



UNIVERSITY OF
PATRAS
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ

ΕΠΙΛΕΚΤΙΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΤΑ ΖΩΑ
ή
ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ
(Β' Μέρος)

Κ. Μπαταργιάς

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
Βιώσιμη Αλιεία, Υδατοκαλλιέργεια
2022



Τι θα δούμε; (συν)

- ~~1. Τι είναι Ποσοτική γενετική~~
- ~~2. Πορεία της γενετικής στις υδατοκαλλιέργειες~~
- ~~3. Χαρακτήρες και μελέτη τους~~
- ~~4. Κληρονομησιμότητα~~
5. Στρατηγικές βελτίωσης
6. Αρχές & μέθοδοι επιλογής
- ~~7. Κληροδοτική Τιμή~~
8. Εκτίμηση κληρονομησιμότητας – EBVs
9. Πρόβλεψη γενετικού κέρδους
10. Επιπτώσεις ομοειξίας
11. Πως γίνεται η γενετική βελτίωση στην πράξη;
12. Μοριακοί σημαντές στην υδατοκαλλιέργεια
13. Γενετικές επιδράσεις σε φυσικούς πληθυσμούς



Στρατηγικές βελτίωσης

ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΕΠΙΛΟΓΗ

- Επιλογή ατόμων
 - Εκμετάλλευση της προσθετικής διακύμανσης
- Διασταύρωση φυλών
 - Μη-προσθετική διακύμανση
 - Συνδυαστικό αποτέλεσμα γονιδίων

■ ΓΕΝΩΜΙΚΕΣ ΣΤΑΤΗΓΙΚΕΣ

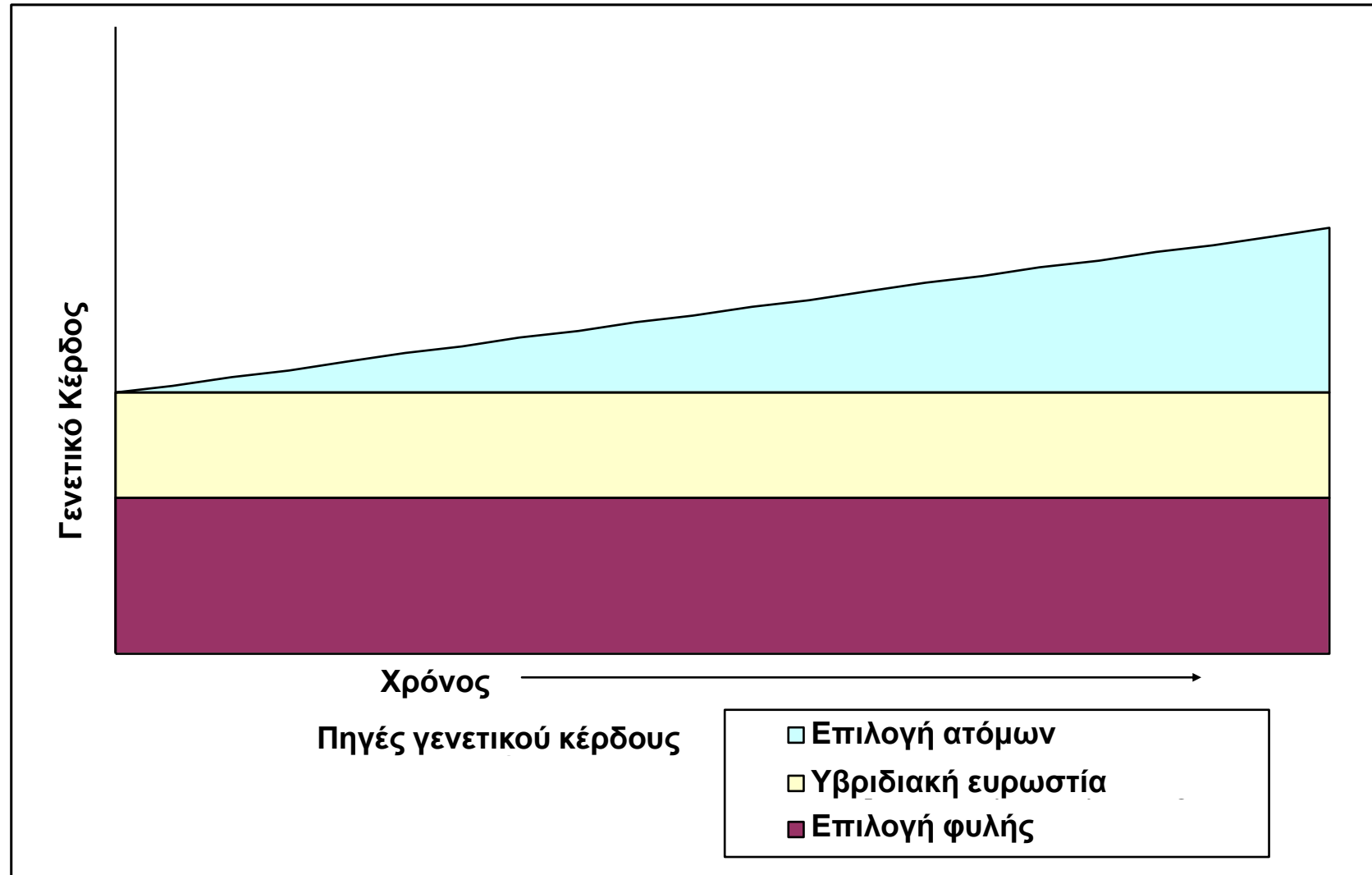
- Χρωμοσωμικοί χειρισμοί
 - Πολυπλοειδία
 - Μονοφυλετικοί πληθυσμοί
- Γονιδιακή Μεταφορά (διαγονιδιακά ή Γενετικώς τροποποιημένοι οργανισμοί)

■ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ

- Δεν είναι αποδεκτά
- Δεν είναι αποτελεσματικά
- Φέρουν ρίσκο

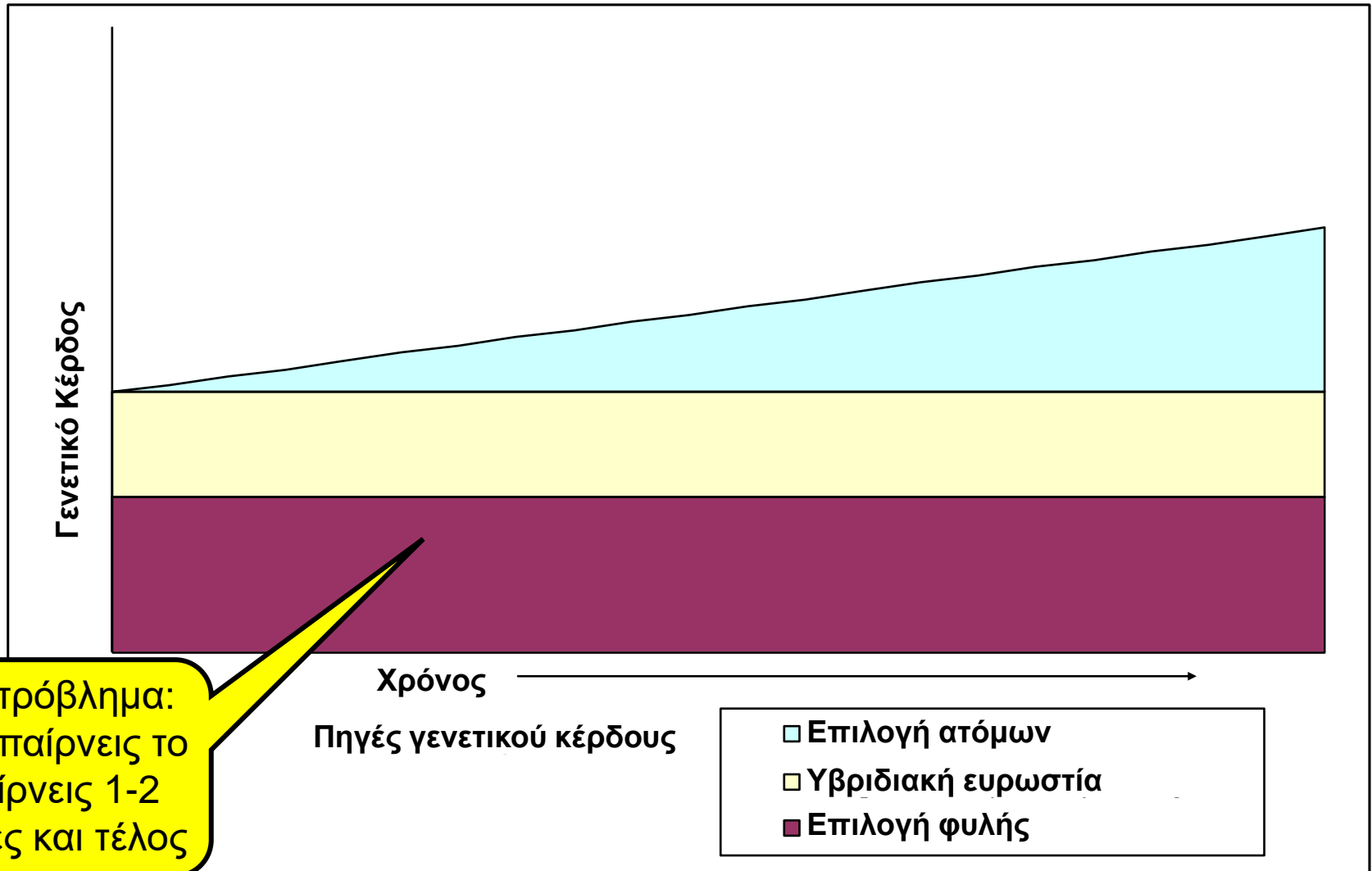


Στρατηγικές βελτίωσης και Γενετικό κέρδος





Στρατηγικές βελτίωσης – Επιλογή φυλής (πληθυσμού)





Στρατηγικές βελτίωσης

ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΕΠΙΛΟΓΗ

- Επιλογή ατόμων
 - Εκμετάλλευση της προσθετικής διακύμανσης
- Διασταύρωση φυλών
 - Μη-προσθετική διακύμανση
 - Συνδυαστικό αποτέλεσμα γονιδίων

■ ΓΕΝΩΜΙΚΕΣ ΣΤΑΤΗΓΙΚΕΣ

- Χρωμοσωμικοί χειρισμοί
 - Πολυπλοειδία
 - Μονοφυλετικοί πληθυσμοί
- Γονιδιακή Μεταφορά (διαγονιδιακά ή Γενετικώς τροποποιημένοι οργανισμοί)

■ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ

- Δεν είναι αποδεκτά
- Δεν είναι αποτελεσματικά
- Φέρουν ρίσκο



Στρατηγικές βελτίωσης – Διασταύρωση φυλών (πληθυσμών)

«Crossbreeding»

- Ενδοειδική διασταύρωση φυλών μπορεί να αυξήσει το ρυθμό αύξησης αλλά η ετέρωση δεν είναι σίγουρη κάθε φορά.
 - Γατόψαρο: 55% γενετικό κέρδος στην αύξηση
 - Ιριδίζουσα πέστροφα: 22% γενετικό κέρδος στην αύξηση
 - Κυπρίνος: φτωχά αποτελέσματα, από 140 διασταυρώσεις μόνο 3 έδωσαν αποτέλεσμα
 - Σολομός Chum: χειρότερο από τις πατρικές φυλές!!

