

# ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ & ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΦΥΤΩΝ

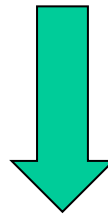


## Γενετική Βελτίωση Φυτών\_1 (αρχές)

*Ιωάννης Τοκατλίδης*

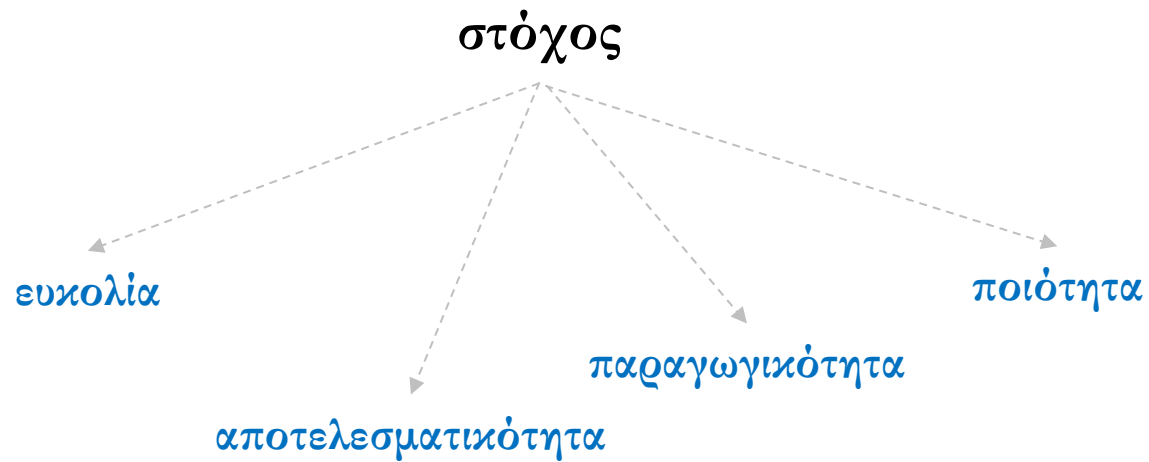
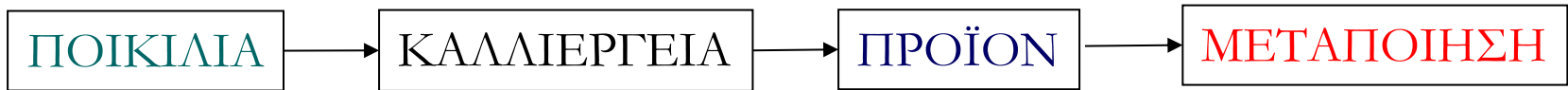


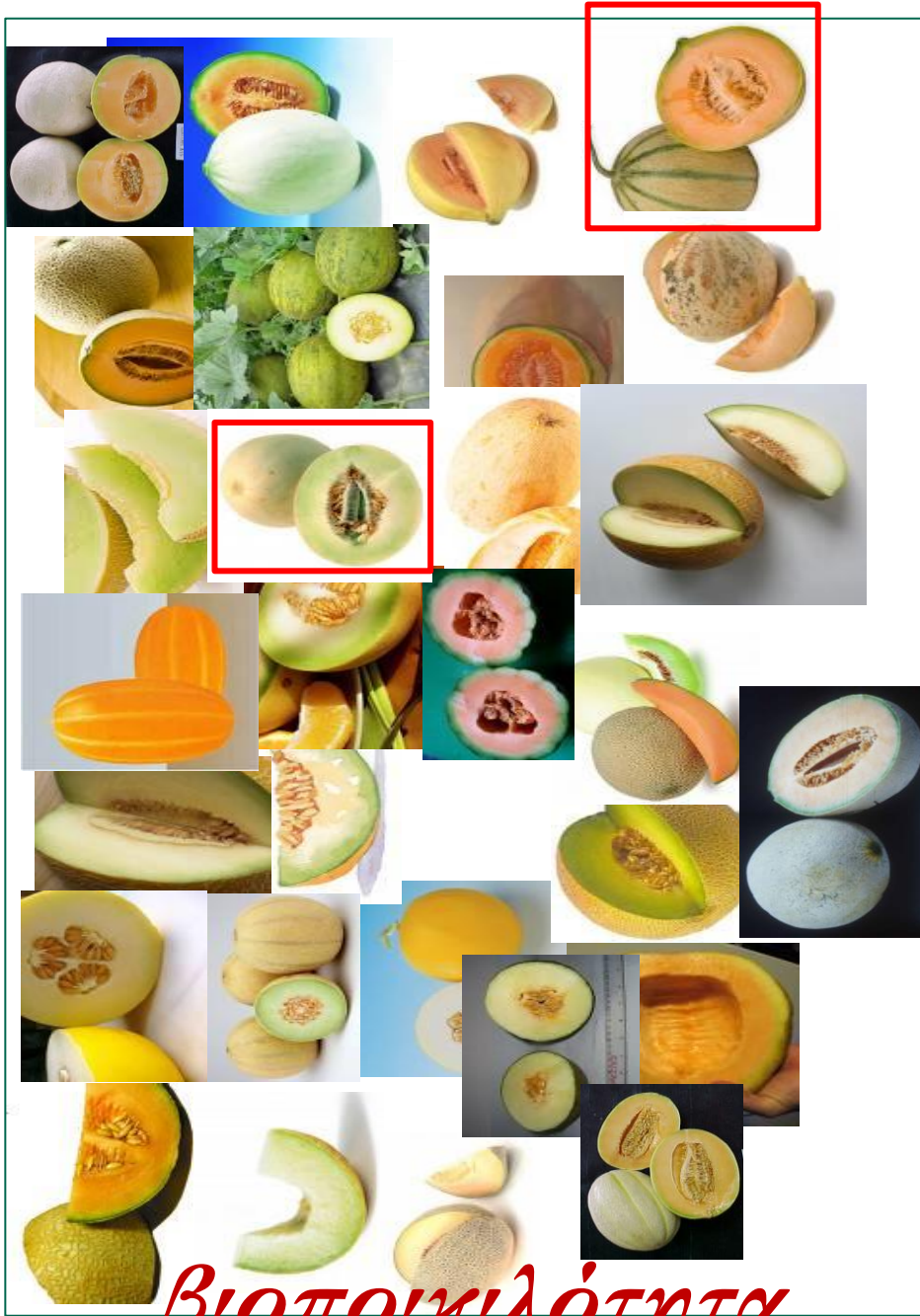
ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ



ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΝΕΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΔΩΝ

# ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

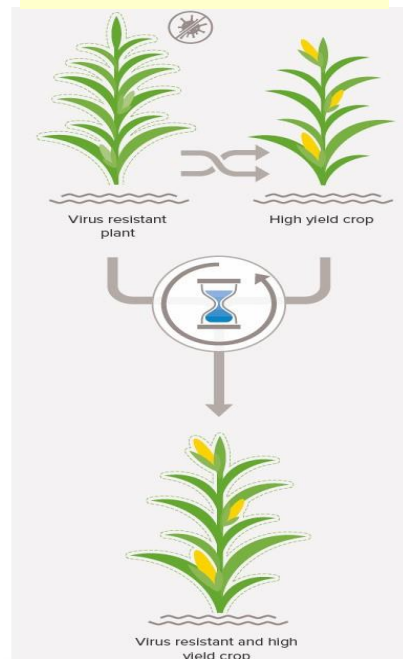




*βιοποικιλότητα*

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ

Κλασική Γ.Β.Φ.



*καλλιέργεια*

# Η ΕΝΝΟΙΑ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ

Ομάδα φυτών καλλιεργούμενου είδους με ορισμένους σταθερούς μορφολογικούς, φυσιολογικούς, χημικούς, κ.α χαρακτηριστές, που κατά την αναπαραγωγή διατηρούνται και στους απογόνους.

Σιτάρι μαλακό



Βαμβάκι

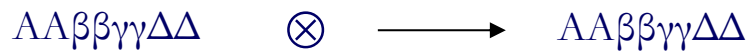


# ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ

## A. ΜΟΝΟ-ΓΟΝΟΤΥΠΙΚΕΣ

(γενετικά ομοιογενείς)

1. Καθαρές σειρές (ομοζύγωτες):



‘κληρονομούν σταθερά’

2. Υβρίδια : (ετεροζύγωτες)



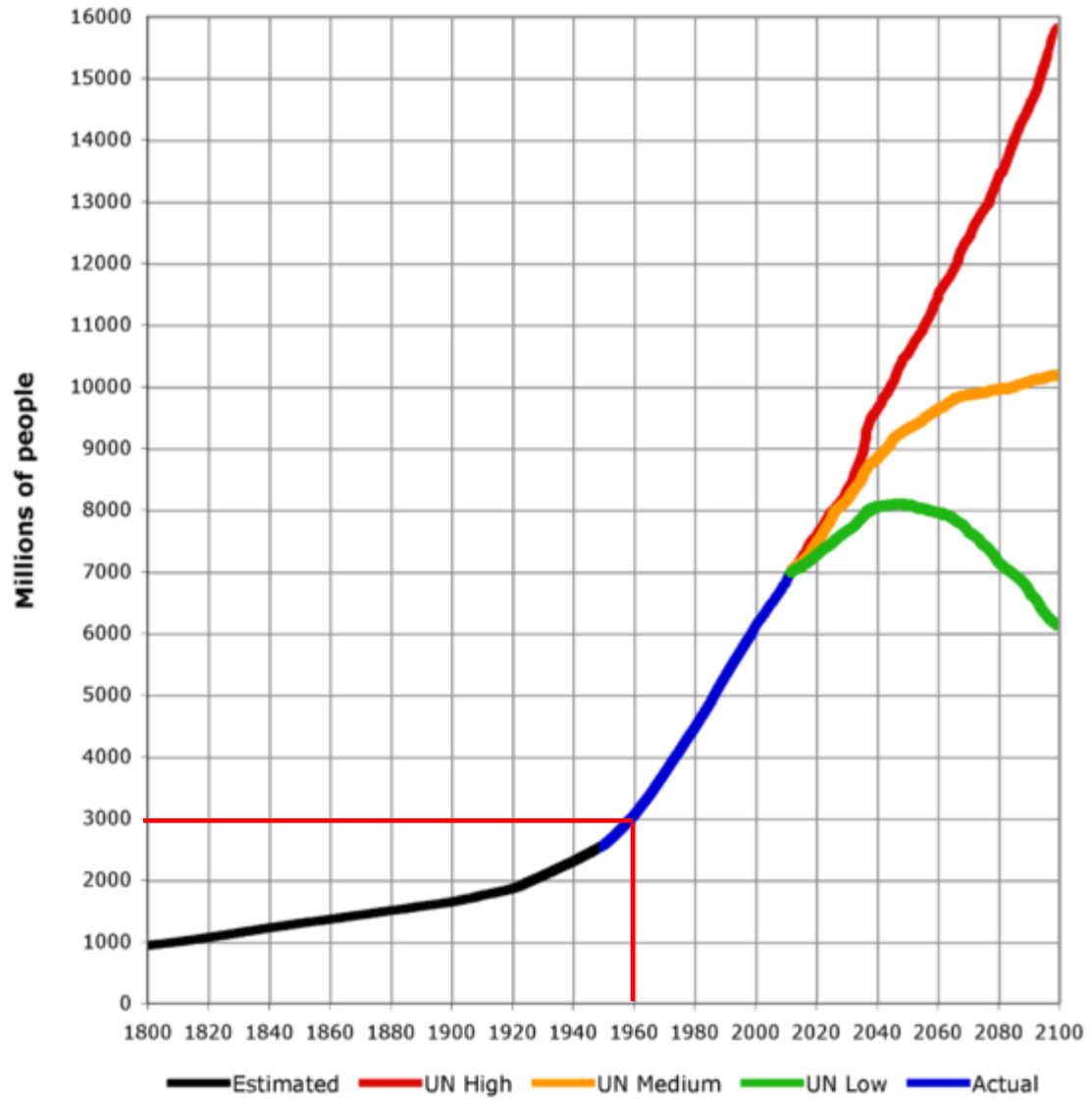
$\otimes$

$\longrightarrow$

γενετική διάσπαση

## B. ΠΟΛΥ-ΓΟΝΟΤΥΠΙΚΕΣ (γενετικά ετερογενείς):

Πληθυσμοί (μίγμα γονοτύπων)





