

Μοριακή Βιολογία και Γενετική Φυτών

Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής

Ακ. Έτος 2025-2026



Μαργαρίτης Τσιφιντάρης, PhD

mtsifintaris@gmail.com / mtsifint@mbg.duth.gr





Horticultural Plant Journal

Available online at www.sciencedirect.com

The journal's homepage: <http://www.keaipublishing.com/en/journals/horticultural-plant-journal>



Review

Molecular breakthroughs in modern plant breeding techniques

Mughair Abdul Aziz, and Khaled Masmoudi*

Department of Integrative Agriculture, College of Agriculture and Veterinary Medicine, United Arab Emirates University,
Al-Ain, Abu-Dhabi, United Arab Emirates

Received 20 September 2023; Accepted 5 January 2024; Available online 8 March 2024

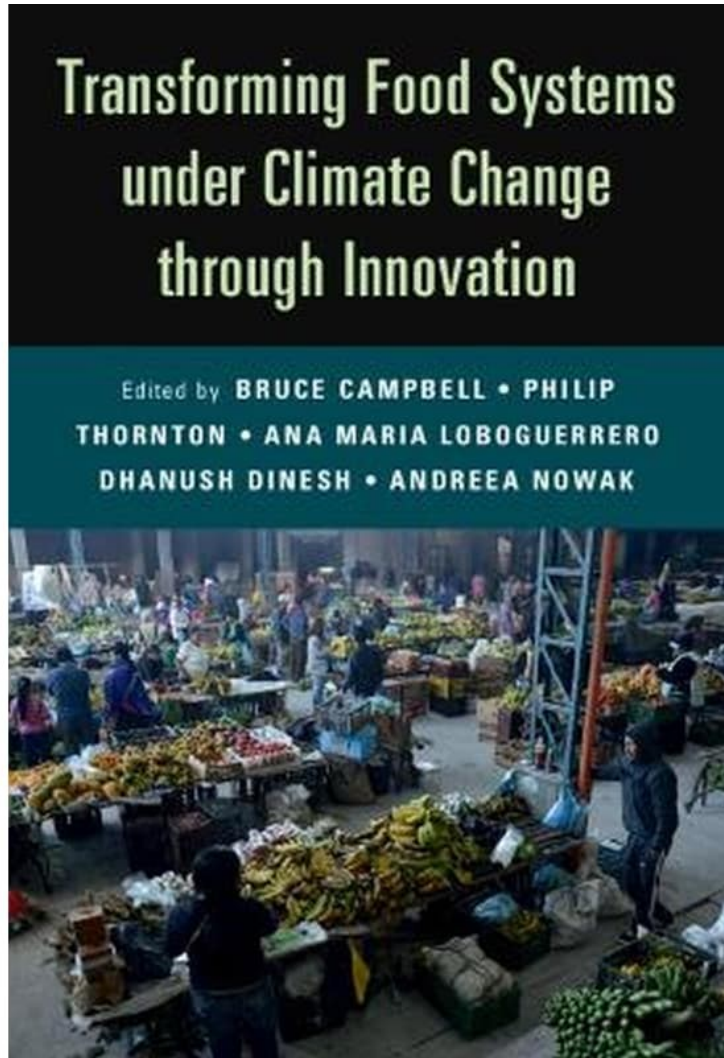
Σύγχρονες Μοριακές Προσεγγίσεις στη Βελτίωση Φυτών

- Η παραδοσιακή βελτίωση φυτών βασίστηκε στη φαινοτυπική επιλογή και στις επαναλαμβανόμενες διασταυρώσεις, διαδικασίες που απαιτούσαν χρόνο και πολλούς κύκλους επιλογής.
- Οι σύγχρονες μοριακές τεχνολογίες έχουν επαναπροσδιορίσει τη διαδικασία βελτίωσης, επιτρέποντας την ταυτοποίηση, ανάλυση και άμεση τροποποίηση γονιδίων που σχετίζονται με επιθυμητά χαρακτηριστικά.
- Στόχος: η δημιουργία ανθεκτικών, παραγωγικών και ποιοτικά βελτιωμένων ποικιλιών μέσω σύγχρονων και βιώσιμων μεθόδων καλλιέργειας.

