

Επιλογή υποβοηθούμενη από μοριακούς δείκτες (Marker Assisted Selection – MAS)



Μοριακή Βελτίωση

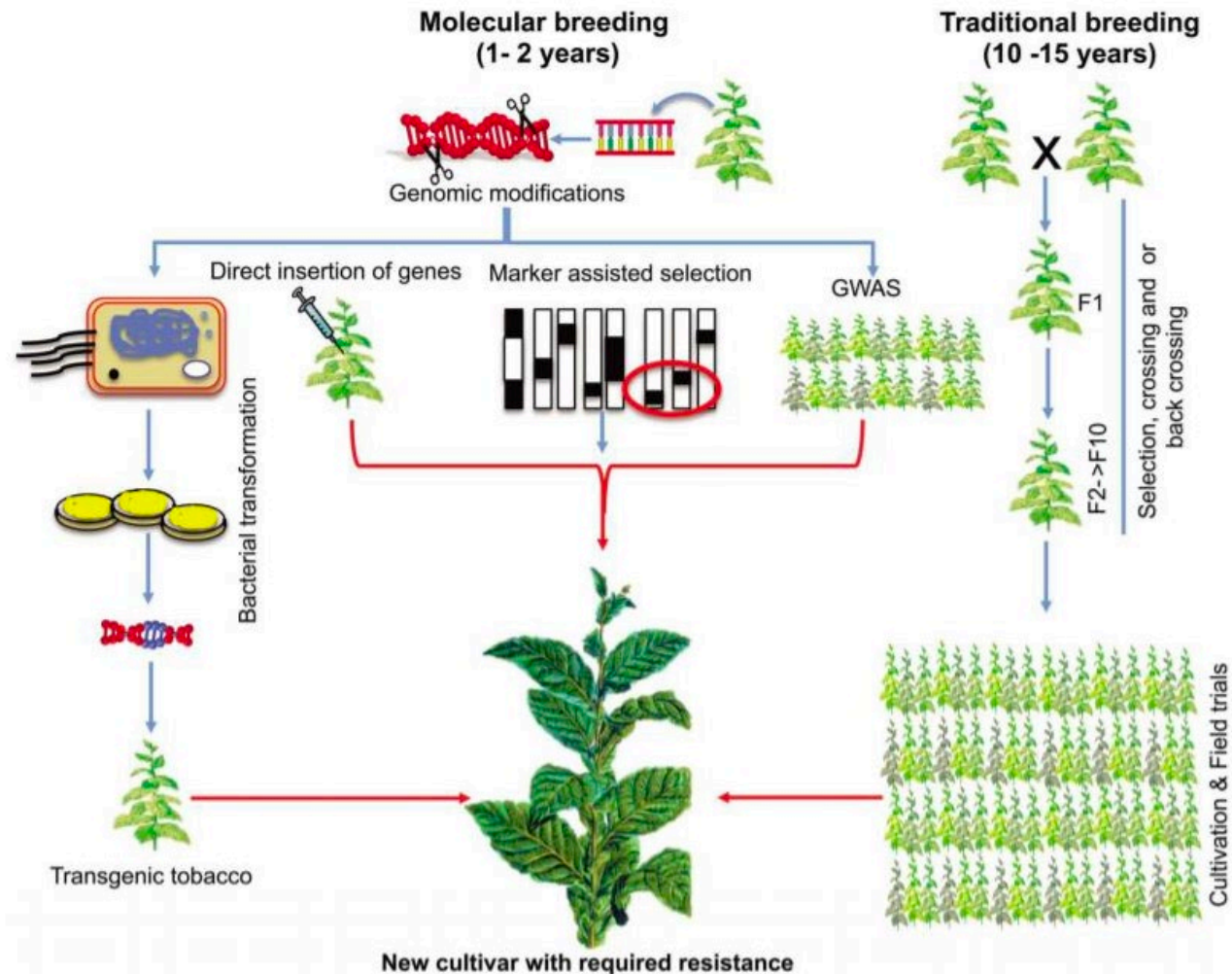


Figure 10. A comparative summary of traditional and molecular breeding in tobacco, citing distinctive stages and methods utilized for generating disease-resistant cultivars. In Figure, 'Genomic modifications' represent all types of alterations/additions/deletions/substitutions carried out in the genome of tobacco plant. For example, epigenetic silencing, gene knockdown, mutagenesis, gene editing techniques and reverse breeding, etc.

Κλασική βελτίωση φυτών

Δέκτης

P₁



X



P₂



Δότης

F₁



F₂

Μεγάλοι πληθυσμοί
αποτελούμενοι από χιλιάδες φυτά



Φαινοτυπική επιλογή



Salinity screening in phytotron



Bacterial blight screening

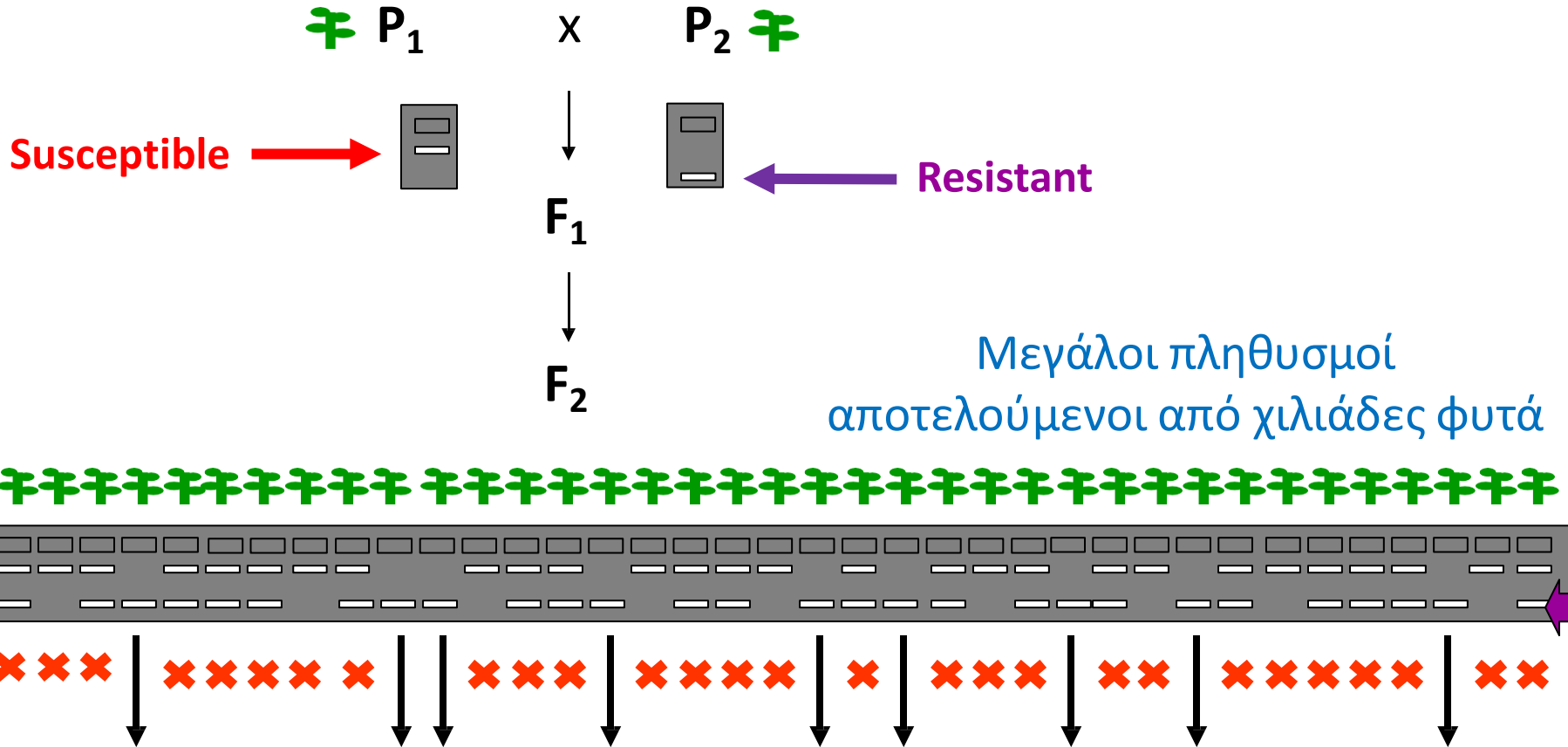


Phosphorus deficiency plot

Θαλαμοι ανάπτυξης

Δοκιμές αγρού

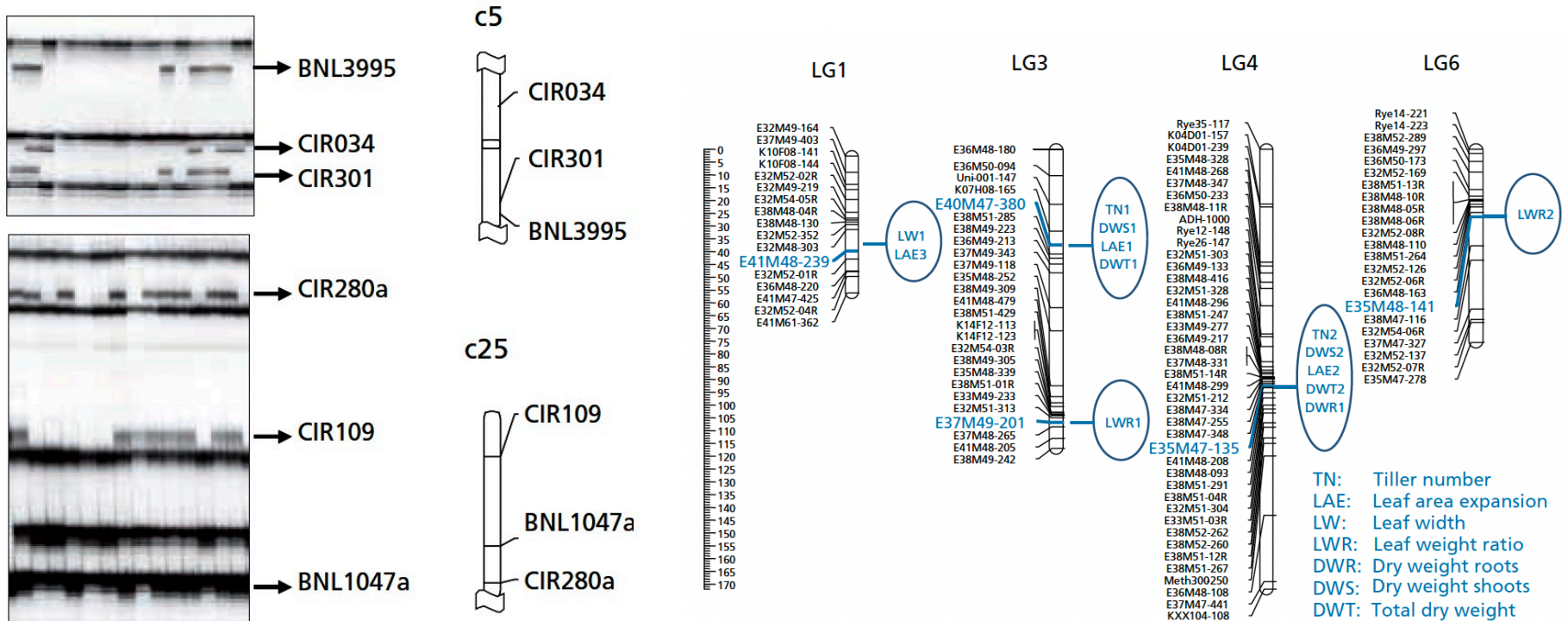
Βελτίωση υποβοηθούμενη από τους μοριακούς δείκτες



MARKER-ASSISTED SELECTION (MAS)

Η μέθοδος όπου η φαινοτυπική επιλογή βασίζεται στους μοριακούς δείκτες

Επιλογή υποβοηθούμενη από μοριακούς δείκτες



Η επιλογή με τη χρήση δεικτών (*marker assisted selection-MAS*) είναι η εφαρμογή των μοριακών δεικτών στη βελτίωση των φυτών.

Marker assisted selection (MAS):

- Η υποβοηθούμενη από μοριακούς δείκτες επιλογή (MAS), σχετίζεται με δείκτες που είναι στενά συνδεδεμένοι με γενετικούς τόπους / στόχους ως υποκατάστατο ή για να βοηθήσουν τον φαινοτυπικό έλεγχο.

Παραδοχή:

- Οι μοριακοί δείκτες συνδέονται με συγκεκριμένο φαινότυπο και μπορούν να τον προβλέψουν
- Η βελτίωση με τη χρήση δεικτών (Marker Assisted Breeding, MAS) αφορά την επιλογή αλληλομόρφων με θετική συμβολή σε ένα γνώρισμα.