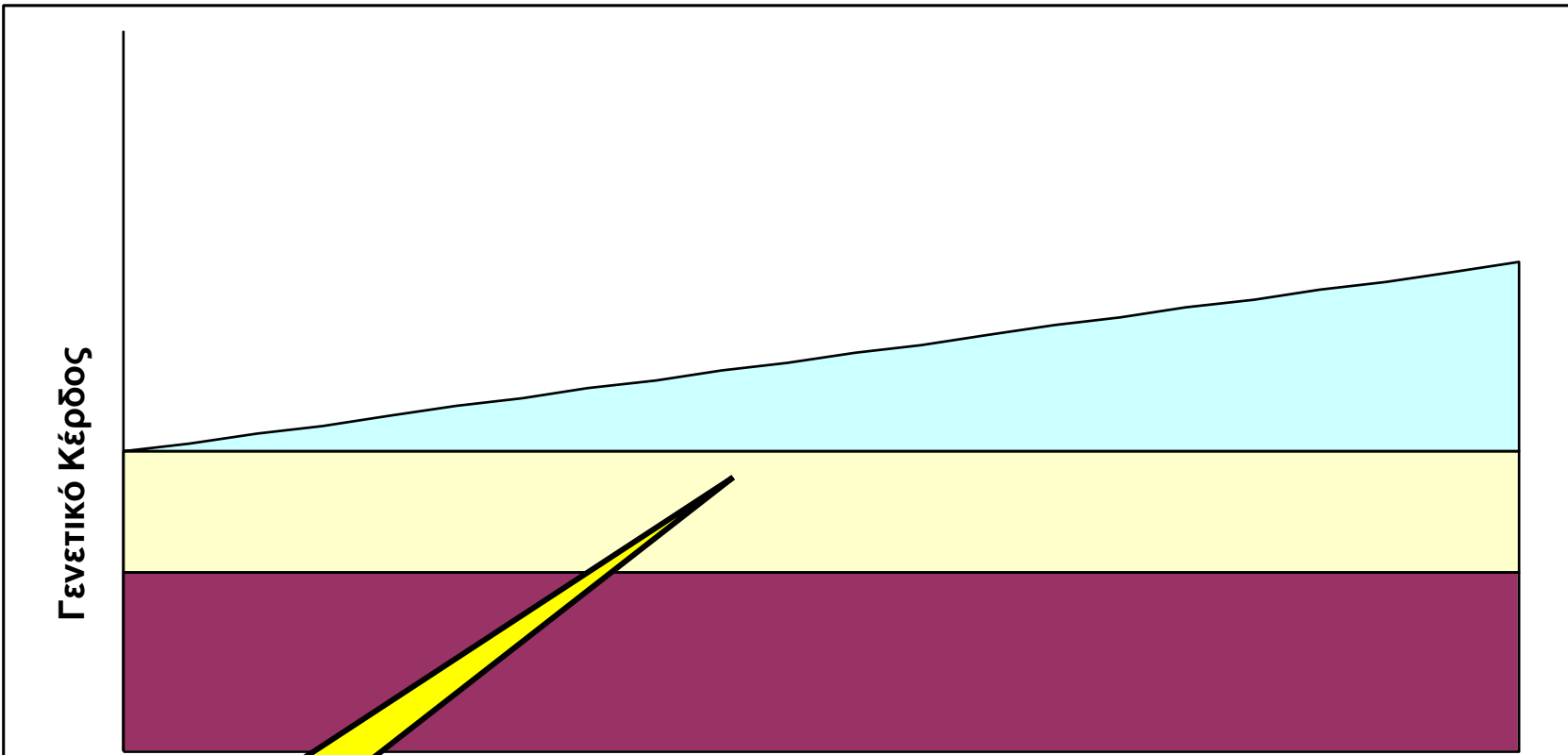


Στρατηγικές βελτίωσης – Επιλογή φυλής (πληθυσμού)

- Γατόψαρο (*Ictalurus punctatus*): 3-6% στην αύξηση / γενιά
- Φυλές γατόψαρου διαφέρουν στην αύξηση, ανθεκτικότητα σε ασθένειες, σωματική διαμόρφωση, ποσοστό φιλέτου, αλιευτική συμπεριφορά, ηλικία ωρίμανσης, χρόνο ωοτοκίας, γονιμότητα και μέγεθος ωαρίων.
- Φυλές ιριδίζουσας πέστροφας δείχνουν ανάλογη παραλλακτικότητα.
- Αντίθετα η άγρια τιλάπια (*Oreochromis niloticus*) μεγάλωνε καλύτερα σε περιβάλλον
 - Πιθανή εξήγηση: Έλλειψη γενετικής ποιότητας εξαιτίας α) μικρού και κακού γενετικά αρχικού πληθυσμού, β) γενετικής παρέκκλισης, γ) ομομειξίας και δ) ανάμειξης με αργής ανάπτυξης είδη (π.χ. *O. Mossambicus*).
- Η Εξημέρωση στις γαρίδες είναι πιο αργή από τα ψάρια πιθανώς λόγω προβλημάτων στην αναπαραγωγή και στη χρήση άγριων γεννητόρων.



Στρατηγικές βελτίωσης – Επιλογή φυλής (πληθυσμού)



Το πρόβλημα:
Ο,τι παίρνεις το
παίρνεις 1 γενιά
και τέλος

Χρόνος →
Πηγές γενετικού κέρδους

- Επιλογή ατόμων
- Υβριδική ευρωστία
- Επιλογή φυλής



Στρατηγικές βελτίωσης

ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΕΠΙΛΟΓΗ

- Επιλογή ατόμων
 - Εκμετάλλευση της προσθετικής διακύμανσης
- Διασταύρωση φυλών
 - Μη-προσθετική διακύμανση
 - Συνδυαστικό αποτέλεσμα γονιδίων

■ ΓΕΝΩΜΙΚΕΣ ΣΤΑΤΗΓΙΚΕΣ

- Χρωμοσωμικοί χειρισμοί
 - Πολυπλοειδία
 - Μονοφυλετικοί πληθυσμοί
- Γονιδιακή Μεταφορά (διαγονιδιακά ή Γενετικώς τροποποιημένοι οργανισμοί)

■ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ

- Δεν είναι αποδεκτά
- Δεν είναι αποτελεσματικά
- Φέρουν ρίσκο



Τι θα δούμε;

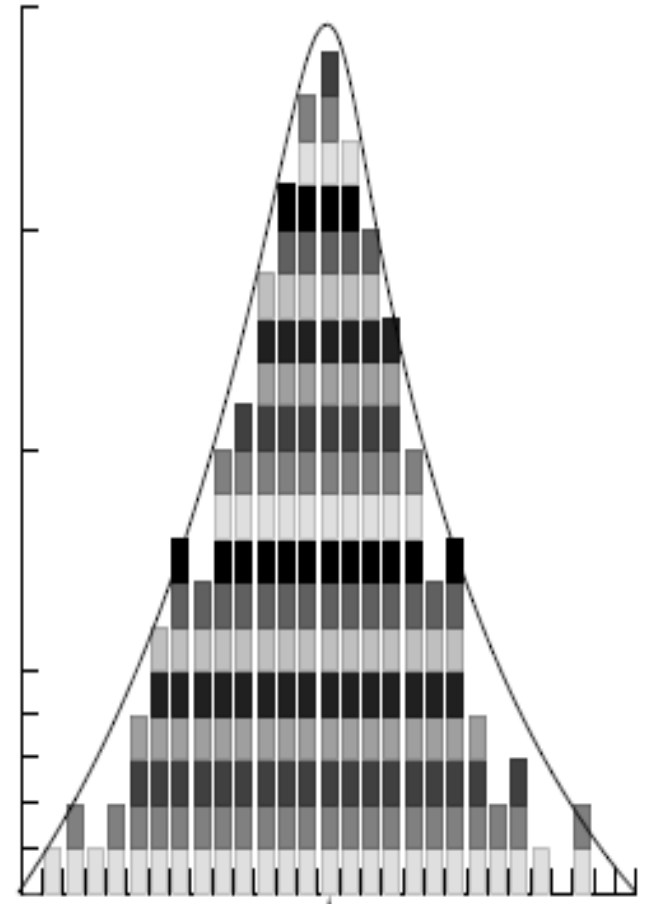
- ~~1. Τι είναι Ποσοτική γενετική~~
- ~~2. Πορεία της γενετικής στις υδατοκαλλιέργειες~~
- ~~3. Χαρακτήρες και μελέτη τους~~
- ~~4. Κληρονομησιμότητα~~
- ~~5. Στρατηγικές βελτίωσης~~
6. Αρχές & μέθοδοι επιλογής
7. Κληροδοτική Τιμή
8. Εκτίμηση κληρονομησιμότητας – EBVs
9. Πρόβλεψη γενετικού κέρδους
10. Επιπτώσεις ομομιξίας
11. Πως γίνεται η γενετική βελτίωση στην πράξη;
12. Μοριακοί σημαντές στην υδατοκαλλιέργεια
13. Γενετικές επιδράσεις σε φυσικούς πληθυσμούς