Γιατί απαιτούνται νέες προσεγγίσεις;

- Οι μεταβολές του κλίματος και η περιορισμένη διαθέσιμη καλλιεργήσιμη γη έχουν οδηγήσει σε στασιμότητα της γεωργικής παραγωγής.
- Η μείωση των φυσικών πόρων επιβάλλει αποδοτικότερη χρήση νερού / θρεπτικών στοιχείων.
- Η συνεχής αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού δημιουργεί ανάγκη για αειφόρο, ποιοτική και επαρκή παραγωγή τροφίμων.
- Η παραδοσιακή βελτίωση στηρίζεται στη φαινοτυπική επιλογή, διαδικασία χρονοβόρα και περιορισμένης ακρίβειας (Jeon et al., 2023; Sinha et al., 2023).
- Αυτοί οι περιορισμοί οδήγησαν στη μετάβαση προς τις σύγχρονες μοριακές τεχνολογίες βελτίωσης φυτών.

Γιατί απαιτούνται νέες προσεγγίσεις;



«Οι προβλέψεις δείχνουν ότι οι υπάρχουσες παγκόσμιες αποδόσεις των καλλιεργειών πρέπει να διπλασιαστούν για να συντηρηθούν δέκα δισεκατομμύρια άνθρωποι»

Γενετικές μεταλλάξεις στην εξημέρωση και βελτίωση των καλλιεργειών

- Η εξημέρωση των φυτών ξεκίνησε πριν περίπου 10.000 χρόνια, όταν οι πρώτες κοινωνίες επέλεγαν φυτά με επιθυμητά χαρακτηριστικά από άγριους πληθυσμούς.
- Οι καλλιεργητές πραγματοποιούσαν οπτική αξιολόγηση φαινοτύπων (μέγεθος, σχήμα, απόδοση, ανθεκτικότητα) με στόχο την βελτίωση απόδοσης, θρεπτικής αξίας και εμπορικά σημαντικών γνωρισμάτων.
- Μετά το 1865 (Νόμοι του Mendel) ξεκίνησε η παραδοσιακή εποχή της γενετικής βελτίωσης.
- Οι non-sense μεταλλάξεις διαδραμάτισαν καθοριστικό ρόλο στην εξημέρωση φυτικών ειδών. Συνήθως προκαλούν πρόωρη διακοπή μεταγραφής.

Εξημέρωση (Domestication): Η γέννηση του ρυζιού

- Στο ρύζι (*Oryza sativa*), μία μετάλλαξη στο γονίδιο PROG1 (Prostrate Growth 1) προκάλεσε μετάβαση από έρπουσα σε όρθια μορφή ανάπτυξης.



Callaway, E. Domestication: The birth of rice. *Nature* **514**, S58–S59 (2014). <https://doi.org/10.1038/514S58a>

Από την Παραδοσιακή στη Μοριακή Βελτίωση

- Οι εξελίξεις στη λειτουργική γονιδιωματική (functional genomics) και στη γονιδιακή τροποποίηση έχουν μετασχηματίσει τη βελτίωση φυτών.
- Αυτές οι εξελίξεις επέτρεψαν την ταχεία αλληλούχηση και ανάλυση φυτικών γονιδιωμάτων
- Οι τεχνικές αλληλούχησης DNA παρείχαν πλήρη γονιδιωματικά δεδομένα για πολλά καλλιεργούμενα είδη.
- Κατανόηση και αξιοποίηση της γενετικής ποικιλότητας που καθορίζει σημαντικά αγρονομικά γνωρίσματα

Εποχή της Αλληλούχισης Νέας Γενιάς (NGS)

- Η εμφάνιση της Αλληλούχισης Νέας Γενιάς (NGS) έχει μεταμορφώσει τη μελέτη των γονιδιωμάτων.
- Οι τεχνικές NGS επιτρέπουν την υψηλής-απόδοσης ανάλυση DNA & RNA (ακόμη και πρωτεϊνών).
- Δημιουργία γονιδιωμάτων αναφοράς (reference genomes) και pan-genomes για σημαντικά καλλιεργούμενα είδη.
- Διευκολύνουν τον εντοπισμό γονιδίων, αλληλομόρφων και QTLs που σχετίζονται με απόδοση, ανθεκτικότητα και ποιότητα.
- Μετάβαση από την επιλογή βάσει φαινοτύπου σε επιλογή βάσει γονότυπου.

