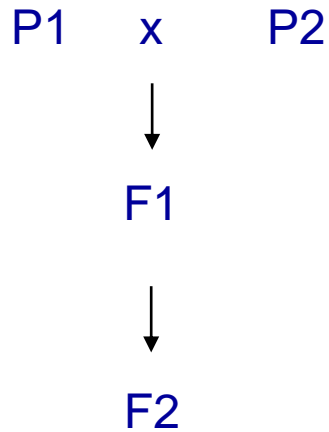
➤ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Φυσικοί πληθυσμοί:

(τοπικές ποικιλίες που αποτελούν προϊόν «φυσικής» εξέλιξης)

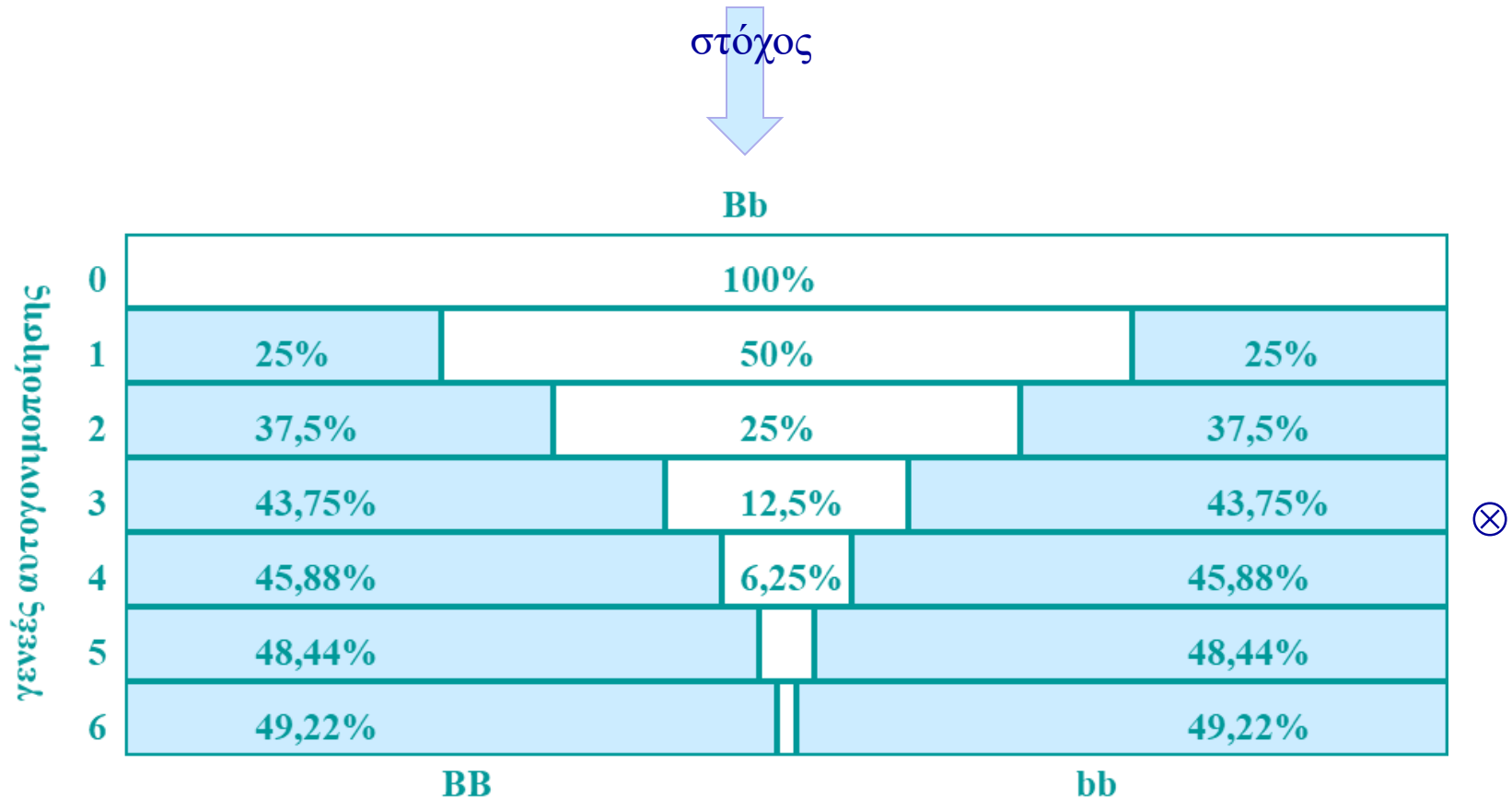
➤ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Τεχνητές διασταυρώσεις:





## 1-6. ΕΠΙΛΟΓΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΓΟΝΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

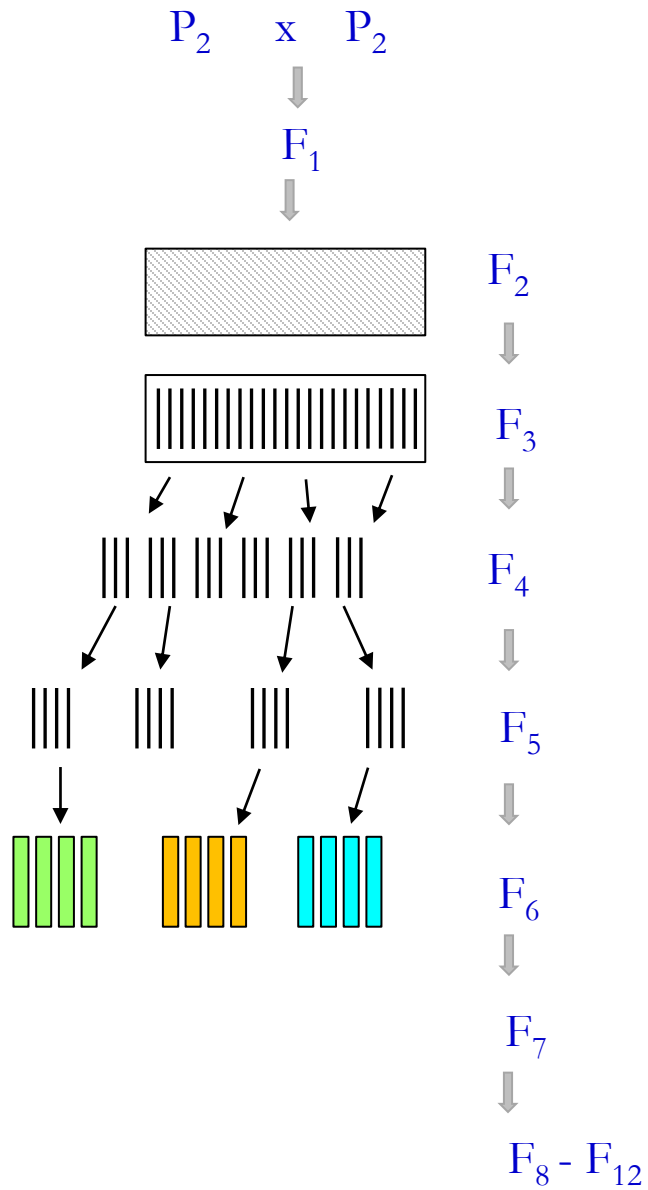


μετά από 6-7 γενεές αυγονιμοποίησης προσέγγιση της ομοζυγωτίας

# ΚΛΑΣΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ

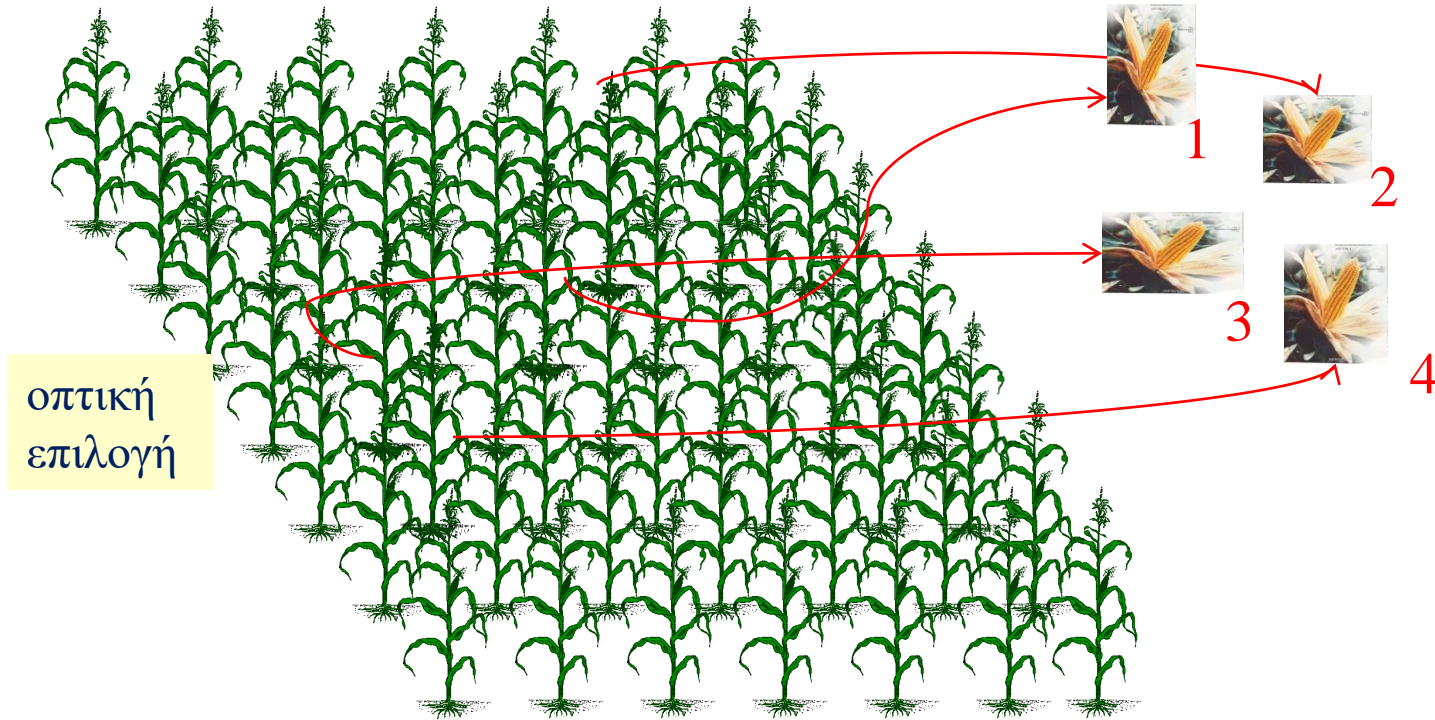
## Η τυπική μέθοδος

# ΤΟ ΤΥΠΙΚΟ ΒΕΛΤΙΩΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ



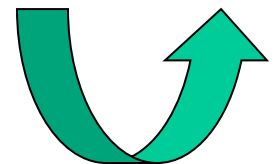
# ΤΥΠΙΚΗ ΓΕΝΕΑΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΛΟΓΗ

1ος χρόνος



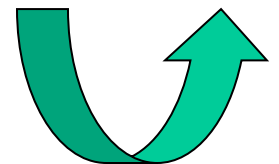
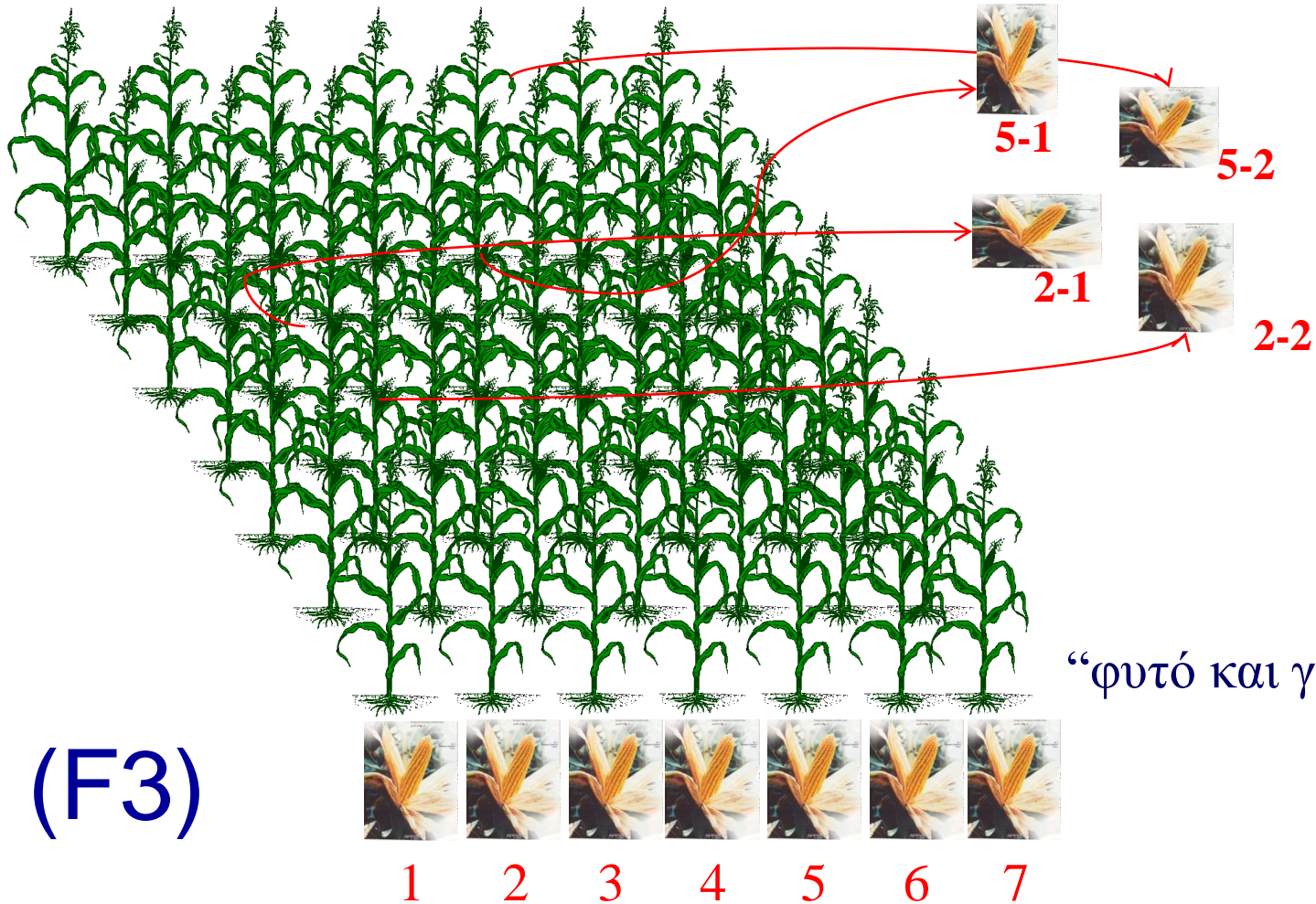
(F2)

αρχικός πληθυσμός (F2)