Επιλογή ατόμων

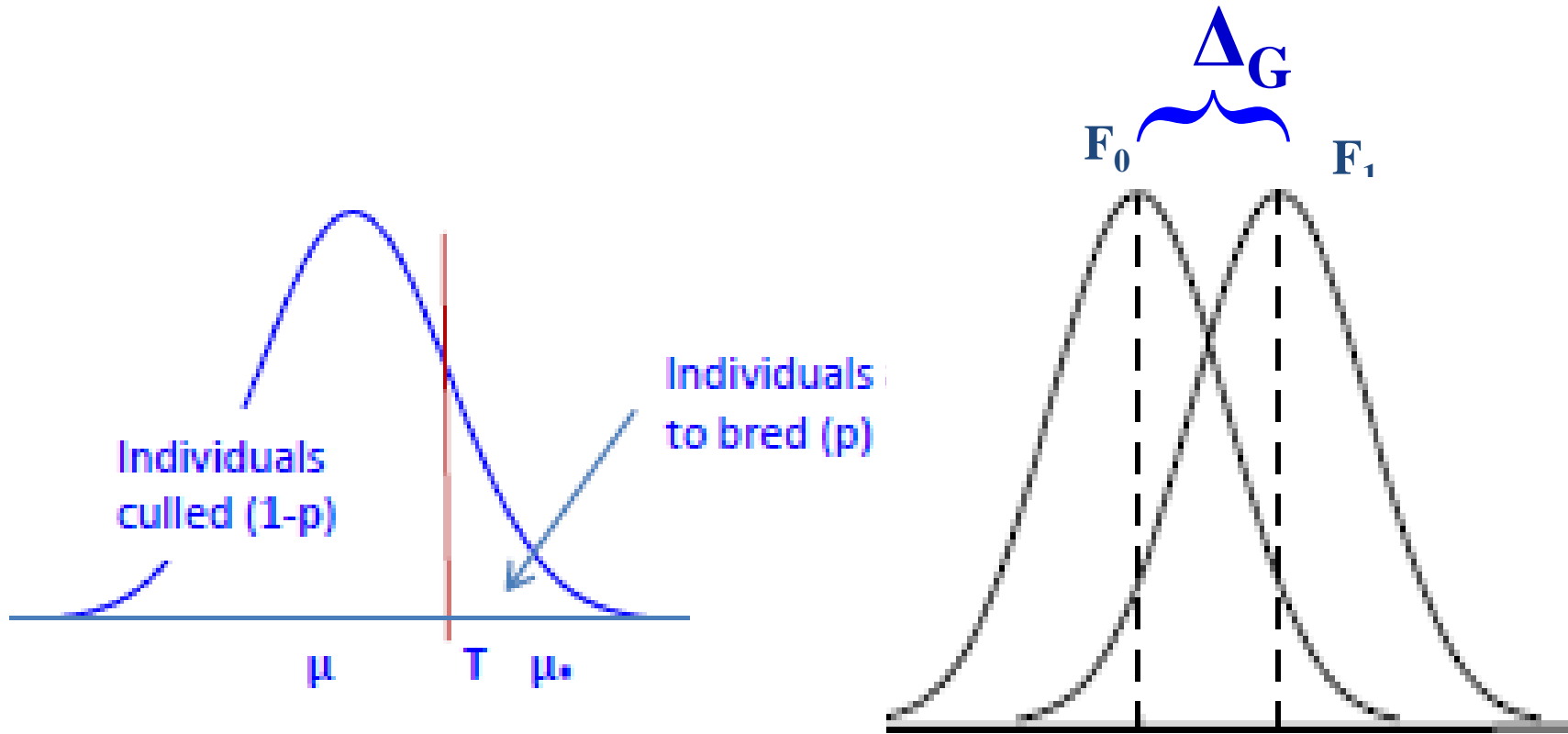
- $P = G + E + 2*(G \times E)$
- Η γενετική διακύμανση είναι απαραίτητη για τη γενετική αλλαγή
- Μια από τις πιο σημαντικές αρχές της πληθυσμιακής γενετικής είναι ότι ο ρυθμός αλλαγής κάθε χαρακτήρα είναι ανάλογος με το ποσό της γενετικής διακύμανσης αυτού του χαρακτήρα, στο συγκεκριμένο πληθυσμό.

Φαινοτυπική διακύμανση





Αρχές Επιλογής

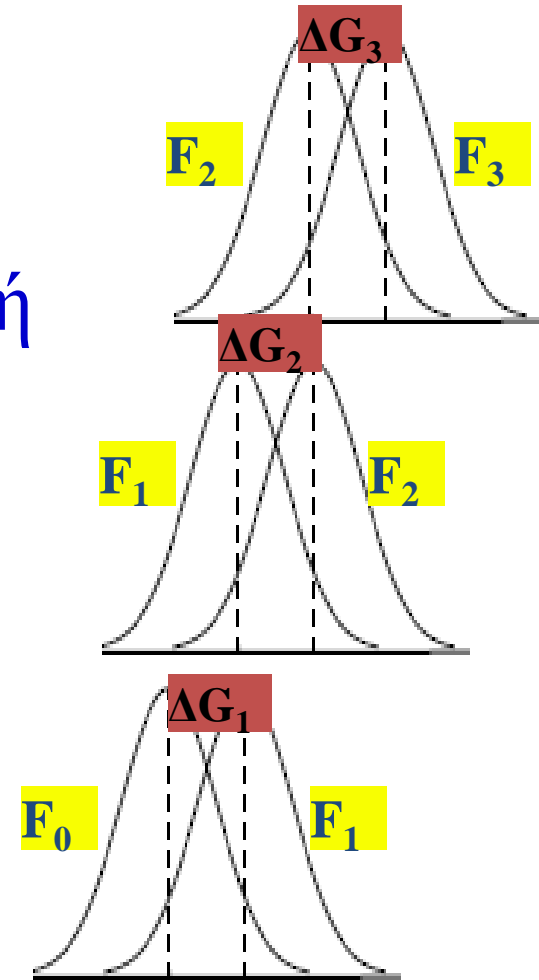


Χαρακτήρας
(π.χ. Βάρος, Ύψος, Ανθεκτικότητα σε ασθένειες κ.λ.π.)



Αρχές Επιλογής

- $\Delta G =$ Γενετικό κέρδος
= Απόκριση στην Επιλογή
- ΔG είναι αθροιστικό ($F_0 - F_3$)
Συνολικό $\Delta G = \Delta G_1 + \Delta G_2 + \Delta G_3$





Μέθοδοι επιλογής

• Ατομική επιλογή:

βασίζεται αποκλειστικά στην απόδοση του ατόμου

- Για χαρακτήρες που μετρούνται σε ζωντανά άτομα
- Χωρίς πληροφορία από συγγενείς
- Απαιτείται μαρκάρισμα
- Υψηλό ρίσκο ομομιξίας λόγω υψηλής γονιμότητας
→ Ομομεικτική κατάπτωση

• Οικογενειακή/συνδυασμένη επιλογή:

οι υποψήφιοι γεννήτορες επιλέγονται σύμφωνα με τη δική τους απόδοση αλλά και των συγγενών τους (full- and half-sibs)

- Εφαρμόσιμο σε **όλους τους χαρακτήρες**
- Χρησιμοποιείται πληροφορία από συγγενείς
- Απαιτείται μαρκάρισμα
- Έλεγχος ομομιξίας
- Πιο αποτελεσματική
- ακριβή



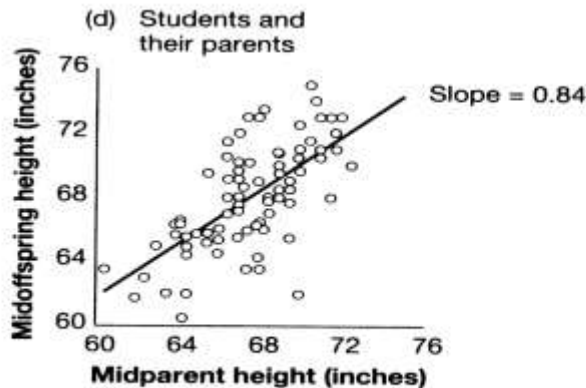
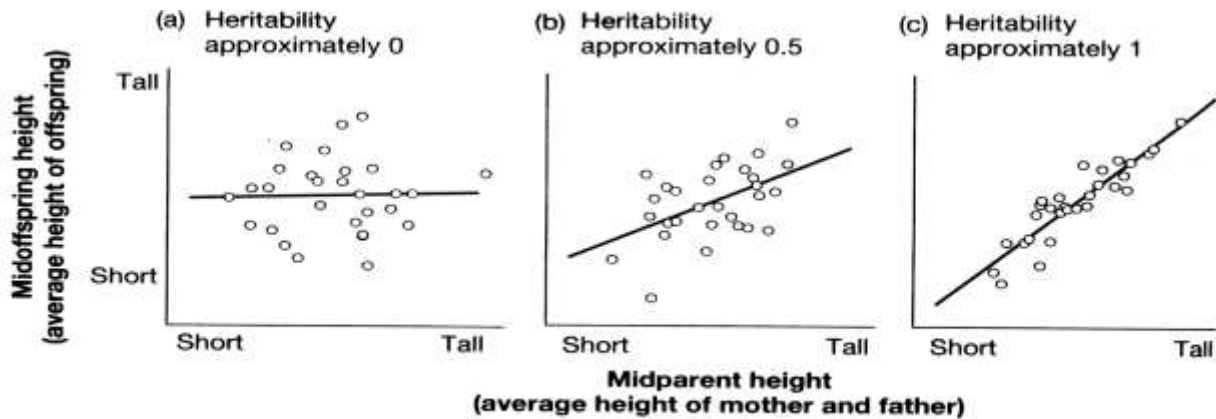
Τι θα δούμε;

- ~~1. Τι είναι Ποσοτική γενετική~~
- ~~2. Πορεία της γενετικής στις υδατοκαλλιέργειες~~
- ~~3. Χαρακτήρες και μελέτη τους~~
- ~~4. Κληρονομησιμότητα~~
- ~~5. Στρατηγικές βελτίωσης~~
- ~~6. Αρχές & μέθοδοι επιλογής~~
- ~~7. Κληροδοτική Τιμή~~
8. Εκτίμηση κληρονομησιμότητας – EBVs
9. Πρόβλεψη γενετικού κέρδους
10. Επιπτώσεις ομοειξίας
11. Πως γίνεται η γενετική βελτίωση στην πράξη;
12. Μοριακοί σημαντές στην υδατοκαλλιέργεια
13. Γενετικές επιδράσεις σε φυσικούς πληθυσμούς



Πως εκτιμούμε την κληρονομησιμότητα;

- Ένας τρόπος είναι λαμβάνοντας υπόψη τις γενετικές ομοιότητες μεταξύ συγγενών





Πως εκτιμούμε την κληρονομησιμότητα;

- Όταν είναι διαθέσιμες φαινοτυπικές μετρήσεις
- σε άτομα με ένα μείγμα συγγενικών σχέσεων
- τόσο εντός όσο και σε πολλές γενιές
- ή όταν ο σχεδιασμός είναι μη-ισορροπημένος (π.χ., υπάρχουν άνισοι αριθμοί παρατηρήσεων ανά οικογένεια) →
- οι εκτιμήσεις της προσθετικής γενετικής διακύμανσης και των περιβαλλοντικών συνιστωσών γίνεται πιο αποτελεσματικά μέσω στατιστικών μεθόδων που χρησιμοποιούν όλα τα δεδομένα ταυτόχρονα
 - **Μεικτά Γραμμικά Μοντέλα**



Πως εκτιμούμε την κληρονομησιμότητα;

- Το κλασικό πλαίσιο αποτελείται από δυο (2) διακριτά μέρη:
 - Το απειροστό (infinitesimal) γενετικό μοντέλο (Fisher, 1918) και
 - Το μικτό ζωικό μοντέλο
- $y = X\beta + Zu + e$, όπου
 - y : το $(n \times 1)$ άνυσμα (vector) των φαινοτυπικών τιμών
 - β : το $(p \times 1)$ άνυσμα των παραγόντων σταθερών επιδράσεων (fixed effects)
 - X : ο $(n \times p)$ πίνακας εμφάνισης (0/1) ή σχεδιασμού των παραπάνω παραγόντων
 - u : το $(q \times 1)$ άνυσμα των παραγόντων τυχαίων επιδράσεων (random effects)
 - Z : ο $(n \times q)$ πίνακας εμφάνισης (0/1) των τυχαίων παραγόντων
 - e : το $(n \times 1)$ άνυσμα των τυχαίων υπολοίπων.