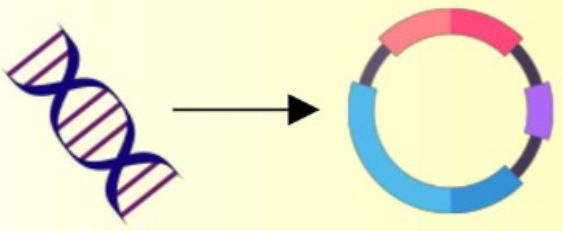
Η Μετάβαση στη Μοριακή Βελτίωση

- Η διαγονιδιακή βελτίωση (transgenic breeding) επέτρεψε τη μεταφορά γονιδίων από άλλα είδη για την εισαγωγή επιθυμητών χαρακτηριστικών
- Περιορισμοί:
 - Τυχαία ενσωμάτωση του DNA στο γονιδίωμα
 - Αυστηρό ρυθμιστικό πλαίσιο για γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες
- Ανάγκη για ακριβέστερες τεχνικές
- Ο συνδυασμός γονιδιωματικών δεδομένων και υψηλής απόδοσης φαινοτυπικών αναλύσεων επιτρέπει ταχύτερη και ακριβέστερη επιλογή

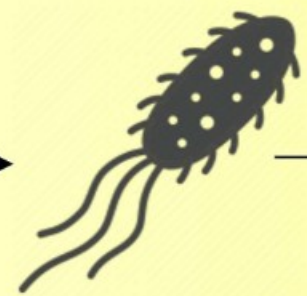
Η Μετάβαση στη Μοριακή Βελτίωση

Transgenic breeding

Insertion of gene of interest into the restriction site of plasmid



Infection of plant tissues with *Agrobacterium tumefaciens*



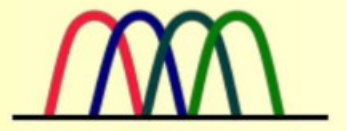
Callus induction from the Agrobacterium infected tissues



Growth of transformed cells into small seedlings



Sequencing of transformed seedlings



Genome editing

Plasmid constructed with SgRNA designed CRISPR/Cas9 complex



Acclimatization and regeneration of transformed plants

Αλληλούχηση Ολόκληρου του Γονιδιώματος Φυτών

- Οι σύγχρονες μέθοδοι μοριακής βελτίωσης βασίζονται σε τεχνολογίες αλληλούχησης για:
 - Ενίσχυση της αποτελεσματικότητας της αναπαραγωγής
 - Αντιμετώπιση της πληθυσμιακής στενωπού (population bottleneck) των φυτών.

Ως πληθυσμιακή στενωπός (population bottleneck) ορίζεται η ακραία μείωση του μεγέθους του πληθυσμού που έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια γενετικής ποικιλομορφίας και την αυξημένη ανισορροπία σύνδεσης (LD).

- Η αλληλούχηση γονιδιώματος επιτρέπει:
 - Τον δομικό και λειτουργικό χαρακτηρισμό κωδικοποιών και μη κωδικοποιών γονιδίων.
 - Την ανάλυση υποκινητών (promoters) και άλλων ρυθμιστικών στοιχείων, κρίσιμων για τη διαφοροποίηση και εξέλιξη των γονιδίων.