# GREEN REVOLUTION

Norman Borlaug (1914-2009)

**Nobel Peace Prize (1970)**



## ΚΑΤΕΥΘΥΝΟΥΣΑ ΕΠΙΛΟΓΗ



Η μείωση του ύψους στο σιτάρι με τεχνητή επιλογή συνέβαλλε σε δημιουργία ποικιλιών με αντοχή στο πλάγιασμα

# Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo

- Regions
  - Africa
  - Asia
  - Latin America
- Technologies
- Climate Change
- Gender
- Nutrition
- Capacity building
- Food Security
- Topics in focus

### OUR MISSION

Maize and Wheat Science for Improved Livelihoods

[READ MORE](#)

### OUR SERVICES

Order seed  
Data requests

### STRATEGIC PLAN 2017-2022

### LATEST NEWS

- New infographics illustrate impact of wheat blast
- New partnership announced for sustainable maize production in Colombia
- Breaking Ground: Fernando H. Toledo researches new models of analysis under simulated scenarios
- Experts analyze food systems at EAT-Lancet Commission report launch in Ethiopia
- Precision planters boost maize yields in Pakistan

[MORE](#)

### FEATURED VIDEO

Turning research into impact for 50 years

## RESEARCH THEMES

- TECHNOLOGIES
- CLIMATE CHANGE
- GENDER
- NUTRITION
- CAPACITY BUILDING
- FOOD SECURITY

### RECENT PUBLICATIONS

New publication: Role of Modelling in International Crop Research

New publications: Climate change impact and adaptation for wheat protein

### UPCOMING EVENT

May 27, 2019

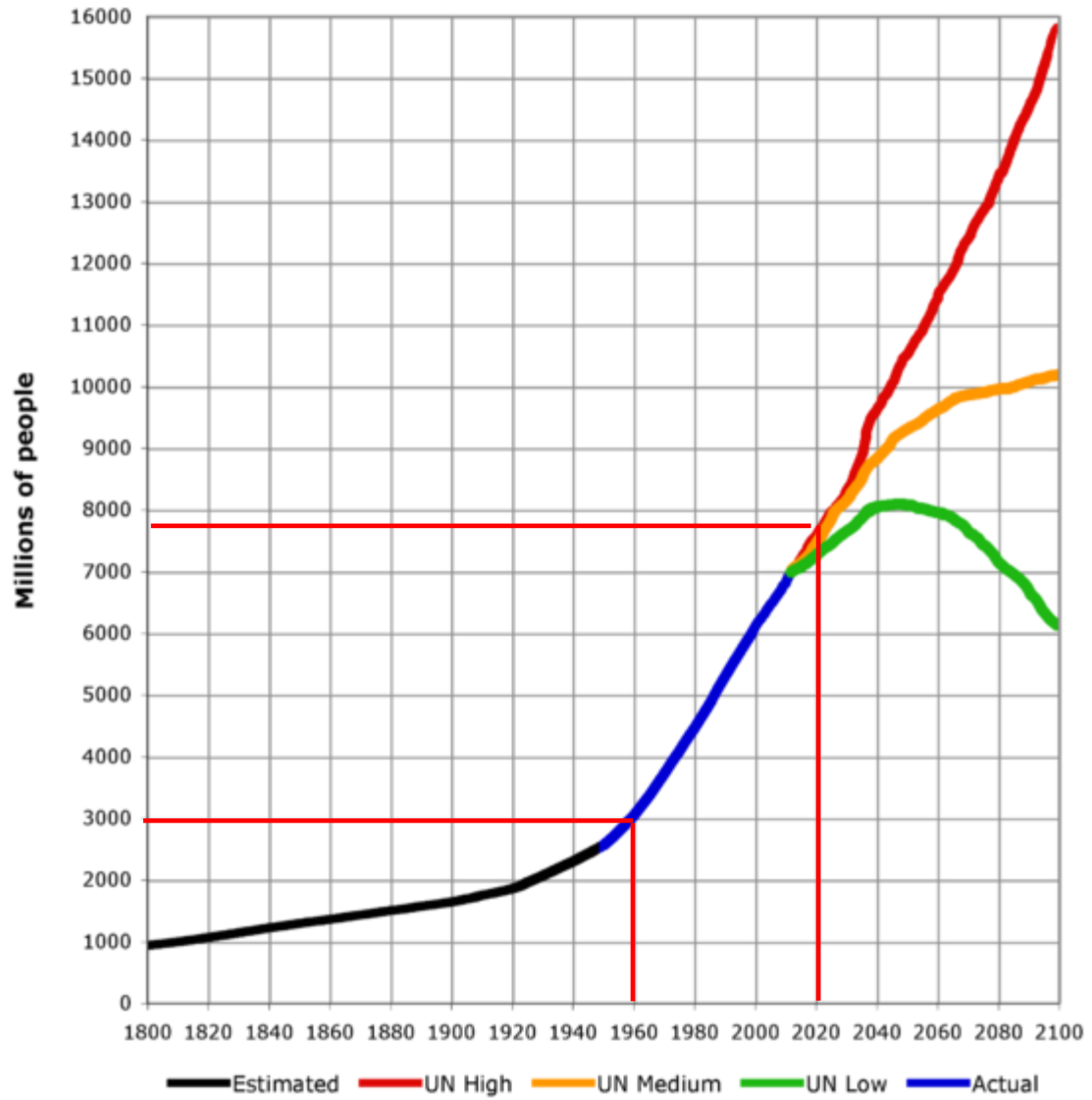
[Conservation agriculture-based innovation systems](#)

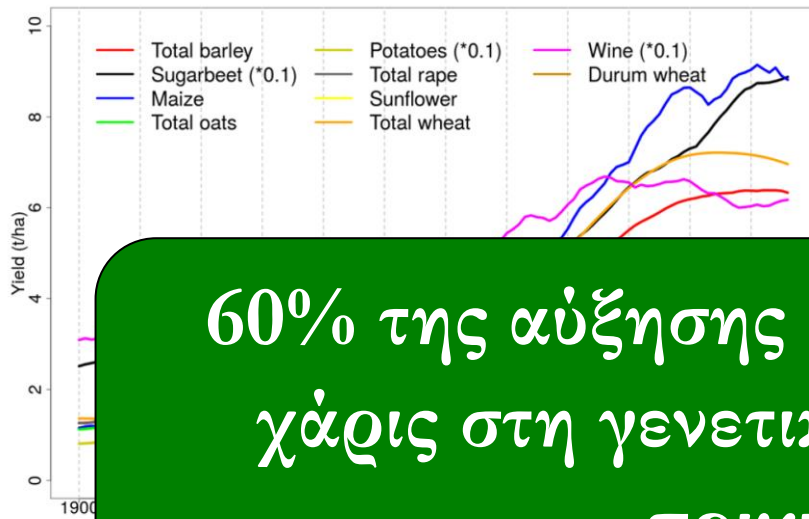
# Κέντρα Έρευνας μέλη του διεθνούς δικτύου CGIAR (Consultative Group on International Agricultural Research)

Κέντρο	Χώρα έδρας
International Maize and Wheat Improvement Centre (CIMMYT)	Μεξικό
International Rice Research Institute (IRRI)	Φιλιππίνες
International Centre for Tropical Agriculture (CIAT)	Κολομβία
International Institute of Tropical Agriculture (IITA)	Νιγηρία
International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA)	Λίβανος
Africa Rice Centre (West Africa Rice Development Association, WARDA)	Ακτή Ελεφαντοστού, Μπενίν
Bioversity International	Ιταλία
Centre for International Forestry Research (CIFOR)	Ινδονησία
International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT)	Ινδία
International Food Policy Research Institute (IFPRI)	Η.Π.Α.
International Livestock Research Institute (ILRI)	Κένυα
International Potato Centre (CIP)	Περού
International Water Management Institute (IWMI)	Σρι Λάνκα
World Agroforestry Centre (International Centre for Research in Agroforestry, ICRAF)	Κένυα
World Fish Centre (International Centre for Living Aquatic Resources Management, ICLARM)	Μαλαισία

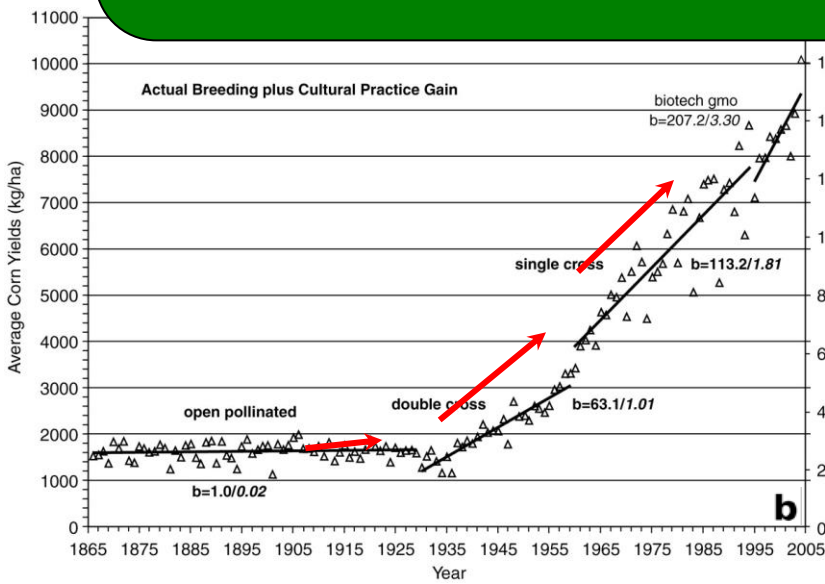
# Εθνικά Ιδρύματα Έρευνας μέλη του Ευρωπαϊκού δικτύου EVA (European Evaluation Network)

Κέντρο	Χώρα
Institute of Plant Genetic Resources (Agricultural University of Tirana)	Αλβανία
Scientific Center Vegetables and Industrial Crops Ss Cyril and Methodius University in Skopje	Αρμενία Βόρεια Μακεδονία
Institute of Plant Genetic Resources “Konstantin Malkov” - Sadovo INRAE GQÉ le Moulon, Gif sur Yvette	Βουλγαρία Γαλλία
Bavarian State Institute for Agriculture, Freising	Γερμανία
Institute of Plant Breeding and Genetic Resources (ELGO-Dimitra), Thessaloniki	Ελλάδα
Estonian Crop Research Institute, Jõgeva	Εσθονία
Germplasm Resources Unit, John Innes Centre, Norwich	Ηνωμένο Βασίλειο
Agricultural University of Iceland	Ισλανδία
The Biological Mission of Galicia, Pontevedra	Ισπανία
Institute of Plant Sciences and Genetics in Agriculture (Hebrew University of Jerusalem)	Ισραήλ
Research Center for Cereal and Industrial Crops, Bergamo	Ιταλία
University of Zagreb Faculty of Agriculture	Κροατία
Institute of Genetics and Cytology, Minsk	Λευκορωσία
National Institute of Agrarian and Veterinary Research (INIAV)	Πορτογαλία
Institute for Vegetable Crops, Smederevska Palanka	Σερβία
National Agricultural and Food Centre, Piestany	Σλοβακία
Central Research Institute of Field Crops, Ankara	Τουρκία
Natural Resources Institute Finland, Helsinki	Φινλανδία