$$\text{Var} \begin{pmatrix} \mathbf{u} \\ \mathbf{e} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{G} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{R} \end{pmatrix}$$



Η Γενετική ανάλυση

Το μικτό ζωικό μοντέλο (γραμμικό)

Φαινότυποι

Σταθερές
επιδράσεις

Τυχαίες επιδράσεις

$$y = Xb + Zu + e$$

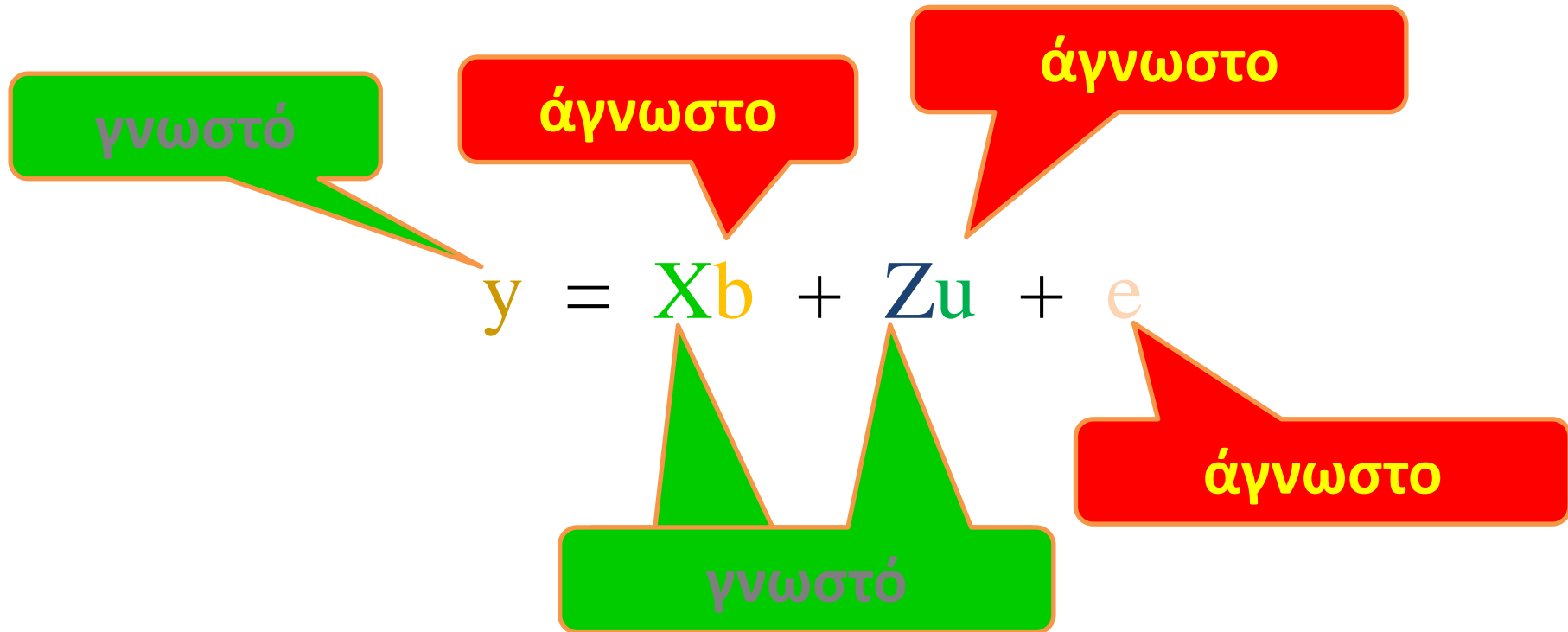
Πίνακες
εμφάνισης
συμβάντων

Σφάλματα
(υπόλοιπα)

$$\begin{pmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{Z} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{Z} + \mathbf{G}^{-1} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \bar{\beta} \\ \bar{u} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{y} \end{pmatrix}$$



Το μικτό μοντέλο





Και πώς εκτιμούμε τις κληροδοτικές τιμές;

- Από τις εξισώσεις του μικτού μοντέλου



Μικτό μοντέλο (1) και Εξισώσεις Μικτού Μοντέλου (2)

$$y = X\beta + Zu + e \quad (1)$$

y = vector of phenotypic values

β , X = vector and matrix of incidence of fixed effects

u , Z = vector and matrix of incidence of random effects (EBVs)

e = vector of residuals (environmental effects)

A = *additive genetic relationship matrix* or *Numerator Relationship Matrix*

$$\begin{pmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{Z} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{Z} + \mathbf{G}^{-1} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \bar{\beta} \\ \bar{u} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{y} \end{pmatrix} \quad (2)$$

$$\mathbf{G} = \sigma_A^2 \mathbf{A} \quad (3)$$



Μικτό μοντέλο (1) και

Εξισώσεις Μικτού Μοντέλου (2) (παράδειγμα)

$$\begin{aligned}
 y_{11} &= \beta_1 + u_1 + \epsilon_{11} \\
 y_{21} &= \beta_2 + u_1 + \epsilon_{21} \\
 y_{12} &= \beta_1 + u_2 + \epsilon_{12} \\
 y_{22} &= \beta_2 + u_2 + \epsilon_{22}
 \end{aligned} \tag{1}$$

$$y_{ij} = \beta_i + u_j + \epsilon_{ij} \tag{2}$$

$$\begin{bmatrix} y_{11} \\ y_{21} \\ y_{12} \\ y_{22} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} u_1 \\ u_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \epsilon_{11} \\ \epsilon_{21} \\ \epsilon_{12} \\ \epsilon_{22} \end{bmatrix} \tag{3}$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{X}\beta + \mathbf{Z}u + \epsilon \tag{4}$$

Fixed Effects
Random Effects



The mixed model equations

$$\begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{Z} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{Z} + \lambda \mathbf{G}^{-1} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\mathbf{b}} \\ \hat{\mathbf{u}} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{y} \end{bmatrix}$$

- ΑΡΑ, η γενετική βελτίωση επιτυγχάνεται μέσω:
 1. Των με ακρίβεια μετρήσεων των φαινοτύπων (y)
 2. Των με ακρίβεια εκτιμήσεων των κληροδοτικών τιμών (u) (EBV)
 3. Του ελέγχου των σταθερών επιδράσεων (fixed effects) που στις περισσότερες περιπτώσεις αντιπροσωπεύουν το «περιβάλλον»



Τι θα δούμε;

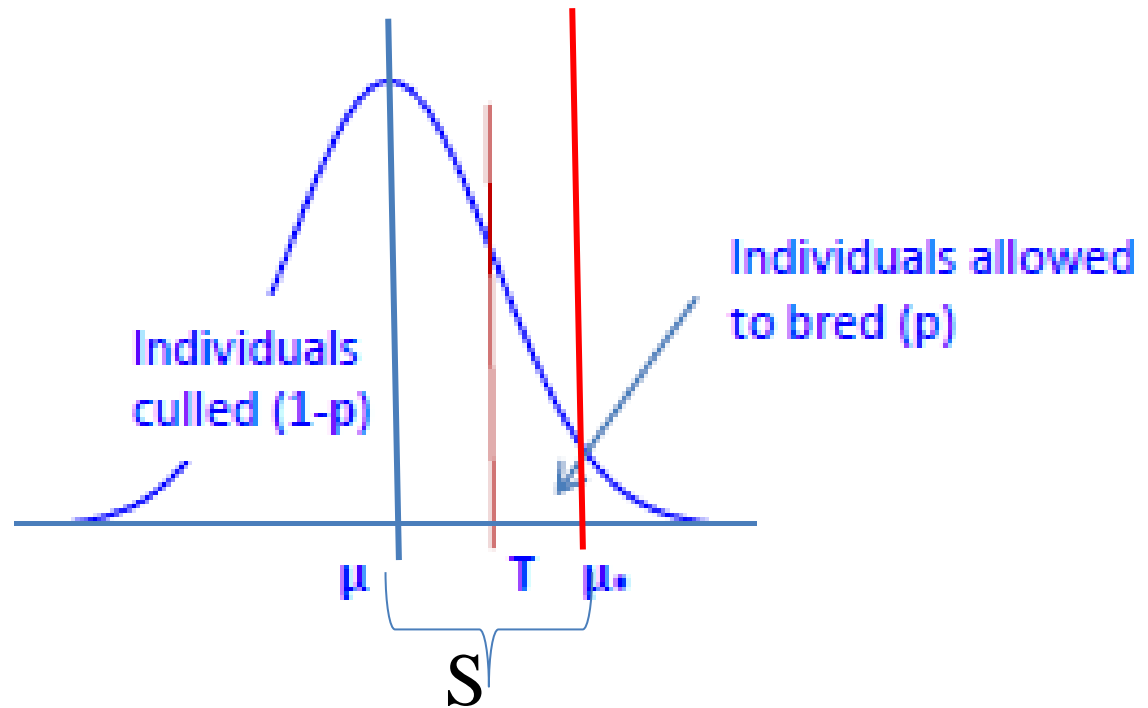
- ~~1. Τι είναι Ποσοτική γενετική~~
- ~~2. Πορεία της γενετικής στις υδατοκαλλιέργειες~~
- ~~3. Χαρακτήρες και μελέτη τους~~
- ~~4. Κληρονομησιμότητα~~
- ~~5. Στρατηγικές βελτίωσης~~
- ~~6. Αρχές & μέθοδοι επιλογής~~
- ~~7. Κληροδοτική Τιμή~~
- ~~8. Εκτίμηση κληρονομησιμότητας — EBVs~~
9. Πρόβλεψη γενετικού κέρδους
10. Επιπτώσεις ομοειξίας
11. Πως γίνεται η γενετική βελτίωση στην πράξη;
12. Μοριακοί σημαντές στην υδατοκαλλιέργεια
13. Γενετικές επιδράσεις σε φυσικούς πληθυσμούς



Απόκριση στην επιλογή

- **Απόκριση στην επιλογή (breeders' equation)**
- Η απόκριση (R), για την βραχυπρόθεση επιλογή, είναι συνάρτηση της κληρονομησιμότητας (h^2) και του διαφορικού επιλογής (S).

$$R \text{ (ή } \Delta G) = h^2 S =$$





Πρόβλεψη του γενετικού κέρδους - (ατομική επιλογή)

$$\Delta G = i * h^2 * \sigma_p / L - dF$$

όπου:

ΔG = ετήσιο γενετικό κέρδος

i = ένταση επιλογής

h^2 = κληρονομησιμότητα

$$h^2 = \frac{V_A}{V_P}$$

σ_p = φαινοτυπική τυπική απόκλιση

L = διάστημα γενεών

dF = inbreeding depression



Πρόβλεψη του γενετικού κέρδους - (οικογενειακή / συνδυασμένη επιλογή)

$$\Delta G = i * h * s_A / L - dF$$

όπου: ΔG = ετήσιο γενετικό κέρδος
 i = ένταση επιλογής
 h = ακρίβεια επιλογής ($r_{BV,EBV}$)
 s_A = γενετική τυπική απόκλιση
 L = διάστημα γενεών

dF = inbreeding depression ←



Τι θα δούμε;