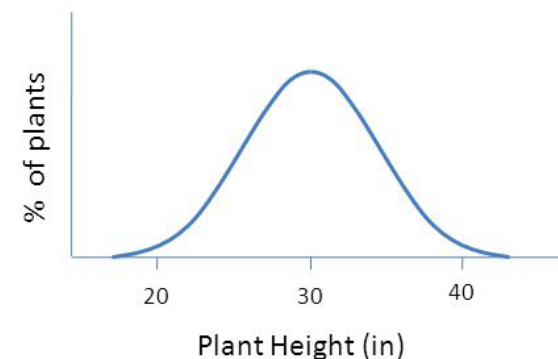
$$P = \mu + G + E + (G \times E)$$

μ : μο του πληθυσμού για το **ποσοτικό** γνώρισμα

G : η επίδραση του γονοτύπου στο άτομο

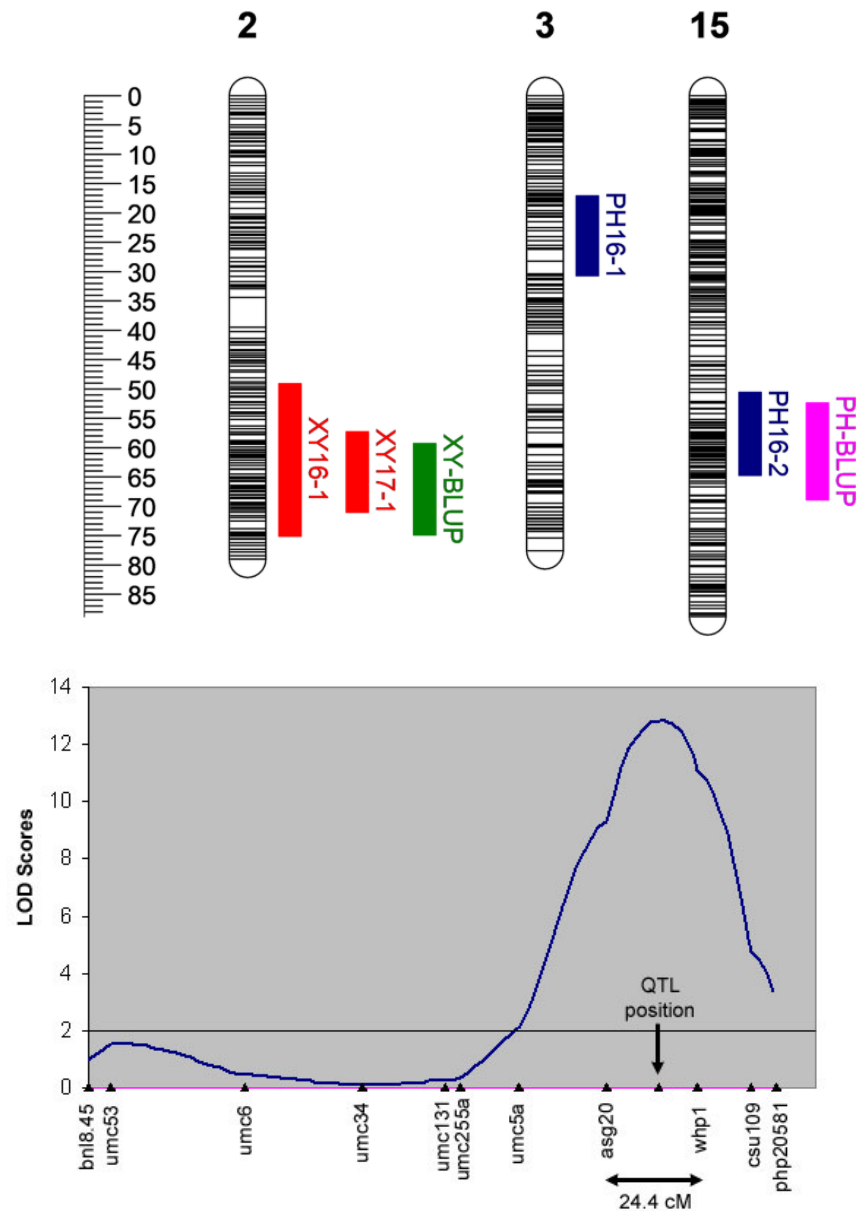
E : η επίδραση του περιβάλλοντος στο γνώρισμα

$G \times E$: η αλληλεπίδραση γονοτύπου - περιβάλλοντος



- Ο φαινότυπος των ποσοτικών γνωρισμάτων είναι αποτέλεσμα μικρών συνεισφορών από πολλά μεμονωμένα γονίδια
- Η έκφραση των σύνθετων γνωρισμάτων μπορεί να επηρεάζεται από μη γενετικούς παράγοντες.
- Αναφερόμαστε σε αυτά τα συμπλέγματα γονιδίων ως γενετικούς τόπους ποσοτικών γνωρισμάτων (quantitative trait loci-QTL).
- Οι QTL μπορούν να θεωρηθούν συγκεκριμένες χρωσωμικές περιοχές που περιέχουν γονίδια τα οποία συμβάλλουν σημαντικά στην έκφραση ενός σύνθετου γνωρίσματος.

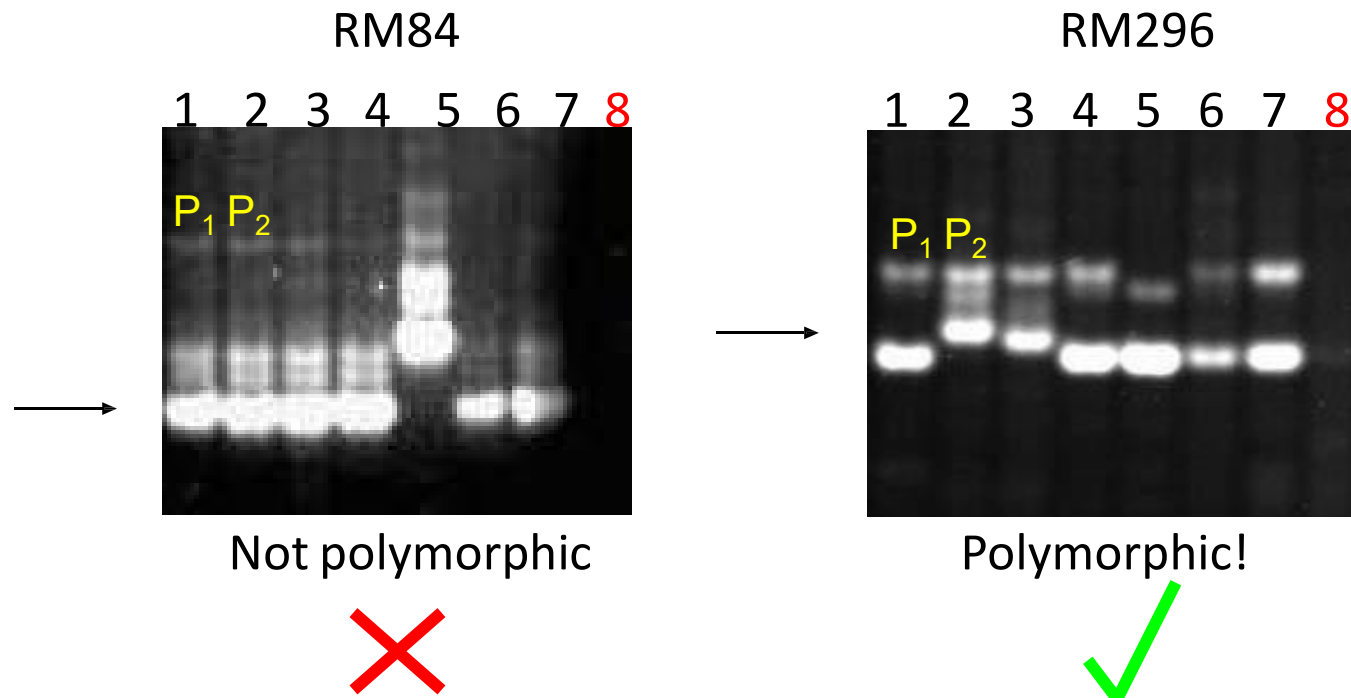
QTL Mapping



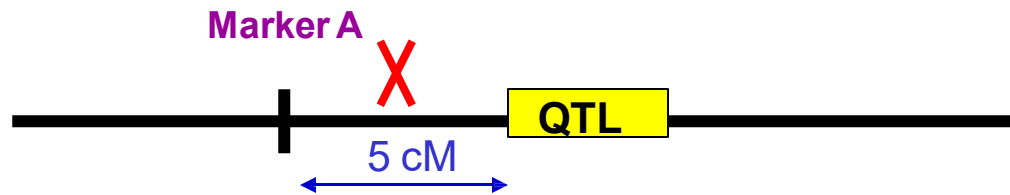
Επιλογή μοριακών δεικτών για τη MAS

Βασικές προϋποθέσεις για την εφαρμογή των μοριακών δεικτών στη MAS:

- **Υψηλός βαθμός πολυμορφισμού και επαναληψιμότητας:**
Αποτελεσματικότητα στη διάκριση ατόμων από τον υπό βελτίωση πληθυσμό.

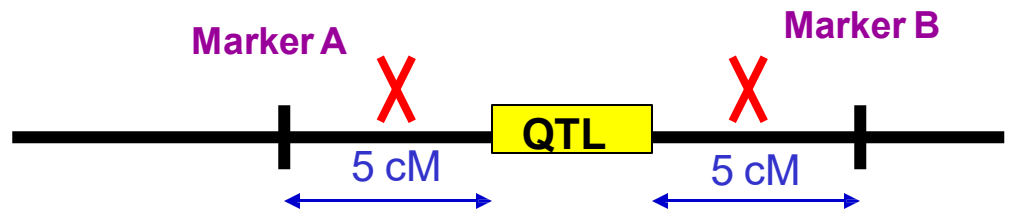


- Υψηλή αξιοπιστία:** Αξιόπιστοι δείκτες είναι εκείνοι που συνδέονται στενά με το γονίδιο/QTL ενδιαφέροντος (επιθυμητή απόσταση μικρότερη από 5 cM από το γονίδιο ή το QTL).



Using marker A only:

$$1 - r_A = \sim 95\%$$

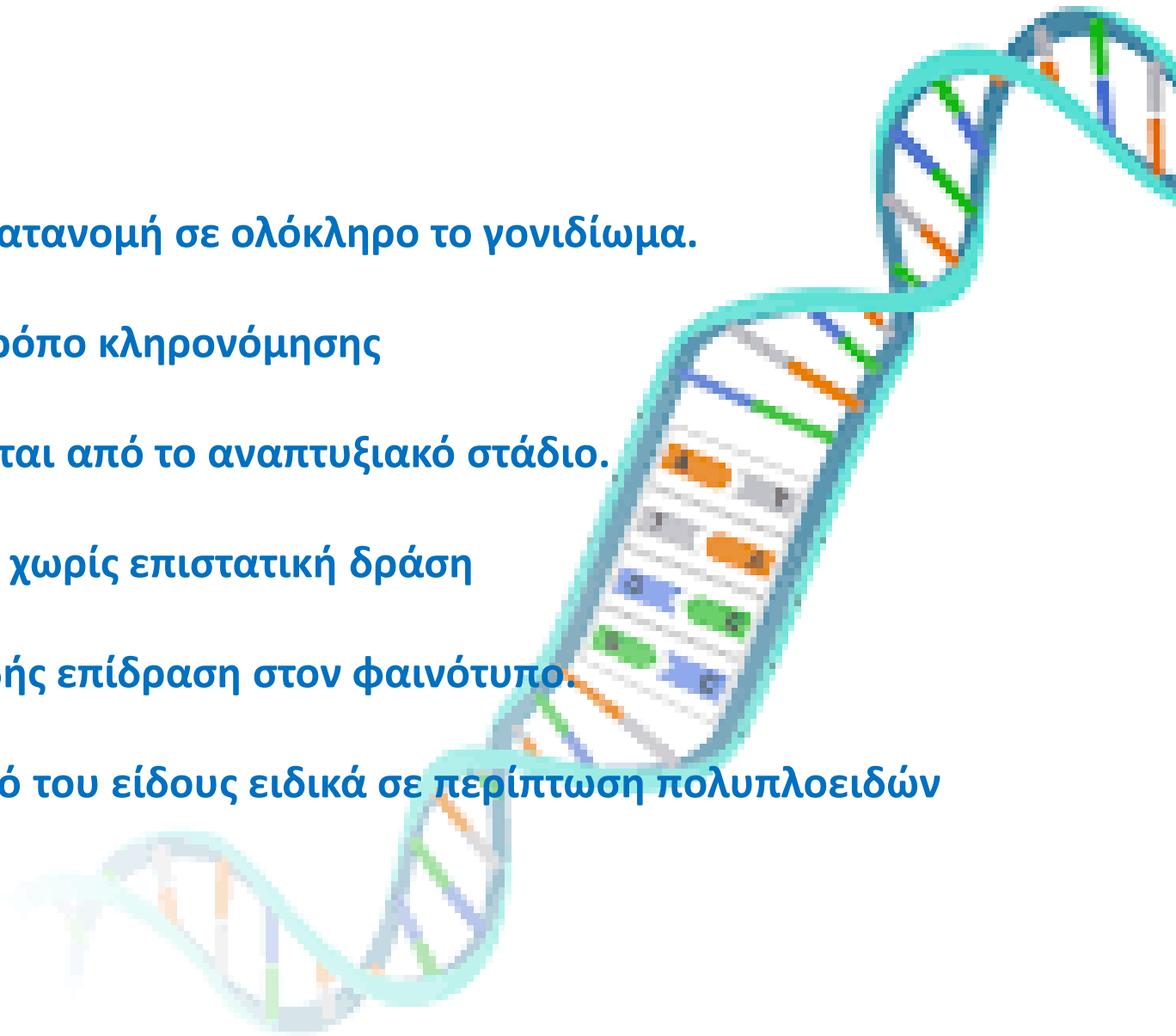


Using markers A and B:

$$1 - 2 r_A r_B = \sim 99.5\%$$

- Χρησιμοποιώντας ένα ζεύγος μοριακών δεικτών βελτιώνεται η αξιοπιστία αλλά αυξάνεται ο χρόνος και το κόστος

- Ομοιόμορφη κατανομή σε ολόκληρο το γονιδίωμα.
- Συνεπικρατή τρόπο κληρονομής
- Να μην εξαρτάται από το αναπτυξιακό στάδιο.
- Single copy και χωρίς επιστατική δράση
- Καμία επιβλαβής επίδραση στον φαινότυπο.
- Χαρακτηριστικό του είδους ειδικά σε περίπτωση πολυπλοειδών



Προβληματισμοί για τη χρήση μοριακών δεικτών στη βελτίωση φυτών

- Τεχνική μεθοδολογία απλή ή περίπλοκη;
- Αξιοπιστία - Για την εφαρμογή της MAS με χρήση QTL, οι δείκτες σπανίως είναι χρήσιμοι χωρίς τα πρόσθετα βήματα της επιβεβαίωσης και της επικύρωσης των QTL
- Βαθμός πολυμορφισμού
- Ποιότητα και ποσότητα DNA που απαιτείται
- Κόστος**
- Διαθέσιμοι πόροι
- Εξοπλισμός,
- Τεχνικές εμπειρογνωμοσύνης

Πλεονεκτήματα της MAS έναντι των συμβατικών πρωτοκόλλων βελτίωσης

Πιο απλή μέθοδος σε σύγκριση με τον κλασσικό φαινοτυπικό έλεγχο στον αγρό.

- Ειδικά για δυσδιάκριτα γνωρίσματα που απαιτούν εντατική εργασία.
- Μπορεί να εξοικονομήσει χρόνο και πόρους

Δυνατότητα επιλογής στο στάδιο του φυταρίου

- Στη συμβατική βελτίωση χρειάζεται μεγάλος αριθμός φυτών προκειμένου να επιλεγούν οι επιθυμητοί γονοτύποι. Αυτό επιμηκύνει τη διάρκεια των προγραμμάτων βελτίωσης.

Μειωμένος χρόνος βελτίωσης.