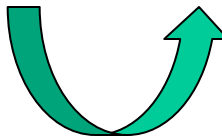
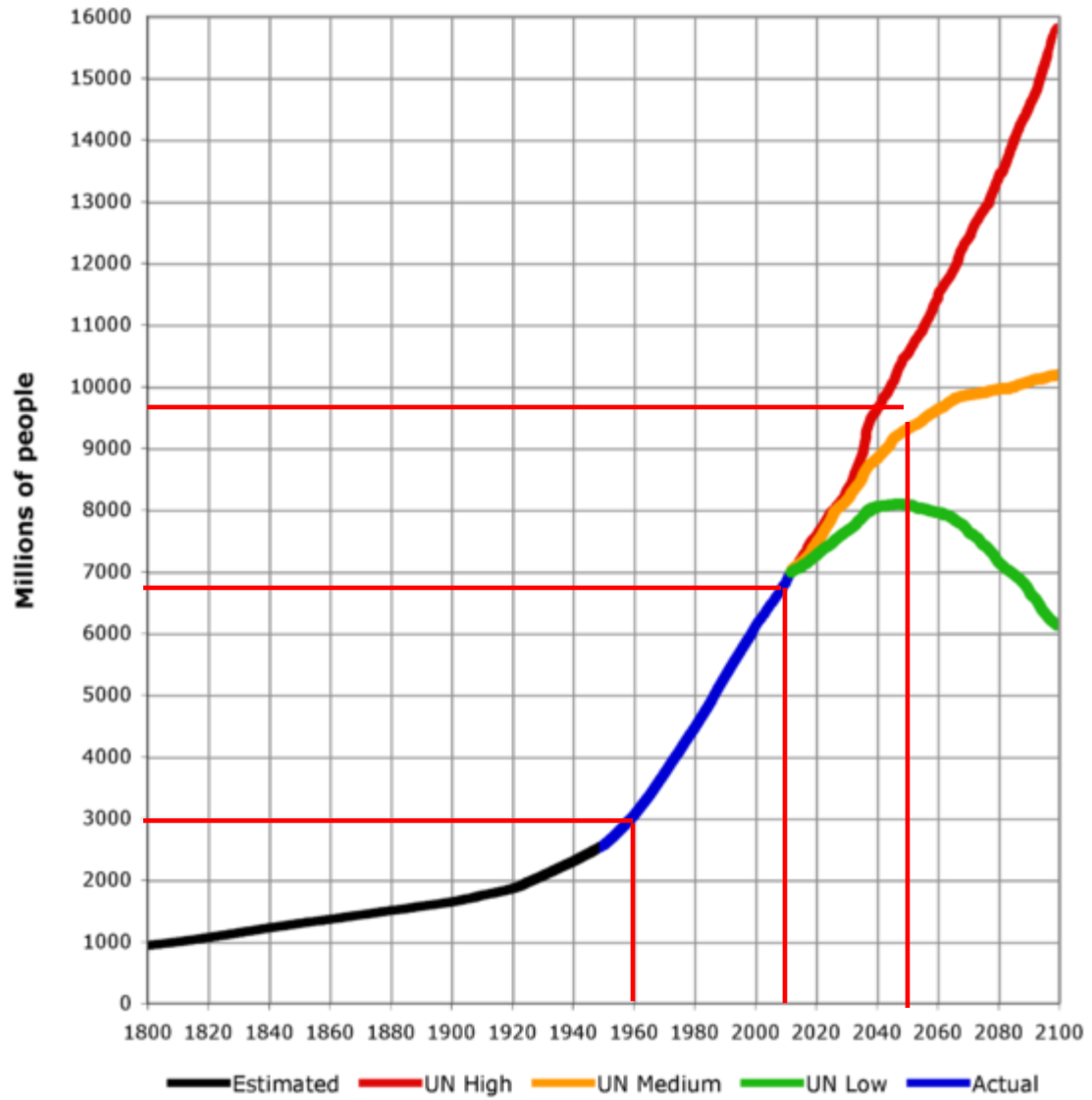




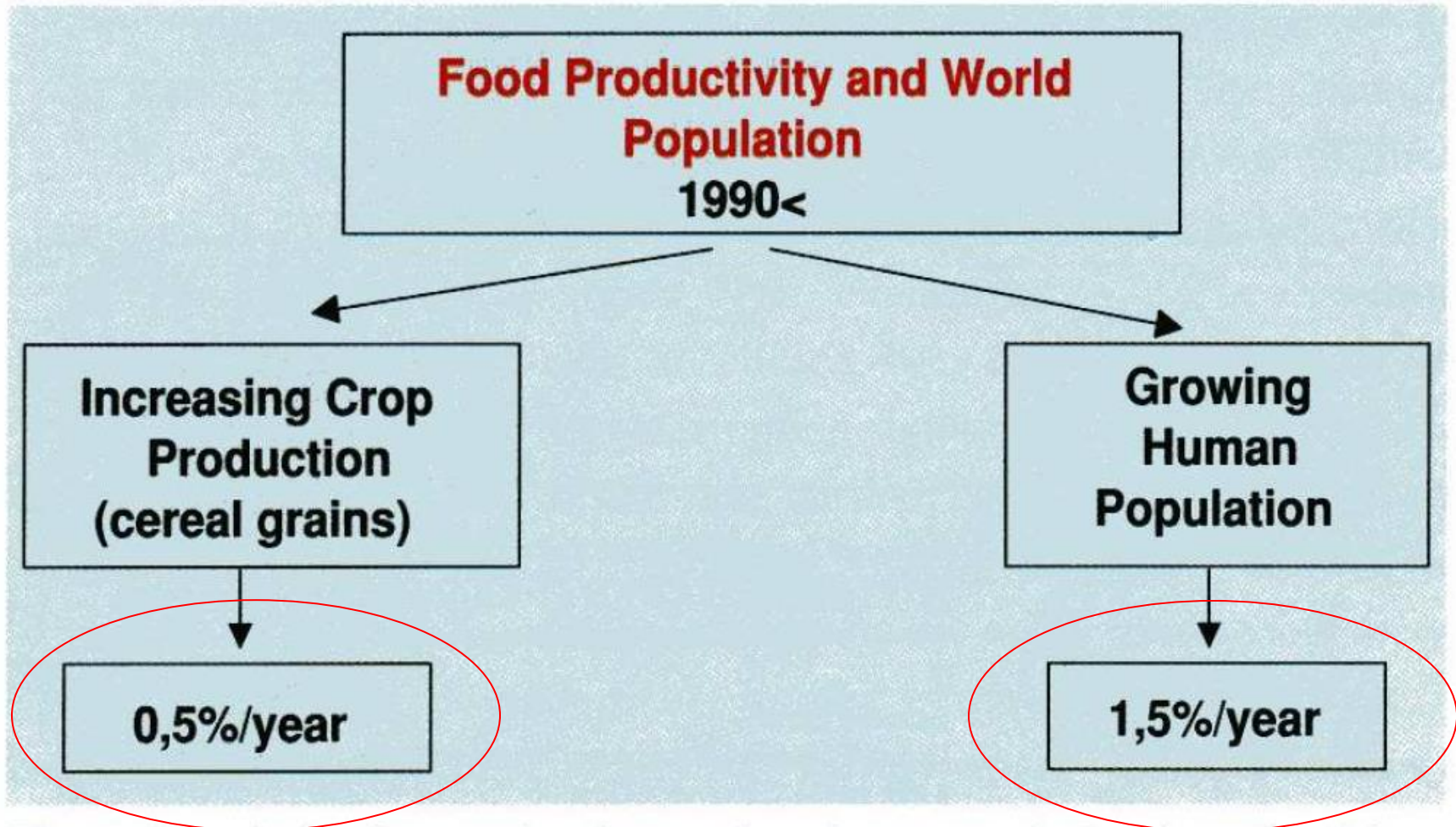
60% της αύξησης παραγωγικότητας  
 χάρις στη γενετική βελτίωση των  
 ποικιλιών



Η πράσινη επανάσταση έβαλε τη βάση για τη γενετική βελτίωση καλλιεργειών και αυξητική τάση στην παραγωγικότητα διάφορων καλλιεργειών στη Γαλλία (a), του καλαμποκιού στις ΗΠΑ (b) και του σιταριού σε διάφορες χώρες (c)



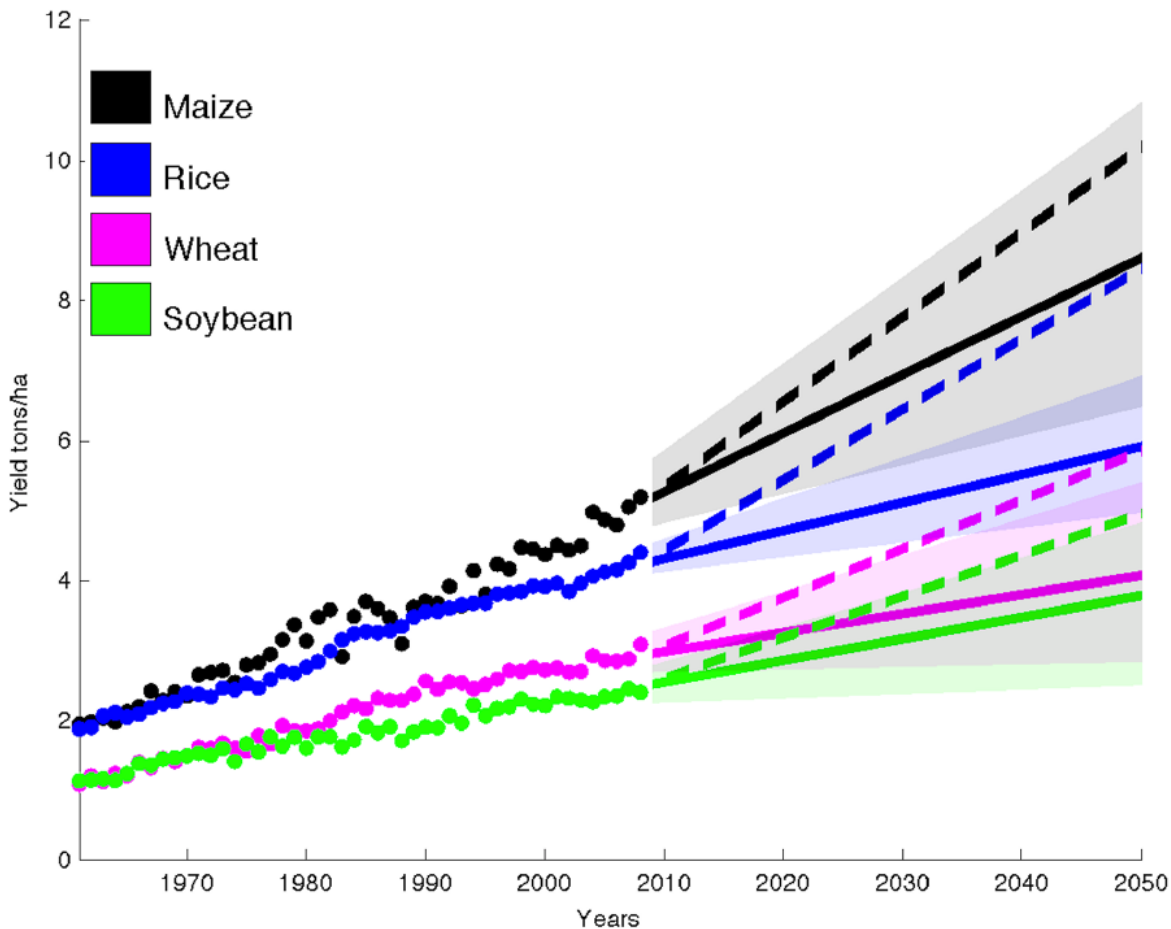
Published July 2, 2015



crops must increase by 133 million Mg to reach 282 million Mg. Ray et al. (2013) argue that the current yearly increases of crop production for maize (*Zea mays* L.) at 1.6%, rice (*Oryza sativa* L.) at 1.0%, wheat (*Triticum aestivum* L.) at 0.9%, and soybean