Αλληλούχηση Ολόκληρου του Γονιδιώματος Φυτών

- Η αλληλούχηση του γονιδιώματος του *Arabidopsis thaliana* αποτέλεσε το πρώτο πλήρες φυτικό γονιδίωμα, ανοίγοντας τον δρόμο για τη γονιδιωματική εποχή στη βιολογία των φυτών.
- Έκτοτε, η προσπάθεια αλληλούχησης επεκτάθηκε σε καλλιέργειες αγρονομικής σημασίας, με στόχο την κατανόηση των γονιδιακών βάσεων παραγωγικότητας και ανθεκτικότητας.
 - Ρύζι (*Oryza sativa*) – πρώτο καλλιεργούμενο είδος με πλήρη αλληλούχηση (Goff et al., 2002; Yu et al., 2002).
 - Καλαμπόκι (*Zea mays*),
 - Σόργο (*Sorghum bicolor*)
 - Σόγια (*Glycine max*)
 - Σιτάρι (*Triticum aestivum*)

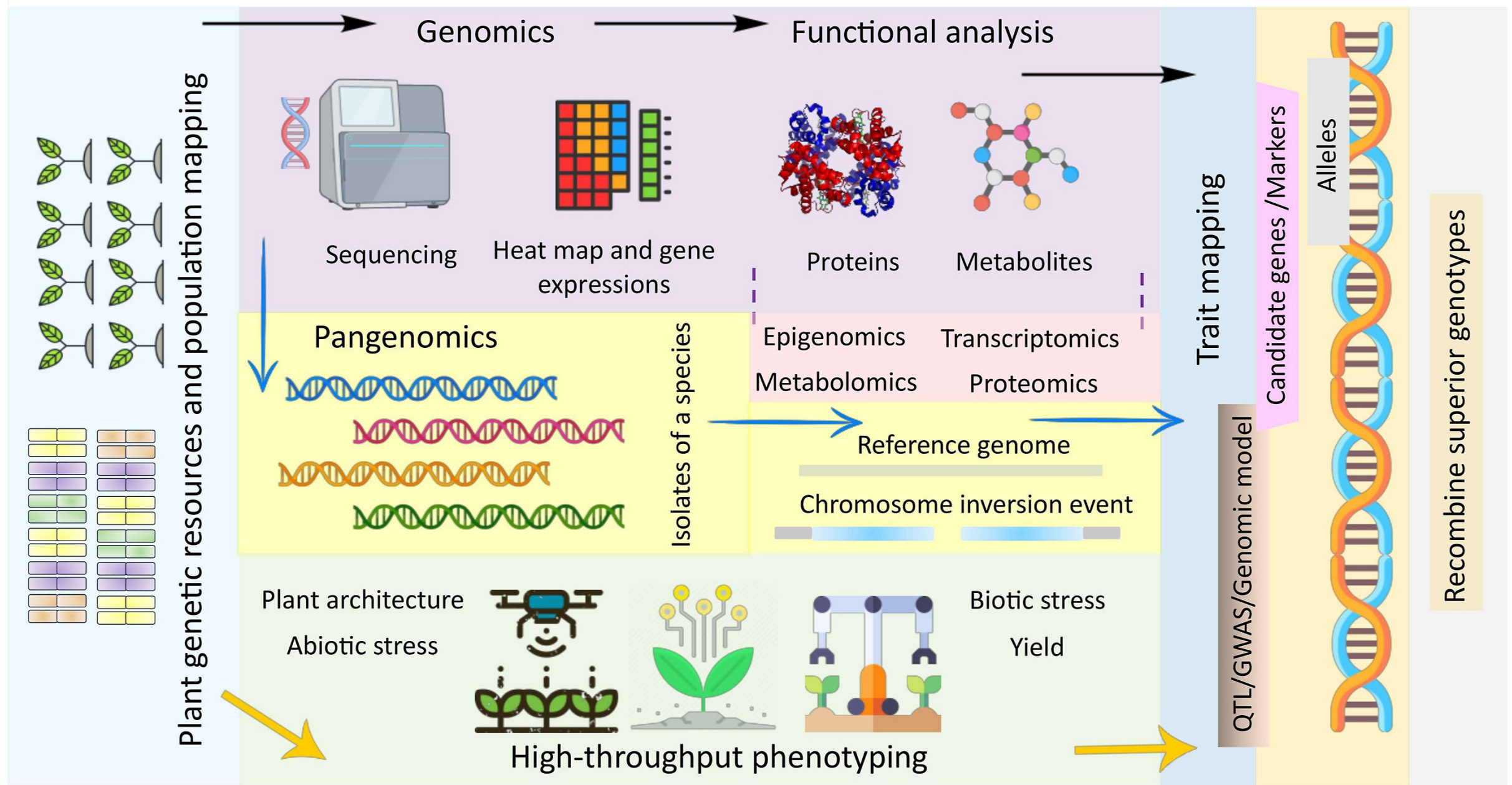
Συνδυασμός αλληλούχισης υψηλής απόδοσης με πολυ-ομικές προσεγγίσεις