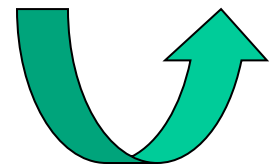
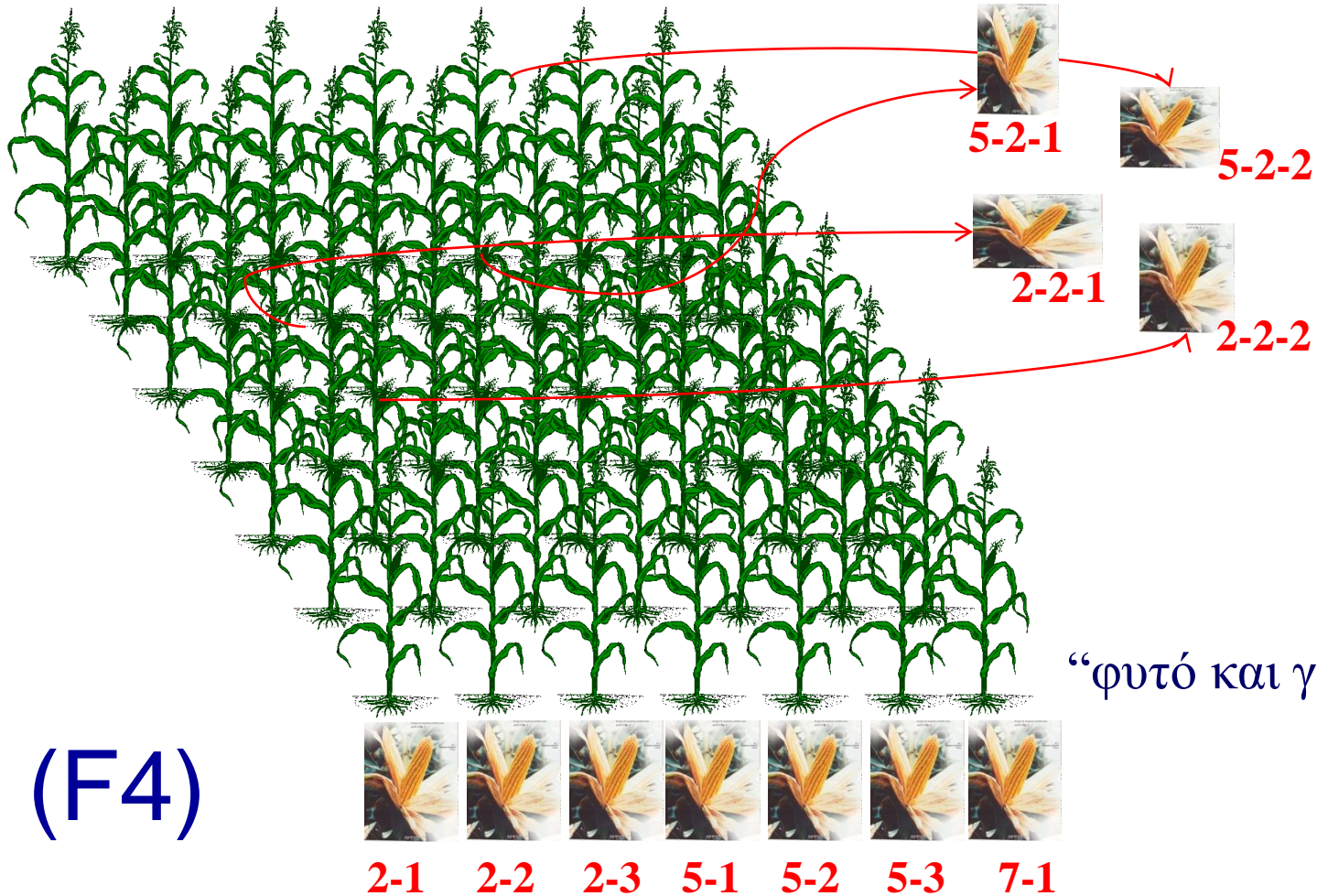
# ΤΥΠΙΚΗ ΓΕΝΕΑΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΛΟΓΗ

2ος χρόνος



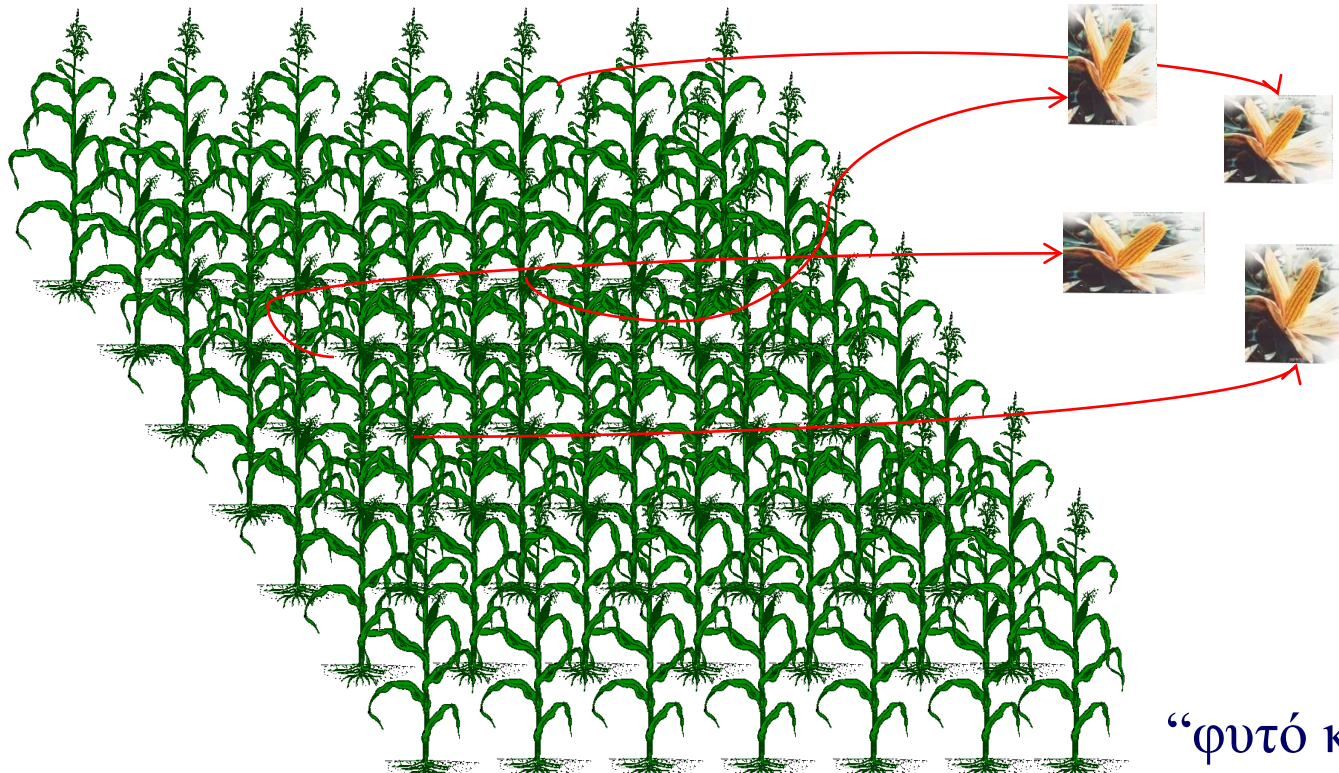
# ΤΥΠΙΚΗ ΓΕΝΕΑΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΛΟΓΗ

3ος χρόνος



# ΤΥΠΙΚΗ ΓΕΝΕΑΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΛΟΓΗ

3ος χρόνος



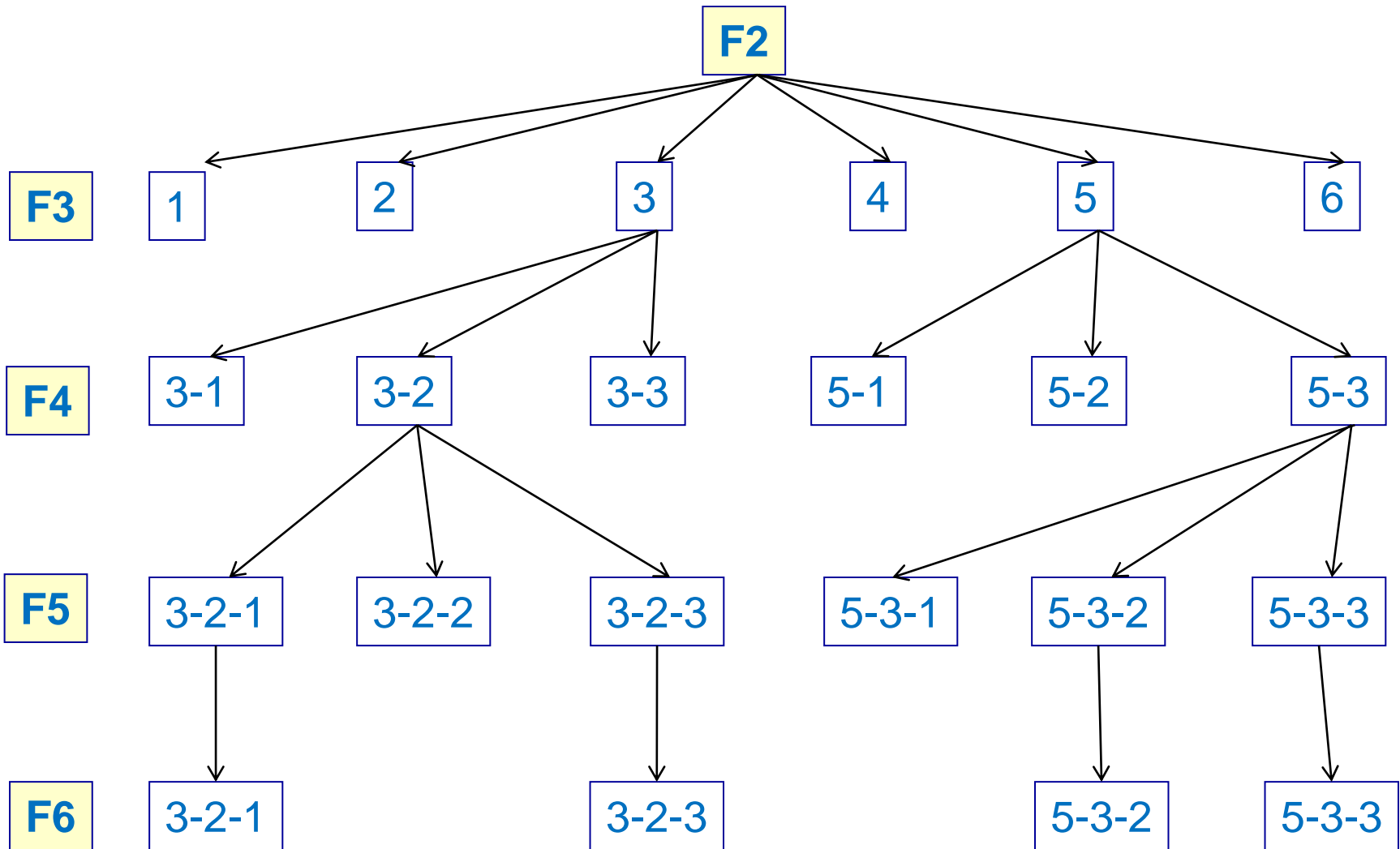
“φυτό και γραμμή”

(F5)



2-2-1 2-2-2 2-2-3 5-2-1 5-2-2 5-2-3 7-5-1

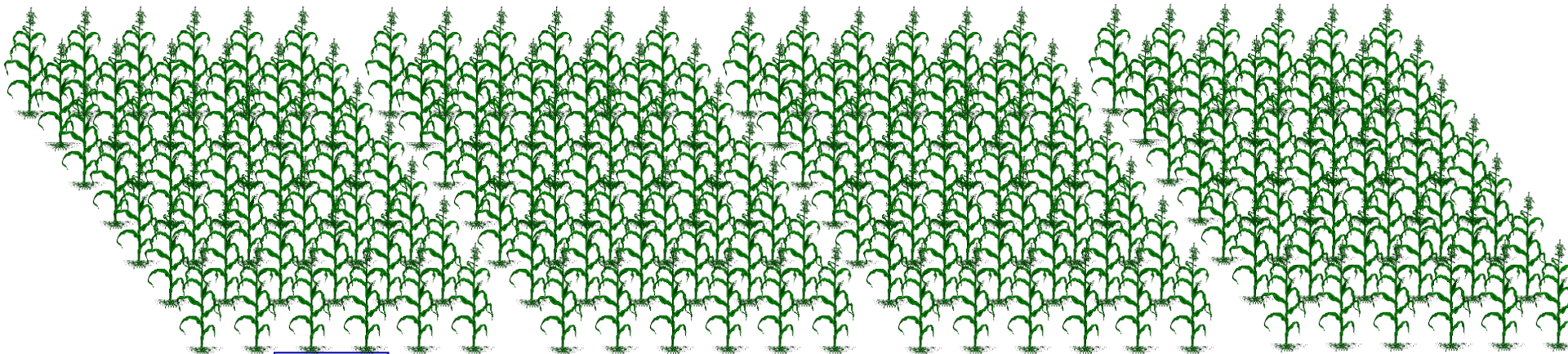
# ΓΕΝΕΑΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΛΟΓΗ





# ΤΥΠΙΚΗ ΓΕΝΕΑΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΛΟΓΗ

7<sup>ος</sup> .... χρόνος (συγκριτικά πειράματα για την τελική επιλογή)



2-3-1

5-2-2

7-1-1

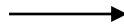
ΚΑΘΑΡΕΣ ΣΕΙΡΕΣ (PURE LINES)

Συνήθως οι ποικιλίες είναι καθαρές σειρές (αυτογονιμοποιούμενα είδη!) ή υβρίδια (προϊόν διασταύρωσης 2 καθαρών σειρών)

καθαρή σειρά:



ΑΑΒΒΓΓΔΔΕΕΖΖ



ΑΑΒΒΓΓΔΔΕΕΖΖ

ΑΥΤΟΓΟΝΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΑ  
ΕΪΔΗ

υβρίδιο:

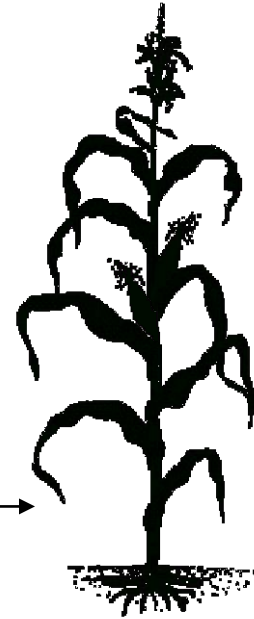


καθαρή σειρά Β  
(ααΒΒγγΔΔεεΖΖ)

X



καθαρή σειρά Α  
(ΑΑββΓΓδδΕΕεεΖΖ)



απλό υβρίδιο ΑxΒ  
(ΑαΒβΓγΔδΕεΖζ)



$3^{10}=59049$   
ΓΕΝΟΤΥΠΟΙ

# ΚΛΑΣΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ

## Η μέθοδος απουσία ανταγωνισμού



natural ecosystem

## SURVIVAL

- inter-species & inter-genotypic competition
  - no external inputs
- selection for competitive ability



agro-ecosystem

## CROP YIELD EFFICIENCY

- self-competition
  - supported by external inputs
- selection for resource use efficiency