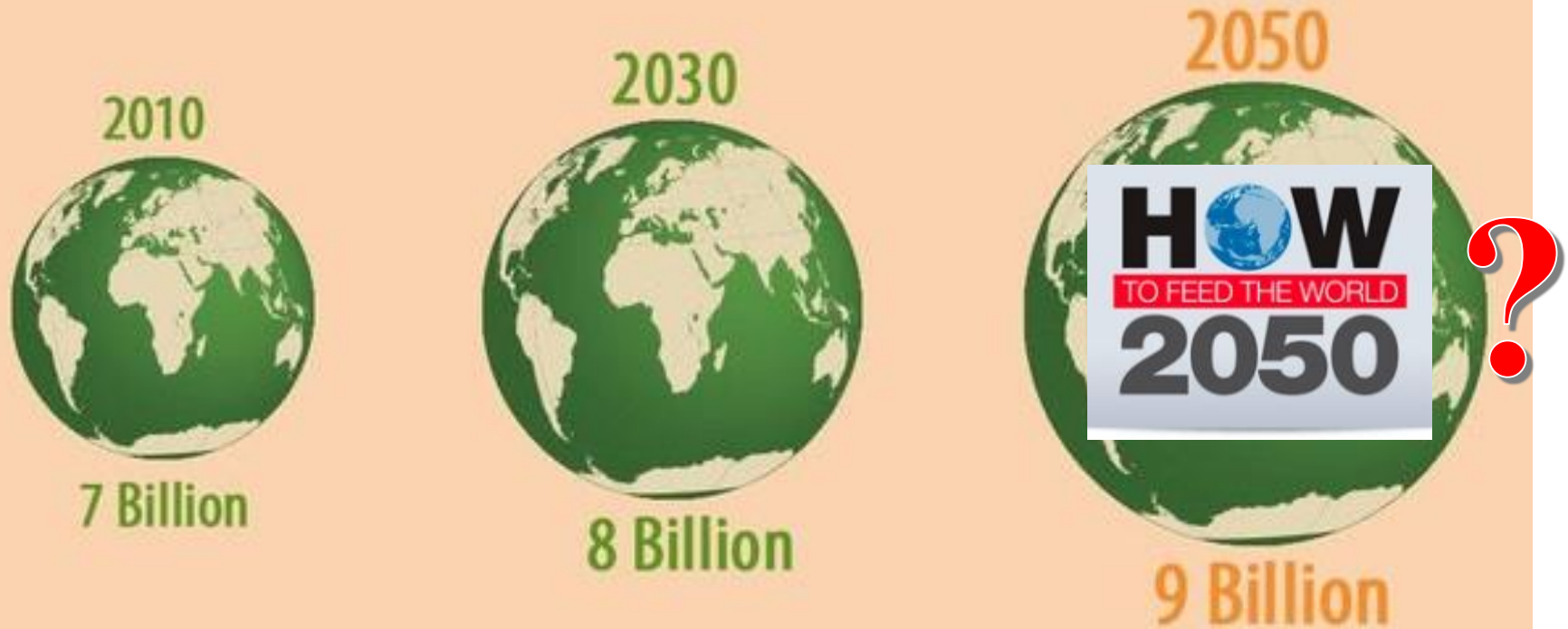
increase production. Adding to the production estimates is a call [Heszky, \*Humig Agr Res\* \(2008\)](#) sustainable path for food security (Godfray et al., 2010) because of growing competition from nonagricultural sectors for land, water, and energy. These 16 assessments illustrate the complexities of producing food and

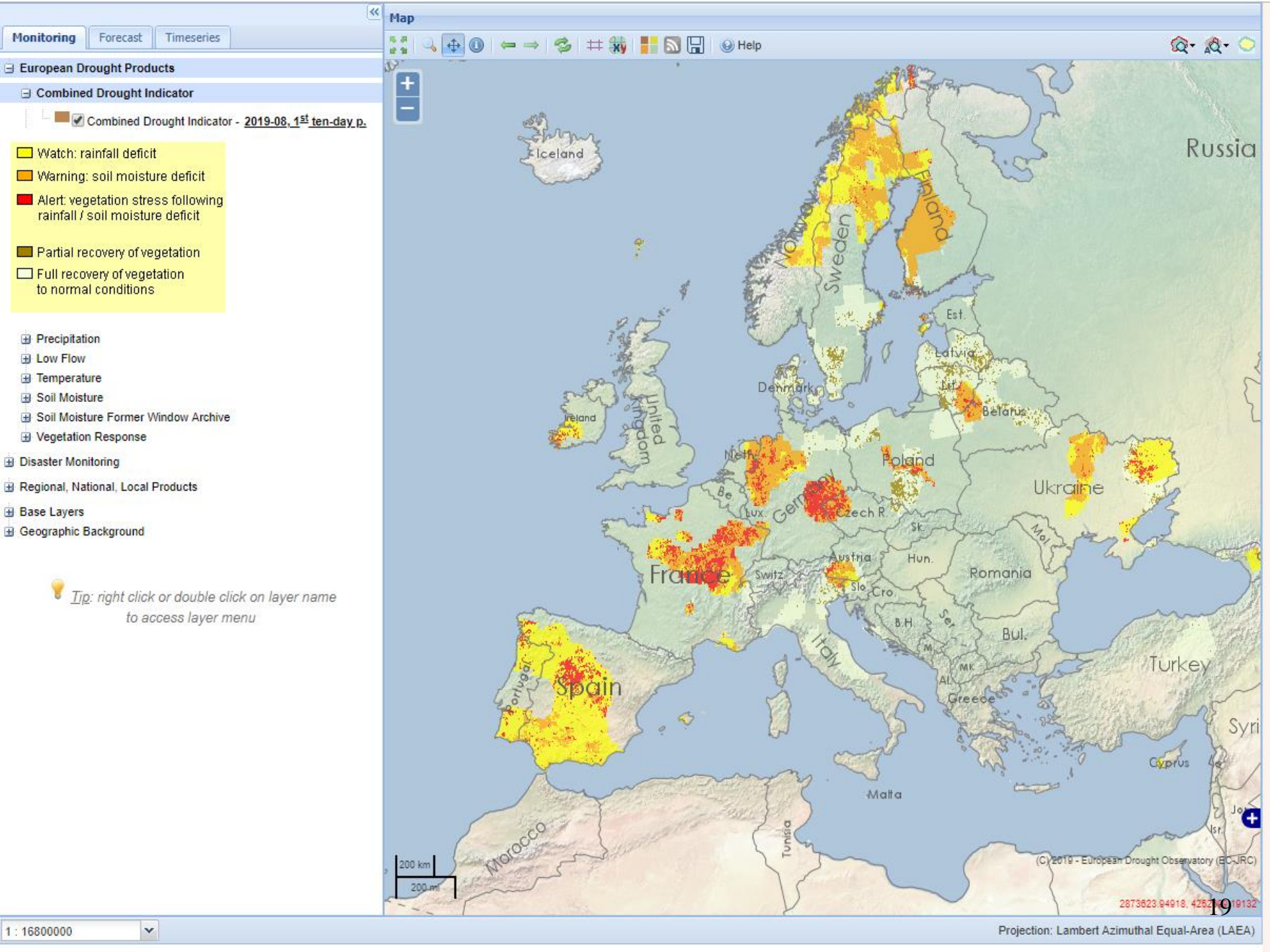




Ο παγκόσμιος ρυθμός αύξησης της παραγωγικότητας 4 μείζονος σημασίας καλλιεργειών (συνεχείς γραμμές) δεν επαρκεί για τις προσδοκώμενες ανάγκες σε συνολικά τρόφιμα το 2050 (οι διακεκομμένες γραμμές δείχνουν τον αναγκαίο ρυθμό αύξησης) (από Ray et al., 2013, Plos One)

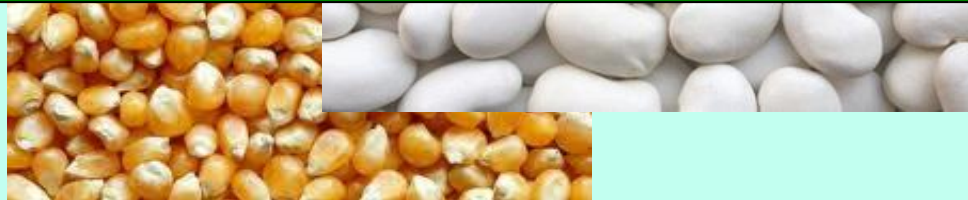
# *Global population*







## Η ποικιλία θεμέλιο βιώσιμης γεωργίας





**2012: Iowa, USA**



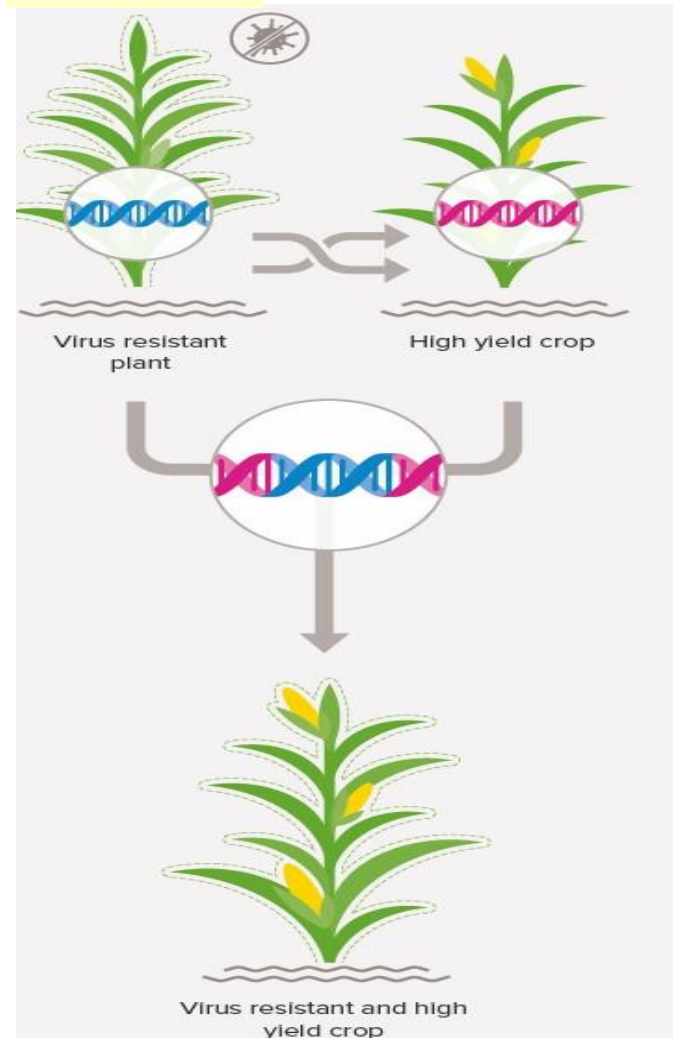
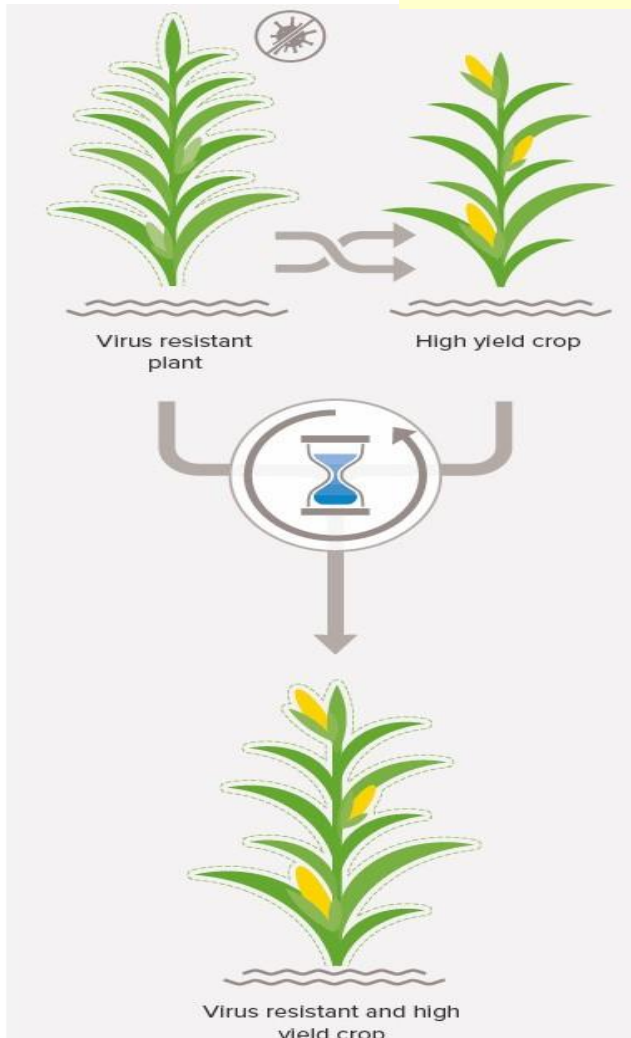
**2018: Germany**



# ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ

Κλασική

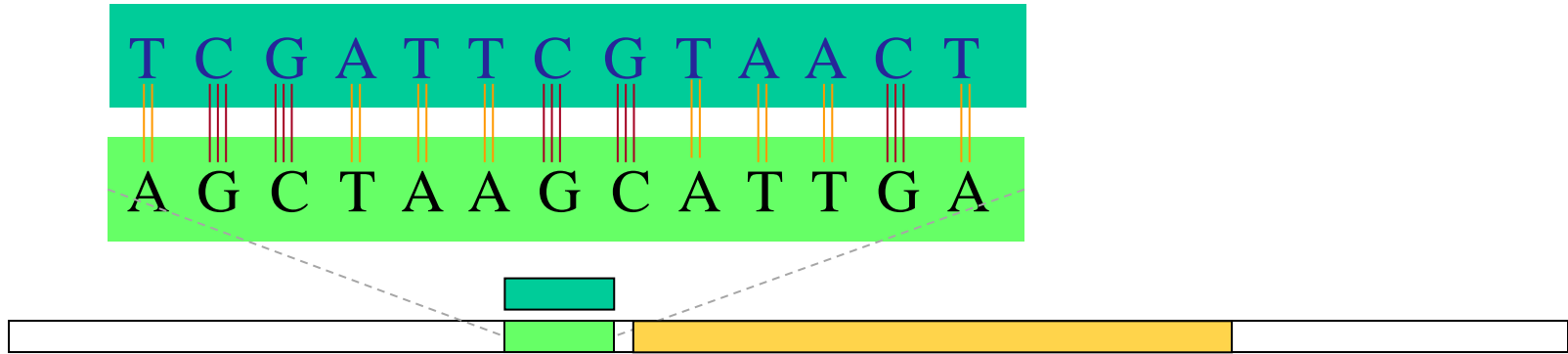
Μοριακή



# ΟΙ ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ



# ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ



TCGATTTCGTA ACT



μοριακός δείκτης

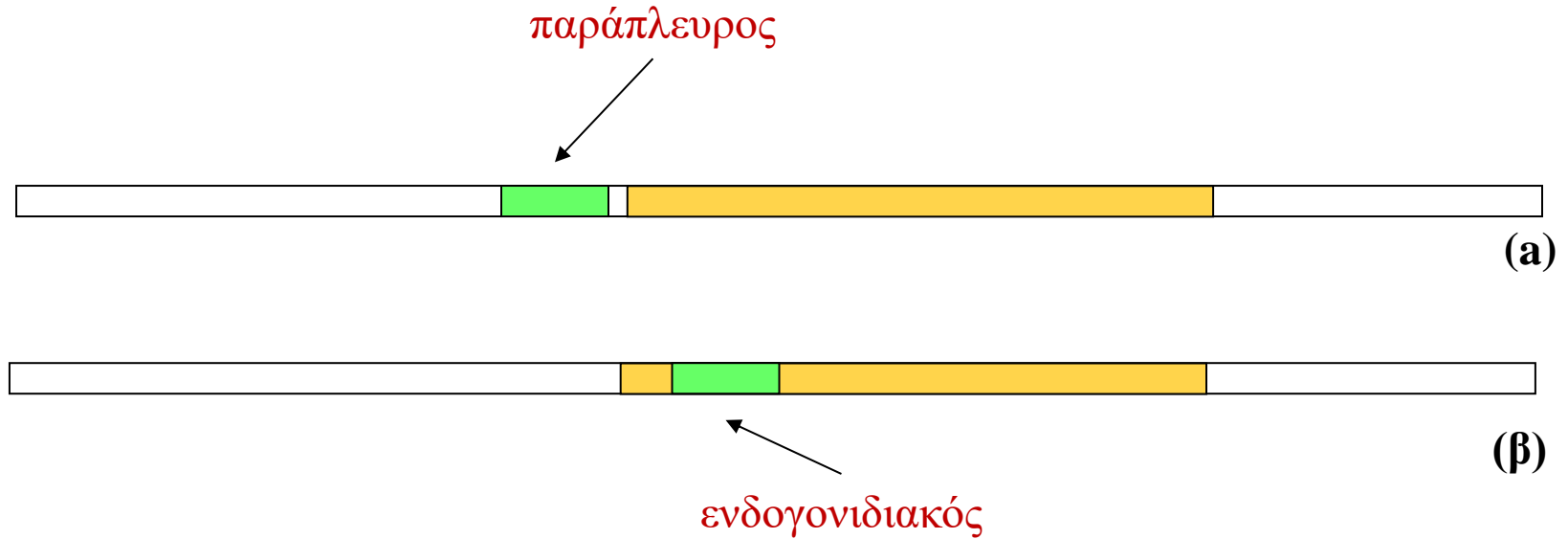


ομόλογο τμήμα



περιοχή 'στόχος'

# ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ



  
μοριακός δείκτης

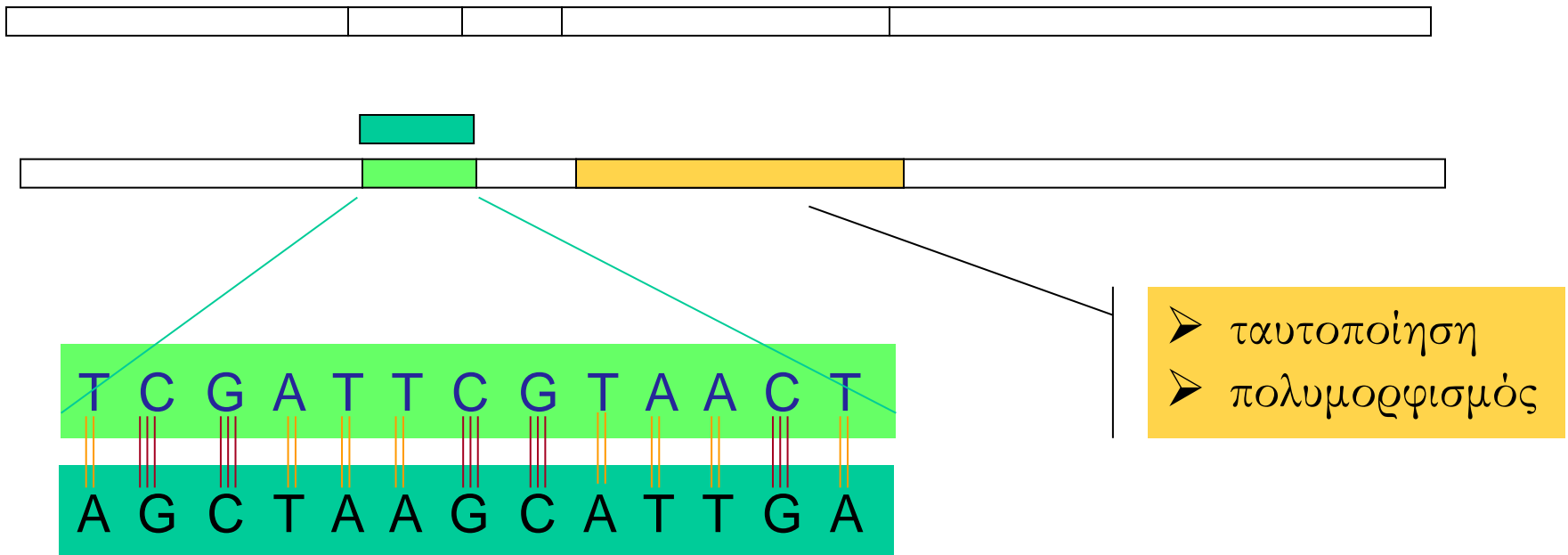
  
ομόλογο τμήμα

  
περιοχή 'στόχος'

# ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Η Γενετική Βελτίωση βασίζεται στη χρήση μοριακών δεικτών που είναι συνδεδεμένοι με επιθυμητές χρωμοσωμικές περιοχές. Μοριακοί δείκτες είναι τυχαία επιλεγμένα τμήματα DNA χωρίς άμεση επίδραση στο φαινότυπο, που δεν επηρεάζονται από το περιβάλλον και δεν εξαρτώνται από το αναπτυξιακό στάδιο του φυτού.