- Ο συνδυασμός αλληλούχισης υψηλής απόδοσης με πολυ-ομικές προσεγγίσεις (epigenomics, transcriptomics, metabolomics, proteomics) οδηγεί σε:
 - Ταυτοποίηση διαφορικών επιπέδων RNA, πρωτεϊνών και μεταβολιτών.
 - Συσχέτιση πολυμορφισμών με αγρονομικά χαρακτηριστικά.
- Ο λειτουργικός χαρακτηρισμός αποτελεί εργαλείο για τη χαρτογράφηση σημαντικών χαρακτηριστικών (trait mapping).
- Μετά την συσχέτιση γονιδίου–χαρακτηριστικού, αναπτύσσονται ανώτερες ποικιλίες μέσω ανασυνδυασμού υποψήφιων γονιδίων ή αλληλομόρφων.

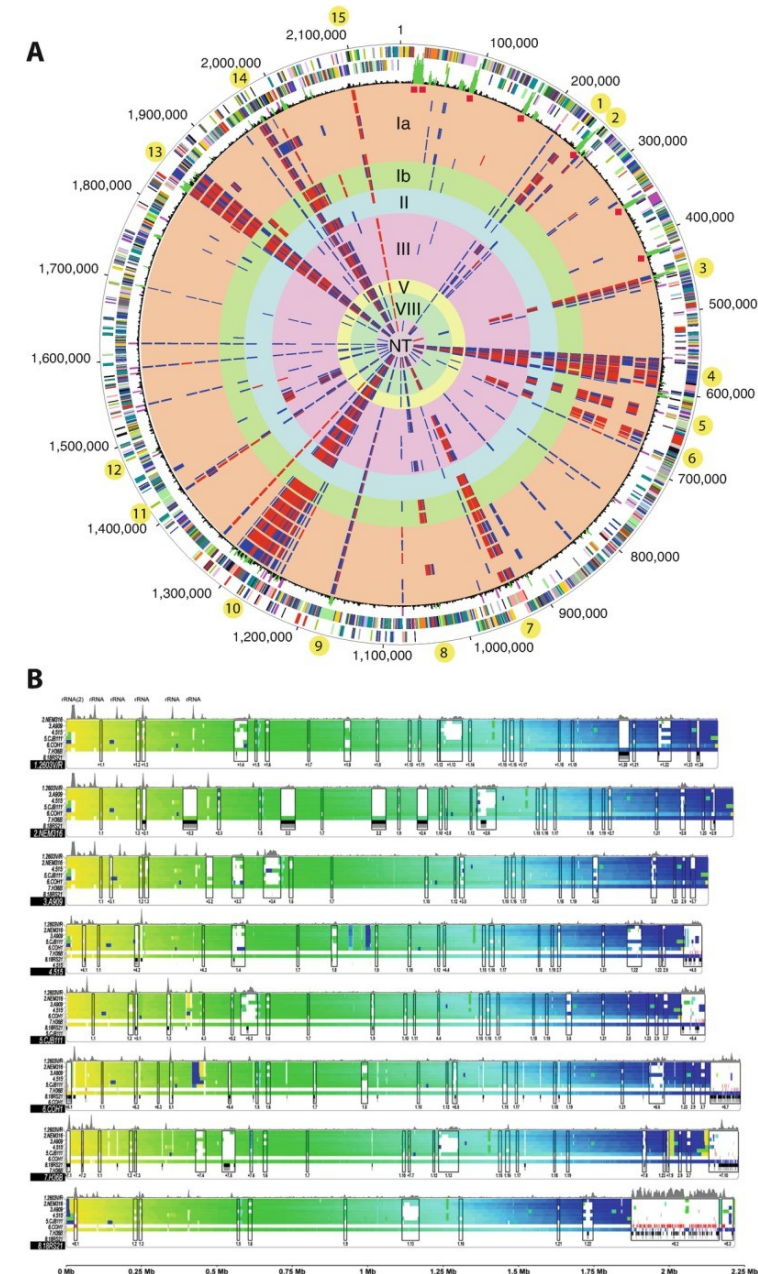
Τι είναι τα QTLs (Quantitative Trait Loci)