# CROP YIELD (overall grain yield)

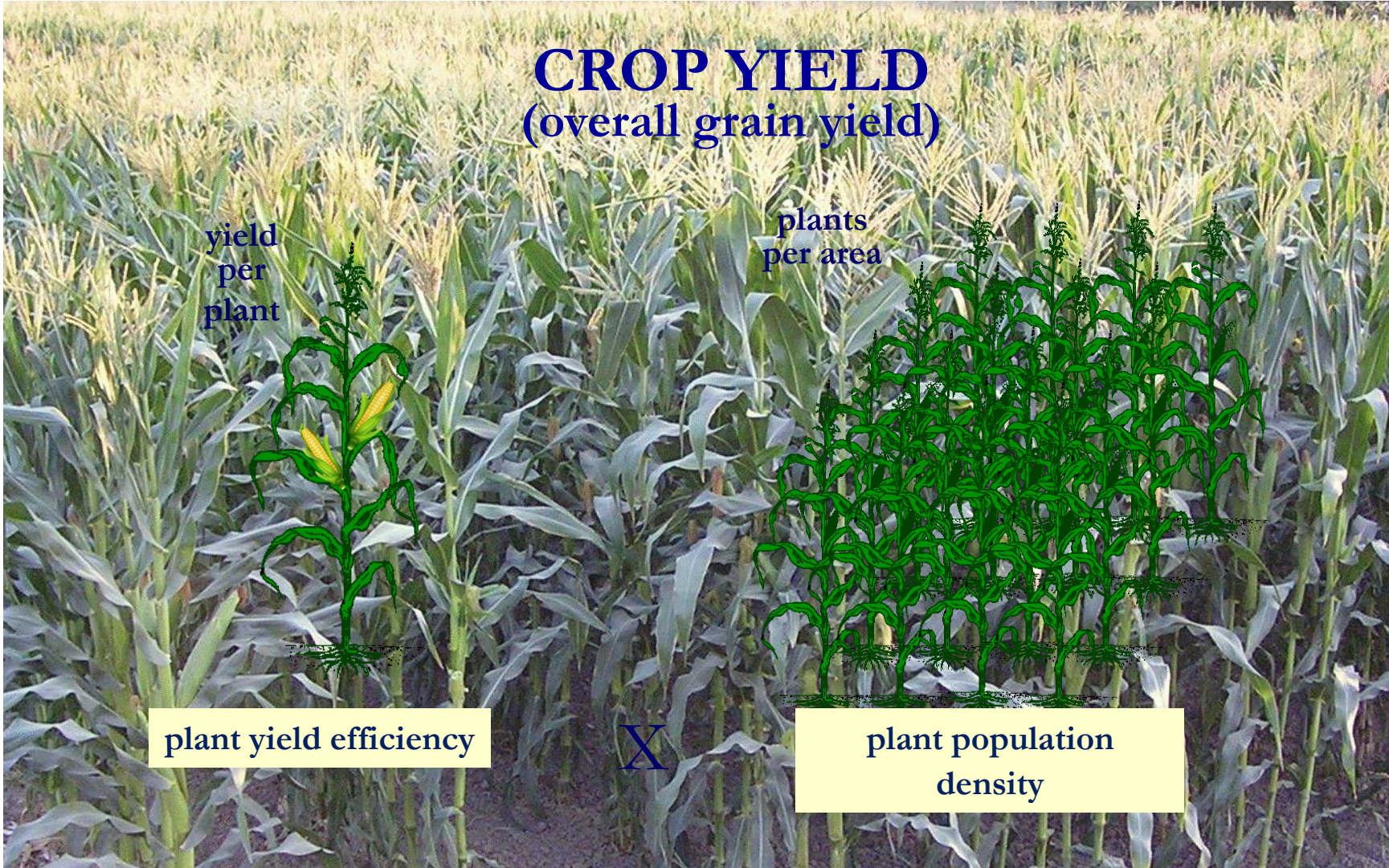
yield  
per  
plant

plants  
per  
area

plant yield efficiency

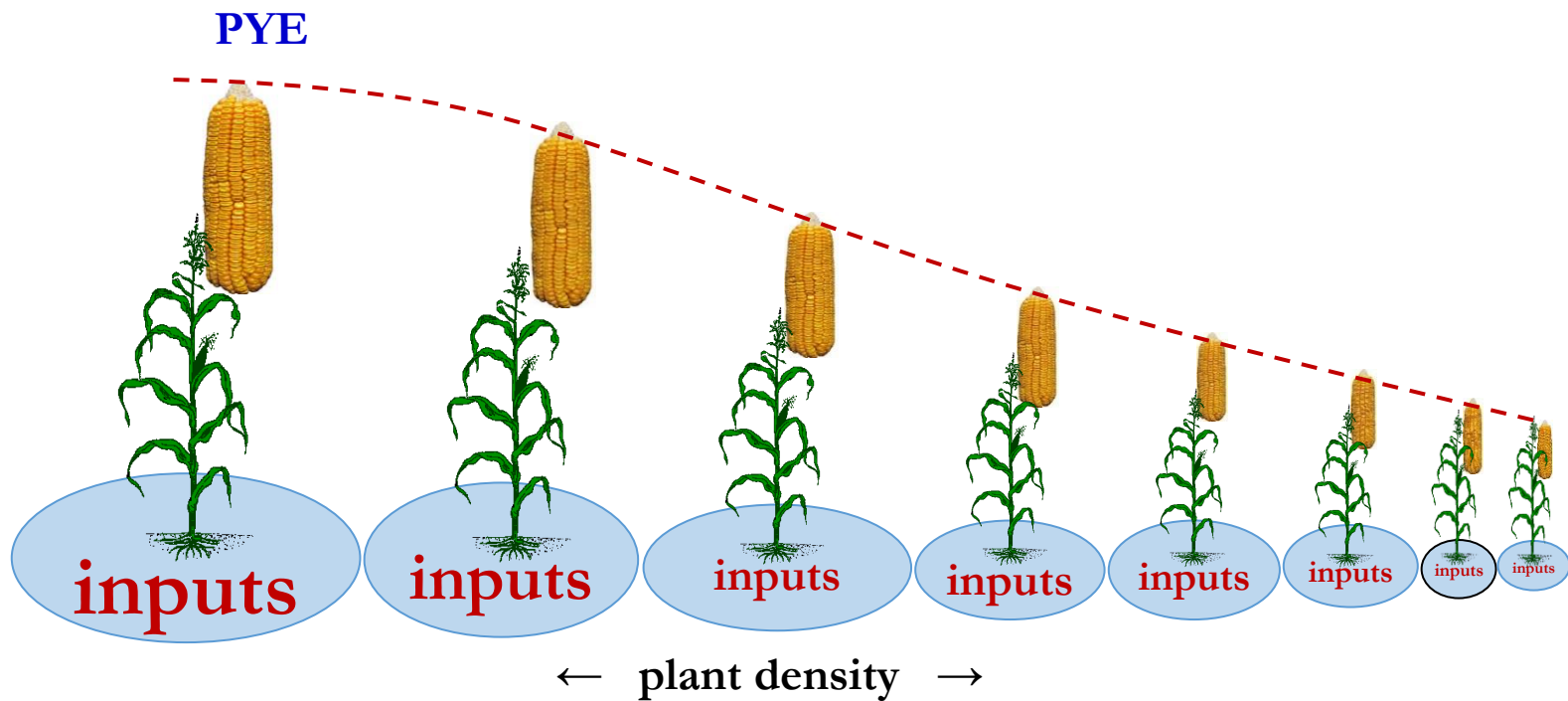
X

plant population  
density



# Plant Yield Efficiency (PYE)

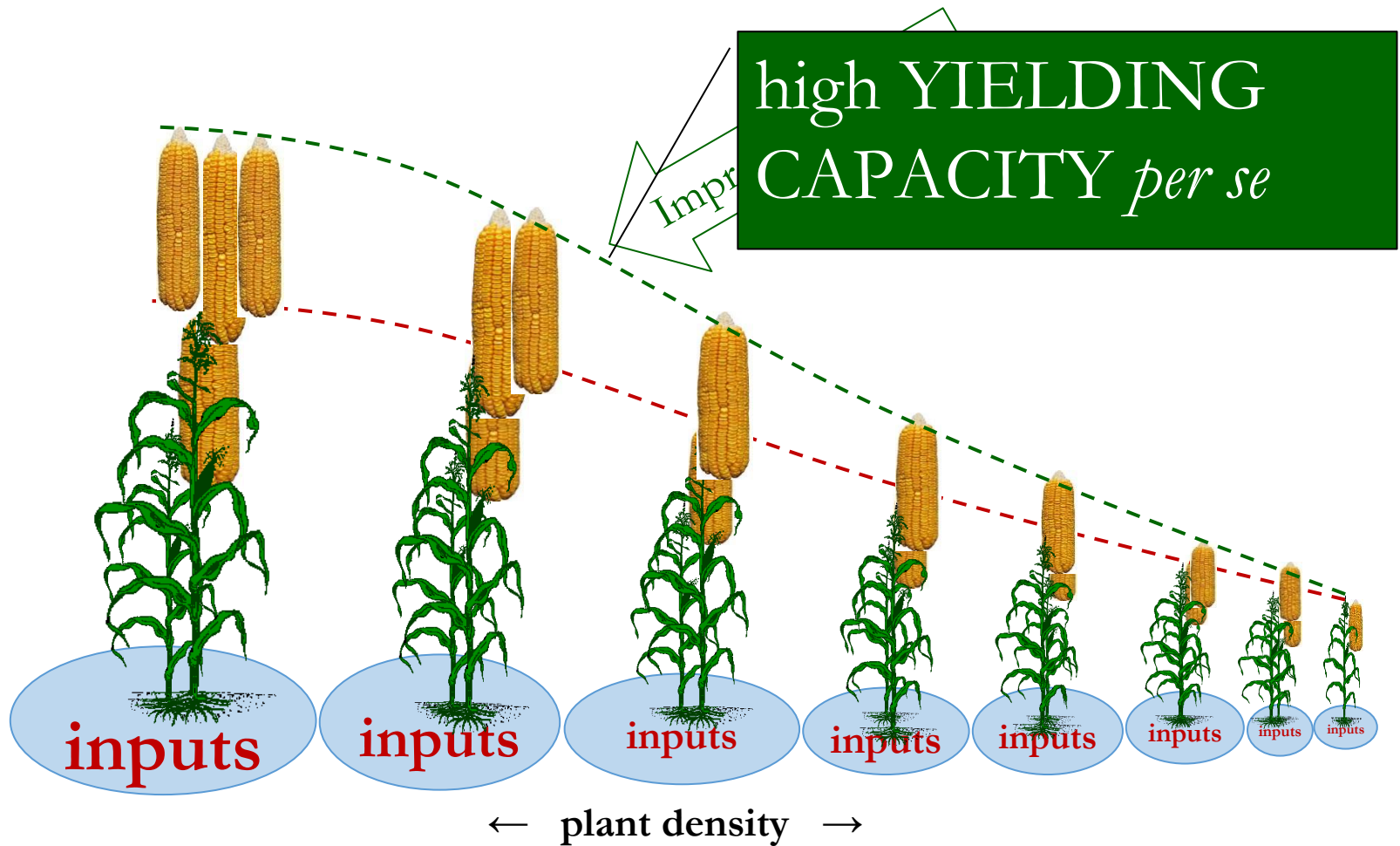
(plant grain yield at low densities)



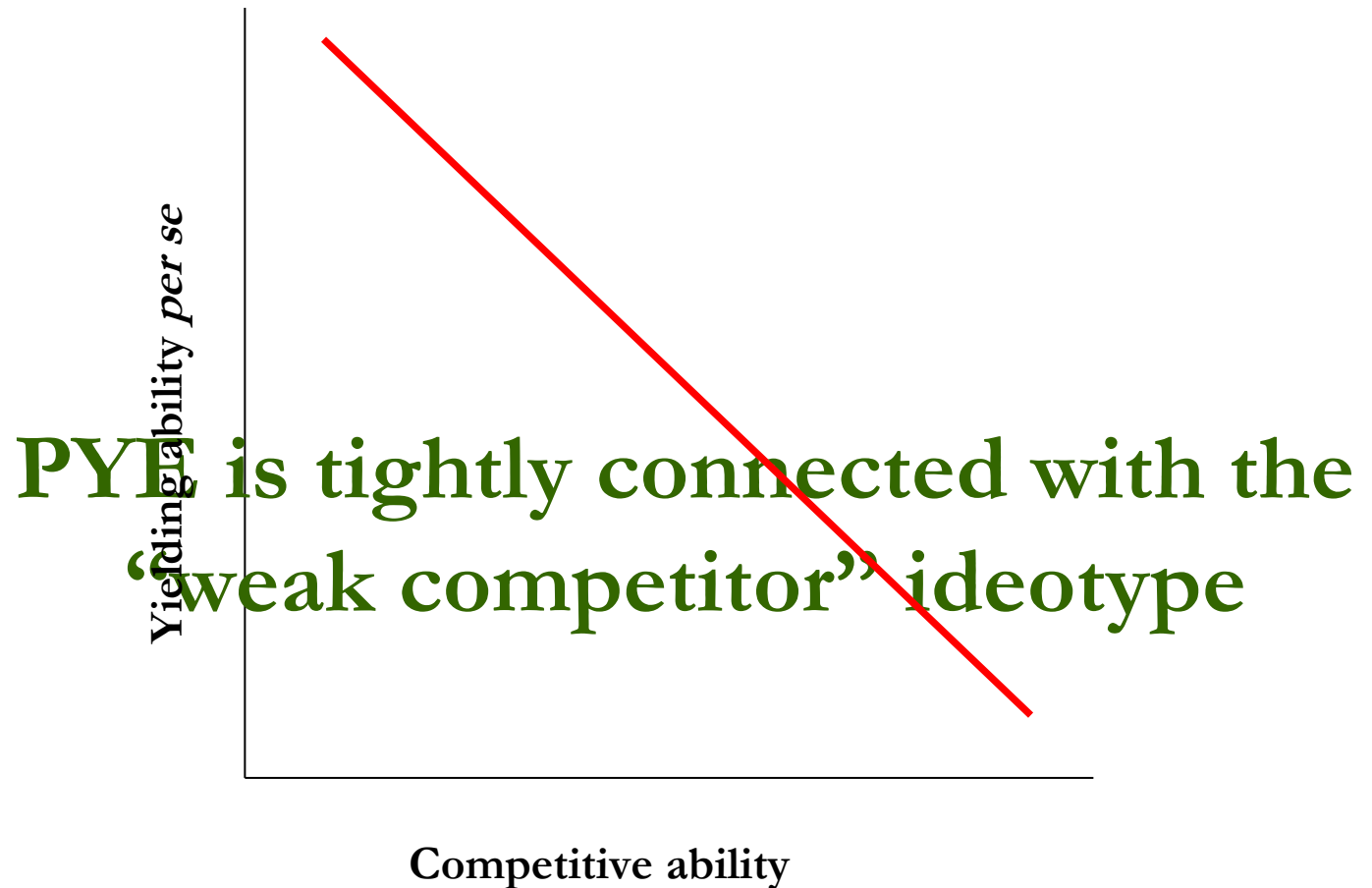


# Plant Yield Efficiency (PYE)

(plant grain yield at low densities)



## Inverse relationship of yielding with competitive ability



Donald and Hamblin (1976); Sedgley (1991); Fasoulas (1993); Reynolds et al. (1994); Janick (1999); Pan et al. (2003); Chatzoglou and Tokatlidis (2012); Ninou et al. (2014)