- Οι δοκιμές σε πρώιμη γενεά και η ευκολία διαλογής κατά τη διάρκεια της επιλογής μπορούν να επισπεύσουν τη διάρκεια του προγράμματος βελτίωσης.

Αυξημένη αξιοπιστία - Διάκριση μεταξύ ομοζυγωτών και ετεροζυγωτών και επιλογή μεμονωμένων φυτών

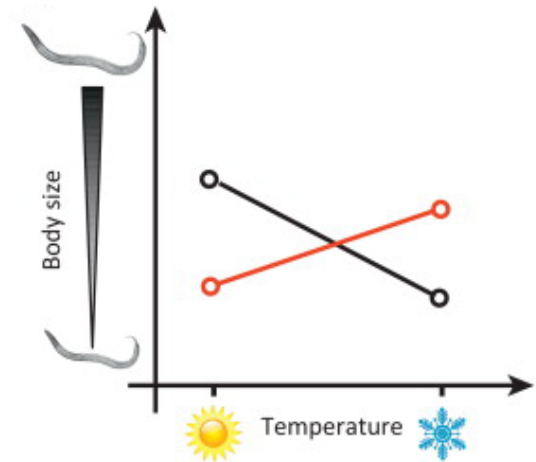
- Η διάκριση των γονοτύπων με φαινοτυπική (οπτική) επιλογή σπάνια είναι αποτελεσματική στη διάκριση μεταξύ ομόζυγων και ετερόζυγων γονοτύπων.



Marker Assisted Selection

Χρήσιμη όταν το γονίδιο(α) ενδιαφέροντος είναι δύσκολο να επιλεγούν:

- ❑ Υπολειπόμενα γνωρίσματα
- ❑ Πολλαπλά γονίδια για ανθεκτικότητα σε ασθένειες
- ❑ Ποσοτικά γνωρίσματα
- ❑ Μεγάλη αλληλεπίδραση γονοτύπου x περιβάλλοντος



Οφέλη από MAS

- η MAS είναι απλούστερη σε σχέση με τη φαινοτυπική διαλογή,
- Παρέχει μεγάλη αποτελεσματικότητα και ταχύτερη ανάπτυξη σειρών.
- Σε ορισμένες περιπτώσεις, η χρήση δεικτών μπορεί να είναι πιο αποδοτική από άποψη κόστους σε σχέση με την απευθείας διαλογή για το γνώρισμα στόχο.
- Κατάλληλη για ορφανές καλλιέργειες στις αναπτυσσόμενες χώρες. Η MAS είναι οικονομικά προσιτή μέθοδος για βελτίωση στις αναπτυσσόμενες χώρες.



Crossing house



Backcross nursery

- Υπάρχουν βελτιωτές φυτών που πιστεύουν ότι η MAS είναι ανώτερη από τη συμβατική βελτίωση, ενώ κάποιοι άλλοι πιστεύουν ότι έχει περιορισμένη χρησιμότητα.

Η γενετική πρόοδος (genetic advance) είναι η αύξηση της απόδοσης που επιτυγχάνεται μέσω ενός προγράμματος βελτίωσης

$$X_o - X_p = R = ih^2\sigma \text{ (ή } \Delta G = ih2\sigma)$$

X_o: ο μέσος φαινότυπος των απογόνων των επιλεγμένων γονέων,

X_p: ο μέσος φαινότυπος ολόκληρης της γονικής γενεάς,

R: η πρόοδος σε μία γενεά επιλογής,

h²: ο συντελεστής κληρονομικότητας,

σ: η φαινοτυπική τυπική απόκλιση του γονικού πληθυσμού,

i: η ένταση της επιλογής (δηλαδή το ποσοστό των ατόμων του πληθυσμού που επιλέγονται ως γονείς για την επόμενη γενεά)

ΔG: είναι το γενετικό κέρδος ή γενετική πρόοδος.

Εξίσωση του βελτιωτή

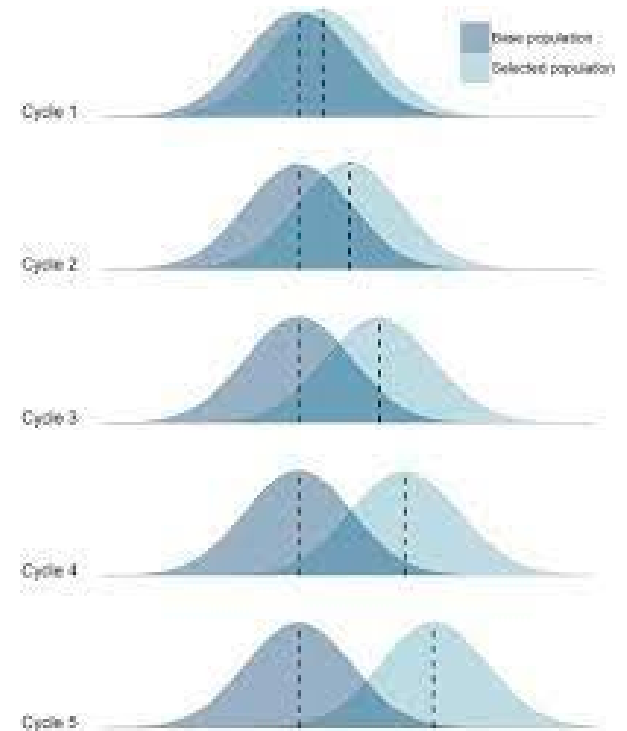
$$\Delta G = ih^2\sigma/L$$

L: αντιπροσωπεύει τη διάρκεια του χρόνου που απαιτείται για να ολοκληρωθεί ένας κύκλος επιλογής. $L = 1$ εάν η διάρκεια ενός κύκλου είναι ένα έτος.

- ❖ Πώς η MAS μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση του γενετικού κέρδους με την τροποποίηση των συνιστωσών της εξίσωσης των βελτιωτών.
- ❖ Πώς η MAS μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση του γενετικού κέρδους με τη χρήση κοινών μεθόδων ή σχημάτων βελτίωσης – όπως με αναδιασταύρωση, γενεαλογική επιλογή, επαναλαμβανόμενη επιλογή και παραγωγή υβριδίων.

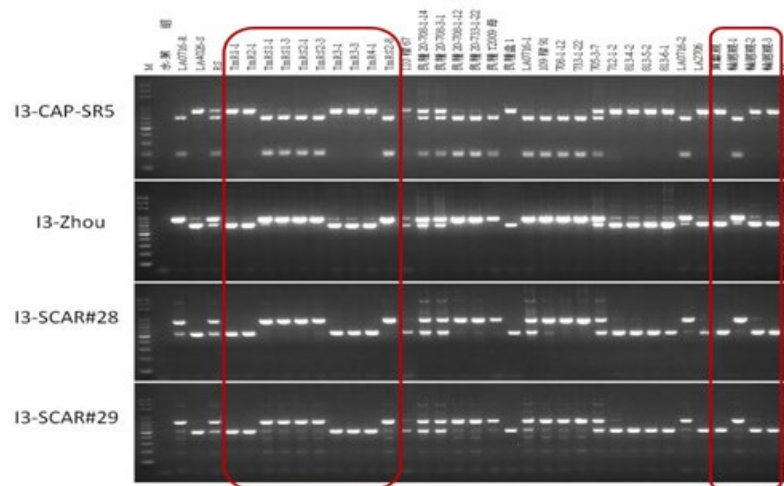
Συμβολή MAS στη γενετική πρόοδο

- Αύξηση του βαθμού φαινοτυπικής παραλλακτικότητας στον υπό βελτίωση πληθυσμό,
- Αύξηση της κληρονομικής ικανότητας του γνωρίσματος,
- Αύξηση της έντασης της επιλογής
- Μείωση της διάρκειας ενός κύκλου επιλογής.



Εκτίμηση της γενετικής ποικιλότητας του πληθυσμού βάσης και επιλογή γονέων για τις διασταυρώσεις

- Για τον χαρακτηρισμό της γενετικής ποικιλότητας του αρχικού πληθυσμού μπορούν να χρησιμοποιηθούν μοριακοί δείκτες που θα βοηθήσουν στην κατάλληλη επιλογή των γονέων για τη δημιουργία του αρχικού πληθυσμού βελτίωσης.
- Οι μοριακοί δείκτες έχουν χρησιμοποιηθεί στην ανακάλυψη ετερωτικών προτύπων και την επιλογή των γονέων σε προγράμματα βελτίωσης για δημιουργία υβριδίων



Αύξηση της ευνοϊκής γονιδιακής δράσης

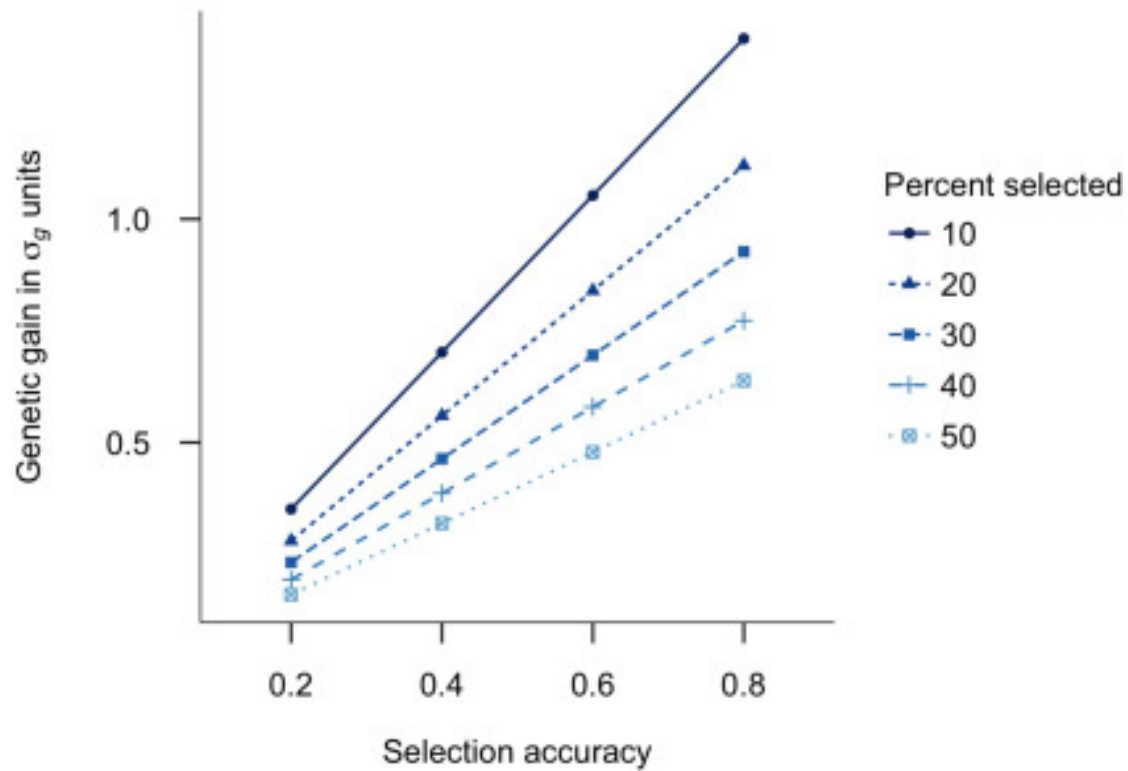
Ο συντελεστής κληρονομικότητας, ιδιαίτερα με τη στενή έννοια (υπολογίζεται ως το ποσοστό της γενετικής παραλλακτικότητας που οφείλεται σε αθροιστικές γενετικές επιδράσεις),

- ✓ Επειδή οι αθροιστικές γενετικές επιδράσεις μεταφέρονται στους απογόνους με προβλέψιμο τρόπο.
- ✓ Οι μοριακοί δείκτες χρησιμοποιούνται σε απογονικούς ελέγχους για να χαρακτηρίσουν τη γονιδιακή δράση και τις βελτιωτικές τιμές εξετάζοντας τους απογόνους που παράγονται από αυτεπικονίαση ή σταυρεπικονίαση).

Αύξηση της αποτελεσματικότητας της επιλογής

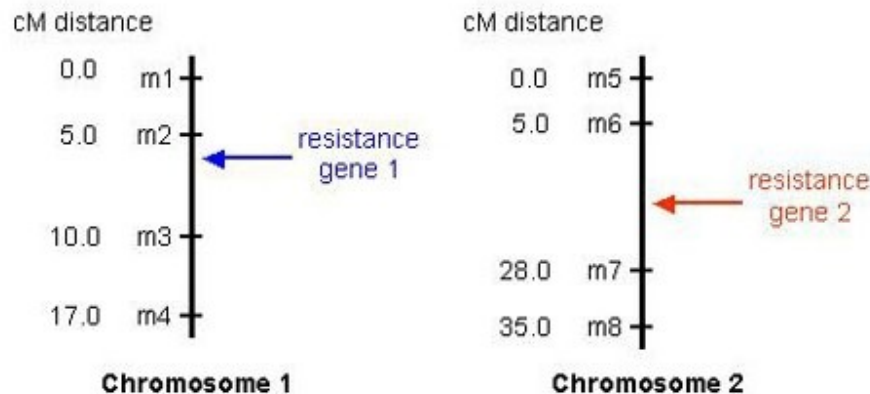
- Η επιλογή με βάση τον φαινότυπο περιπλέκεται από τις επιδράσεις του περιβάλλοντος και την αλληλεπίδραση $G \times E$.
- Τα σφάλματα του προσωπικού μειώνουν την αποτελεσματικότητα της επιλογής με βάση το φαινότυπο.
- Δυσχέρεια στην επιλογή για υπολειπόμενα γνωρίσματα.
- Η MAS μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με τη συμβατική βελτίωση για τη μείωση του παράγοντα L στην εξίσωση του βελτιωτή
- Έλεγχος των πρώιμων γενεών για την εξάλειψη των ανεπιθύμητων γονοτύπων, μειώνοντας έτσι τον αριθμό των γονοτύπων που πρέπει να αξιολογηθούν.