- Γονιδιωματική περιοχή που συσχετίζεται με τη διακύμανση ενός ποσοτικού γνωρίσματος, το ύψος ή η ανθεκτικότητα στην ξηρασία.
- Τα ποσοτικά γνωρίσματα δεν ελέγχονται από ένα μόνο γονίδιο, αλλά από πολλά γονίδια μικρής επίδρασης, που βρίσκονται σε διαφορετικές θέσεις (loci) στα χρωμοσώματα.

Συνδυασμός αλληλούχισης υψηλής απόδοσης με πολυ-ομικές προσεγγίσεις



Ανάπτυξη Πανγονιδιώματος Καλλιεργειών (Crop Pangenomics Development)



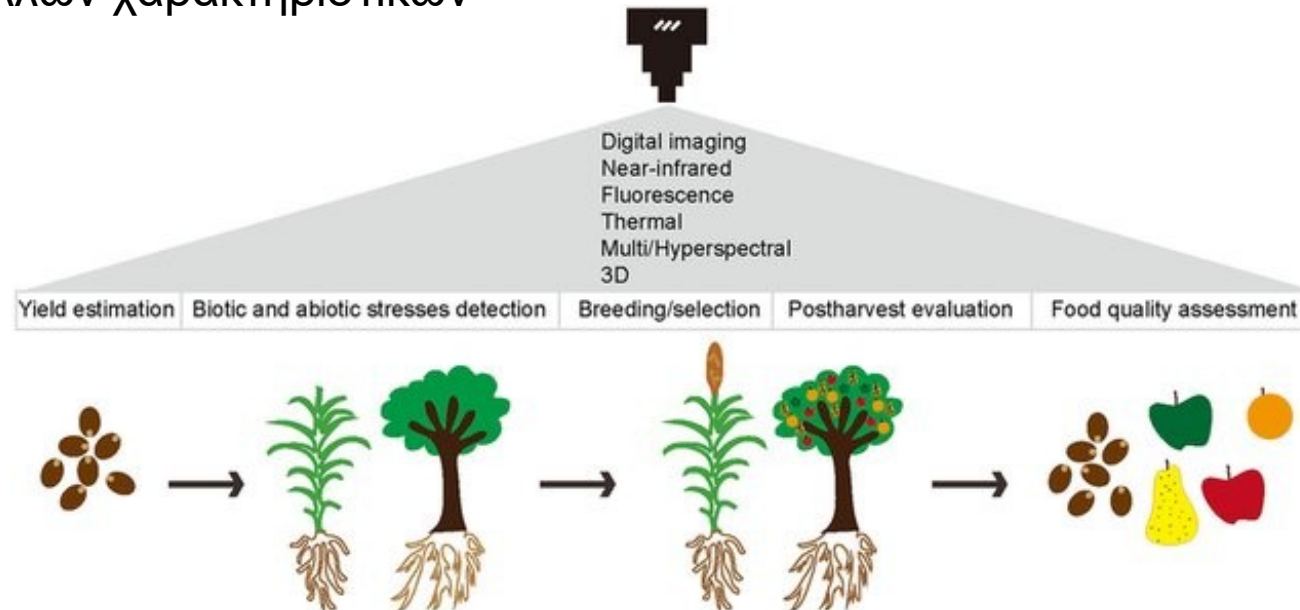
- Ανάγκη για διαθέσιμα γονιδιώματα αναφοράς για τις σύγχρονες καλλιέργειες
- Η πανγονιδιωματική (pangenomics) βασίζεται στην αλληλούχιση πολλών φυτών του ίδιου είδους και στη σύγκριση των γονιδίων τους.
 - Εντοπίζονται συστάδες γονιδίων (gene clusters) που σχετίζονται με επιθυμητά χαρακτηριστικά
 - Η έννοια του πανγονιδιώματος στοχεύει στην ολιστική καταγραφή του συνόλου των γονιδίων ενός είδους.