Γενική αρχή: χρήση ομόλογου ανιχνευτή



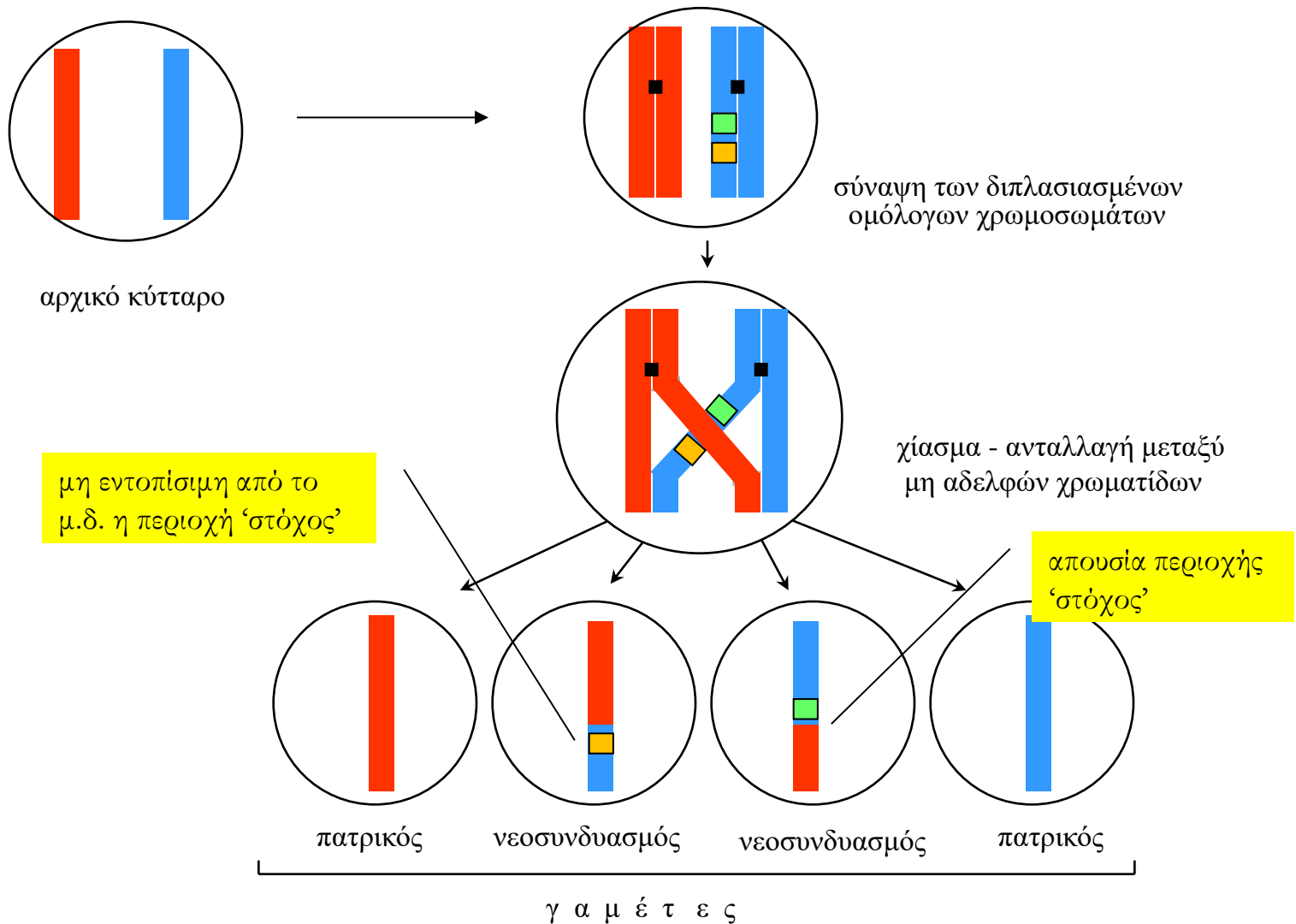
# ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Επιθυμητά χαρακτηριστικά μοριακών δεικτών :

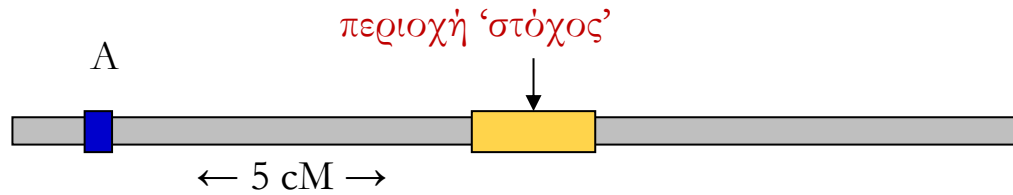
- παρουσία πολυμορφισμού
- εξειδικευμένη δράση
- απλή κληρονομικότητα με υψηλό συντελεστή κληρονομικότητας
- διασπορά και ή δυνατόν ισοκατανομή στο γονιδίωμα
- μικρό κόστος, χωρίς αρνητικές συνέπειες στο φυτό και εύκολη στα νεαρά στάδια αναγνώριση

# ΑΞΙΟΠΙΣΤΙΑ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

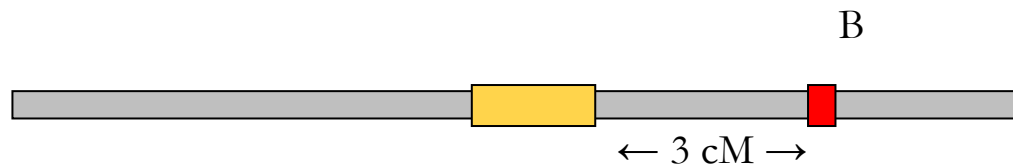
## ΜΕΙΩΣΗ (χίασμα & ανταλλαγή)



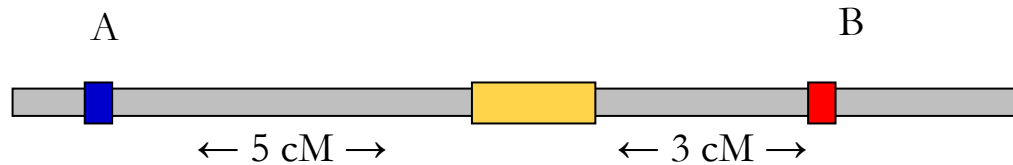
# ΑΞΙΟΠΙΣΤΙΑ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ



αξιοπιστία: ~ 95% ( $1 - 0,05 = 0,95$ )



αξιοπιστία: ~ 97% ( $1 - 0,03 = 0,97$ )



αξιοπιστία: ~ 99,9% [ $1 - (0,05 \times 0,03) = 0,9985$ ]

# ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Αρχές χρήσης των μοριακών δεικτών:

Απομόνωση DNA



Πέψη DNA με περιοριστικά ένζυμα



Ηλεκτροφόρηση DNA



Υβριδισμός DNA κατά Southern

# Πέψη DNA με περιοριστικά ένζυμα

## Ενδονουκλεάσες II

Αποτελούνται από μια υπομονάδα, και αναγνωρίζουν τετρα- ή έξα- ή οκτανουκλεοτίδια σε παλινδρομη αλληλουχία



**EcoRI**

(*Echerichia coli* R)



**AluI**

(*Arthrobacter luteus*)



**BamHI**

(*Bacillus amyloliquefaciens* H)



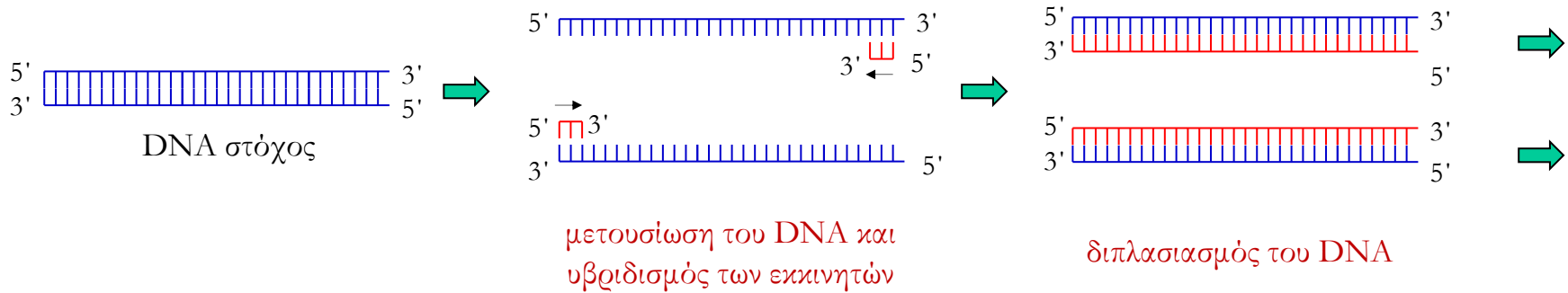
↑  
προεξέχοντα ή  
κολλώδη άκρα

↑  
τυφλά ή  
λεία άκρα



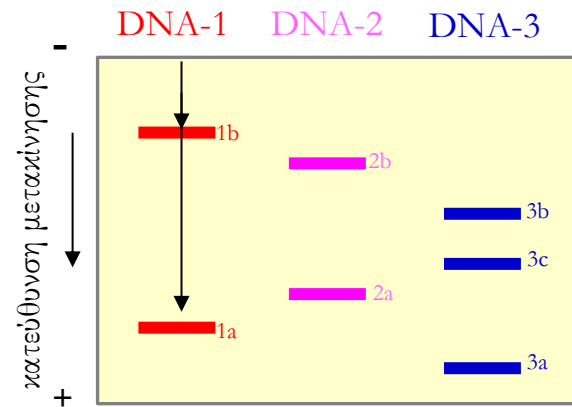
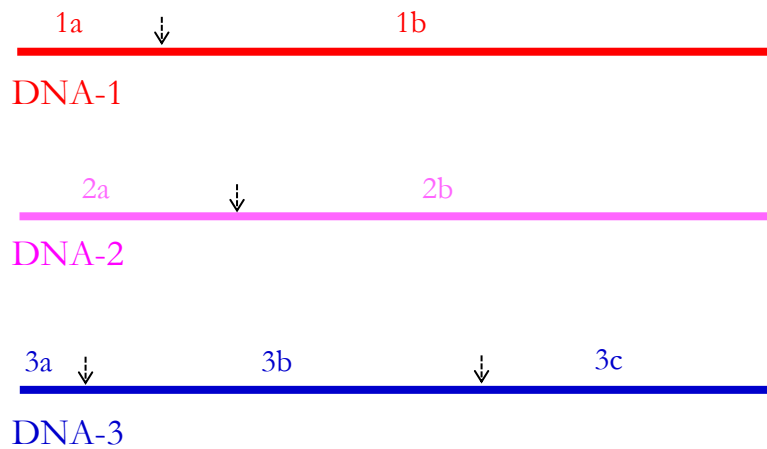
# Ηλεκτροφόρηση DNA

## Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR, polymerase chain reaction)



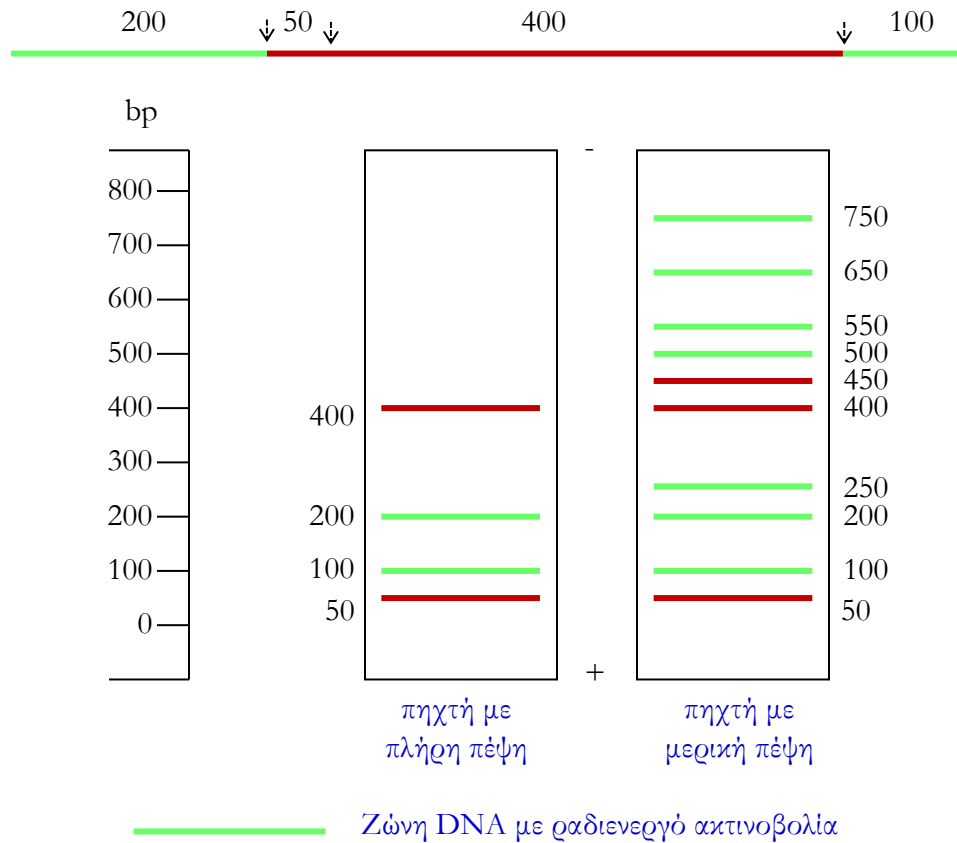
Σε  $n$  κύκλους παράγονται  $2^n$  νέα DNA ( $n=20 \rightarrow 1.048.576$ )