Αύξηση της αποτελεσματικότητας της επιλογής

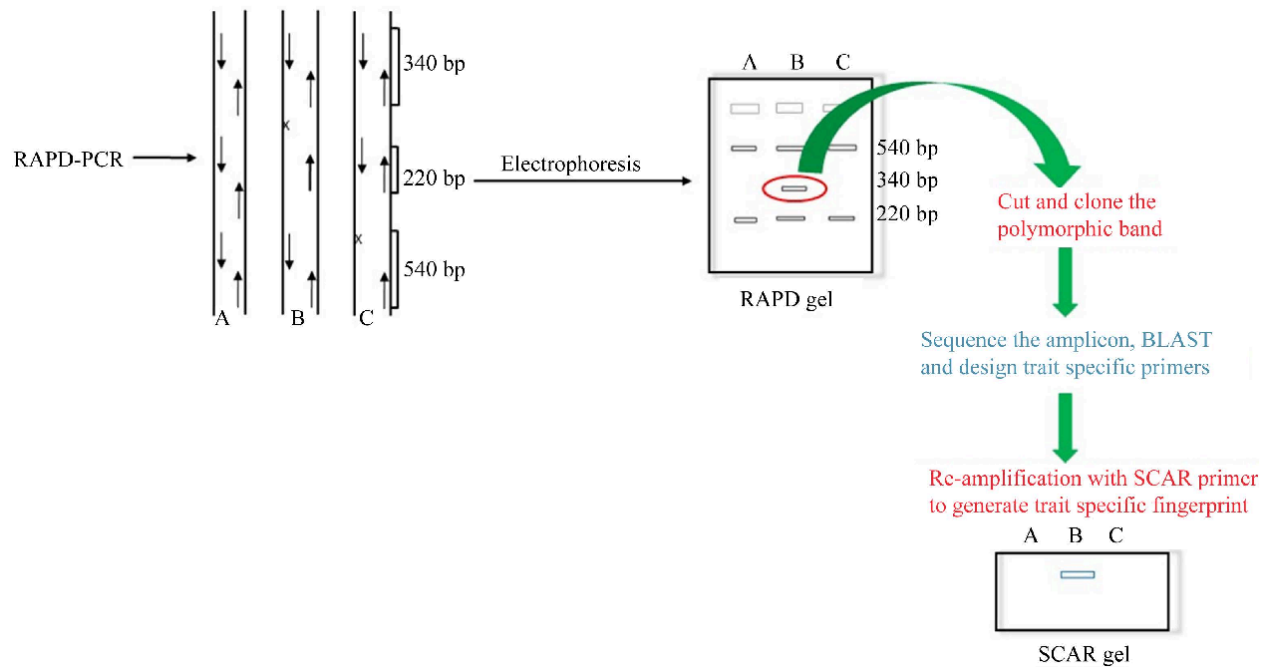


Πιθανά μειονεκτήματα της MAS

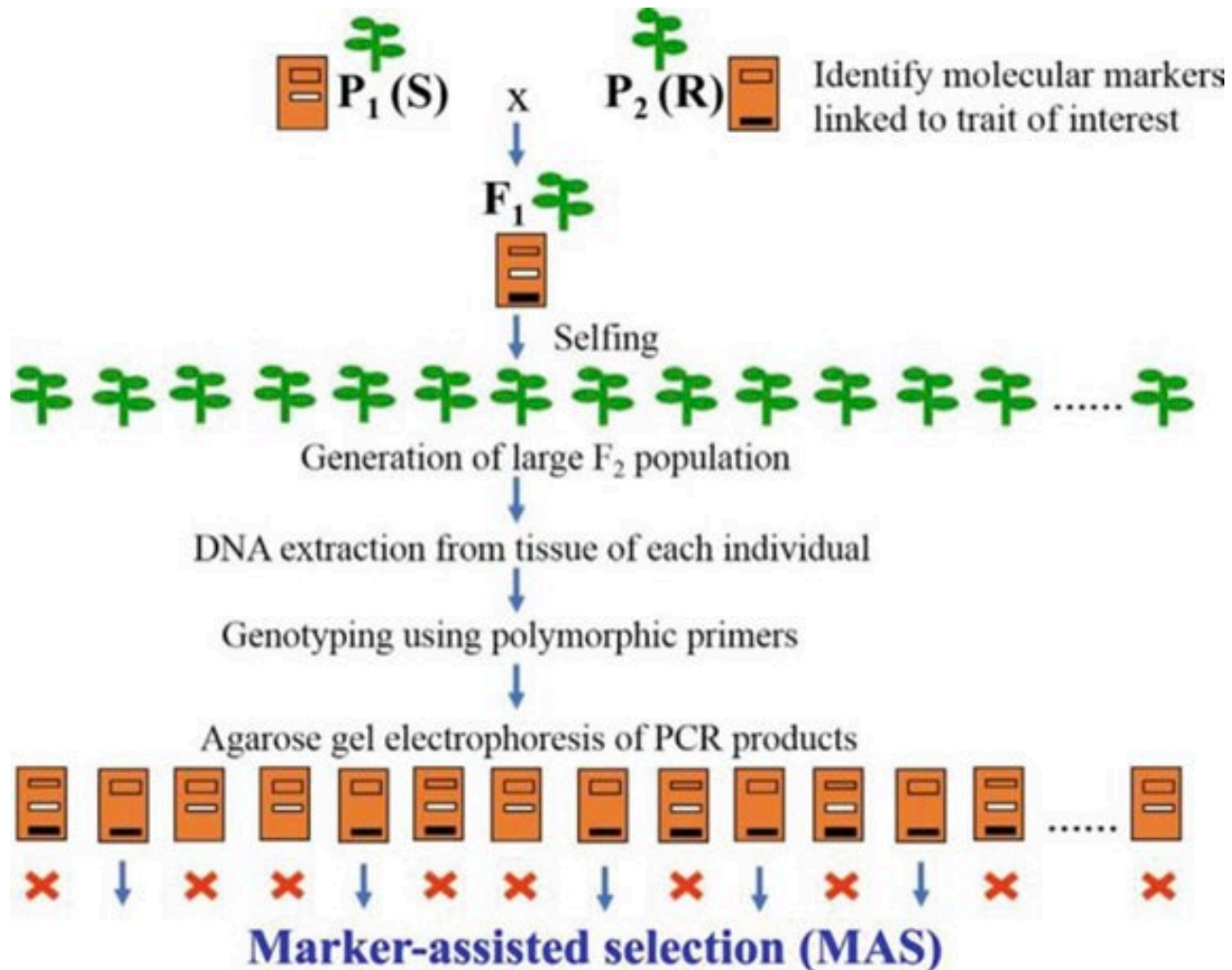
- ❑ Η MAS μπορεί να κοστίσει περισσότερο από τις συμβατικές τεχνικές
- ❑ Μπορεί να συμβεί ανασυνδυασμός μεταξύ του δείκτη και του γονιδίου που μας ενδιαφέρει, οδηγώντας σε λάθος επιλογή και ψευδώς θετικά αποτελέσματα (<5cM, 5% πιθανότητα επιχιασμού).
- ❑ Οι δείκτες που αναπτύχθηκαν για MAS σε έναν πληθυσμό ενδέχεται να μην μπορούν να μεταφερθούν σε άλλους, είτε λόγω έλλειψης πολυμορφισμού είτε λόγω μη συσχέτισης μεταξύ δείκτη- φαινοτύπου γνωρίσματος.



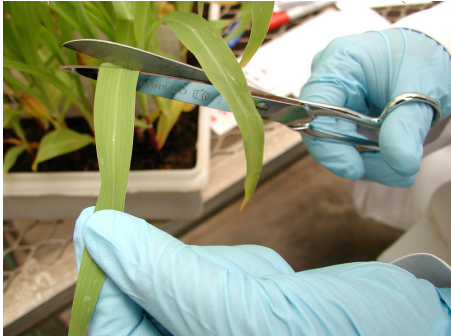
- ❑ Μη ακριβής χαρτογράφηση των QTL ενδέχεται να οδηγήσουν σε πιο αργή πρόοδο από ότι αναμενόταν.
- ❑ Μερικές φορές οι δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση ενός τόπου πρέπει να μετατραπούν σε δείκτες «φιλικούς» προς το βελτιωτή που είναι πιο αξιόπιστοι και ευκολότεροι στη χρήση, πχ RAPD σε SCAR



Τυπική Διαδικασία MAS



Η διαδικασία σε συντομία



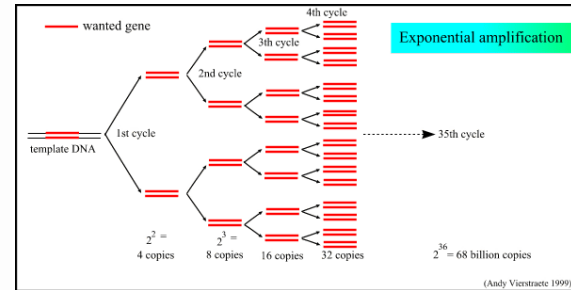
Δειγματοληψία



Εκχύλιση DNA



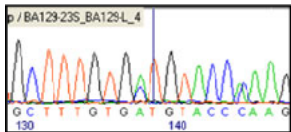
PCR-based DNA markers



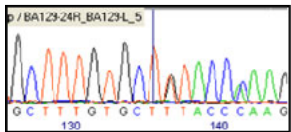
PCR



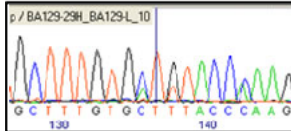
Ηλεκτροφόρηση - Γονοτύπηση



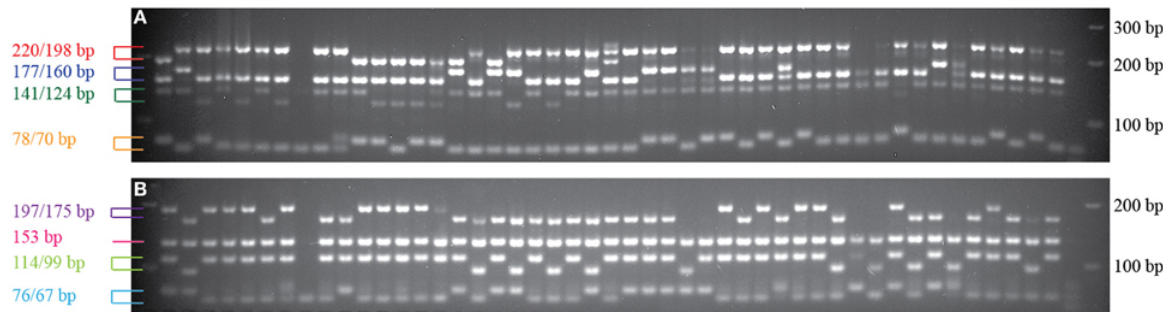
gctttgtg**C**tGtacc**A**aag (E*, 2X)
gctttgtg**A**tGtacc**C**aag (C*, 2X)



gctttgtg**C**tGtacc**A**aag (E*, 2X)
gctttgtg**C**tTtacc**C**aag (L, 2X)



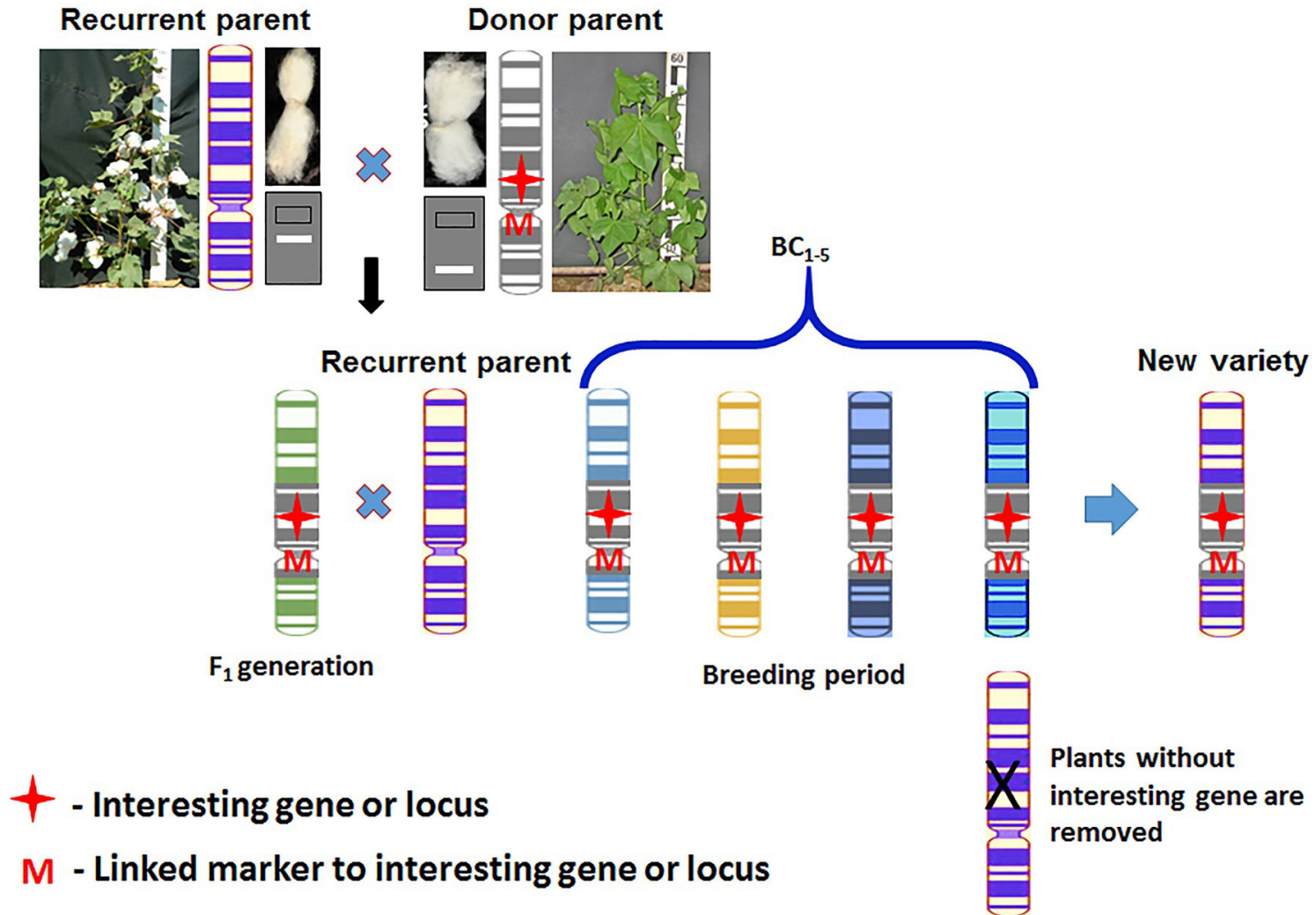
gctttgtg**C**tGtacc**A**aag (E*, 2X)
gctttgtg**A**tGtacc**C**aag (C*, 1X)
gctttgtg**C**tTtacc**C**aag (L, 1X)