- ~~1. Τι είναι Ποσοτική γενετική~~
- ~~2. Πορεία της γενετικής στις υδατοκαλλιέργειες~~
- ~~3. Χαρακτήρες και μελέτη τους~~
- ~~4. Κληρονομησιμότητα~~
- ~~5. Στρατηγικές βελτίωσης~~
- ~~6. Αρχές & μέθοδοι επιλογής~~
- ~~7. Κληροδοτική Τιμή~~
- ~~8. Εκτίμηση κληρονομησιμότητας — EBVs~~
- ~~9. Πρόβλεψη γενετικού κέρδους~~
10. Επιπτώσεις ομοειξίας
11. Πως γίνεται η γενετική βελτίωση στην πράξη;
12. Μοριακοί σημαντές στην υδατοκαλλιέργεια
13. Γενετικές επιδράσεις σε φυσικούς πληθυσμούς



Επιπτώσεις Ομομειξίας

- Η ομομειξία αυξάνει την έκφραση των υποτελών αλληλομόρφων

■ Genotype frequencies

■ Non-inbred: q^2 $2pq$ p^2

■ Inbred: $q^2 + pqF$ $2pq - 2pqF$ $p^2 + pqF$

■ Example, $q=0.02$ (2%)

F	0	0.125	0.25	0.50
Prob. aa (recessive genotype)	0.4 in 1000	2.9 in 1000	5.3 in 1000	10.2 in 1000



Επιπτώσεις Ομομειξίας

- Αλλάζει τις γονοτυπικές συχνότητες αλλά όχι τις συχνότητες των αλληλομόρφων

For example, $p=q=0.5$

Genotype	aa	Aa	AA
Frequency	q^2+pqF	$2pq-2pqF$	p^2+pqF
At $F=0$	0.25	0.50	0.25
At $F=0.5$	0.375	0.25	0.375
At $F=1.0$	0.5	0	0.5

Note that allele frequencies do not change



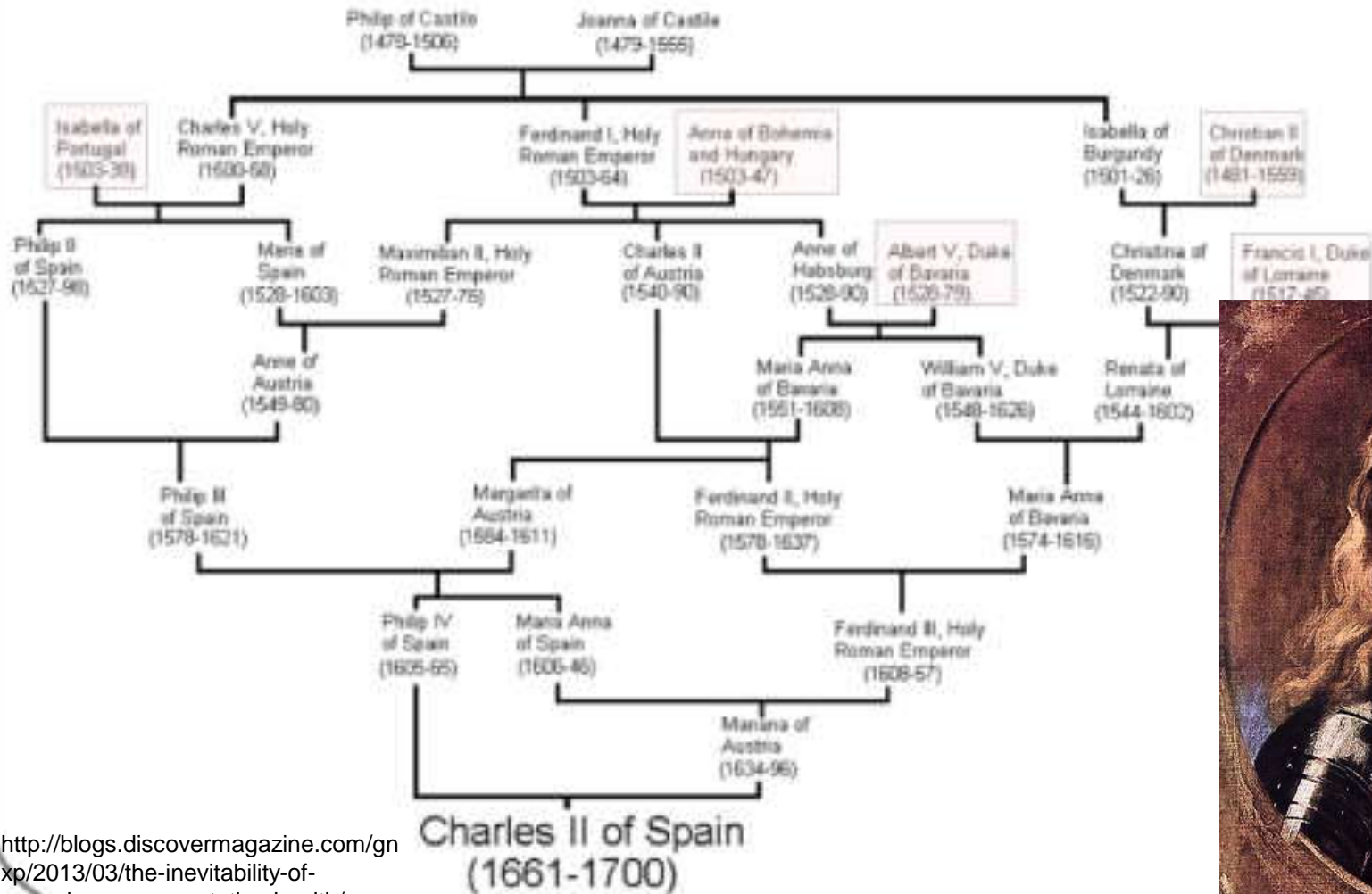
Επιπτώσεις Ομομειξίας

- **Ομομεικτική κατάπτωση (inbreeding depression):**
 - Μειώνει την παραγωγικότητα και την επιβίωση
 - Επηρεάζει την αναπαραγωγική ικανότητα
 - Αυξάνει την ομοζυγωτία



Επιπτώσεις Ομομιξίας

The Ancestry of King Charles II of Spain (1661-1700)





Επιπτώσεις Ομομειξίας

- Ο ρυθμός της ομομειξίας (ΔF) μεταβάλλεται με το χρόνο και έχει άμεση σχέση με το μέγεθος του πληθυσμού

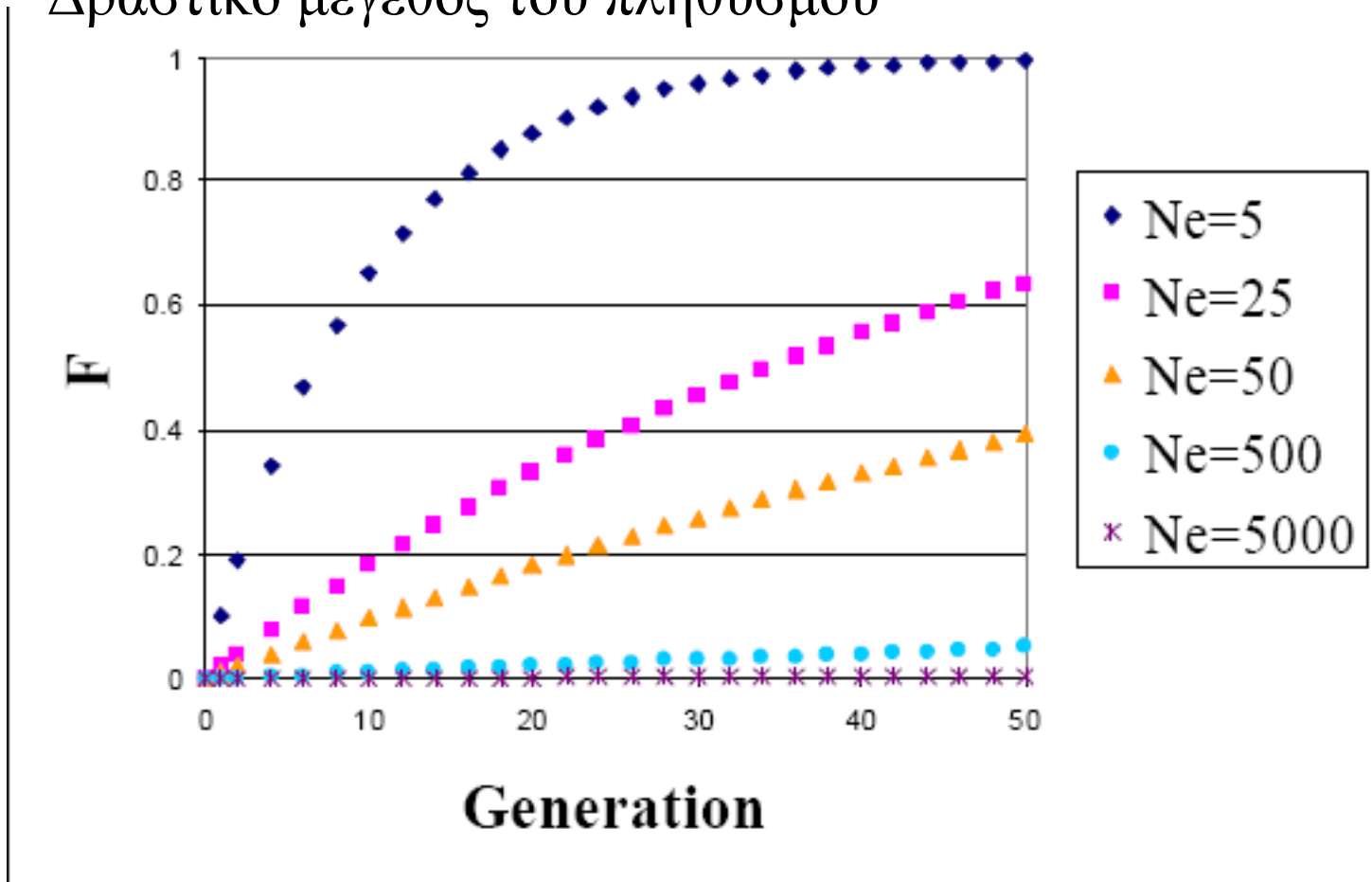
$$F_t = 1 - \left[1 - \frac{1}{2Ne} \right]^t = \frac{4N_m N_f}{N_m + N_f}$$

- Όπου, $Ne = \text{δραστικό μέγεθος πληθυσμού} =$
= ο αριθμός ατόμων ενός ιδεατού πληθυσμού (δηλ. πληρεί όλες τις συνθήκες HW) του οποίου τα επίπεδα και ο ρυθμός απώλειας της ετεροζυγωτίας είναι ίδιος με τον παρατηρούμενο πληθυσμό μας.