# Inverse relationship of yielding with competitive ability

dense stan

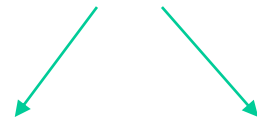


selectable

Cp, strong competitor  
/ low PYE

C P

cP, weak competitor /  
high PYE



C



P

selectable

nil-competitio

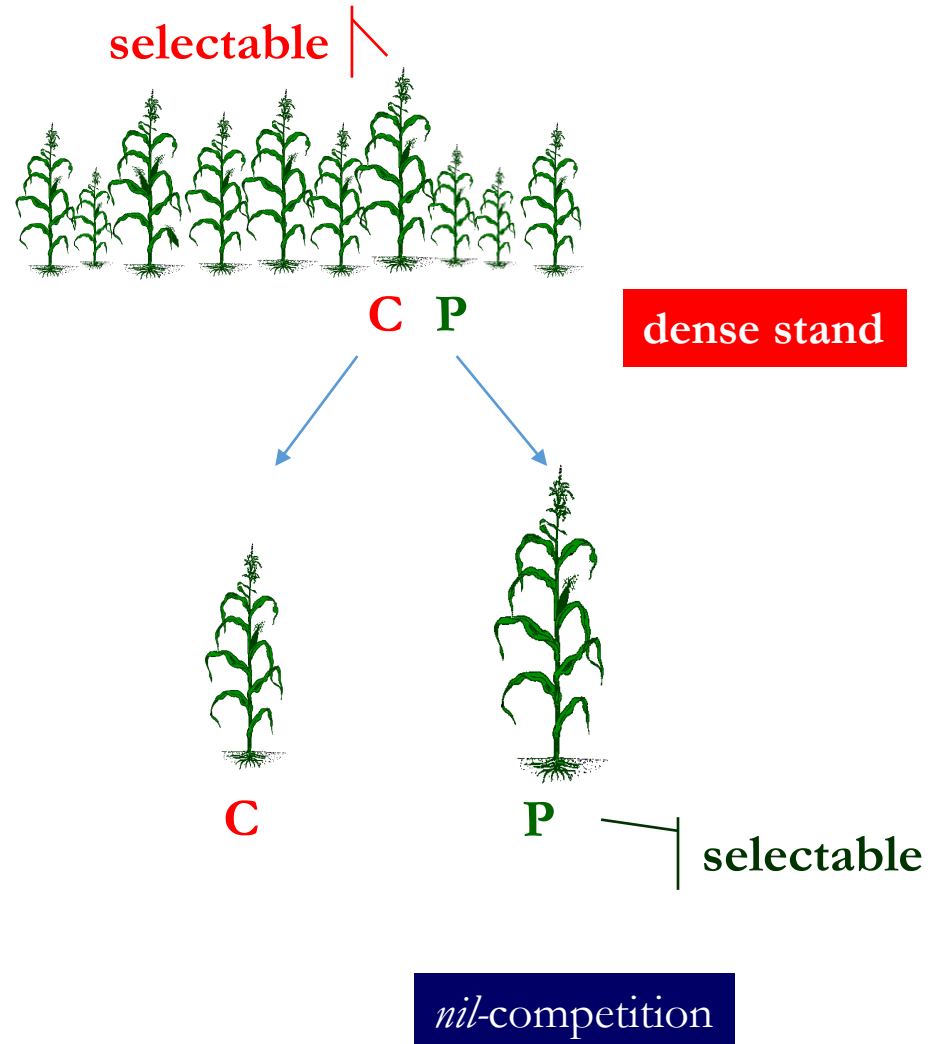
# Inverse relationship of yielding with competitive ability



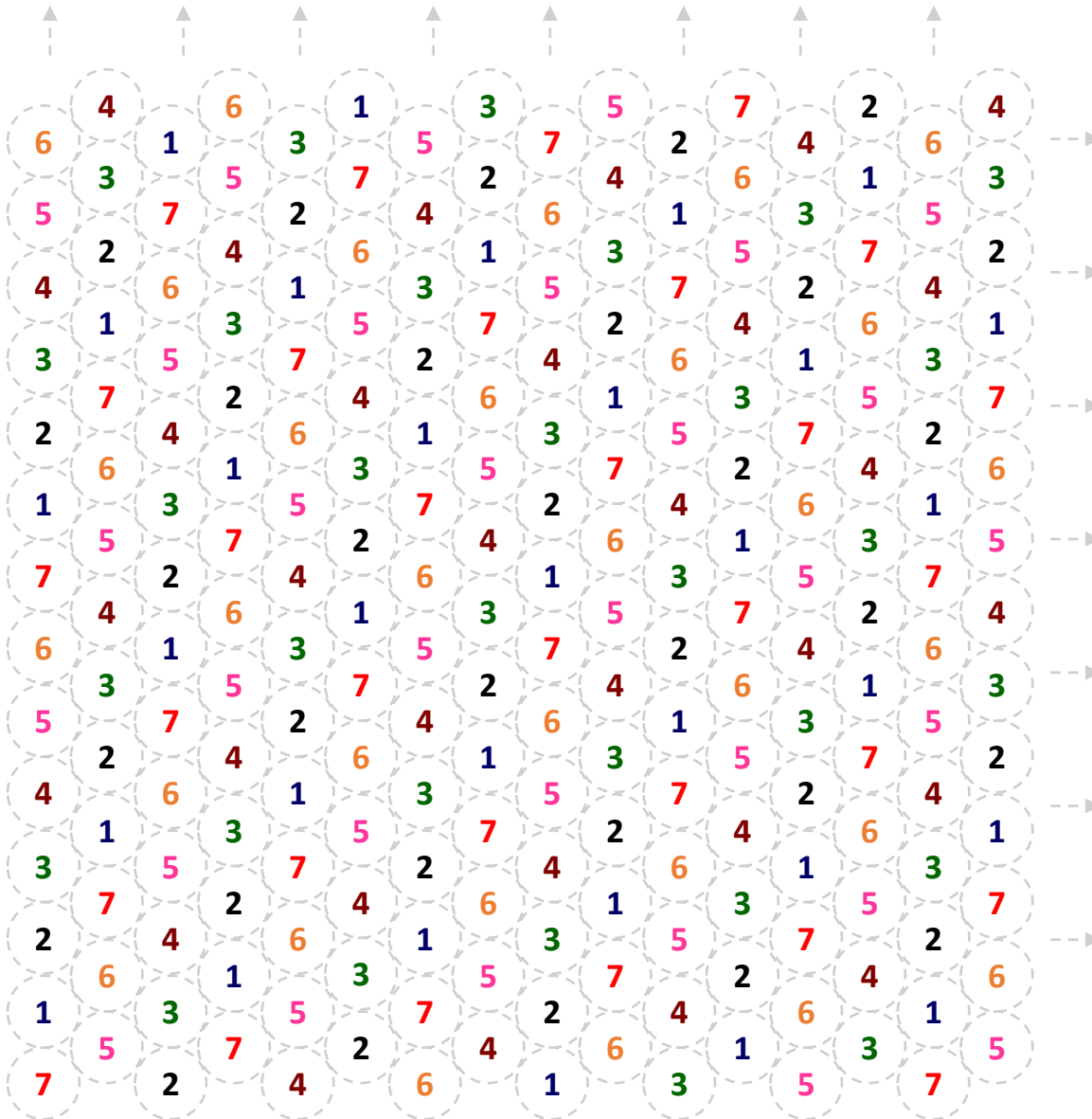
competitive ideotype



productive ideotype



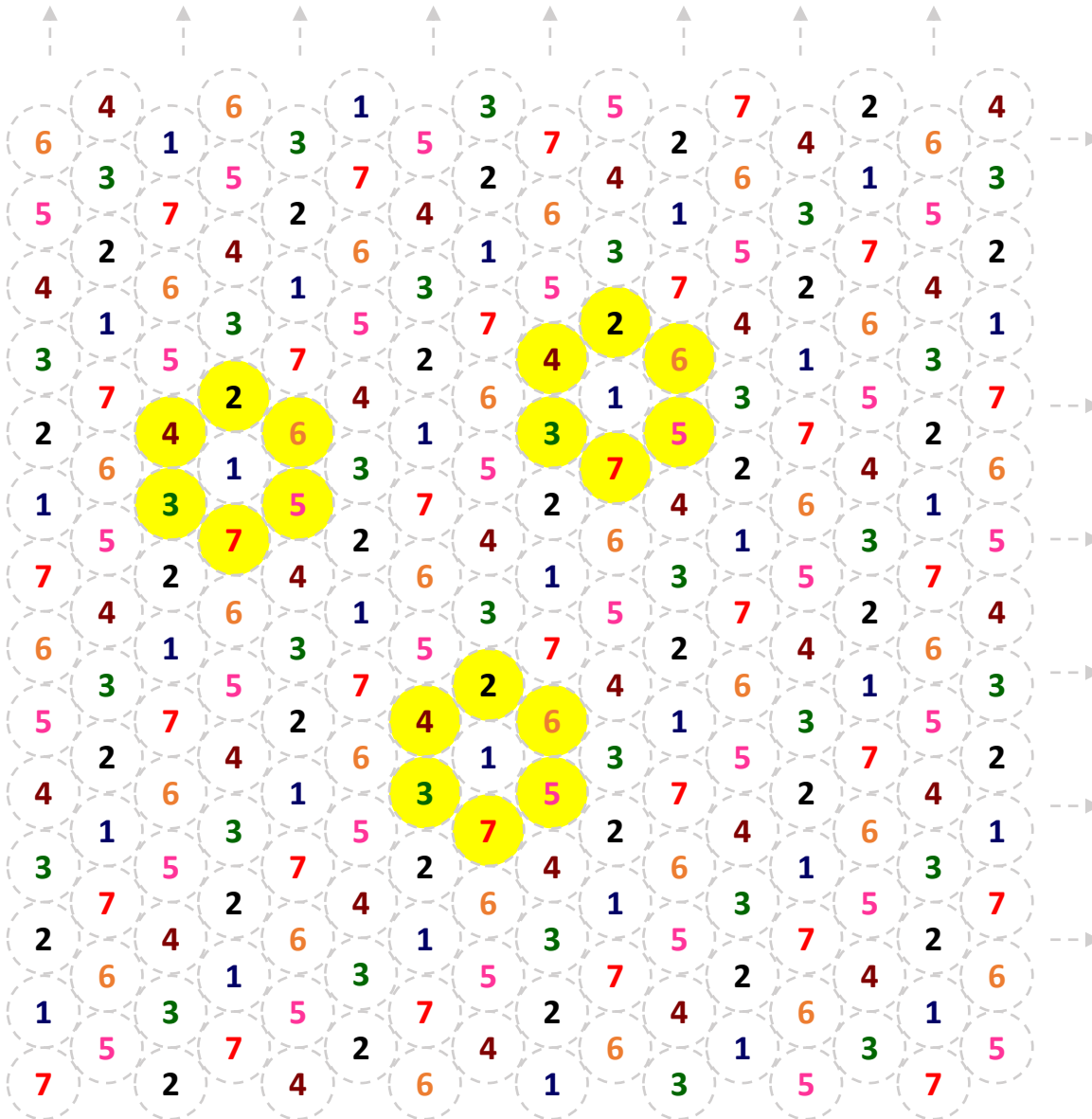
# HD-7 (7 entries evenly distributed)



even & systematic arrangement of SLs

comparable among SLs evaluation

# HD-7 (7 entries evenly distributed)



even & systematic arrangement of SLs

comparable among SLs evaluation

comparable within SLs evaluation



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

## Software Impacts

journal homepage: [www.journals.elsevier.com/software-impacts](http://www.journals.elsevier.com/software-impacts)



Original software publication

### rhoneycomb: An R package for the construction and analysis of honeycomb selection designs



Anastasios Katsileros<sup>a,\*</sup>, Nikolaos Antonetsis<sup>a</sup>, Maria-Georgia Gkika<sup>a</sup>, Eleni Tani<sup>a</sup>, Ioannis Tokatlidis<sup>b</sup>, Penelope J. Bebeli<sup>a</sup>



<sup>a</sup> *Laboratory of Plant Breeding & Biometry, Department of Crop Science, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 11855, Athens, Greece*

<sup>b</sup> *Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace, Dragana Campus, 68100, Alexandroupolis, Greece*



Article

## An In-Depth Presentation of the ‘rhoneycomb’ R Package to Construct and Analyze Field-Experimentation ‘Honeycomb Selection Designs’

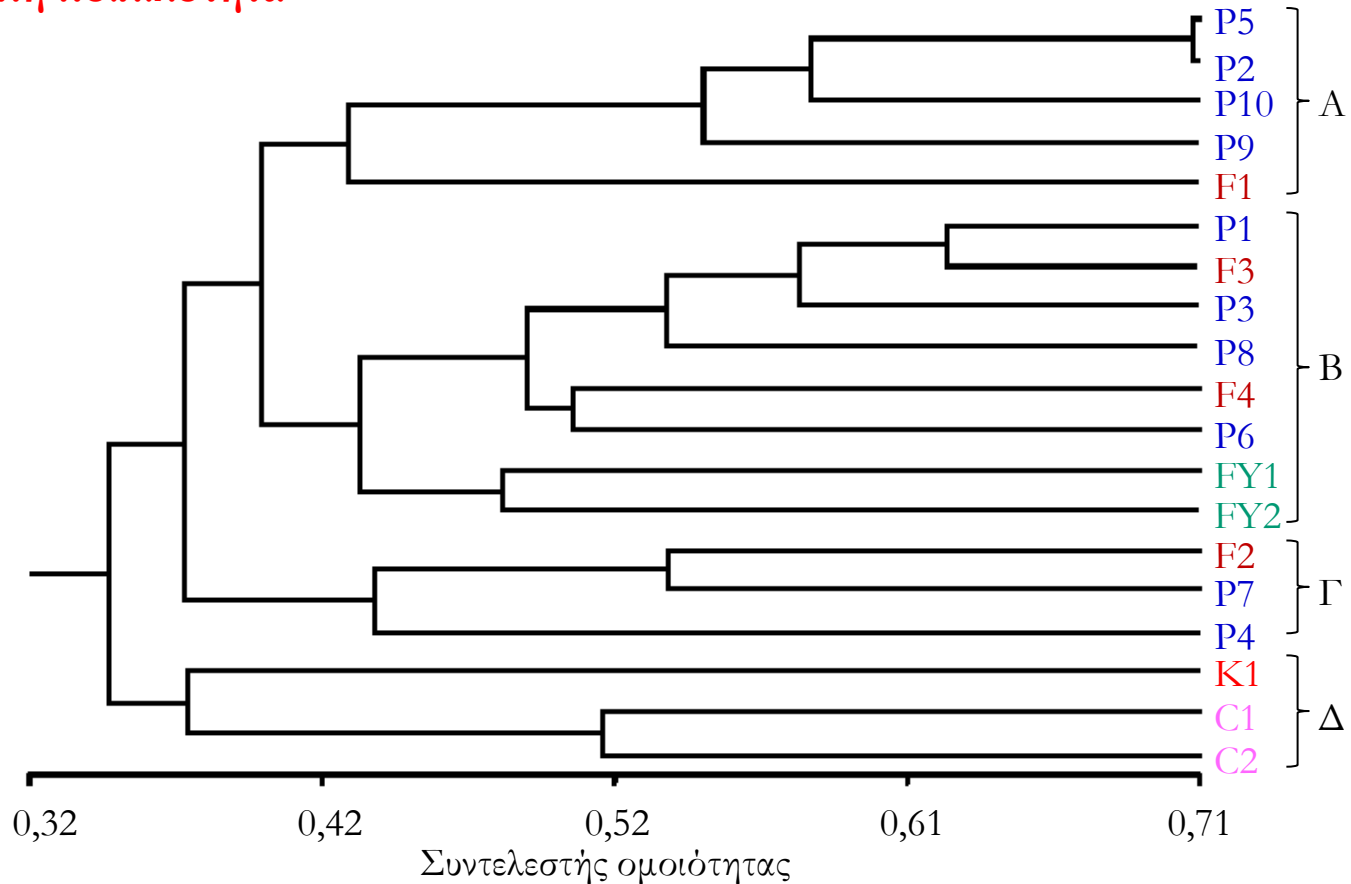
Anastasios Katsileros<sup>1</sup>, Nikolaos Antonetsis<sup>1</sup>, Maria-Georgia Gkika<sup>1</sup>, Eleni Tani<sup>1</sup> , Penelope J. Bebeli<sup>1,\*</sup> and Ioannis Tokatlidis<sup>2</sup> 

# ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ

## Εφαρμογές των μοριακών δεικτών στη Βελτίωση Φυτών:

- διερεύνηση γενετικής ποικιλότητας (συγγένειας ποικιλιών ή σειρών)
- εντοπισμός γονιδίων και κατασκευή χρωμοσωμικών χαρτών
- προσδιορισμός χρωμοσωμικών θέσεων που σχετίζονται με ποσοτικά γνωρίσματα (QTL)
- πλειοτροπική δράση γονιδίων, δηλ. γονιδίων που ελέγχουν περισσότερα από ένα γνωρίσματα (όταν προκύπτει σύνδεση του μοριακού δείκτη με περισσότερα γνωρίσματα)
- πρόβλεψη συμπεριφοράς διασταυρώσεων με βάση τη γενετική συγγένεια των σειρών
- επίδραση περιβάλλοντος στην έκφραση γνωρισμάτων, δηλ. την κληρονομικότητα του γνωρίσματος (από φαινοτυπικές διαφορές συγγενών γενοτύπων)
- επιλογή γονοτύπων μέσω μοριακών δεικτών (MAS, Marker Assisted Selection)

## γενετική ποικιλότητα



Tertivanidis et al., Biotechnology (2002)

Διερεύνηση γενετικής παραλλακτικότητας με δείκτες RAPD σε 19 πληθυσμούς φασολιού (ίδιο χρώμα σημαίνει κοινή γεωγραφική προέλευση)



## γενετική ποικιλότητα

σειρές:

**B73**

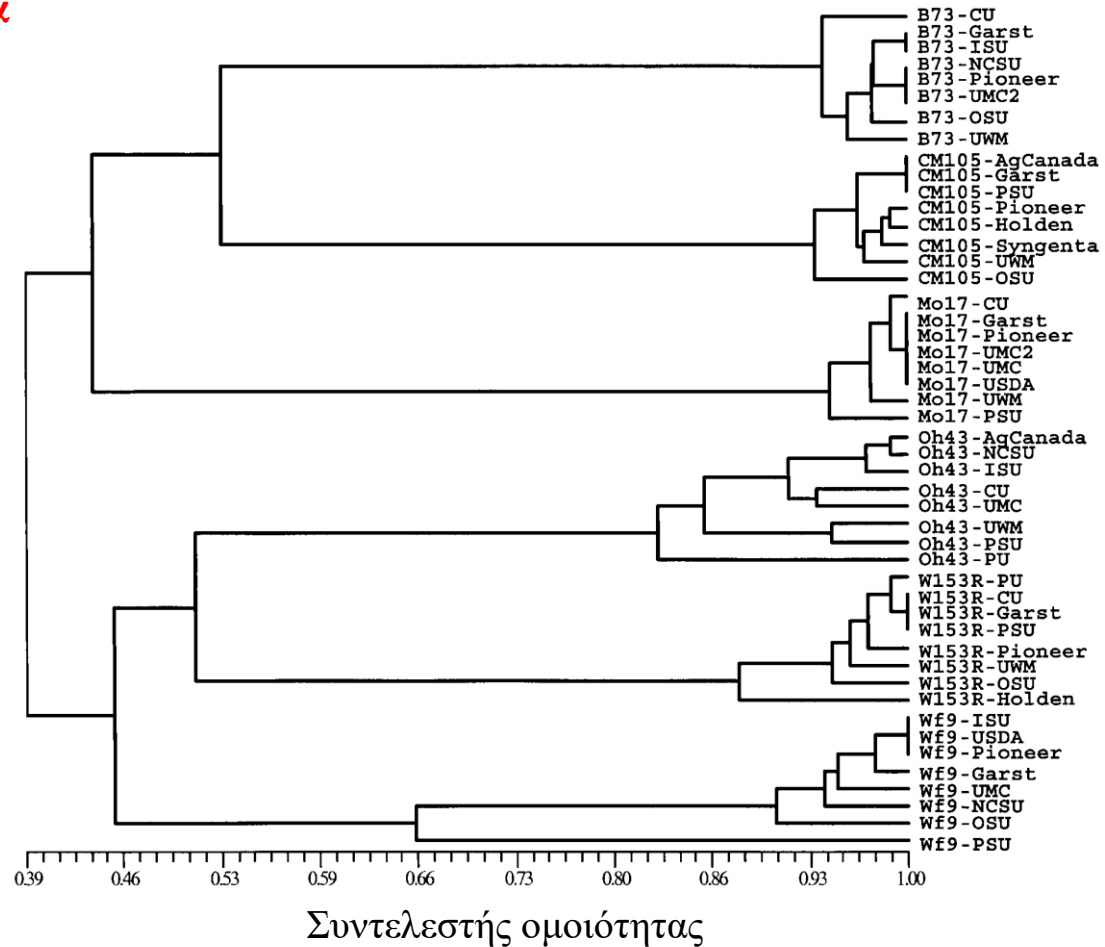
**CM105**

**Mo17**

**Oh43**

**W153R**

**Wf9**



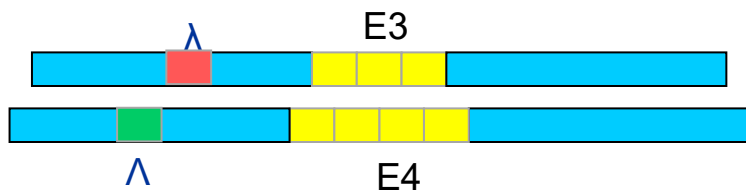
Gethi et al., Crop Science (2002)

Διερεύνηση γενετικής παραλλακτικότητας με δείκτες SSR σε έξι καθαρές σειρές καλαμποκιού προερχόμενες από οχτώ διαφορετικές πηγές

# εντοπισμός γονιδίων

Ανίχνευση ενός γονιδίου ( $\Lambda$ ) ανθεκτικότητας σε μια ασθένεια (με SSR) :

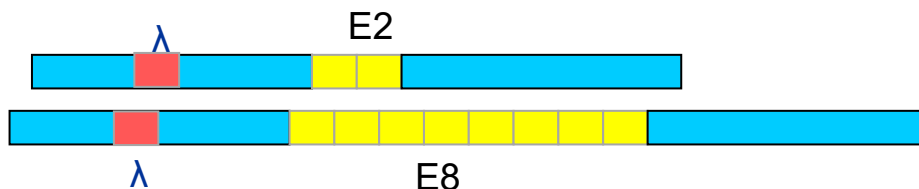
ανθεκτικός  
γονότυπος



 μικροδορυφορική επανάληψη

X

ευαίσθητος  
γονότυπος



E3/E4

E2/E8

E4/E2

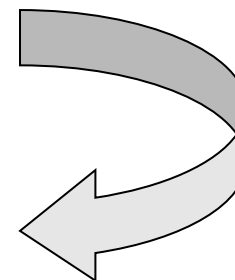
E4/E8

E3/E8

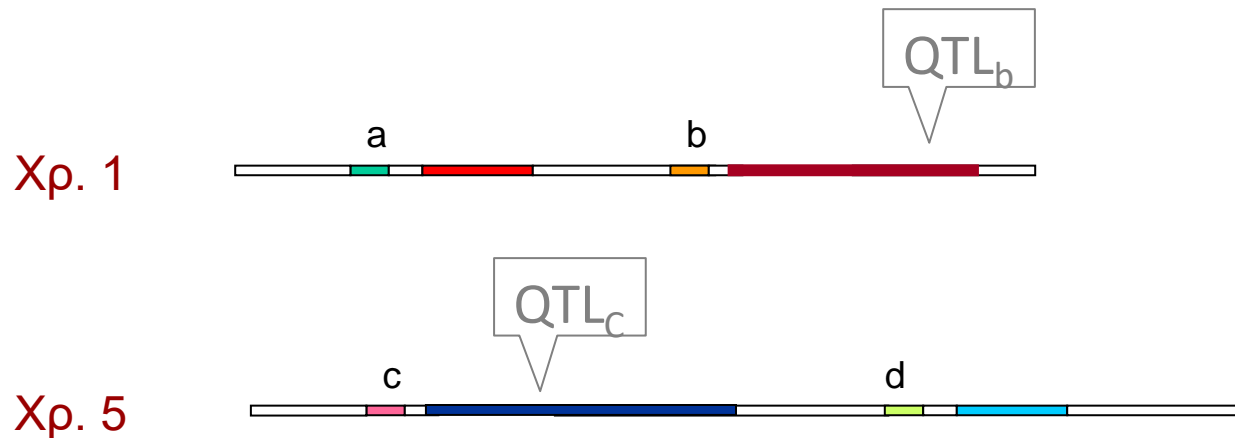
E2/E3

E4/E8

E2/E4

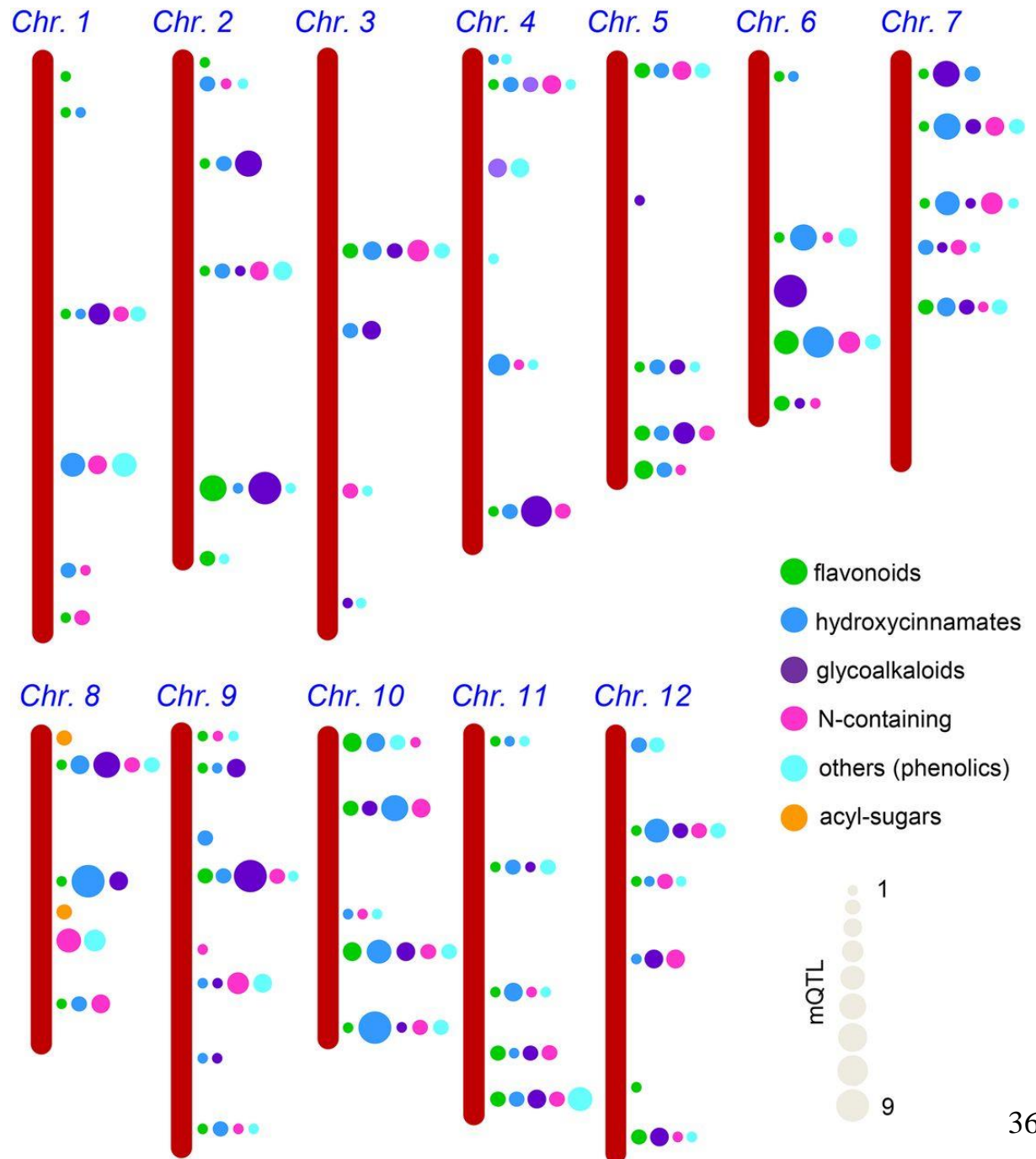


## Χάρτες σύνδεσης των μοριακών δεικτών (SNPs) με QTLs:

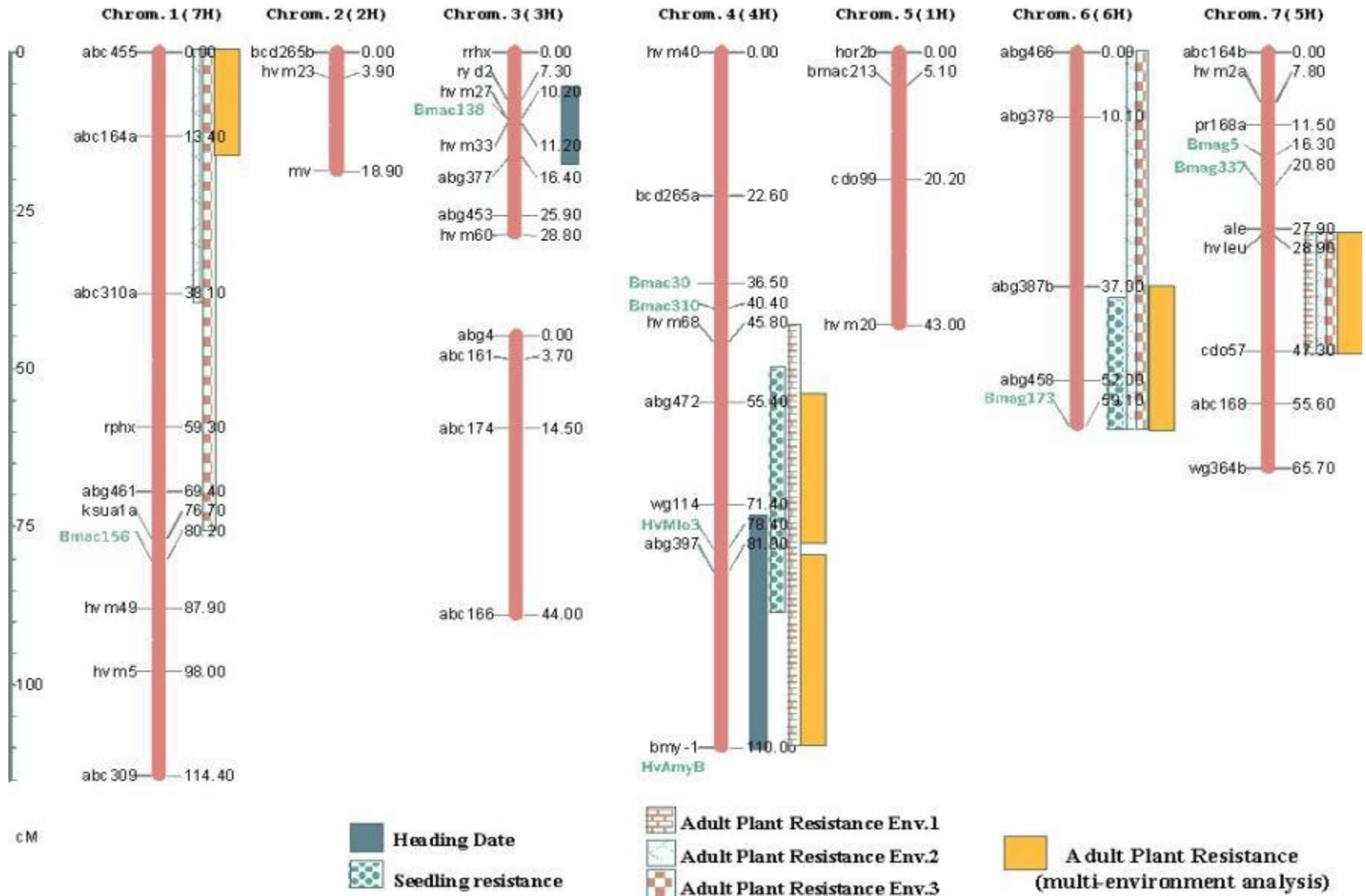


Τα ποσοτικά γνωρίσματα συνδέονται με QTLs που είναι χρωμοσωμικές περιοχές (100δες – χιλιάδες 100δες νουκλεοτίδια) διάσπαρτες στο γονιδίωμα και προσδιορίζονται μέσω συσχετίσεων δεικτών με φαινοτυπικές τιμές του ποσοτικού γνωρίσματος