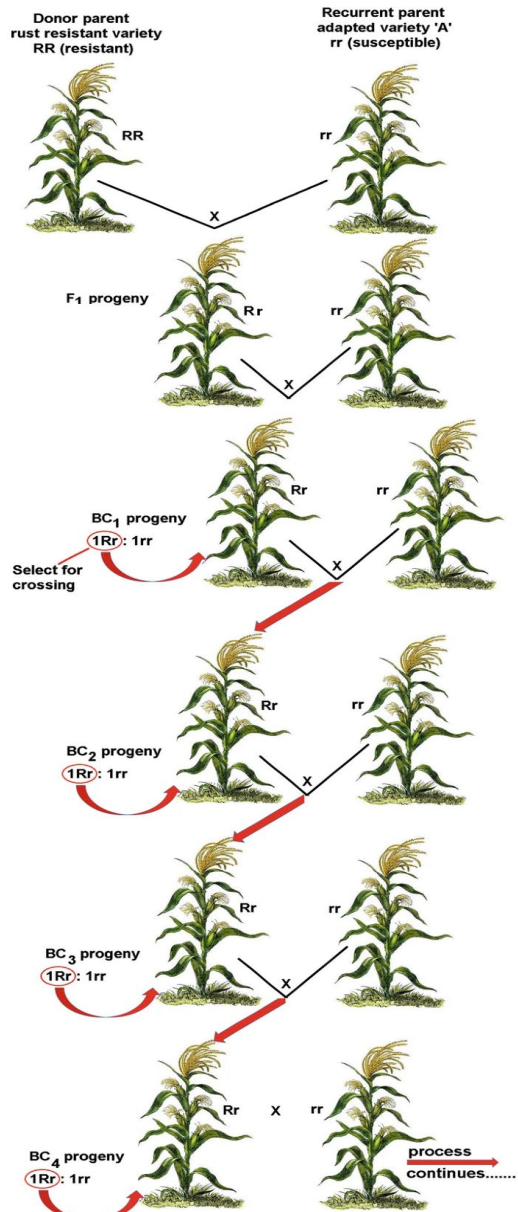
Εφαρμογές MAS

- ❖ Αναδιασταύρωση υποβοηθούμενη από τους μοριακούς δείκτες
- ❖ Πυραμιδοποίηση με τη χρήση δεικτών
- ❖ Επιλογή σε πρώιμη γενεά με τη χρήση δεικτών
- ❖ «Συνδυαστικές» προσεγγίσεις

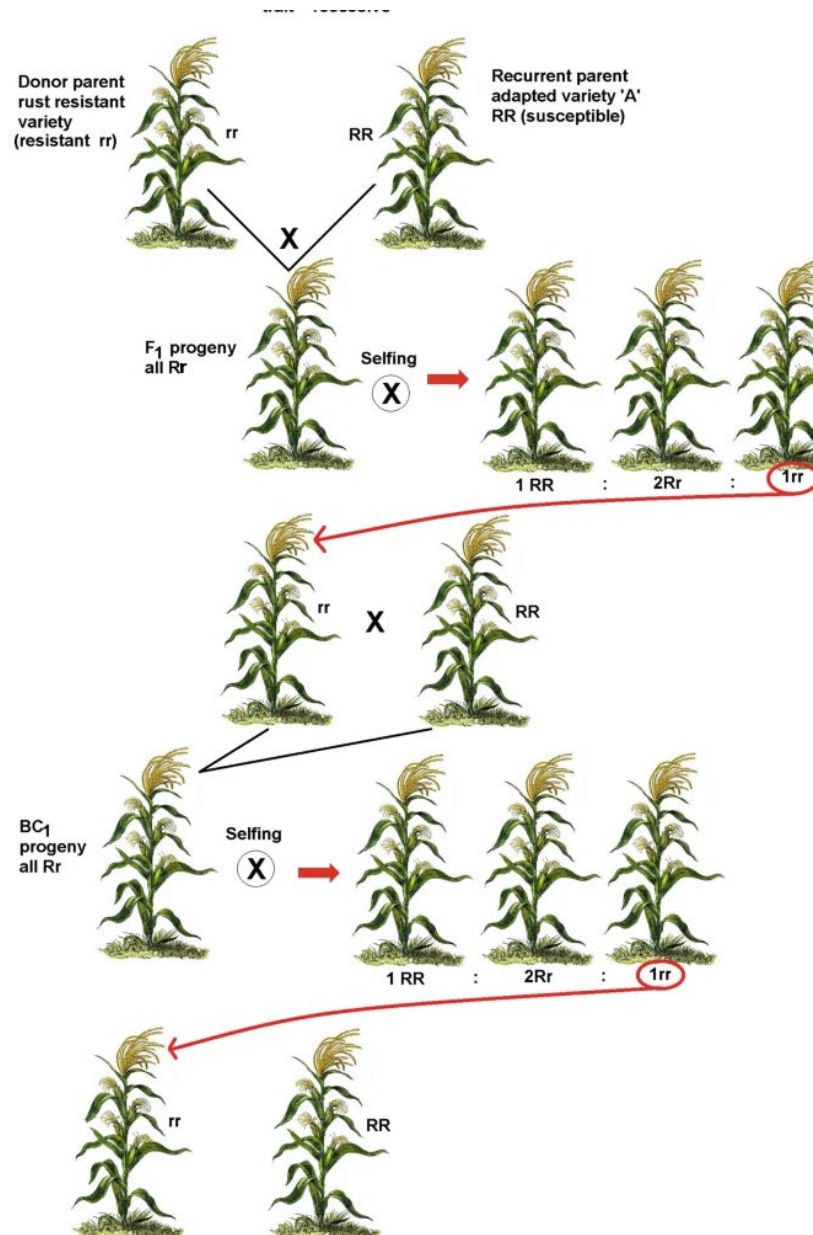
Αναδιασταύρωση με τη χρήση δεικτών Marker-assisted backcrossing (MABC)



Επικρατές γνώρισμα



Υπολειπόμενο γνώρισμα



Αναδιασταύρωση με τη χρήση δεικτών

Marker-assisted backcrossing (MABC)

- ❑ Η αναδιασταύρωση διεξάγεται με σκοπό τη μεταφορά ενός σημαντικού γονιδίου (ή λίγων γονιδίων) σε μια προσαρμοσμένη (ανώτερη, εμπορική) ποικιλία.
- ❑ Η MAS μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διευκόλυνση της αναδιασταύρωσης όταν εμπλέκονται υπολειπόμενα γονίδια ή όταν τα μεταφερόμενα πολλαπλά γονίδια μπορούν να καλύψουν επιστατικά τις αμοιβαίες επιδράσεις τους (π.χ. όταν ενσωματώνονται πολλαπλά γονίδια ανθεκτικότητας έναντι των ασθενειών).
- ❑ Η MAS είναι επίσης χρήσιμη όταν το πειραματικό περιβάλλον δεν είναι ιδανικό για την έκφραση του γνωρίσματος στόχου (π.χ. βελτίωση για ασθένειες) ή όταν οι φαινοτυπικές μελέτες είναι επίπονες και δαπανηρές (π.χ. για τα γνωρίσματα ποιότητας).

Η ΜΑΒ έχει αρκετά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με την συμβατική βελτίωση:

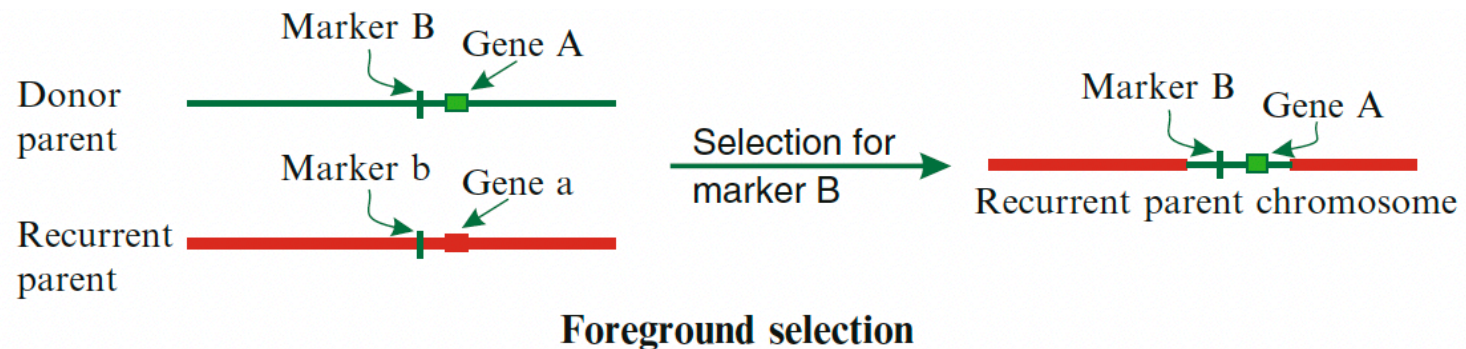
- Αποτελεσματική επιλογή.
- Μείωση της συγκληρονόμησης μη επιθυμητων γονιδίων (linkage drag).
- Αυξημένη επανάκτηση του επαναλαμβανόμενου γονέα

Οι στόχοι της αναδιασταύρωσης είναι οι εξής:

- Μεταφορά του επιθυμητού χαρακτηριστικού από έναν γονέα δότη σε έναν επαναλαμβανόμενο γονέα.
- Ανάκτηση του γονιδιώματος του επαναλαμβανόμενου γονέα.
- Πλήρης απομάκρυνση του γονιδιώματος του γονέα δότη, αφήνοντας μόνο το γονίδιο στόχο/QTL.

Οι μοριακοί δείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την επίτευξη και των τριών στόχων.

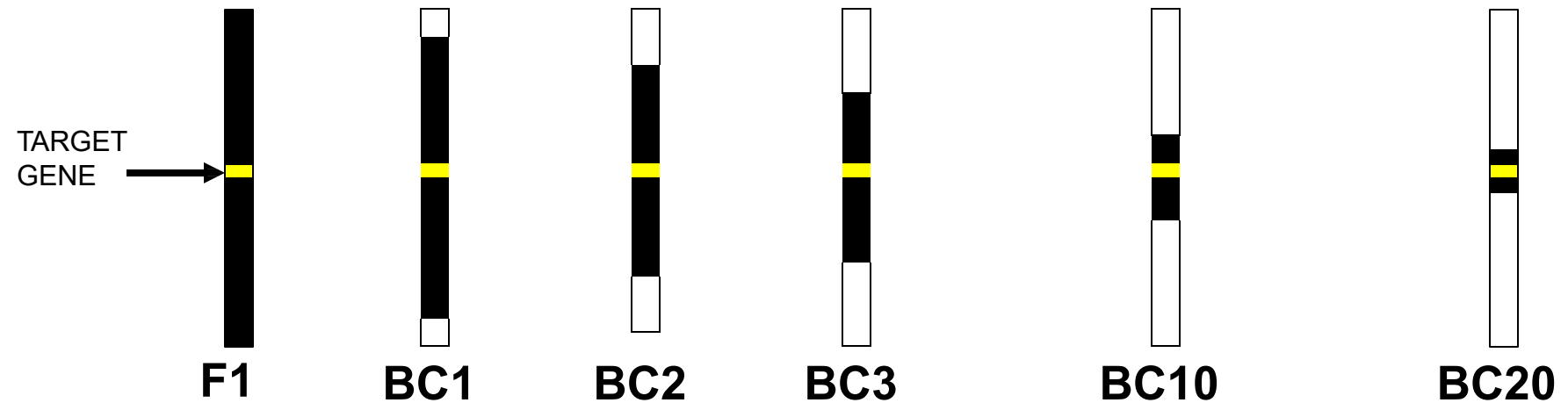
- Οι δείκτες που συνδέονται (linked) με το γονίδιο στόχο/QTL επιτρέπουν την έμμεση επιλογή του γονιδίου/QTL (**foreground selection**).



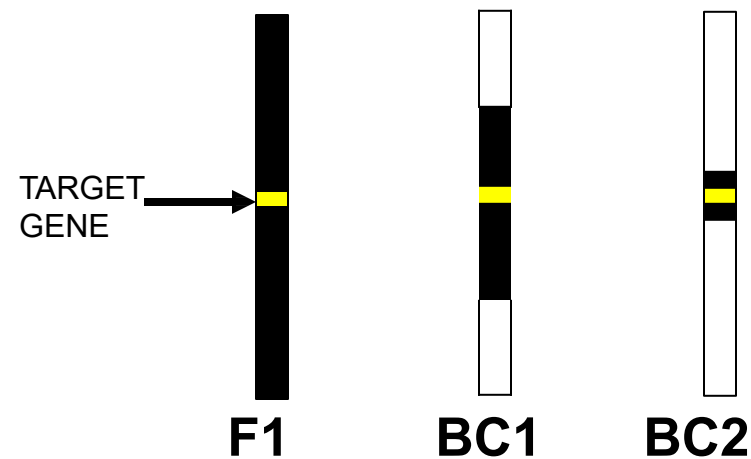
- ✓ Επιλογή για γονίδιο-στόχο ή QTL
- ✓ Χρήσιμη για χαρακτηριστικά που είναι δύσκολο να αξιολογηθούν
- ✓ Επίσης χρήσιμη για υπολειπόμενα γονίδια

Οι δείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ελαχιστοποίηση της ποσότητας του χρωμοσώματος του δότη... αλλά πώς;