Ανάπτυξη Πανγονιδιώματος Καλλιεργειών (Crop Pangenomics Development)

Plant species	Accession ID	Sequencing Technology	Source
Tomato (<i>S. lycopersicum</i>)	100	ONT long-read sequencing	Alonge et al. (2020)
Rice (<i>O. sativa</i>)	3,010	Illumina sequencing	Wang et al. (2018)
Sunflower (<i>H. annuus</i>)	493	Illumina sequencing	Hubner et al. (2019)
Tomato (<i>Solanum spp.</i>)	725	Illumina + de novo assembly	Gao et al. (2019)
Sesamum indicum	5	Whole-genome alignment (Mugsy)	Yu et al. (2019a,b)
Soybean (<i>G. max</i>)	26	PacBio SMRT, Hi-C, Illumina	Liu et al. (2020b)
Rice (<i>O. sativa</i> / <i>O. rufipogon</i>)	66	Illumina short reads	Zhao et al. (2018)
Brachypodium distachyon	54	Illumina short reads	Gordon et al. (2017)
Peach (<i>P. persica</i>)	336	Illumina + PacBio	Guo et al. (2020a,b)
Gossypium spp.	5	Illumina, PacBio, Hi-C	Chen et al. (2020)
Poplar (<i>Populus spp.</i>)	10	Illumina short reads	Zhang et al. (2019b)
Brassica napus	8	PacBio SMRT, Illumina, BioNano	Song et al. (2020)
Maize (<i>Zea mays</i>)	4	Illumina short reads	Haberer et al. (2020)
Brachypodium hybridum	9	Illumina, PacBio (60×)	Gordon et al. (2020)
Foxtail millet (<i>Setaria italica</i>)	1,844	Illumina NovaSeq, PacBio RSII	Zhao et al. (2018)