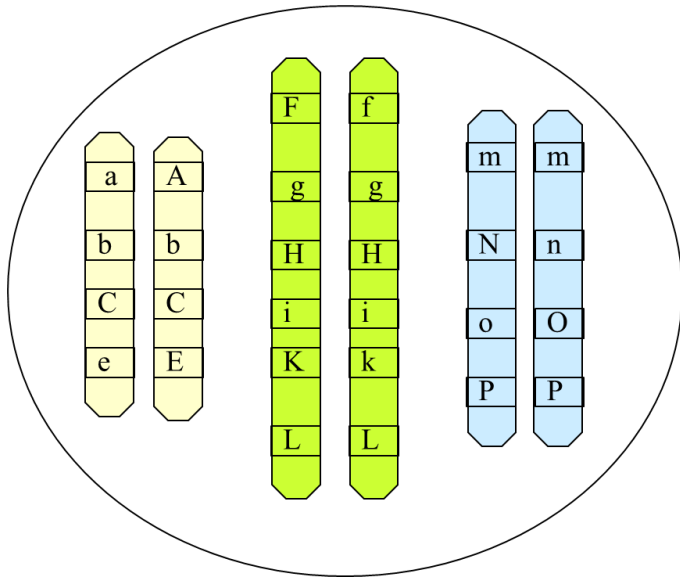
Η εικόνα δείχνει QTLs στην τομάτα που αφορούν τη σύσταση του καρπού σε διάφορες ενώσεις. Οι κύκλοι (διαφορετικό χρώμα για κάθε γνώρισμα) αντιστοιχούν στις θέσεις του γονιδιώματος που αφορούν το γνώρισμα. Το μέγεθος του κύκλου είναι ανάλογο του αριθμού QTLs που εμπλέκονται σε κάθε γνώρισμα.



# Barley stripe rust (caused by *Puccinia striiformis* f.sp. *hordei*)



**ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ**  
**Marker Assisted Selection (MAS)**



Ποσοτικά γνώρισμα (μειωμένη κληρονομικότητα)

- γενετική σύνθεση
- κυριαρχία/επίσταση
- περιβάλλον



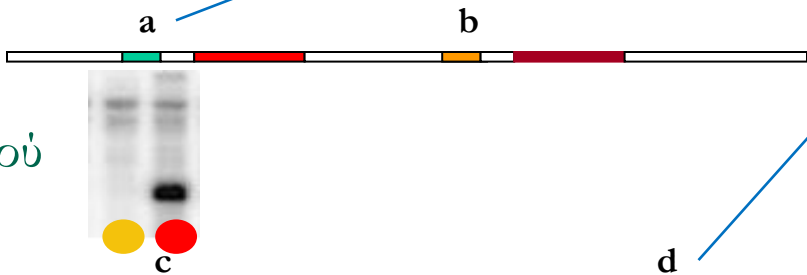
ΜΕΙΩΜΕΝΗ  
ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑ



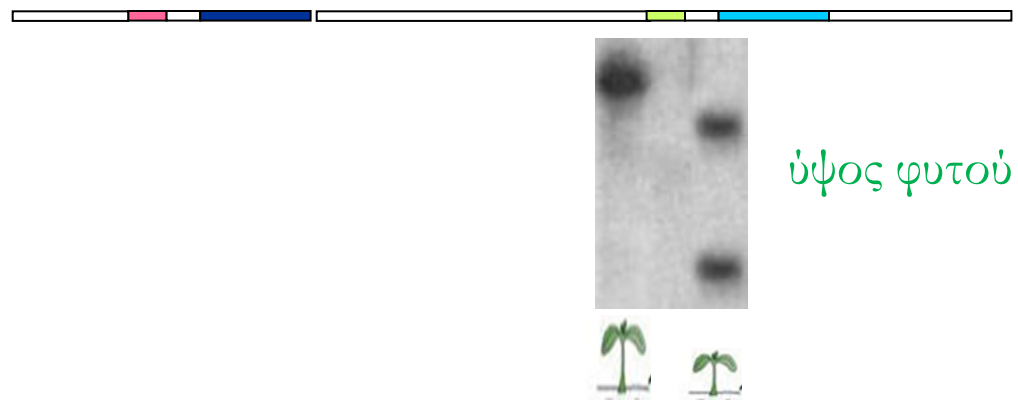
ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΓΑΛΟΥ  
ΑΡΙΘΜΟΥ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ

# Χάρτες σύνδεσης των μοριακών δεικτών:

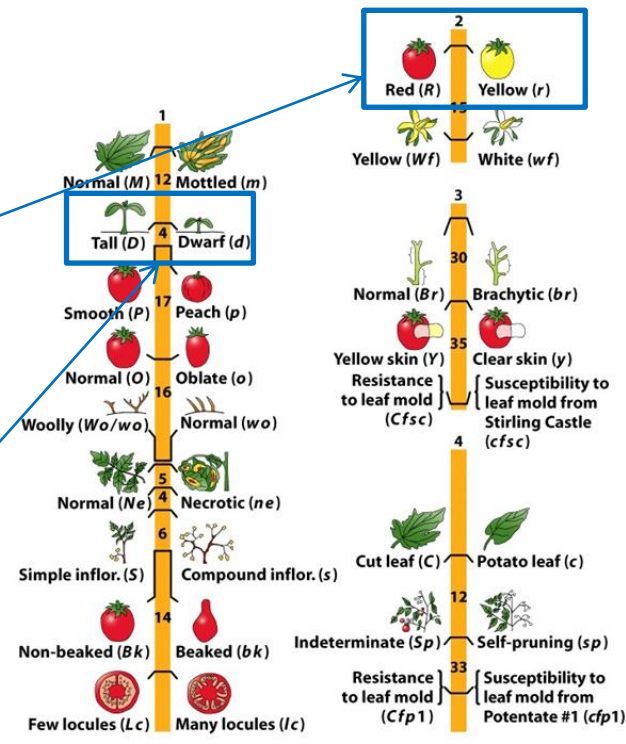
**Χρ. 1**  
χρώμα καρπού



**Χρ. 5**

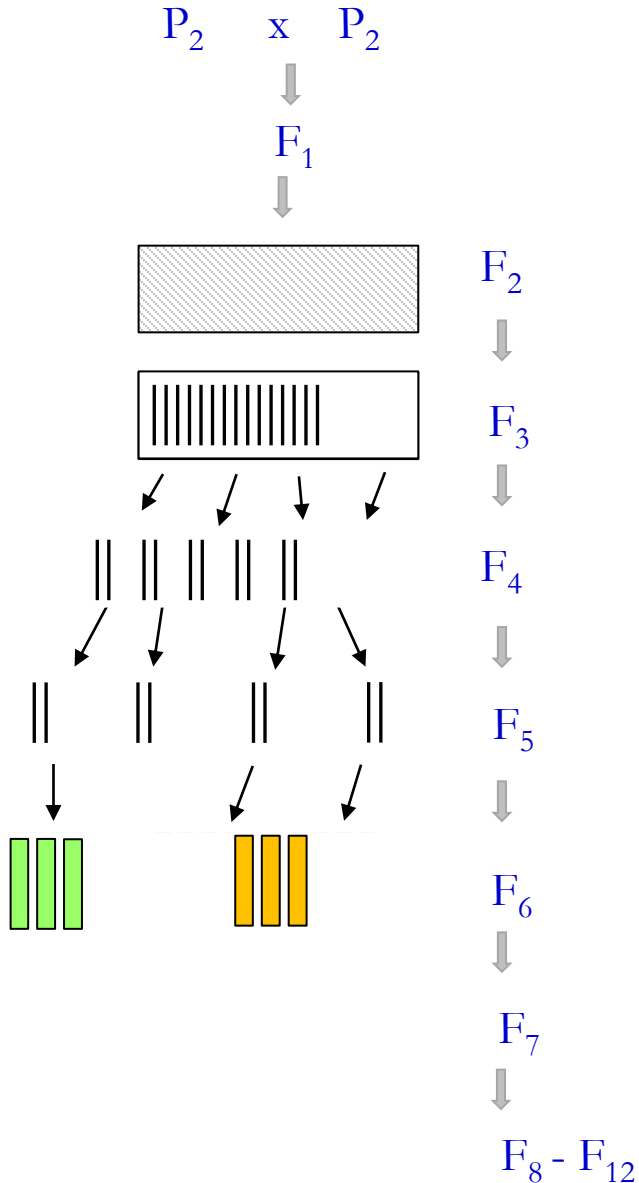


ύψος φυτού





# ΤΟ ΤΥΠΙΚΟ ΒΕΛΤΙΩΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ



## ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗΝ ΚΛΑΣΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ:

Η χρήση δεικτών δίνει τη δυνατότητα διαλογής των υπό αξιολόγηση γονοτύπων πριν μπουν στο χωράφι, είτε πρόκειται για υλικό στο οποίο θα εφαρμοστεί επιλογή είτε πρόκειται για απογονικό έλεγχο, ώστε να αξιολογούνται μόνο φυτά και οικογένειες που φέρουν την επιθυμητή χρωμοσωμική περιοχή (πχ αντοχής σε κάποια ασθένεια).



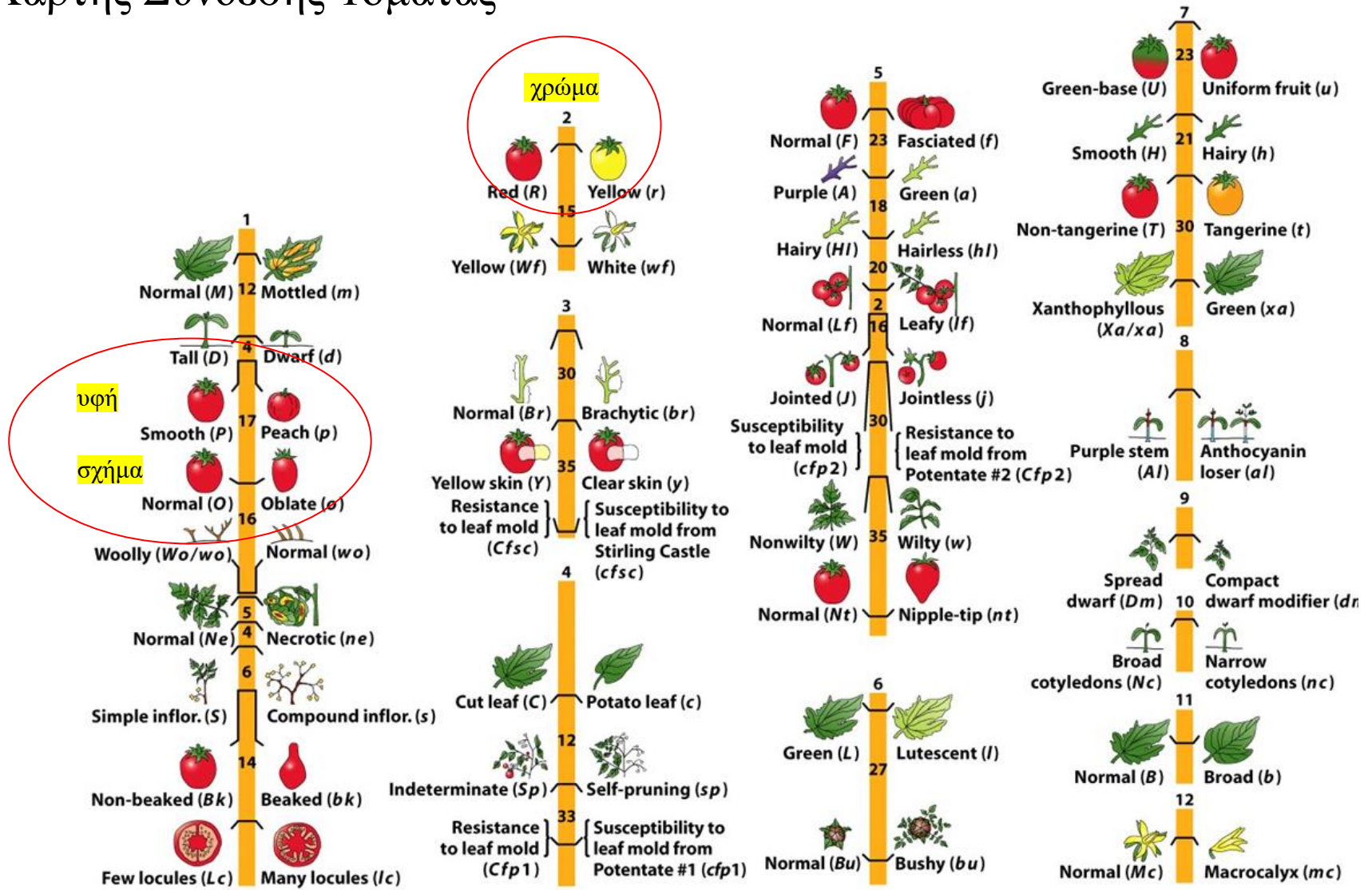
- μείωση φόρτου
- ακρίβεια
- ταχύτητα

# ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ

## Marker Assisted Selection (MAS)

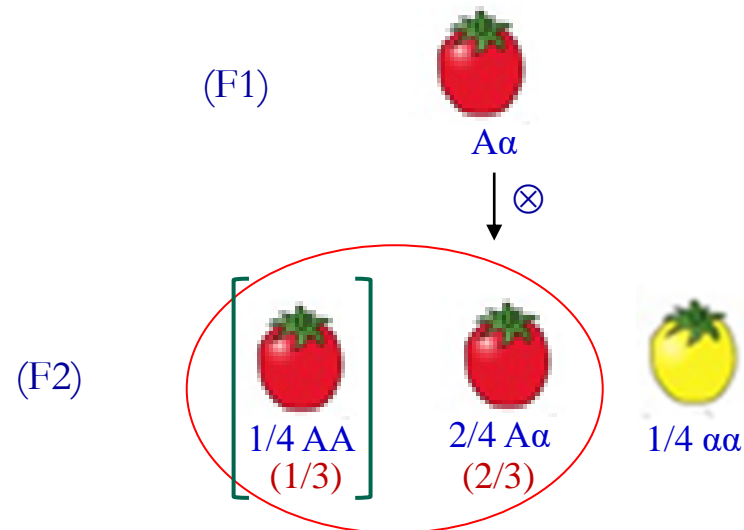
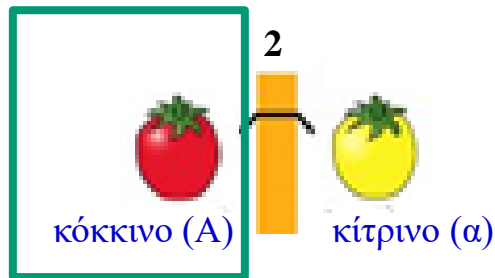
A. Επιλογή για ποιοτικά γνωρίσματα