Επιπτώσεις Ομομειξίας ΔF και N_e

Αύξηση του ρυθμού ομομειξίας σε σχέση με το Δραστικό μέγεθος του πληθυσμού

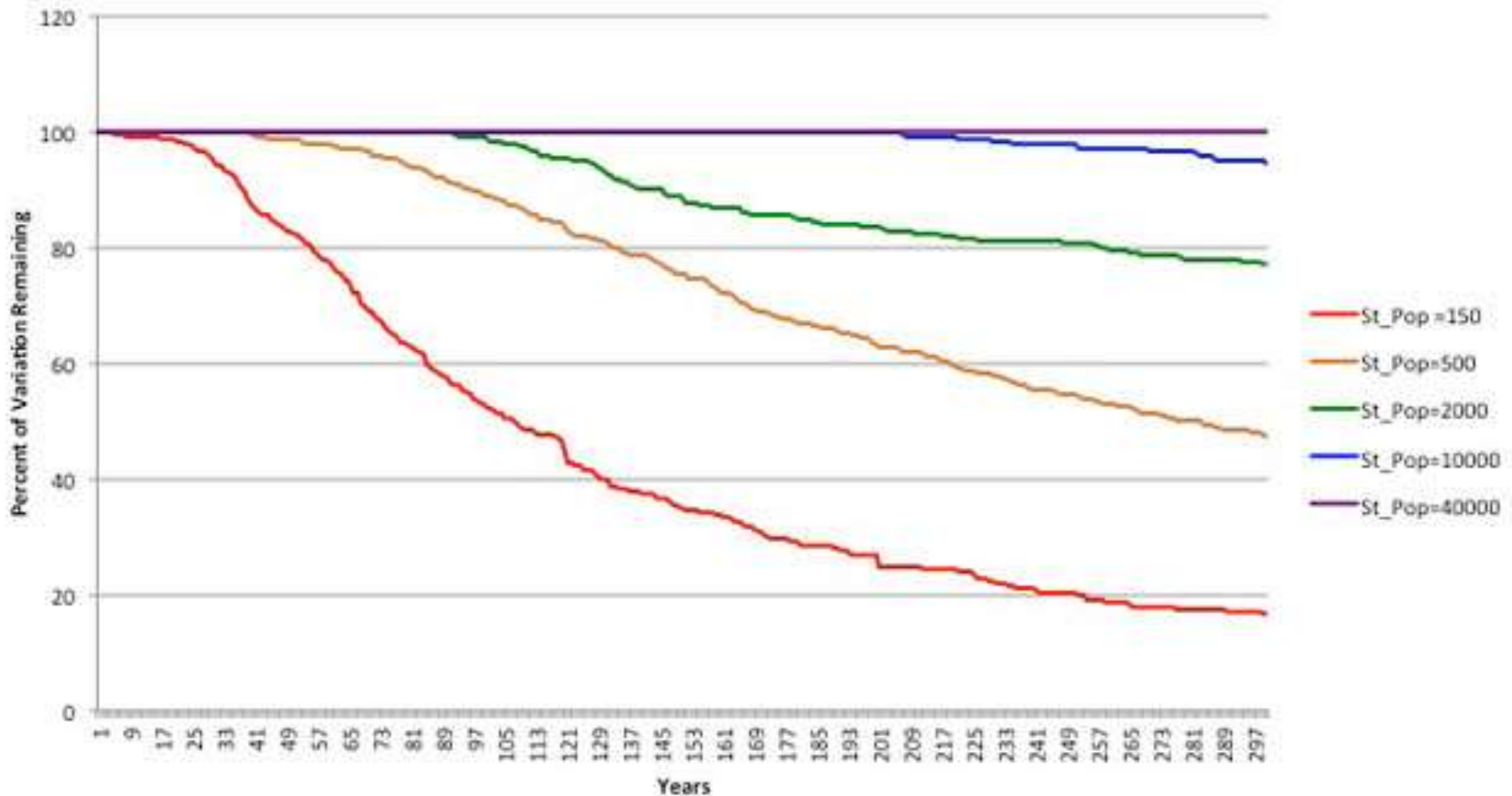




Επιπτώσεις Ομομειξίας ΔF και N_e

Η μείωση στην ποικιλομορφία σε σχέση με το μέγεθος του πληθυσμού, στη διάρκεια του χρόνου

A.) Variation in a Hypothetical Gene





Τι θα δούμε;

- ~~1. Τι είναι Ποσοτική γενετική~~
- ~~2. Πορεία της γενετικής στις υδατοκαλλιέργειες~~
- ~~3. Χαρακτήρες και μελέτη τους~~
- ~~4. Κληρονομησιμότητα~~
- ~~5. Στρατηγικές βελτίωσης~~
- ~~6. Αρχές & μέθοδοι επιλογής~~
- ~~7. Κληροδοτική Τιμή~~
- ~~8. Εκτίμηση κληρονομησιμότητας — EBVs~~
- ~~9. Πρόβλεψη γενετικού κέρδους~~
- ~~10. Επιπτώσεις ομοειξίας~~
11. Πως γίνεται η γενετική βελτίωση στην πράξη;
12. Μοριακοί σημαντές στην υδατοκαλλιέργεια
13. Γενετικές επιδράσεις σε φυσικούς πληθυσμούς



UNIVERSITY OF
PATRAS
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ

Πως γίνεται στην
πράξη?

Δομή ενός προγράμματος γενετικής βελτίωσης ή και της βιομηχανίας





Βήματα ενός Προγράμματος Γενετικής Βελτίωσης

- Καθορισμός απαιτήσεων παραγωγών/καταναλωτών
- Αρχικοί πληθυσμοί
- Καθορισμός των χαρακτήρων
- Εκτίμηση Γενετικών Παραμέτρων
- Σχήματα Επιλογής
- Κριτήρια Επιλογής



Προϋποθέσεις για το σχεδιασμό ενός προγράμματος Γεν. Βελτίωσης

1. Περιγραφή του συστήματος παραγωγής
2. Σχηματοποίηση του στόχου (breeding objectives) του συστήματος
3. Επιλογή του συστήματος διασταύρωσης και των φυλών αναπαραγωγής
4. Υπολογισμός των παραμέτρων επιλογής και των οικονομικών τιμών (βάρη)
5. Σχεδιασμός του ζωικού συστήματος αξιολόγησης
6. Ορισμός των κριτηρίων επιλογής
7. Σχεδιασμός συστήματος διασταυρώσεων για τα επιλεγμένα ζώα
8. Σχεδιασμός συστήματος επέκτασης
9. Σύγκριση εναλλακτικών συνδυασμένων προγραμμάτων



Τα προβλήματα

Για την εκτίμηση των γενετικών παραμέτρων του πληθυσμού για ένα χαρακτήρα:

1. Απαιτείται η γνώση της οικογενειακής δομής
 - γονείς και συγγενείς κάθε ατόμου

ΑΛΛΑ

2. Οι υδρόβιοι οργανισμοί είναι εξαιρετικά μικροί κατά την εκκόλαψή τους
 - για να μαρκαριστούν και να ξέρουμε την προέλευσή τους



Η λύση

Η χρήση των πολυμορφισμών του DNA και η εφαρμογή τους



για την αναγνώριση γονέων
(Γενετικό αποτύπωμα – Genetic fingerprinting)



Η μεθοδολογία



Γεννήτορες Συλλογή

αυγών

Επώαση

αυγών

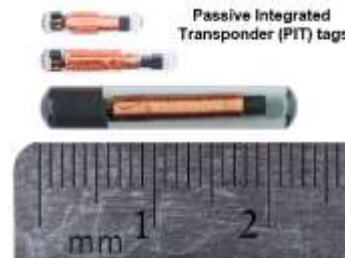
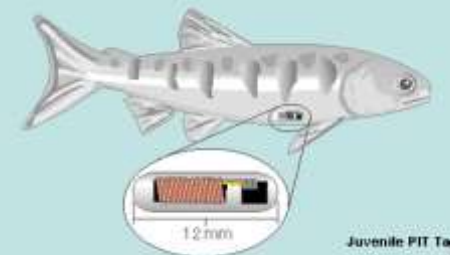
Λαρβική
καλλιέργεια

Προπάχυνση

**ΔΕΔΟΜΕΝΑ
ΕΚΤΡΟΦΗΣ**

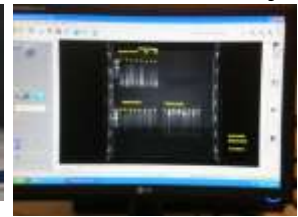
Πάχυνση

Ατομικό μαρκάρισμα και συλλογή
δείγματος για ανάλυση DNA





Η μεθοδολογία



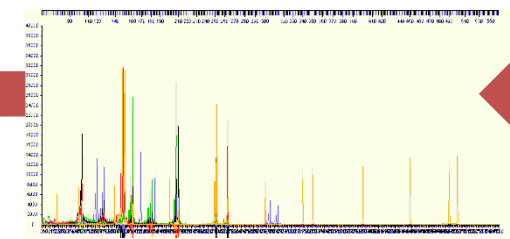
PCR



Γενετικός
αναλυτής

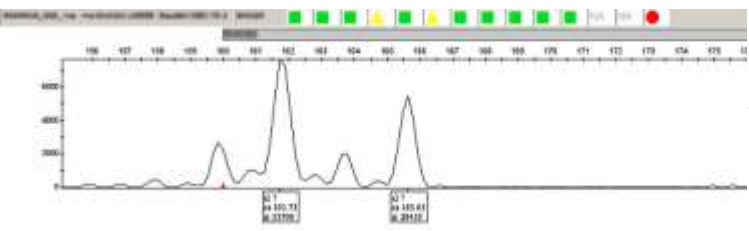


Φαινόγραμμα



Συλλογή γονοτύπων

**ΜΟΡΙΑΚΑ
ΔΕΔΟΜΕΝΑ**



Εξαγωγή DNA



Η μεθοδολογία

Μοριακά
δεδομένα

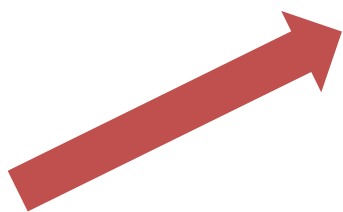


Αναγνώριση γονέων (νόμοι του Mendel + ...)