Υψηλής-απόδοσης φαινοτυπική ανάλυση

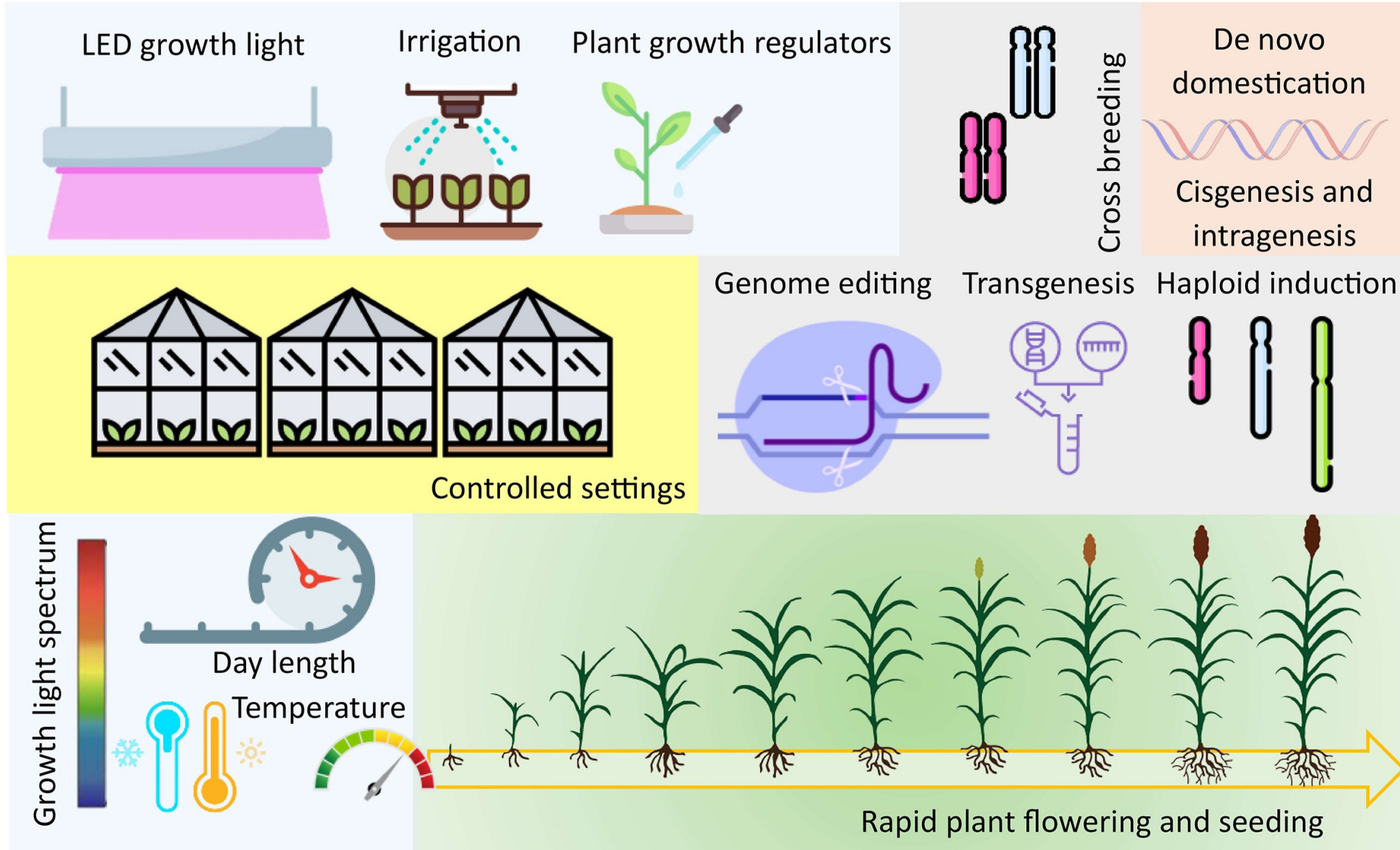
- Η πρόοδος του NGS και η πληθώρα γονιδιωματικών δεικτών έχουν ενισχύσει τη χρήση της Γονιδιωματικής Επιλογής (Genomic Selection, GS) στη βελτίωση φυτών.
- Κύριο εμπόδιο: ανακριβή ή ατελή φαινοτυπικά δεδομένα, που μειώνουν την προβλεπτική ικανότητα των GS μοντέλων
- Υψηλής απόδοσης φαινοτυπική ανάλυση (High-Throughput Phenotyping - HTP): αποτελεί σύγχρονη μέθοδο συλλογής ακριβών φαινοτυπικών δεδομένων.
- Συνδυάζει αυτοματοποιημένους αισθητήρες, εικονοληψία, και επεξεργασία δεδομένων: ταχεία και υψηλής ακρίβειας μέτρηση πολλών χαρακτηριστικών



Speed Breeding: Επιτάχυνση της Γενετικής Βελτίωσης των Φυτών

- Πολυάριθμα ωφέλιμα γονίδια έχουν εντοπιστεί σε διάφορα είδη φυτών που παίζουν κρίσιμο ρόλο στην ενίσχυση των χαρακτηριστικών των φυτών.
- Αυτά τα γονίδια έχουν γίνει πρωταρχικοί στόχοι σε προγράμματα βελτίωσης που αποσκοπούν στη δημιουργία βελτιωμένων ποικιλιών χρησιμοποιώντας τόσο συμβατικές όσο και σύγχρονες μεθόδους βελτίωσης (marker-assisted selection, genetic engineering, genome editing).
- Ένα σημαντικό μειονέκτημα στην ανάπτυξη βελτιωμένων ποικιλιών είναι ο χρόνος.
- Η εισαγωγή της τεχνολογίας ταχείας αναπαραγωγής αντιπροσωπεύει μια πρωτοποριακή ιδέα, όπου τα φυτά καλλιεργούνται με τρόπο που συμβαδίζει με τις εξελίξεις στην γονιδιωματική τεχνολογία.

Speed Breeding: Επιτάχυνση της Γενετικής Βελτίωσης των Φυτών



Κατευθυνόμενη μοριακή βελτίωση φυτών για αξιοποίηση αστικών πόρων