# Χάρτης Σύνδεσης Τομάτας



# ΜΑΣ ΜΟΝΟΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΩΝ

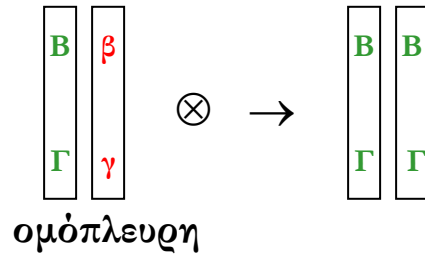
Πλήρης κυριαρχία  $A > a$



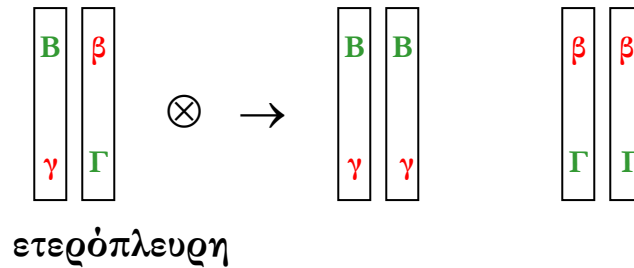
- Στην F2 ο κλασικός βελτιωτής επιλέγει όλα τα κόκκινα.
- Μοριακός δείκτης που συνδέεται με γνώρισμα θα διαχώριζε ομόζυγα και ετερόζυγα και θα μείωνε τον όγκο του απογονικού ελέγχου στην επόμενη γενεά κατά  $\sim 2/3$

# ΜΑΣ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΓΝΩΡΙΜΑΤΩΝ

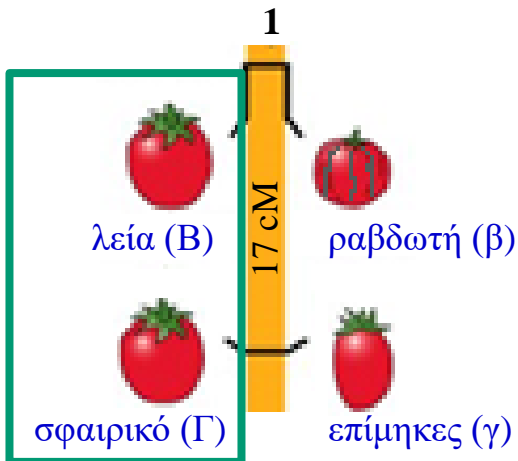
Σύνδεση

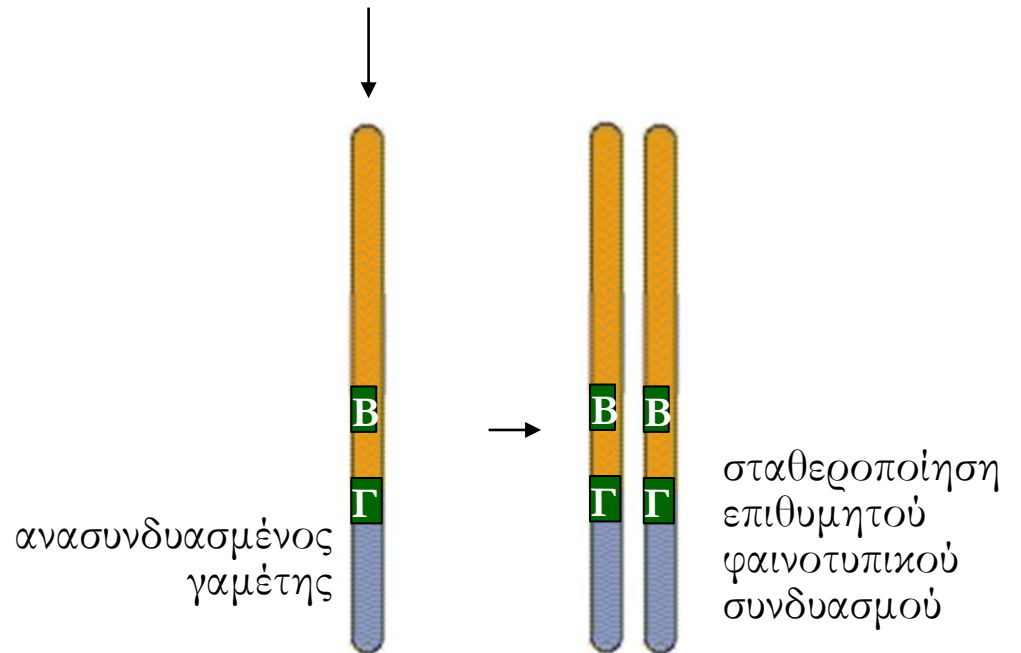
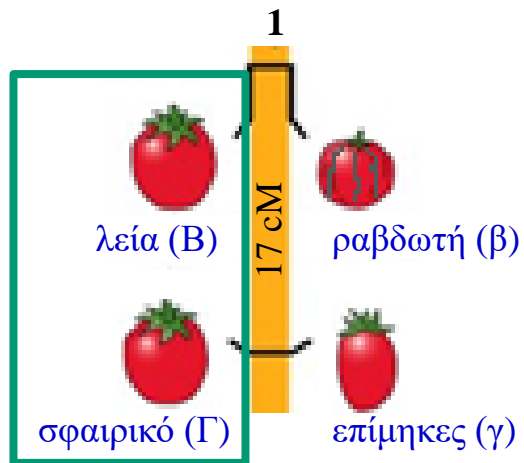
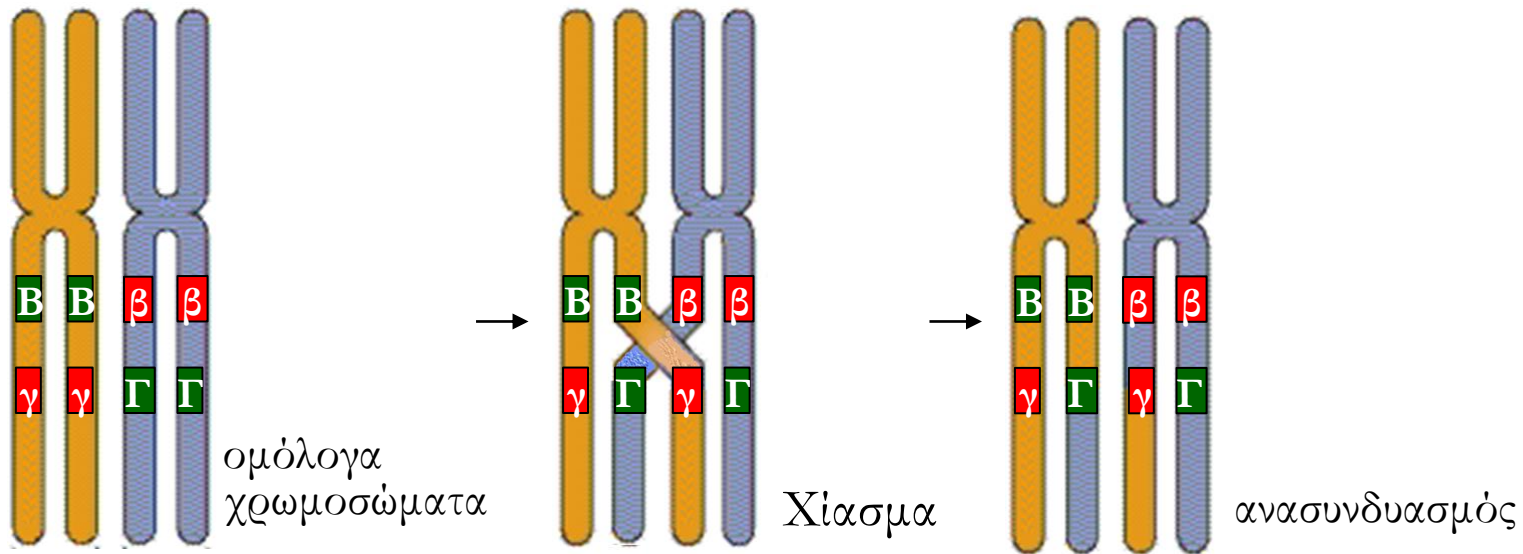


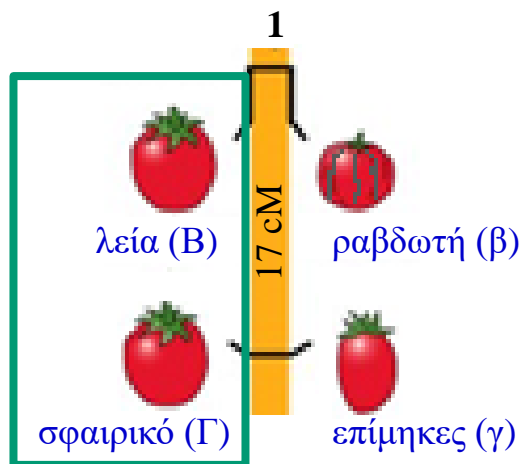
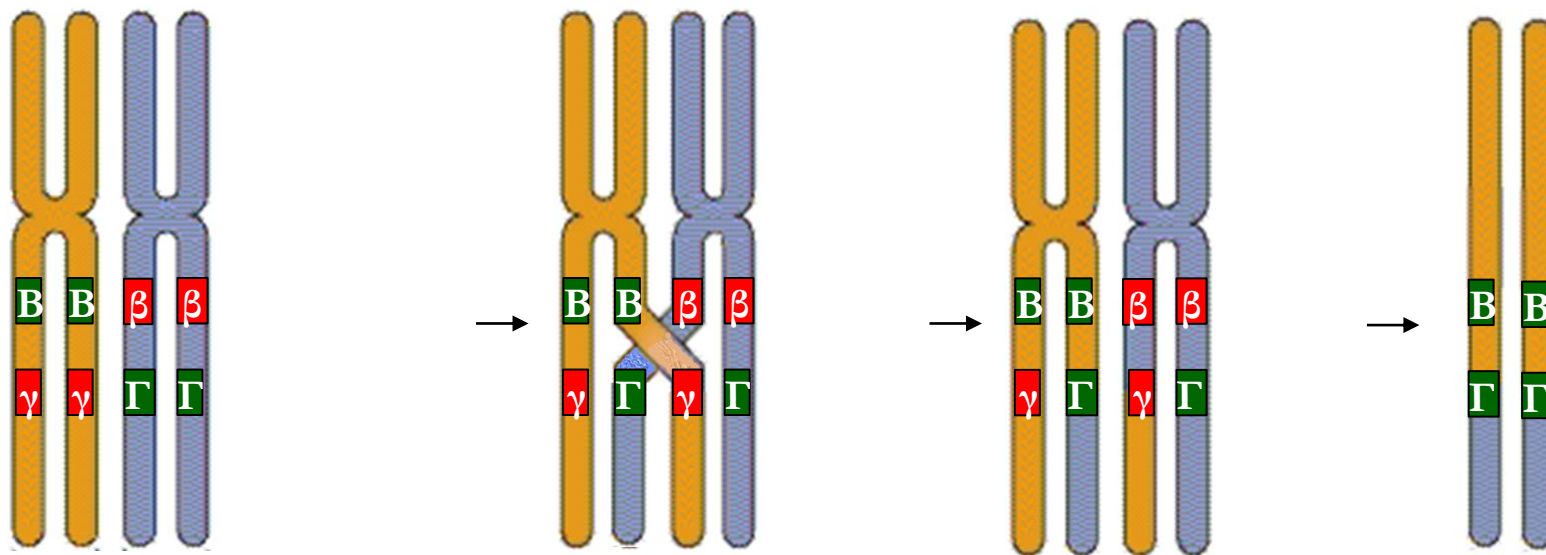
κληρονομήσιμος ο συνδυασμός των δύο γνωρισμάτων



μη κληρονομήσιμος ο συνδυασμός των δύο γνωρισμάτων



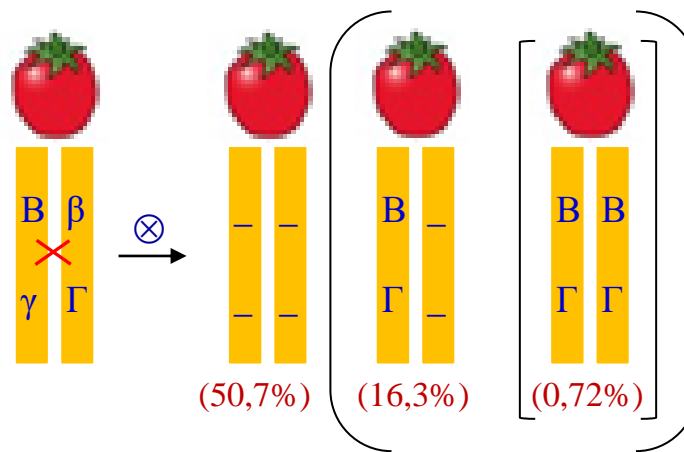
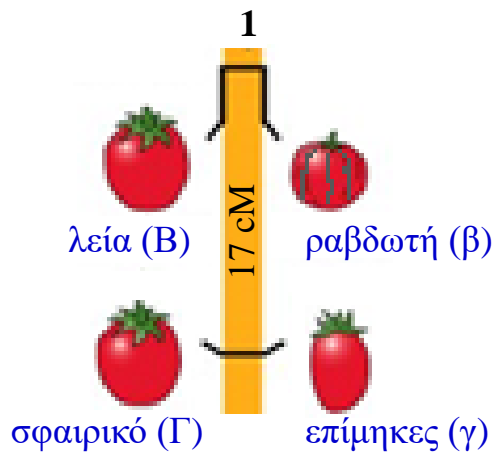




Μοριακοί δείκτες δείκτης που συνδέονται με το συγκεκριμένο ανασυνδυασμό προσδιορίζουν τα άτομα που φέρουν τον επιθυμητό γονοτυπικό συνδυασμό και η απογονική αξιολόγηση στην επόμενη γενεά γίνεται μόνο στα άτομα αυτά.