Conventional backcrossing



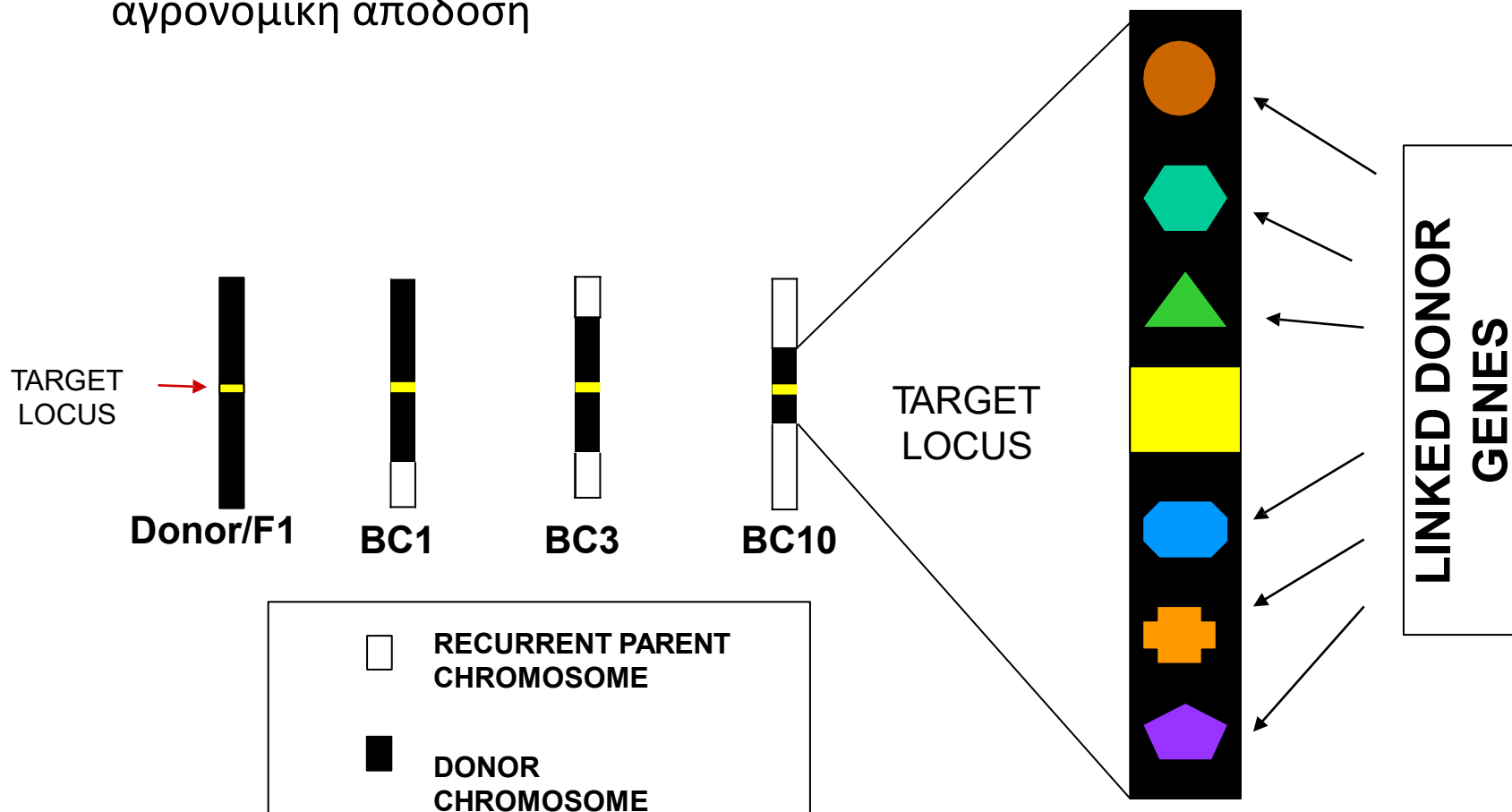
Marker-assisted backcrossing



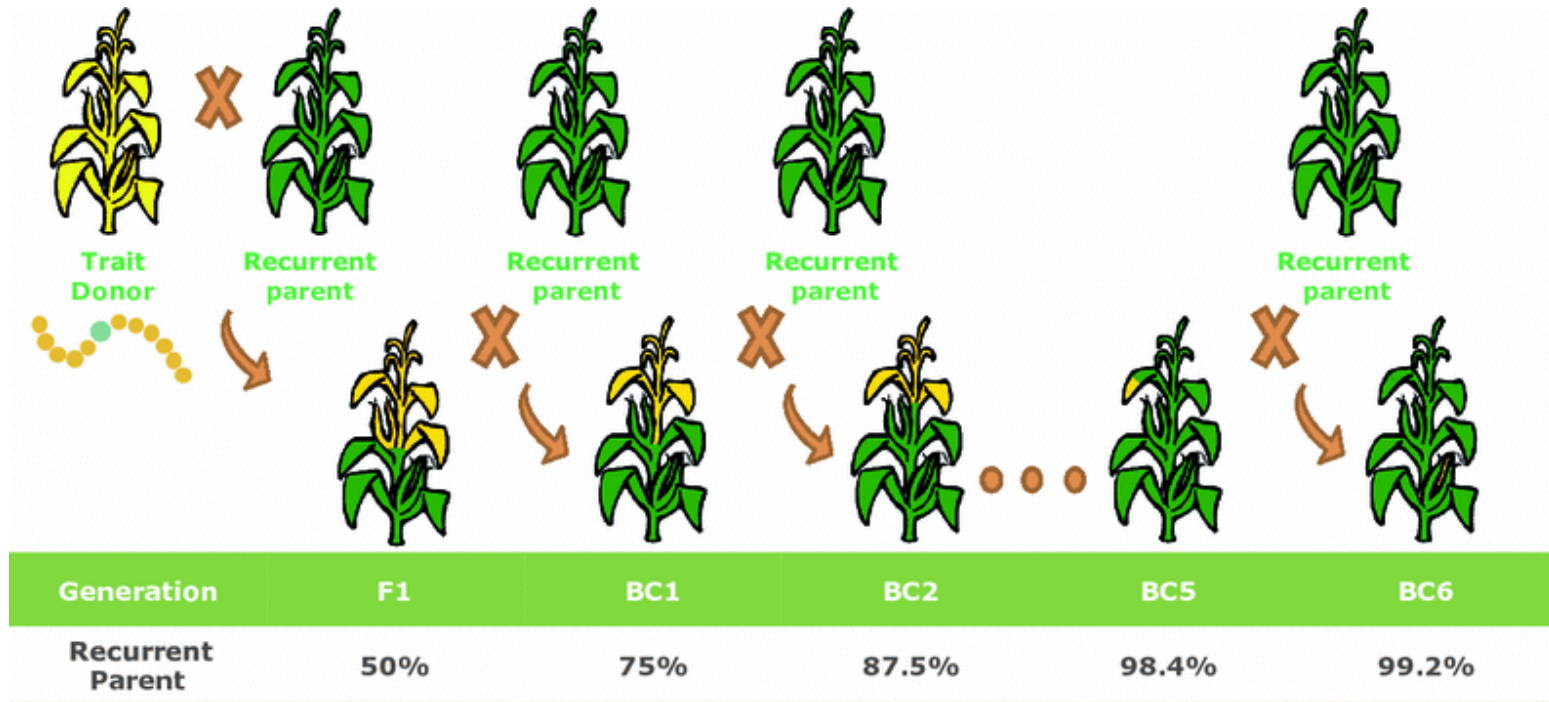
Ribaut, J.-M. & Hoisington, D. 1998 Marker-assisted selection: new tools and strategies. *Trends Plant Sci.* **3**, 236-239.

Συγκληρονόμηση μη επιθυμητών γονιδίων 'linkage drag'

- Μεγάλες περιοχές χρωμοσώματος-δότη παραμένουν ακόμη και μετά από πολλές διασταυρώσεις
- Ανεπιθύμητες λόγω άλλων γονιδίων δότη που επηρεάζουν αρνητικά την αγρονομική απόδοση



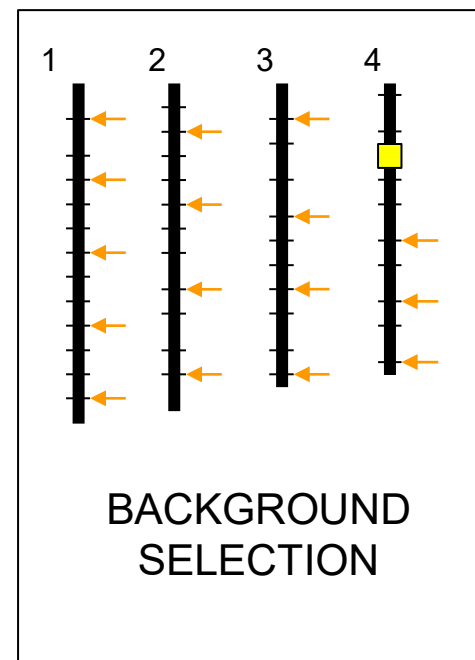
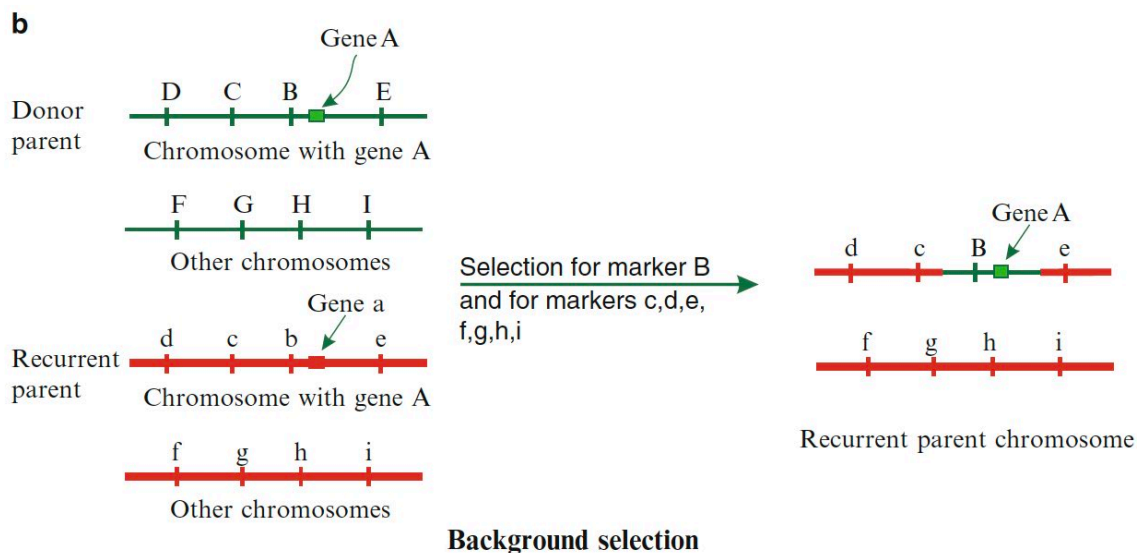
Ανάκτηση του γονιδιώματος του επαναλαμβανόμενου γονέα



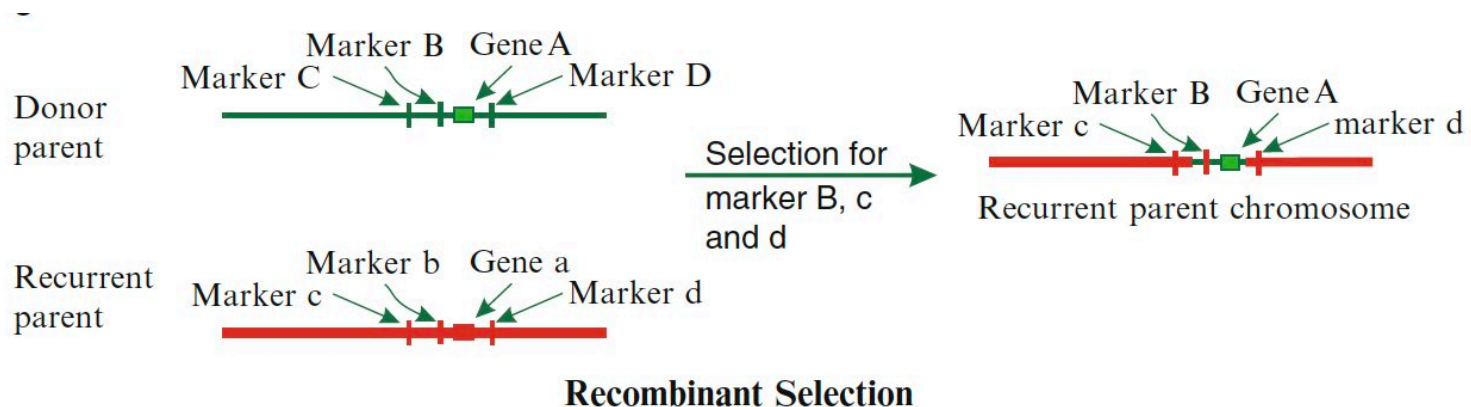
Η θεωρητική αναλογία του γονιδιώματος του επαναλαμβανόμενου γονέα δίνεται από τον τύπο:

$$2^{n+1} - 1 / 2^{n+1} \quad n = \text{αριθμός αναδιασταύρωσης}$$

- Χρήση και μη συνδεδεμένων, συν-κυρίαρχων δεικτών που κατανέμονται σε όλο το γονιδίωμα που επιτρέπουν την επιλογή των φυτών με το το υψηλότερο ποσοστό του γονιδιώματος του επαναλαμβανόμενου γονέα (**background selection**).
- Επιταχύνει την ανάκτηση του γονιδιώματος του επαναλαμβανόμενου γονέα.
- Ενδέχεται να είναι δυνατή η εξοικονόμηση 2, 3 ή ακόμα και 4 γενεών αναδιασταύρωσης.