Δεδομένα
εκτροφής



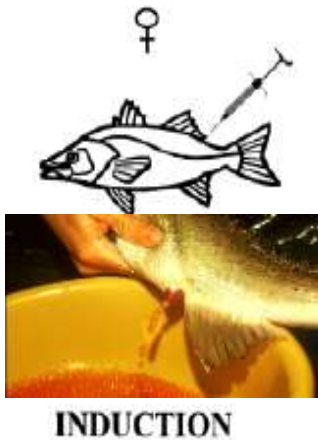
Δεδομένα
αναλύσεων
(π.χ. σάρκας)



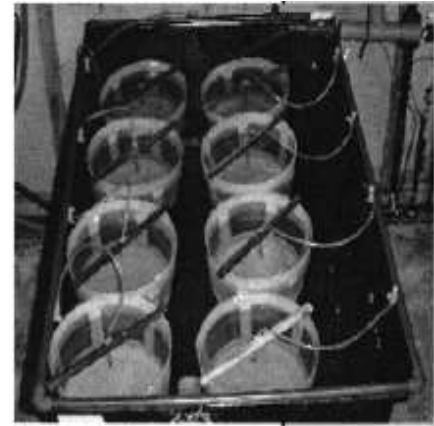
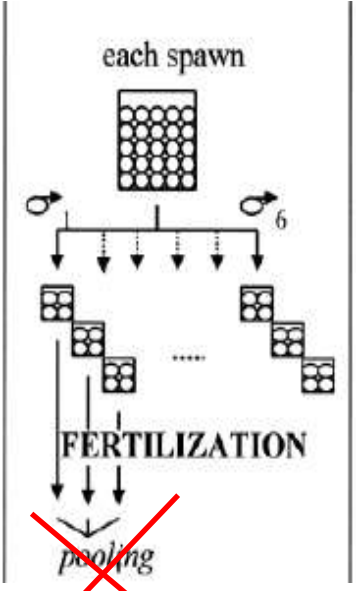
Εκτίμηση γενετικών παραμέτρων



Η προσέγγιση των Νορβηγών



INDUCTION



INCUBATION
dispatching



HATCHING
of floating eggs

GROWTH



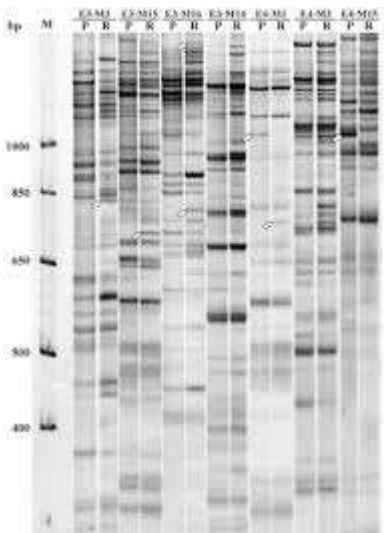
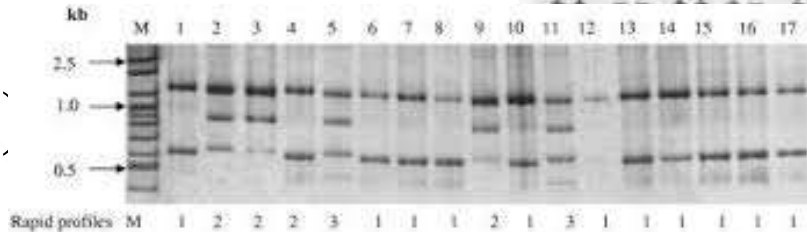
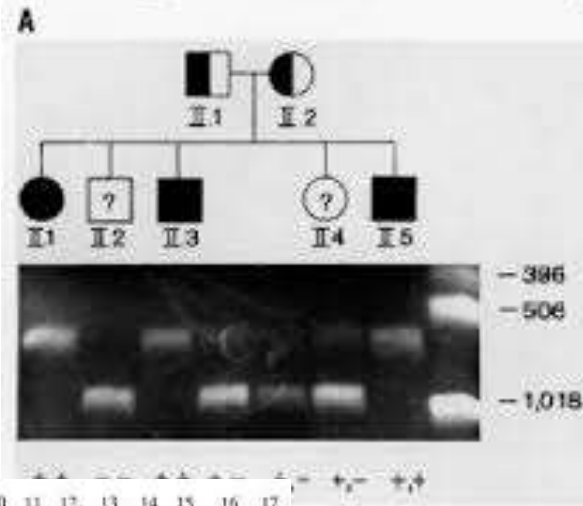
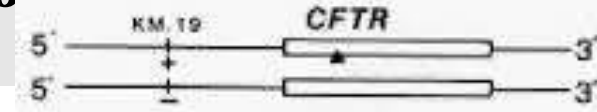
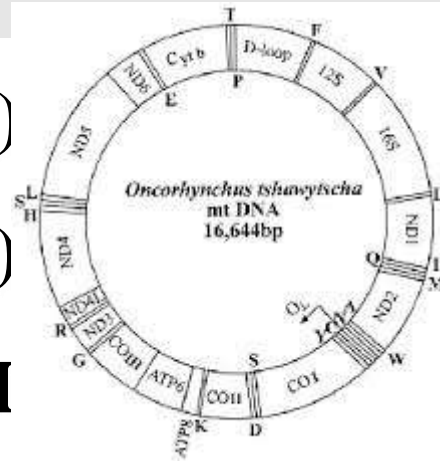
Ομοθαλείς & Ετεροθαλείς Οικογένειες (Full- & Half-sib)

ΓΙΑΤΙ να γίνει έτσι;



Μοριακοί Δείκτες στην Πληθυσμιακή Γενετική

- **Proteins (Allozymes) (I)**
- **Mitochondrial DNA -(-)**
- **RFLPs - (I,II)**
- **RAPDs - (II)**
- **AFLPs (II)**

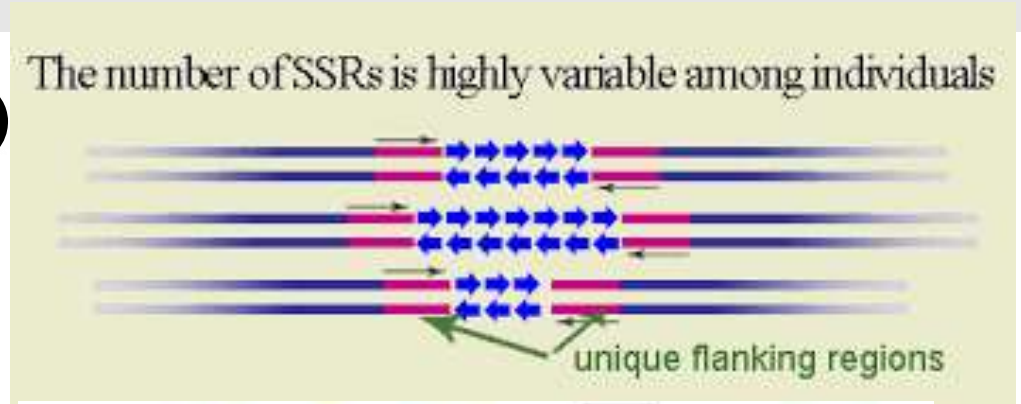


Type I: associated with genes of known function,
Type II: associated with anonymous genomic segments

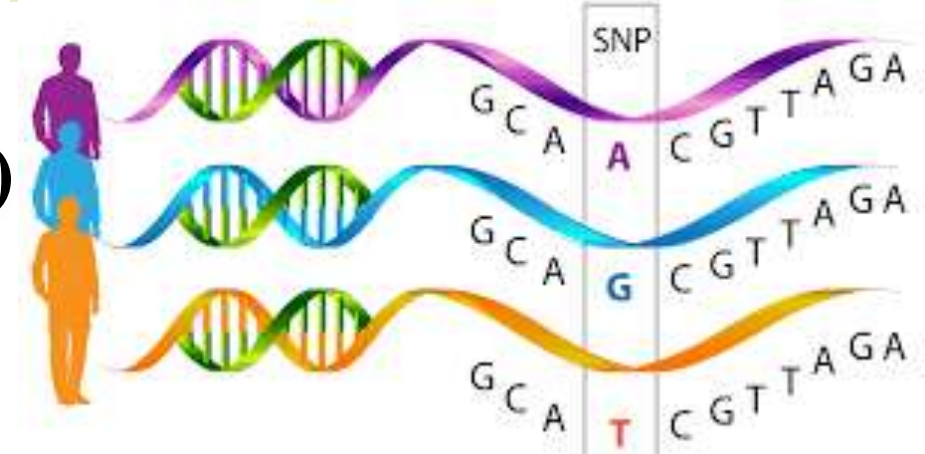


Μοριακοί Δείκτες στην Πληθυσμιακή Γενετική

- **Microsatellites - (II)**



- **SNPs - (I,II)**



- **ESTs - (I)**

- **Indels - (I,II)**

Indel examples

wild-type sequence

ATCTTCAGCCATAAAAGATGAAGTT

3 bp deletion

ATCTTCAGCCAAAAGATGAAGTT

4 bp insertion (orange)

ATCTTCAGCCATATGTGAAAAGATGAAGTT

Type I: associated with genes of known function,
Type II: associated with anonymous DNA



DNA markers στην υδατοκαλλιέργεια

Table 1
Types of DNA markers, their characteristics, and potential applications

Marker type	Acronym or alias	Requires prior molecular information?	Mode of inheritance	Type	Locus under investigation	Likely allele numbers	Polymorphism or power	Major applications
Allozyme		Yes	Mendelian, codominant	Type I	Single	2–6	Low	Linkage mapping, population studies
Mitochondrial DNA	mtDNA	No ^a	Maternal inheritance	—		Multiple haplotypes		Maternal lineage
Restriction fragment length polymorphism	RFLP	Yes	Mendelian, codominant	Type I or type II	Single	2	Low	Linkage mapping
Random amplified polymorphic DNA	RAPD, AP-PCR	No	Mendelian, dominant	Type II	Multiple	2	Intermediate	Fingerprinting for population studies, hybrid identification
Amplified fragment length polymorphism	AFLP	No	Mendelian, dominant	Type II	Multiple	2	High	Linkage mapping, population studies
Microsatellites	SSR	Yes	Mendelian, codominant	Mostly Type II	Single	Multiple	High	Linkage mapping, population studies, paternity analysis
Expressed sequence tags	EST	Yes	Mendelian, codominant	Type I	Single	2	Low	Linkage mapping, physical mapping, comparative mapping
Single nucleotide polymorphism	SNP	Yes	Mendelian, codominant	Type I or type II	Single	2, but up to 4	High	Linkage mapping, population studies?
Insertions/deletions	Indels	Yes	Mendelian, codominant	Type I or type II	Single	2	Low	Linkage mapping

^a Conserved PCR primers can be adopted from sequence information from a related species.



DNA markers στην υδατοκαλλιέργεια

Table 2
Applications of DNA markers in aquaculture genetics

Tasks	Recommended marker system	Other useful marker types
Species identification	RAPD	AFLP, microsatellites, isozymes
Strain identification	AFLP, microsatellites	RAPD
Hybrid identification	RAPD	AFLP, microsatellites, mitochondria ^a
Paternity determination	Microsatellites	
Genetic resource/diversity analysis	AFLP, microsatellites	RAPD
Genetic mapping	Type I markers, Microsatellites	SNP AFLP, RFLP
Comparative mapping	Type I markers	ESTs, conserved microsatellites

^a Use of mitochondrial markers should also allow determination of maternity.