# Ηλεκτροφόρηση DNA

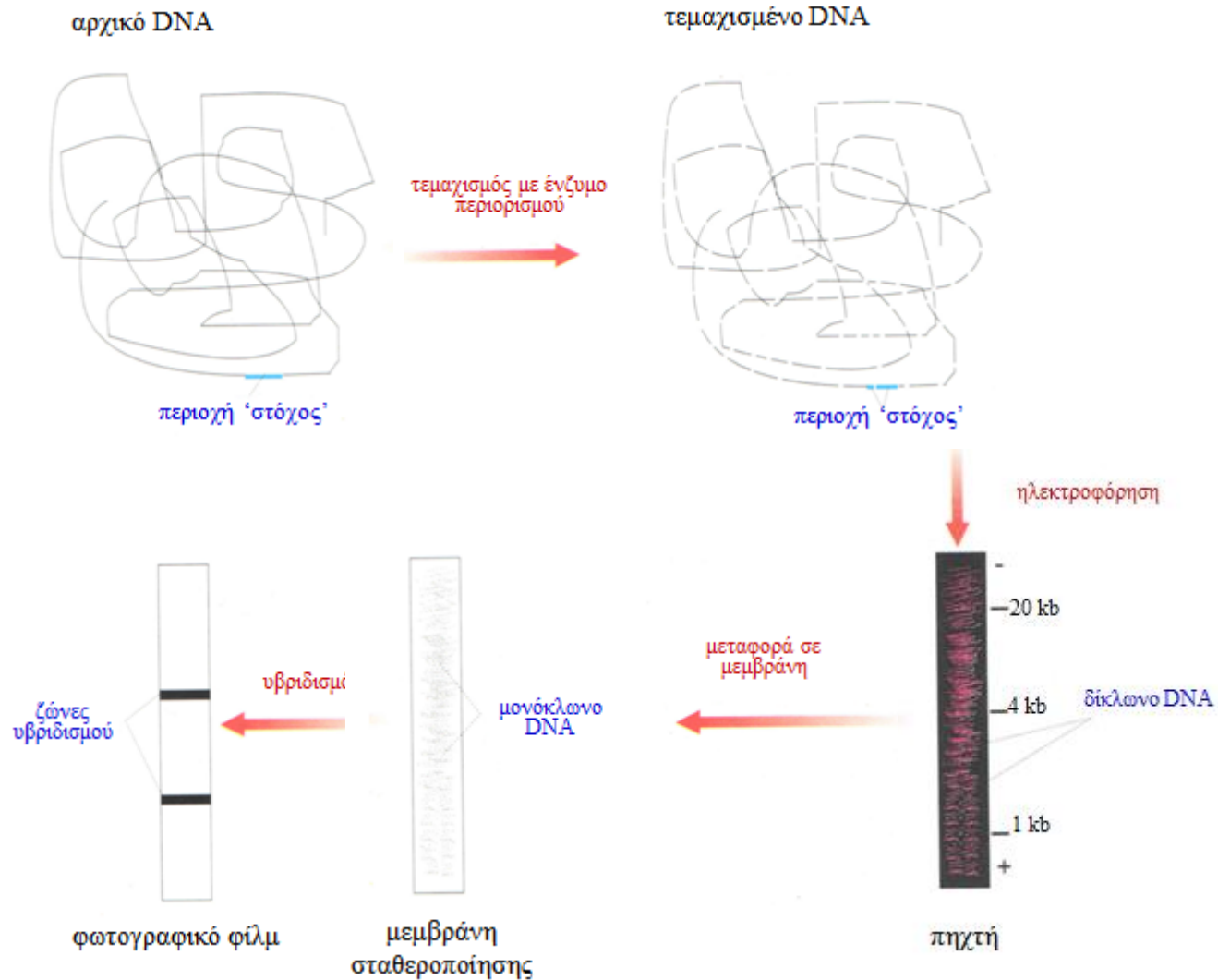


# Ηλεκτροφόρηση DNA

## Κατασκευή γενετικού χάρτη (restriction map)



# Υβριδισμός DNA κατά Southern



# ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

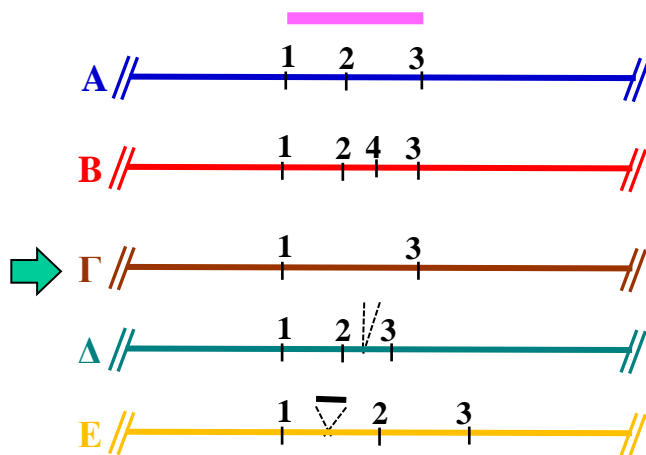
Τύποι μοριακών δεικτών:

1. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)
2. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)
3. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)
4. SSR (Single Sequence Repeats)
5. SNP (Single Nucleotide Polymorphism)

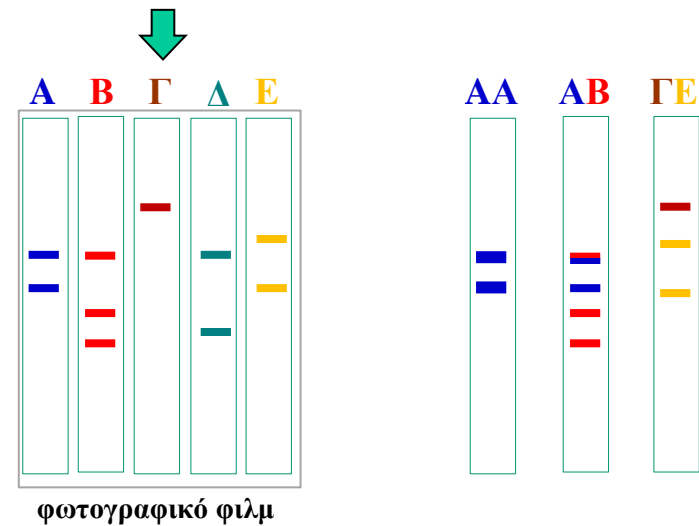
# ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

## 1. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

### 1. Ταυτοποίηση γενετικών υλικών



Πέντε αλληλόμορφα μιας γονιδιακής θέσης  
(1,2,3,4 θέσεις περιορισμού)



φωτογραφικό φιλμ

υβριδισμός με δείκτη

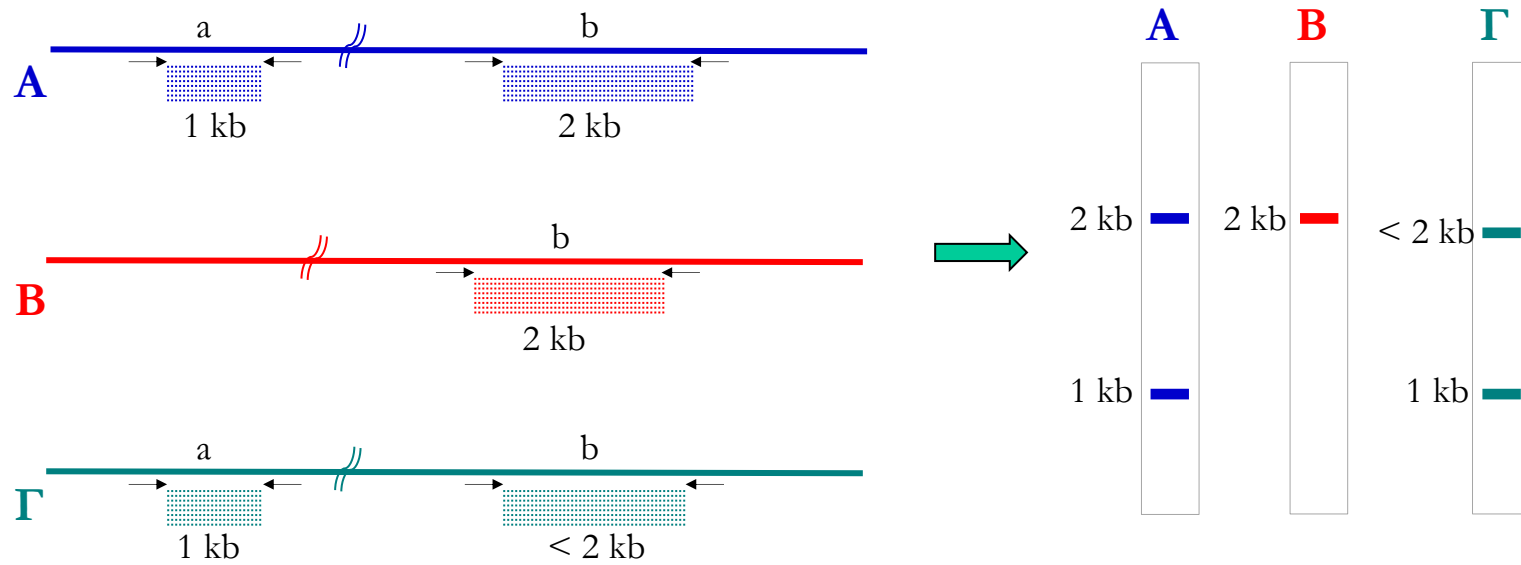
γονότυποι

Σε σύγκριση με το A, ο πολυμορφισμός προκύπτει από την ένθεση της θέσης 4 (B) ή την έλλειψη της θέσης 2 (Γ) ελάττωση της ζώνης 2-3 (Δ), ή επιμήκυνση της ζώνης 1-2 (E)