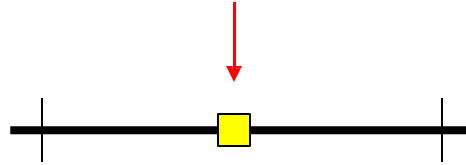


- Χρήση δεικτών εκατέρωθεν του γονιδίου / QTL στόχου και επιλογή ανασυνδυασμένων γονοτύπων μεταξύ του γονιδίου / QTL στόχου και των δεικτών (**recombinant selection**).
- ✓ Η συγκληρόνωση μη επιθυμητών γονιδίων του δότη (linkage drag) ελαχιστοποιείται
- ✓ Απαιτεί μεγάλα μεγέθη πληθυσμού
- ✓ Εξαρτάται από την απόσταση των εκατέρωθεν δεικτών από τον γονίδιο / QTL στόχο
- ✓ Είναι σημαντικό όταν ο γονέας δότης είναι μια παραδοσιακή ποικιλία

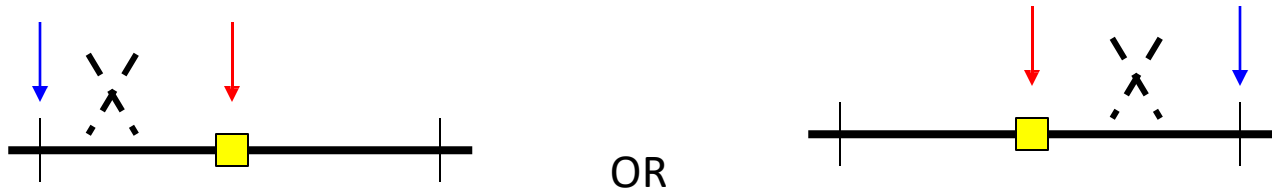


BC1

Step 1 – select target locus

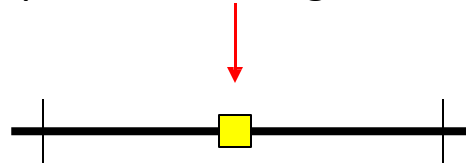


Step 2 – select recombinant on either side of target locus

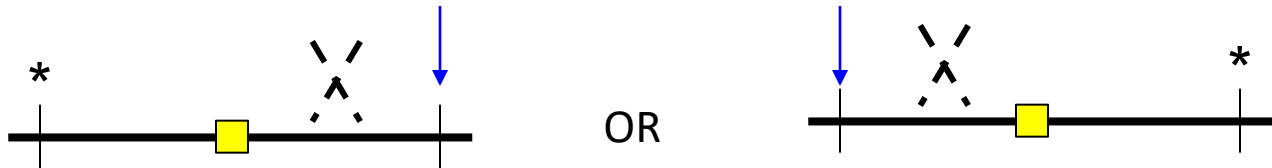


BC2

Step 3 – select target locus again

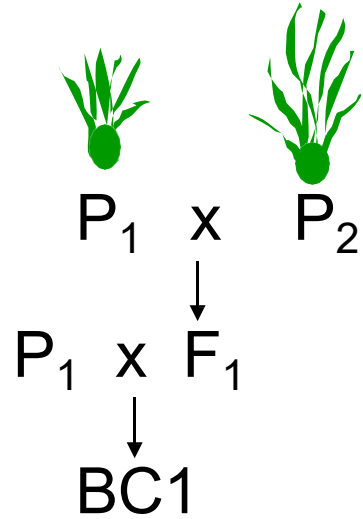


Step 4 – select for other recombinant on either side of target locus

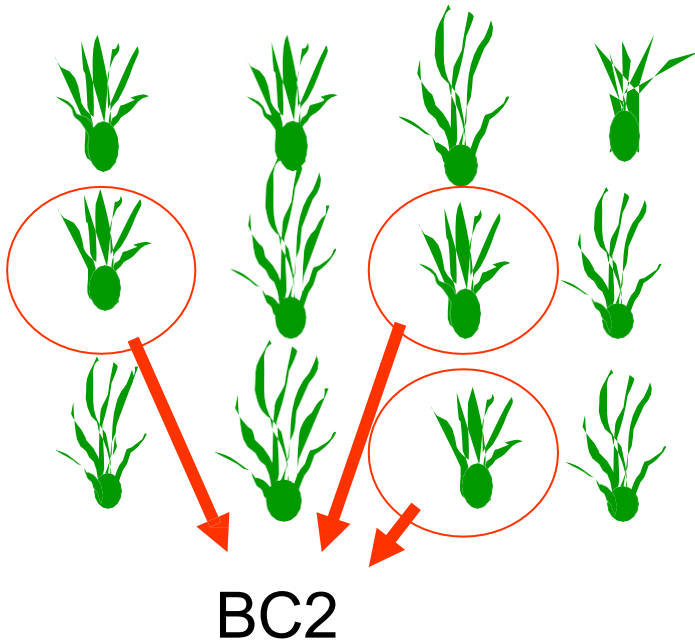


* Marker locus is fixed for recurrent parent (i.e. homozygous) so does not need to be selected for in BC2

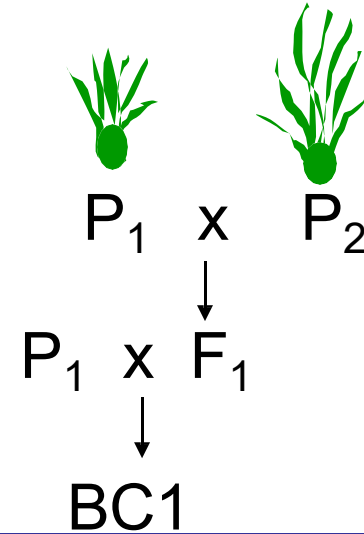
CONVENTIONAL BACKCROSSING



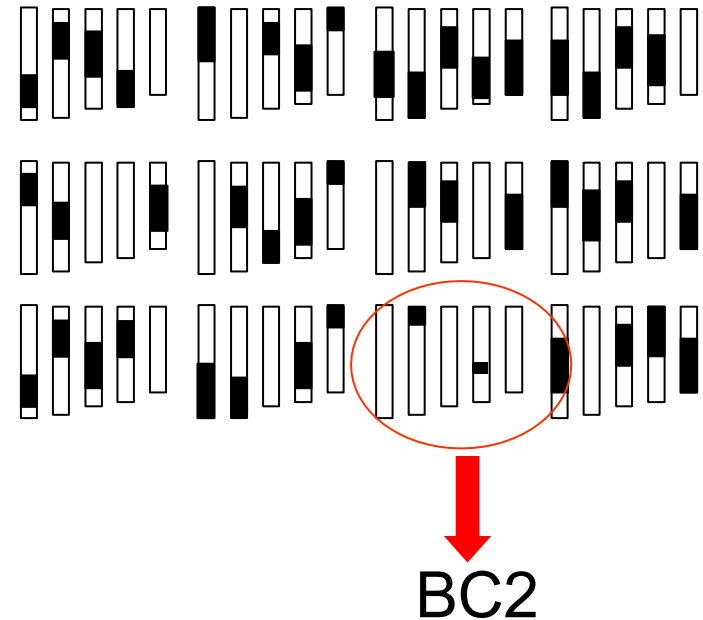
ΟΠΤΙΚΗ ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΩΝ BC1 ΠΟΥ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΜΟΙΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΟ ΓΟΝΕΑ



MARKER-ASSISTED BACKCROSSING



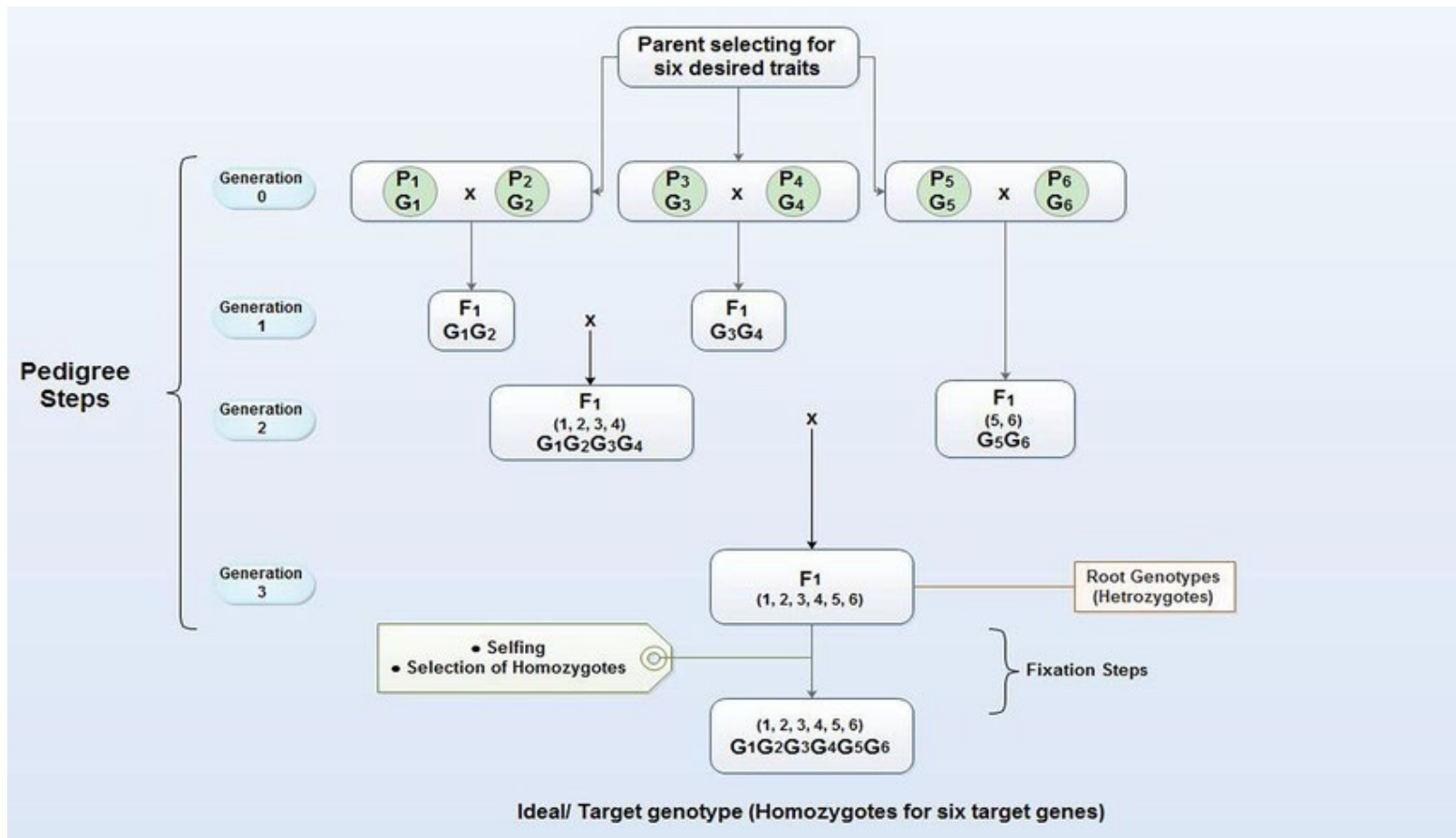
ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΤΕ ΜΟΡΙΑΚΟΥΣ ΔΙΕΚΤΕΣ ΓΙΑ ΕΠΙΛΟΓΗ ΦΥΤΩΝ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΟ % ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ RP ΚΑΙ ΤΟ ΜΙΚΡΟΤΕΡΟ % ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΓΟΝΕΑ-ΔΟΤΗ



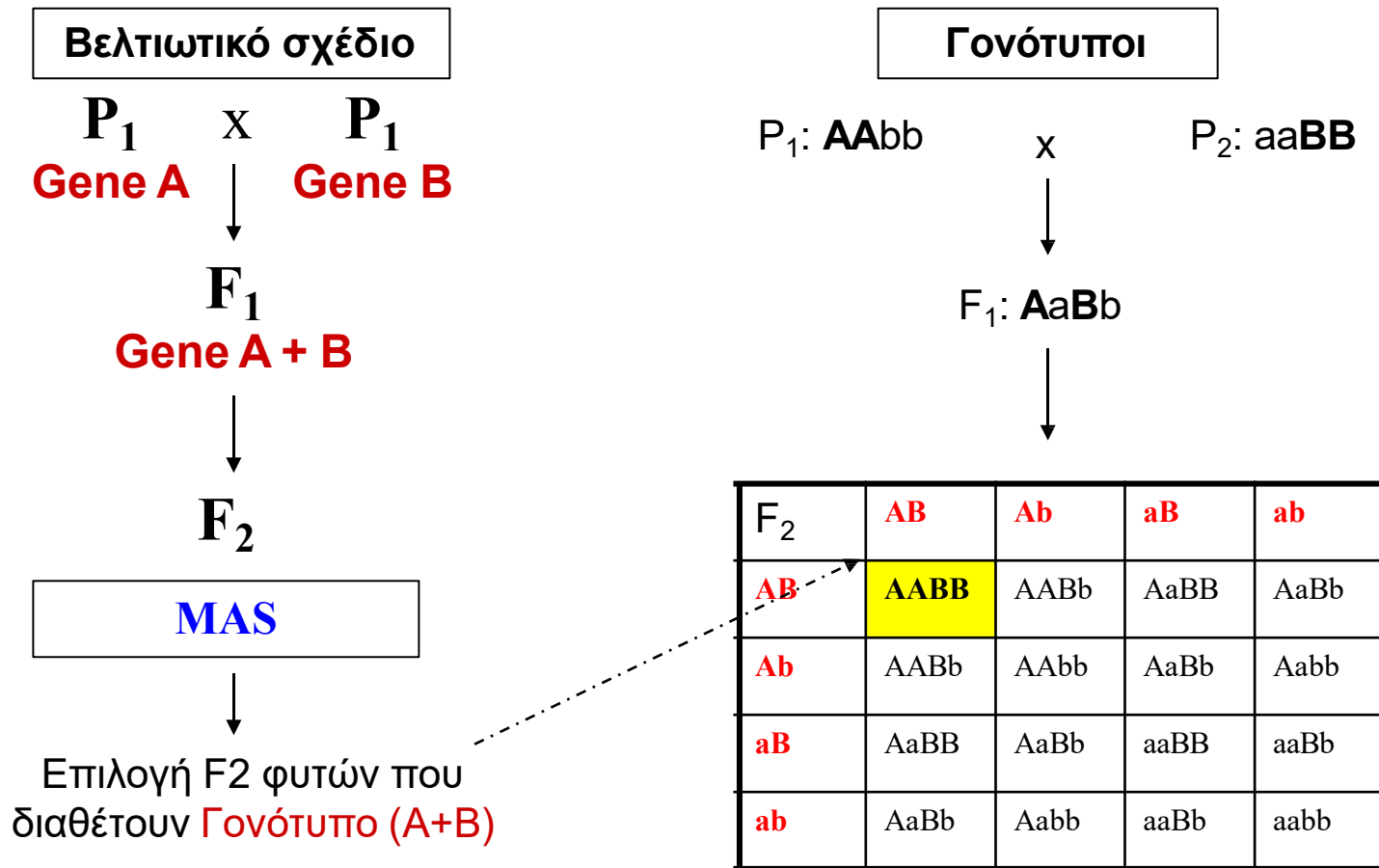
Πυραμιδοποίηση γονιδίων με τη χρήση δεικτών

- Η **πυραμιδοποίηση γονιδίων** ή ενσωμάτωση πολλαπλών γονιδίων (gene pyramiding) είναι η ιδέα της μεταφοράς αρκετών γονιδίων ενός είδους σε έναν μοναδικό γονότυπο.
- Πραγματοποιείται συνήθως για βελτίωση έναντι των ασθενειών κατά την οποία, γονίδια για περισσότερες από δύο φυλές ενός παθογόνου μπορούν να μεταφερθούν συστηματικά σε έναν γονότυπο.
- Η πυραμίδωση είναι εξαιρετικά δύσκολο να επιτευχθεί χρησιμοποιώντας συμβατικές μεθόδους, θα πρέπει να αξιολογούνται μεμονωμένα φυτά για όλα τα γνωρίσματα που ελέγχονται, κάτι το οποίο μπορεί να είναι προβληματικό σε ορισμένους πληθυσμούς (π.χ. F2) καθώς και γνωρίσματα που αναλύονται με καταστρεπτικές βιοδοκιμές.