# ΜΑΣ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΓΝΩΡΙΜΑΤΩΝ

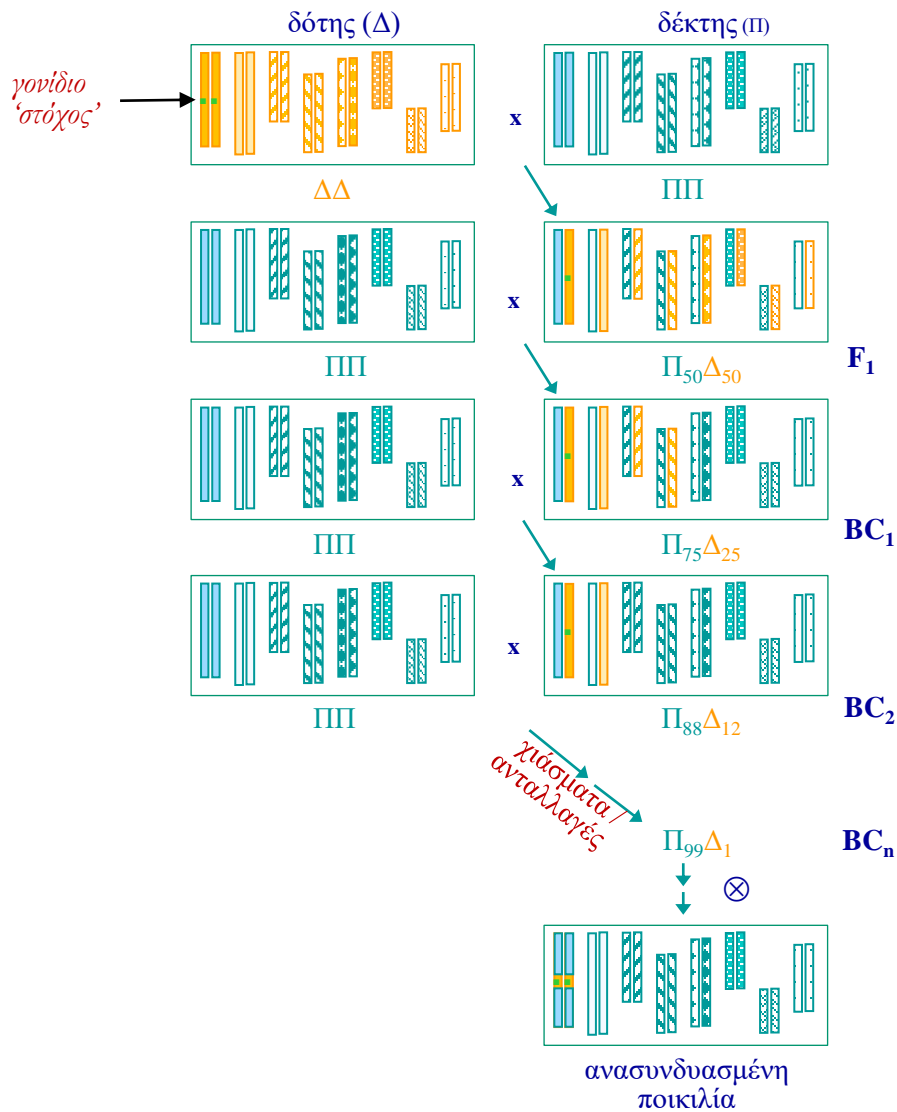
Σύνδεση



λεία υφή και σφαιρικό σχήμα (B & Γ)



# Κλασική αναδιασταύρωση



Η μοριακή επιλογή του γονιδίου 'στόχος' στη διαδικασία της αναδιασταύρωσης επιταχύνει και αυξάνει την ακρίβεια επιλογής

# ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ

## Marker Assisted Selection (MAS)

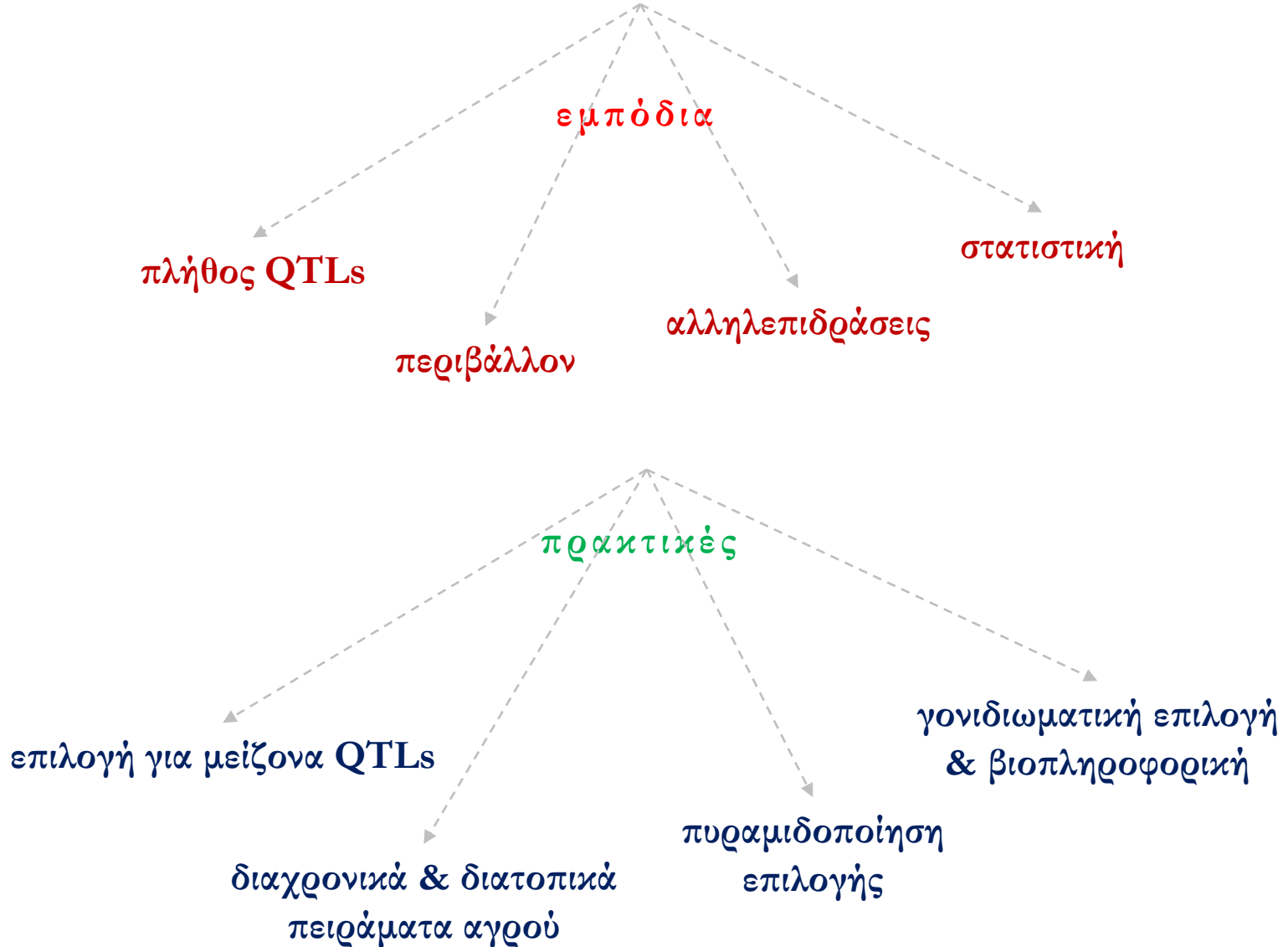
*B. Επιλογή για ποσοτικά γνωρίσματα*

# ΜΑΣ ΠΟΣΟΤΙΚΩΝ ΓΝΩΡΙΜΑΤΩΝ

## εμπόδια

- Η μεγάλη αλληλεπίδραση QTL – περιβάλλοντος καθιστά τη φαινοτυπική έκφραση ασταθή από περιοχή σε περιοχή αλλά και από χρονιά σε χρονιά
- Η έλλειψη καθολικότητας στη σύνδεση δεικτών με QTLs αποθαρρύνει τους βελτιωτές να εφαρμόσουν επιλογή με δείκτες
- Η έλλειψη ακρίβειας στη στατιστική ανάλυση προκαλεί υπερεκτίμηση ή υποεκτίμηση στον αριθμό των εμπλεκόμενων QTLs και της επίδρασής τους στο γνώρισμα
- Συχνά, δεν υπάρχουν (μείζονα) QTLs με σημαντικές επιδράσεις στο γνώρισμα και απαιτείται να προσδιοριστεί ένας μεγάλος αριθμός QTLs, κάτι που περιπλέκει ακόμη περισσότερο την ανίχνευση συσχετίσεων των QTLs με μοριακούς δείκτες

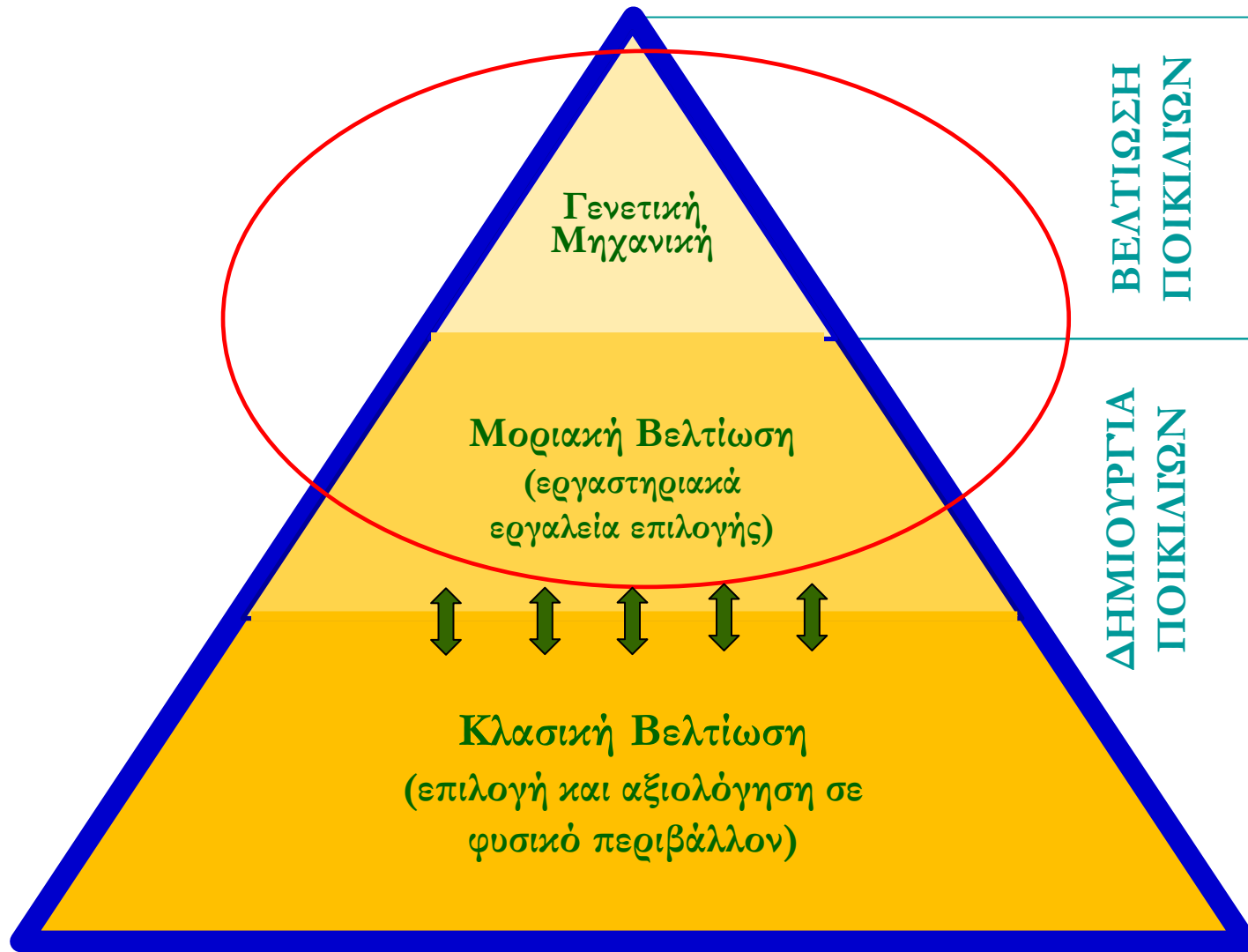
# ΜΑΣ ΠΟΣΟΤΙΚΩΝ ΓΝΩΡΙΜΑΤΩΝ



# ΕΠΙΛΟΓΟΣ

Εν κατακλείδι,

Η κλασική βελτίωση είναι «υποχρεωμένη» να προσεγγίζει τα γνωρίσματα έμμεσα (φαινοτυπικά), γιατί είναι πολυσύνθετα (ποσοτικά) των οποίων η κληρονομικότητα επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, γενετικούς και μη γενετικούς. Οι παράγοντες αυτοί μειώνουν την κληρονομικότητα και κατ' επέκταση την αποτελεσματικότητα επιλογής με βάση τον φαινότυπο. Η μοριακή βελτίωση διαθέτει εργαλεία που συμβάλλουν σε βελτίωση της αποτελεσματικότητας επιλογής. Τα εργαλεία αυτά εντοπίζουν μεμονωμένα γονίδια, ταυτοποιούν γονοτύπους για ποιοτικά γνωρίσματα και εντοπίζουν χρωμοσωμικές περιοχές που αφορούν ποσοτικά γνωρίσματα. Η στενή συνεργασία μεταξύ κλασικής και μοριακής βελτίωσης ανοίγει το δρόμο για βελτίωση φυτών με μεγαλύτερη ακρίβεια, συντομότερο χρόνο, και μικρότερο κόστος.



**Η ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ ΣΤΟΝ 21<sup>ο</sup> ΑΙΩΝΑ**

# ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ

κλασική

μοριακή



- Crosses
- Selection on phenotype
- Progeny testing
- Variety registration

- Marker assisted selection
- QTL mapping
- Genomics
- Genetic transformation



## ΣΥΝΟΨΗ

- Οι στόχοι της βελτίωσης φυτών αφορούν κυρίως ποσοτικά γνωρίσματα (παραγωγικότητα, προσαρμοστικότητα, αντοχή σε καταπονήσεις)
- Η αποτελεσματικότητα επιλογής επηρεάζεται από το περιβάλλον, την αλληλεπίδραση γονοτύπου – περιβάλλοντος και τη μη κληρονομήσιμη γενετική παραλλακτικότητα
- Ένας πλήρης κύκλος βελτιωτικού προγράμματος είναι μακρόχρονος που απαιτεί ως αφετηρία μια πηγή γενετικής παραλλακτικότητας και διαδοχικές γενεές επιλογών γονοτύπων και απογονικής αξιολόγησης
- Οι μοριακοί δείκτες έχουν πολλαπλή εφαρμογή στη βελτίωση φυτών (διερεύνηση γενετικής συγγένειας, χάρτες σύνδεσης δεικτών με γνωρίσματα, εντοπισμός QTLs, επιλογή γονοτύπων
- Η επιλογή με μοριακούς δείκτες, όπου είναι εφικτή, αυξάνει την ακρίβεια επιλογής και επιταχύνει το βελτιωτικό πρόγραμμα
- Η επιλογή με μοριακούς δείκτες έχει μεγάλη εφαρμογή στα ποιοτικά (μονογονιδιακά και ολιγονιδιακά) γνωρίσματα και μεμονωμένα QTLs.
- Η επιλογή με μοριακούς δείκτες έχει περιορισμένη εφαρμογή στα ποσοτικά γνωρίσματα. Η ανάπτυξη της βιοπληροφορικής και πλήθος δεικτών μεγάλης πυκνότητας (SNPs) ανοίγουν το δρόμο για τη γονιδιωματική επιλογή για πολλαπλά QTLs