Μια από τις πολυμορφικές ζώνες μπορεί να είναι η επιθυμητή

# ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

## 2. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)



Εκκινητές (~ 10 βάσεις) επάγουν την αναπαραγωγή τμημάτων

# ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

## 3. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

1. διπλή πέψη

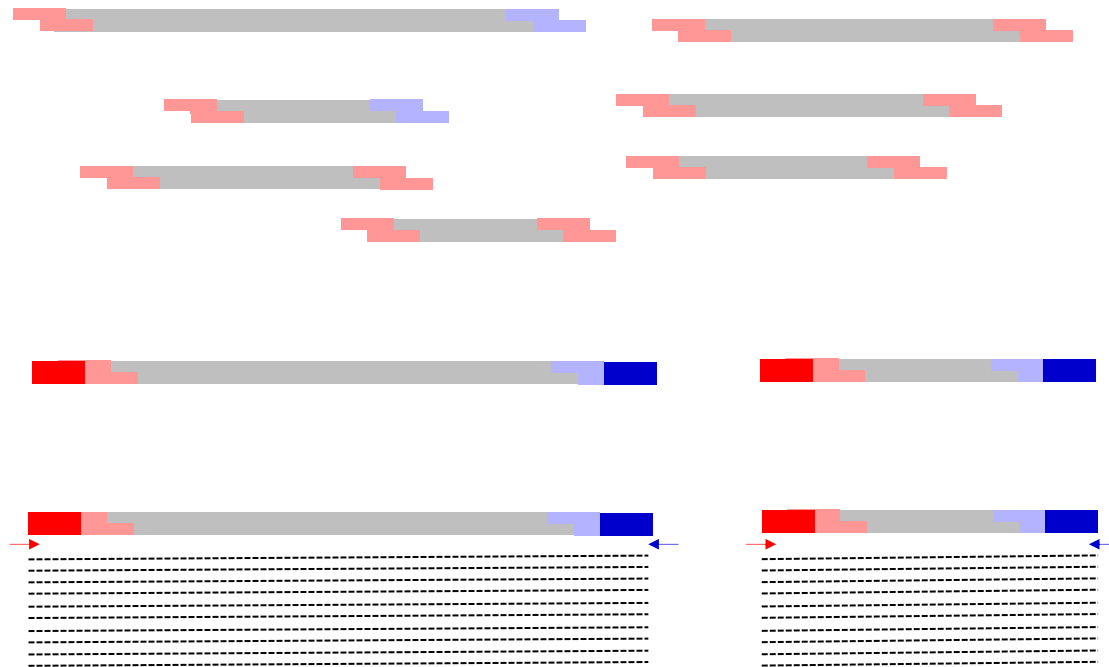
 EcoRI  
 MseI



2. λιγοποίηση με  
προσαρμοστές



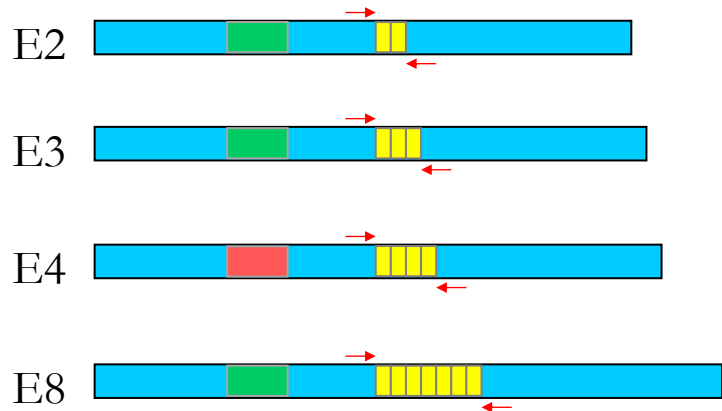
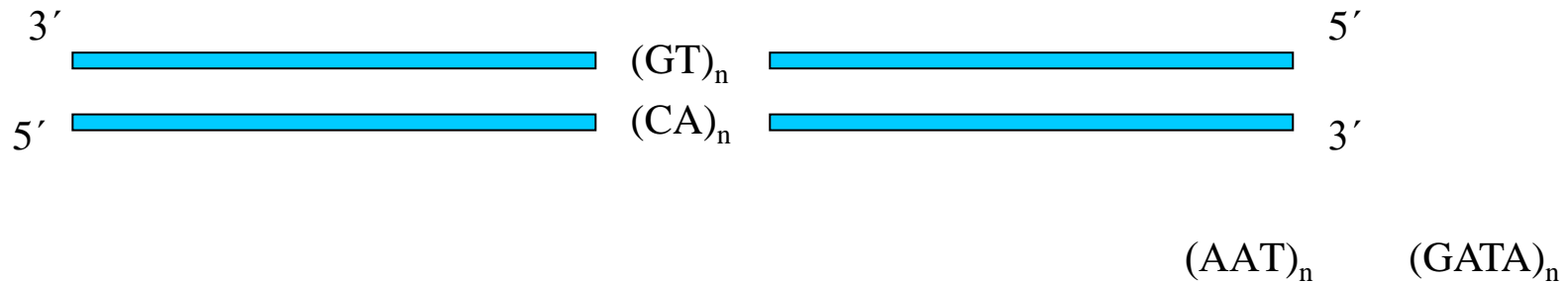
3. ενίσχυση  
σε PCR





# ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

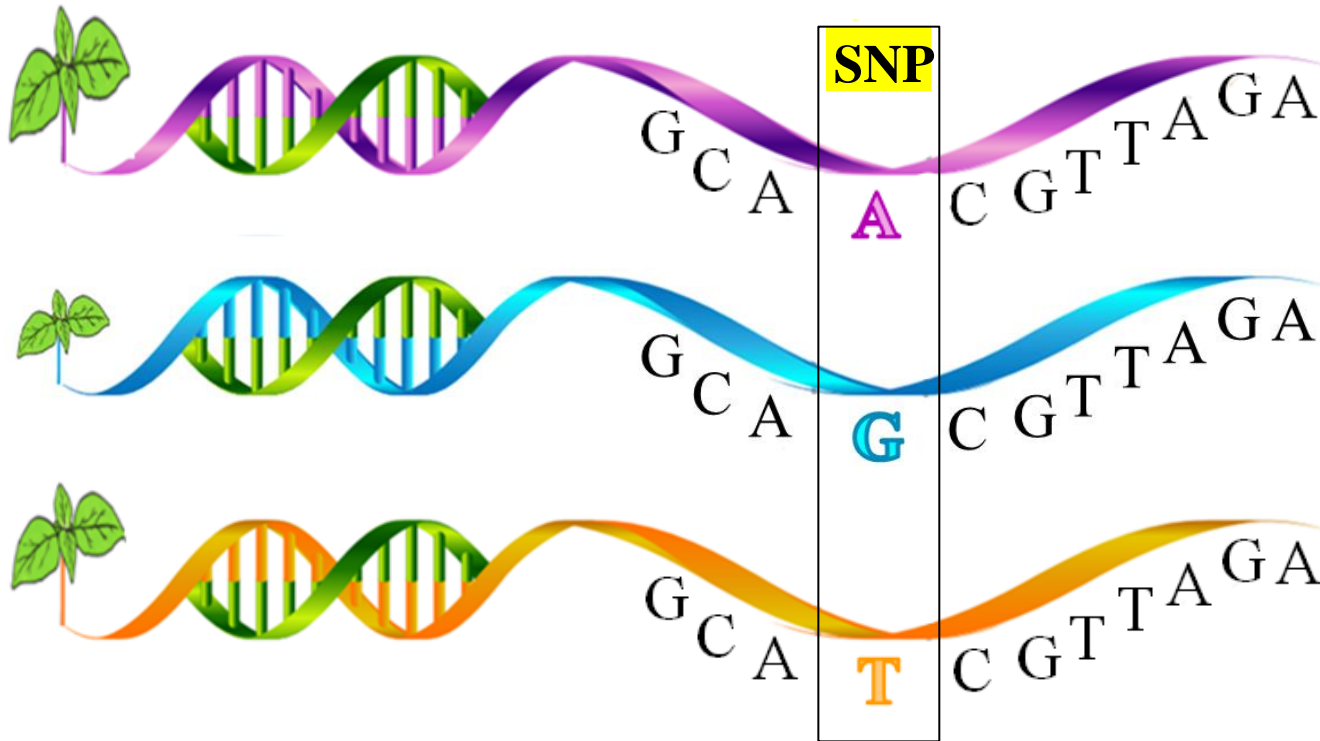
## 4. SSR (Single Sequence Repeats)



- μικροδορυφορική επανάληψη (GT)
- εκκινητής
- κανονικό αλληλόμορφο
- μεταλλαγμένο αλληλόμορφο

# ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

## 5. SNP (Single Nucleotide Polymorphism)



Οι πολυπληθέστεροι (~ 100 – 300 βάσεις)

# ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Χαρακτηριστικά	RFLP	RAPD	AFLP	SSR	SNP
Βασίζεται σε	υβριδισμό	PCR			
Αφθονία	μέση	πολύ υψηλή		υψηλή	πολύ υψηλή
Πολυμορφισμός	μέσος	υψηλός		πολύ υψηλός	
Έκφραση	συγκυρίαρχη	κυρίαρχη	(συγ) κυρίαρχη	συγκυρίαρχη	
Κάλυψη	μερική	όλο το γονιδίωμα			
Αξιοπιστία	υψηλή	χαμηλή	μέση	υψηλή	
Κόστος	υψηλό	χαμηλό	μέσο	υψηλό	
Ποσότητα / ποιότητα απαιτούμενου DNA	10 µg / υψηλή	0,02 µg / μέση	0,5 –1 µg / υψηλή	0,05 µg / μέση	
Γνώση αλληλουχίας DNA	όχι απαραίτητη			απαραίτητη	
Ανάλυση δεδομένων	εύκολη		δύσκολη	πολύ εύκολη	
Αριθμός θέσεων	<1.000	<1.000	1.000	1.000 – 10.000	>100.000
Ευκολία χρήσης	μικρή	μεγάλη	μέτρια	μεγάλη	μέτρια
Αυτοματοποίηση	χαμηλή	μέση		υψηλή	

## ΣΥΝΟΨΗ\_1

- Η γενετική βελτίωση φυτών χειρίζεται το γενετικό υλικό για τη δημιουργία καλλιεργούμενων ποικιλιών
- Οι ποικιλίες είναι κυρίως μονο-γονοτυπικές αλλά στο μέλλον αναμένεται να διαδοθούν και οι πολυ-γονοτυπικές
- Η βελτίωση φυτών είναι βασικός συντελεστής για την επάρκεια τροφίμων και στο παρελθόν έπαιξε καταλυτικό ρόλο στην επίλυση επισιτιστικών προβλημάτων
- Η βελτίωση φυτών στο μέλλον είναι αναγκαίο να συμβάλλει σε μεγαλύτερη παραγωγικότητα των αγρο-οικοσυστημάτων για την πρόληψη νέας κρίσης τροφίμων
- Στο παρελθόν η βελτίωση φυτών βασιζόταν αποκλειστικά στην έμμεση (φαινοτυπική) προσέγγιση του γενετικού υλικού, στο μέλλον όμως μεγάλη συμβολή αναμένεται και από την άμεση (μοριακή) προσέγγιση
- Το βασικό εργαλείο για την άμεση προσέγγιση του γενετικού υλικού στη βελτίωση φυτών είναι οι μοριακοί δείκτες

## ΣΥΝΟΨΗ\_2

- Οι μοριακοί δείκτες είναι αποτελεσματικότεροι όσο στενότερη είναι η σύνδεσή τους με επιθυμητές χρωμοσωμικές περιοχές
- Οι βασικές αρχές αξιοποίησης μοριακών δεικτών στη βελτίωση φυτών περιλαμβάνουν απομόνωση, πέψη, ηλεκτροφόρηση και υβριδισμό DNA.
- Αποτελεσματικότερη ανίχνευση επιθυμητών χρωμοσωμικών περιοχών πετυχαίνεται με ενδογονιδιακούς ή με αντίπλευρους δείκτες
- Βασικά εργαλεία στην χρήση μοριακών δεικτών στη βελτίωση φυτών είναι τα περιοριστικά ένζυμα και η PCR
- Οι κυριότεροι δείκτες με χρήση στη βελτίωση φυτών είναι RFLP, RAPD, AFLP, SSR, SNP
- Βασική προϋπόθεση για τη χρήση μοριακών δεικτών είναι ο γενετικός και φαινοτυπικός πολυμορφισμός

# ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ

*Αρχές και Μέθοδοι*