- Η πυραμιδοποίηση γονιδίων είναι δύσκολη σε πρώιμη γενεά της ανάπτυξης των φυτών. Η MAS με τη χρήση του ίδιου δείγματος DNA επιτυγχάνει να ελεγχθούν περισσότερα του ενός ειδικά γονίδια χωρίς φαινοτυπική ανάλυση.



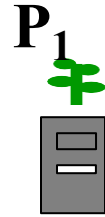
Η διαδικασία συνδυασμού (ενσωμάτωσης) αρκετών γονιδίων συνηθώς από 2 διαφορετικούς γονείς, σε έναν γονότυπο



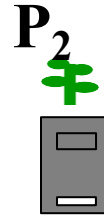
Επιλογή σε πρώιμη γενεά με τη χρήση δεικτών

- ✓ Ενα πρόγραμμα βελτίωσης θα μπορούσε να επωφεληθεί από μείωση των αριθμών των φυτών που εξετάζονται.
- ✓ Η MAS μπορεί να πραγματοποιηθεί σε πρώιμη γενεά (F2 ή F3).
- ✓ Οι δείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την απόρριψη φυτών τα οποία στερούνται των επιθυμητών γονιδιακών συνδυασμών στα πρώτα στάδια του προγράμματος, καθιστώντας έτσι τα μεταγενέστερα στάδια περισσότερο αποτελεσματικά και λιγότερο δαπανηρά από πλευράς εργασίας και χώρου
- ✓ Τα φυτά με τα επιθυμητά γονίδια/QTLs επιλέγονται και τα αλληλόμορφα μπορούν να φιξαριστούν σε ομόζυγη κατάσταση.

Ευαίσθητο



x

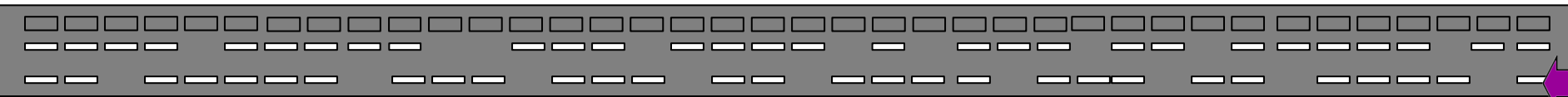


Ανθεκτικό

F₁

F₂

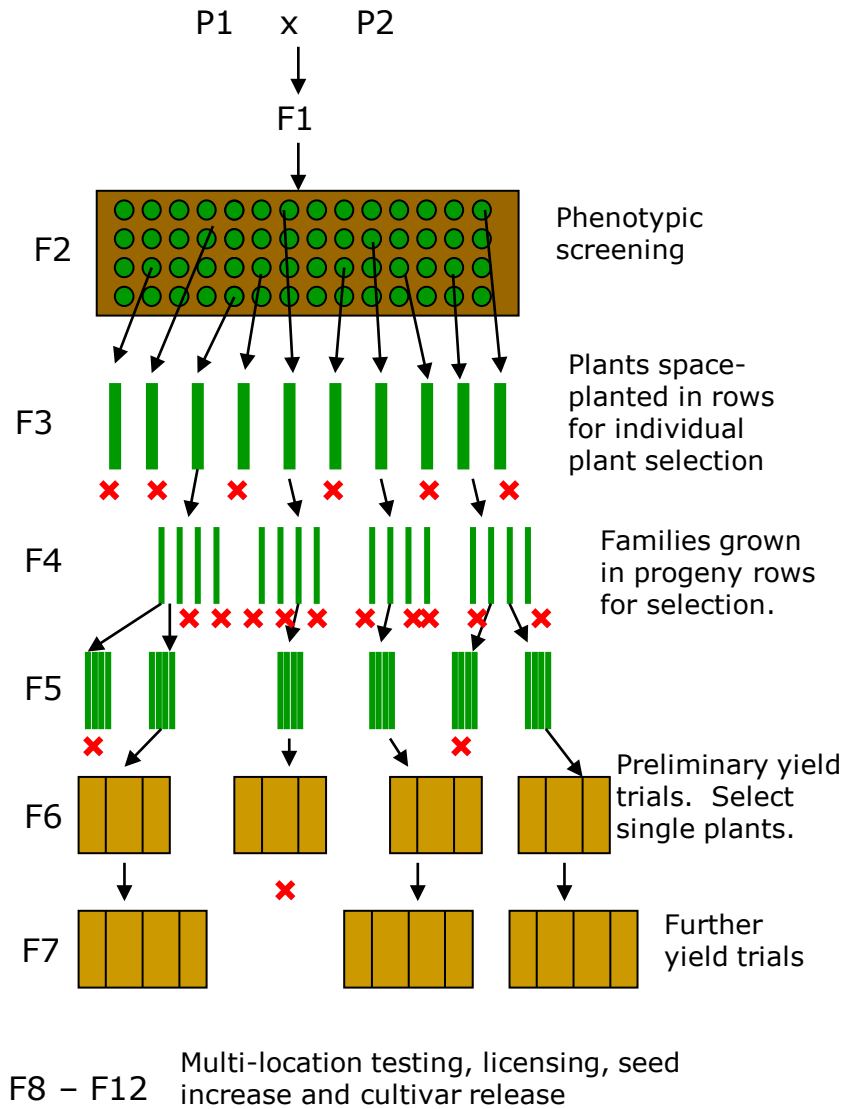
Μεγάλοι πληθυσμοί (2000 φυτά)



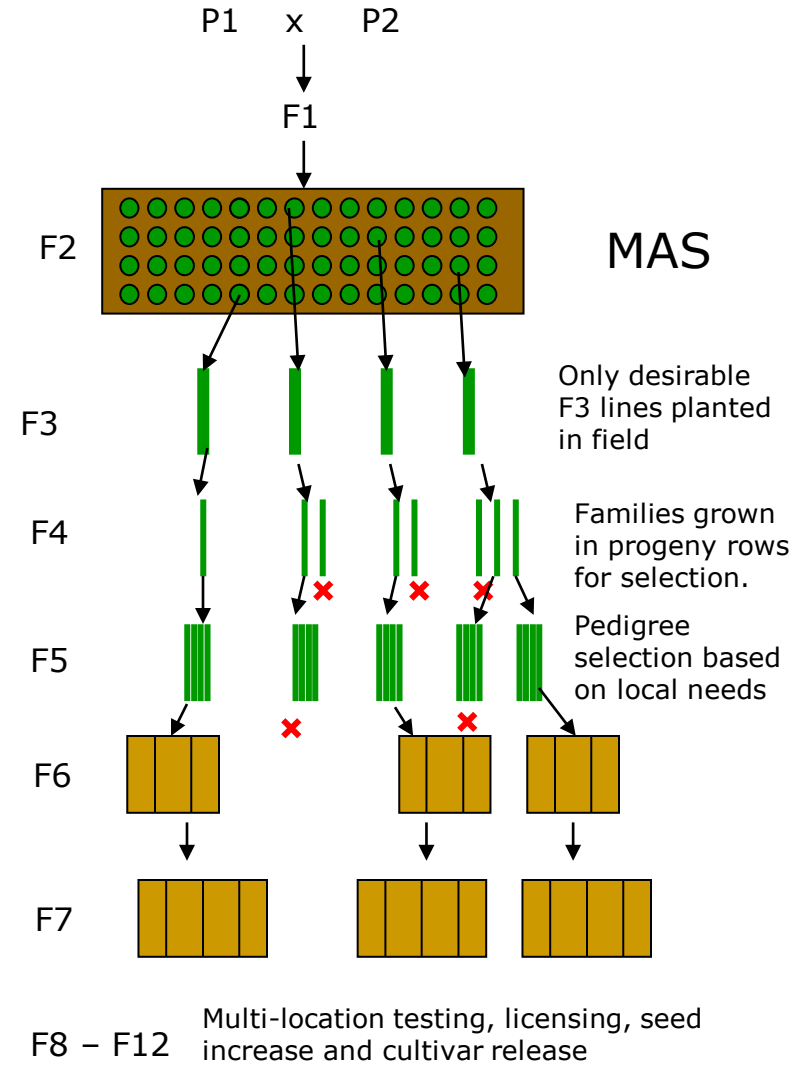
MAS για 1 QTL – 75% απομάκρυνση των (3/4) ανεπιθύμητων γονοτύπων

MAS για 2 QTLs – 94% απομάκρυνση των(15/16) ανεπιθύμητων γονοτύπων

Γενεαλογική Μέθοδος



Επιλογή με δείκτες



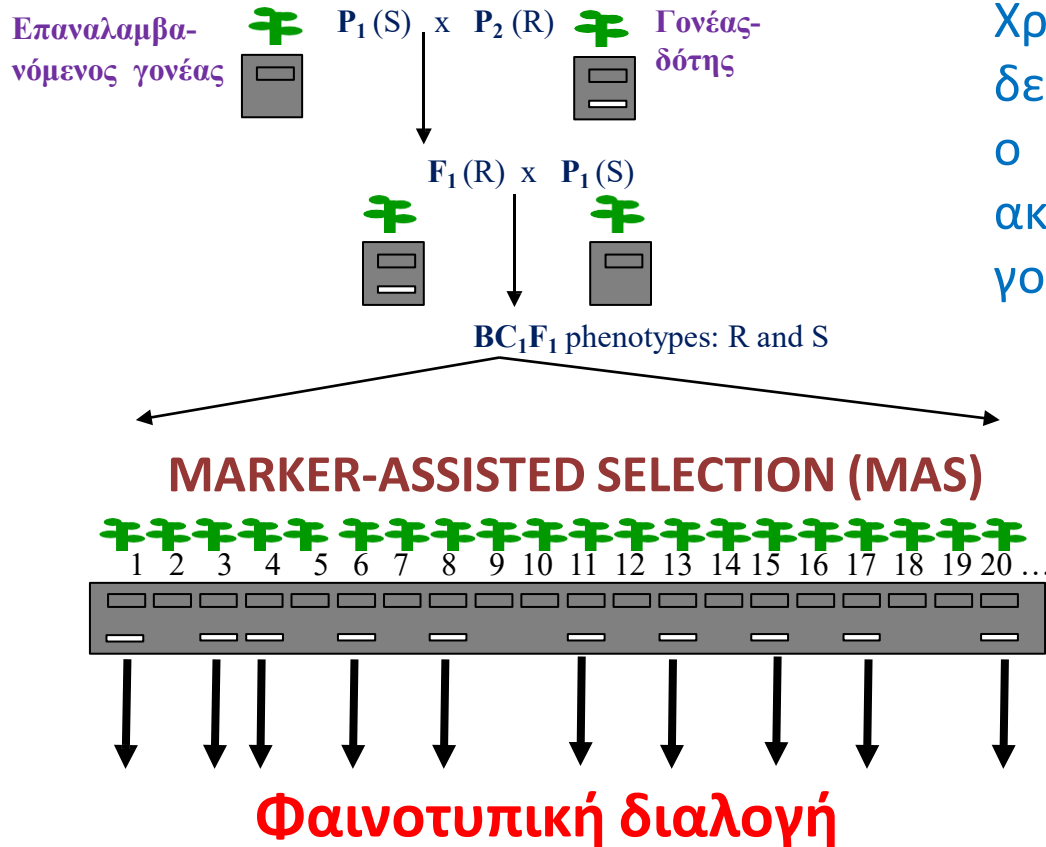
Πλεονέκτημα: η προσοχή επικεντρώνεται σε μικρότερο αριθμό σειρών.

Συνδυαστικές προσεγγίσεις

Σε ορισμένες περιπτώσεις, ένας συνδυασμός φαινοτυπικής διαλογής και προσέγγισης MAS μπορεί να είναι χρήσιμος:

- ❖ Για μεγιστοποίηση του γενετικού κέρδους (όταν ορισμένα QTL δεν έχουν αναγνωριστεί από τη χαρτογράφηση QTL)
- ❖ Ανάλογα με το επίπεδο ανασυνδυασμού μεταξύ δείκτη και QTL (με άλλα λόγια ο δείκτης δεν είναι 100% ακριβής)
- ❖ Για τη μείωση του μεγέθους του πληθυσμού για τα χαρακτηριστικά όπου ο γονοτυπικός έλεγχος δείκτη είναι φθηνότερος ή ευκολότερος από τον φαινοτυπικό έλεγχο

'Marker-directed' phenotyping (tandem selection)



Χρησιμοποιείται όταν οι δείκτες δεν είναι 100% ακριβείς ή όταν ο φαινοτυπικός έλεγχος είναι ακριβότερος σε σύγκριση με τον γονοτυπικό

Μείωση χρόνου και απαιτούμενων χρημάτων

Κυρίως για ποιοτικά γνωρίσματα

References:

Han et al (1997). Molecular marker-assisted selection for malting quality traits in barley. Mol Breeding 6: 427-437.

Φαινοτύπηση

Μερικά παραδείγματα είναι:

- Ασθένειες - μέτρηση με το μάτι (π.χ.% προσβολή) ή ELISA κ.λπ.
- Χρώμα καρπών - φασματοφωτόμετρο, οπτικοποίηση.
- Απόδοση - αριθμός καρπών, βάρος 1000 σπόρων κ.λπ.
- Μέγεθος καρπών ή κόκκων – αριθμός και βάρος ανά φυτό

Περιορισμοί της MAS

- Το βασικό εμπόδιο για τη βελτίωση πολυγονιδιακών γνωρισμάτων. είναι το πρόβλημα του ακριβούς εντοπισμού των QTL στους χάρτες / όχι πλήρως διακριτός φαινότυπος – στατιστική ανάλυση.
- Όταν η χαρτογράφηση QTL είναι μη ακριβής το κόστος ανεβαίνει.
- Στη βελτίωση ποσοτικών γνωρισμάτων είναι η έντονη επιρροή του περιβάλλοντος και, συνεπώς, η χαμηλή κληρονομησιμότητά τους.
- Όταν η κληρονομική ικανότητα του γνωρίσματος είναι $>50\%$ δεν πλεονεκτεί της συμβατικής βελτίωσης.
- Μείζον ζήτημα στην υλοποίηση της MAS είναι το κόστος
 - Εξοπλισμός
 - Εξειδικευμένο προσωπικό