From Liu & Corbes, Aquaculture 238 (2004) 1 –37



What are the microsatellites ?

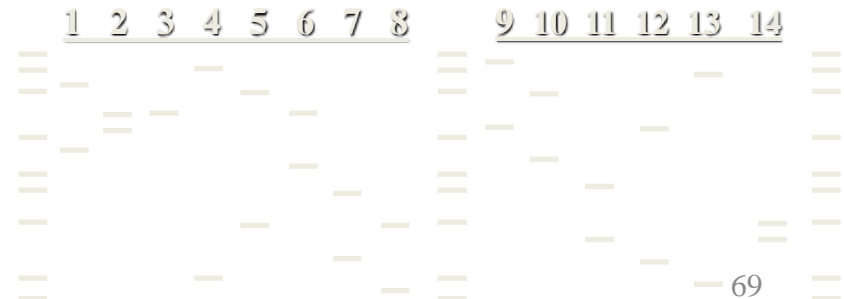
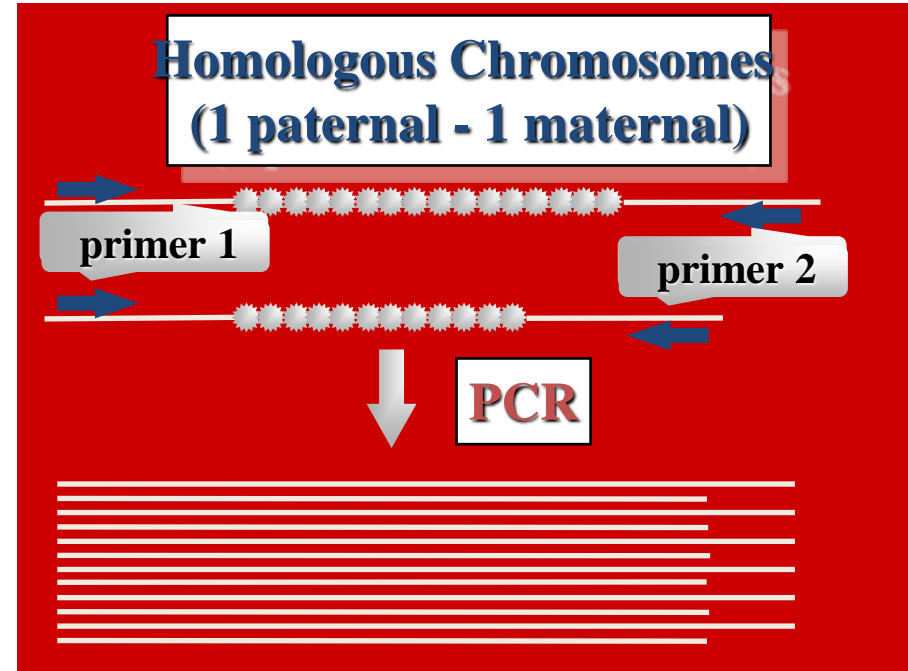




Genotyping

→ **Polymerase Chain Reaction (PCR)**

→ **Polyacrylamide Gel (Read the genotypes)**



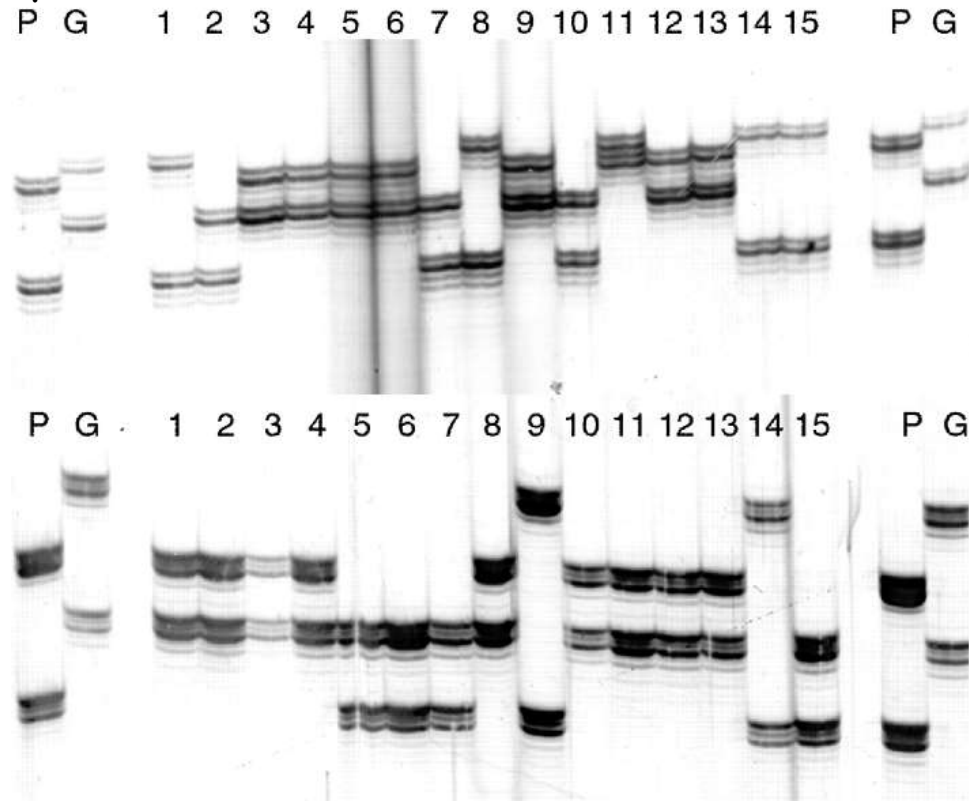


Υπολογίζοντας τη Συχνότητα Αλληλομόρφων ή βρίσκοντας την πατρότητα!!

Οι γονότυποι συνάγονται (συμπεραίνονται):

- Από **πολυμορφισμούς DNA**
 - Microsatellites - μικροδορυφόροι

Μικροδορυφόροι = διαδοχικές επαναλήψεις
Χρήση: γονότυπος & δομή του πληθυσμού



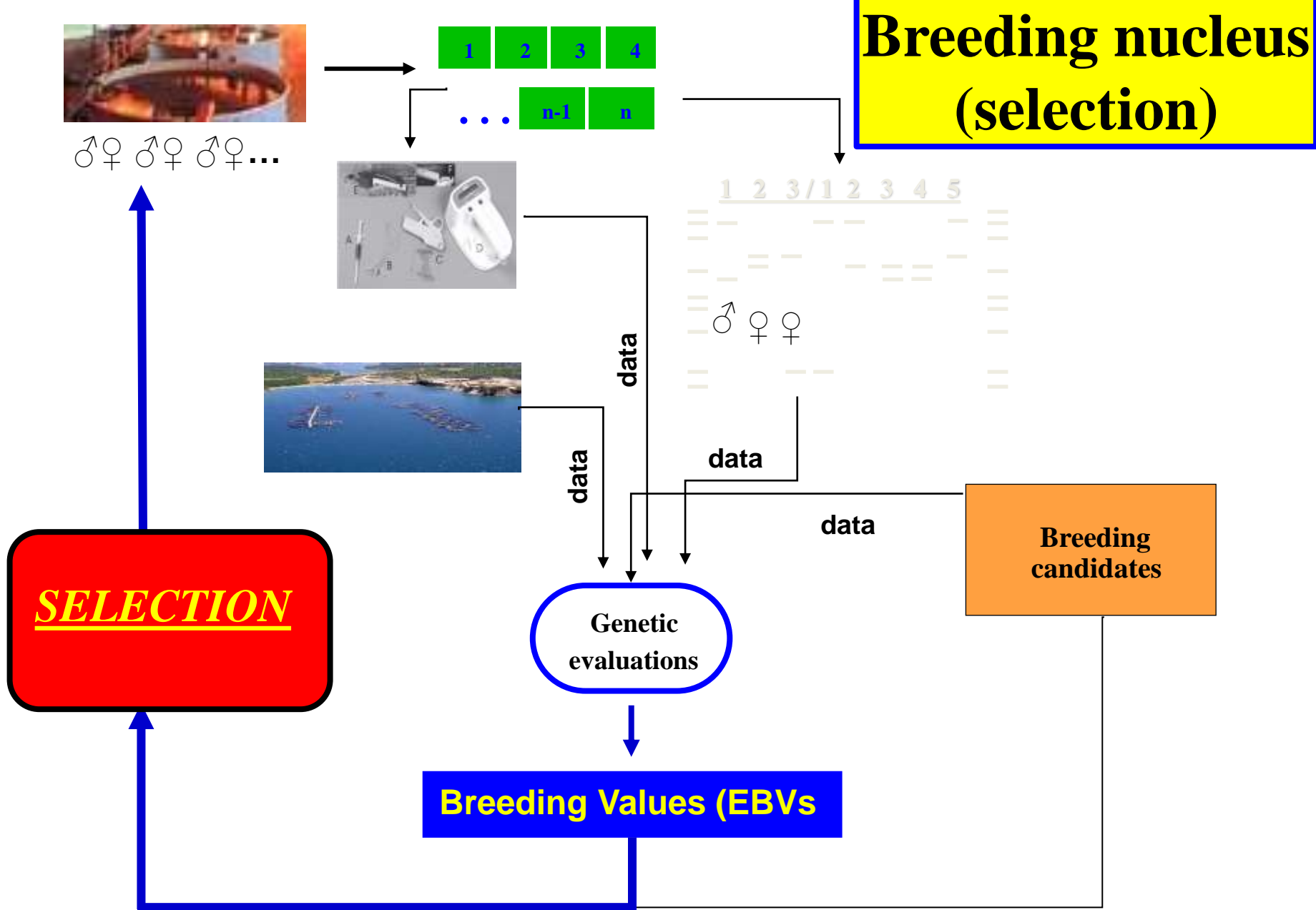
Pedigree of F₁ (a posteriori)

	Dams																																							
Sires	0	1	3	4	6	8	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	21	22	23	24	25	27	29	30	31	32	35	37	39	Grand Total										
33		3	3	14		4	1		40	2	1	13	2	4	41	5	24	1			12		2						20	22	214									
36	18	87	28	159	1	147	12	13	101	14	7	81	32	80	10	79	28	1	12	1	151	60	99	67	4	4	20	87	17	1420										
38	15	61	150	125		156	39	161	55	150	18	35	115	50	94	47	45	10	32	2	65	72	64	23	42	4	83	23	56	1792										
Grand Total	33	151	181	298	1	307	52	174	196	166	26	129	149	134	145	131	97	12	44	3	228	132	165	90	46	8	103	130	95	3426										

Full-Sib families: n=76

Sire Half Sib families: n_S = 3

Dam Half-Sib families: n_D=29





Άλλες χρήσεις των μοριακών εργαλείων στη γενετική βελτίωση

- **Μεγιστοποίηση της διαφοροποίησης των ιδρυτικών πληθυσμών ενός προγράμματος**
- **Διακριτικό εργαλείο για την ανίχνευση πληθυσμών ή παρτίδων (Traceability)**

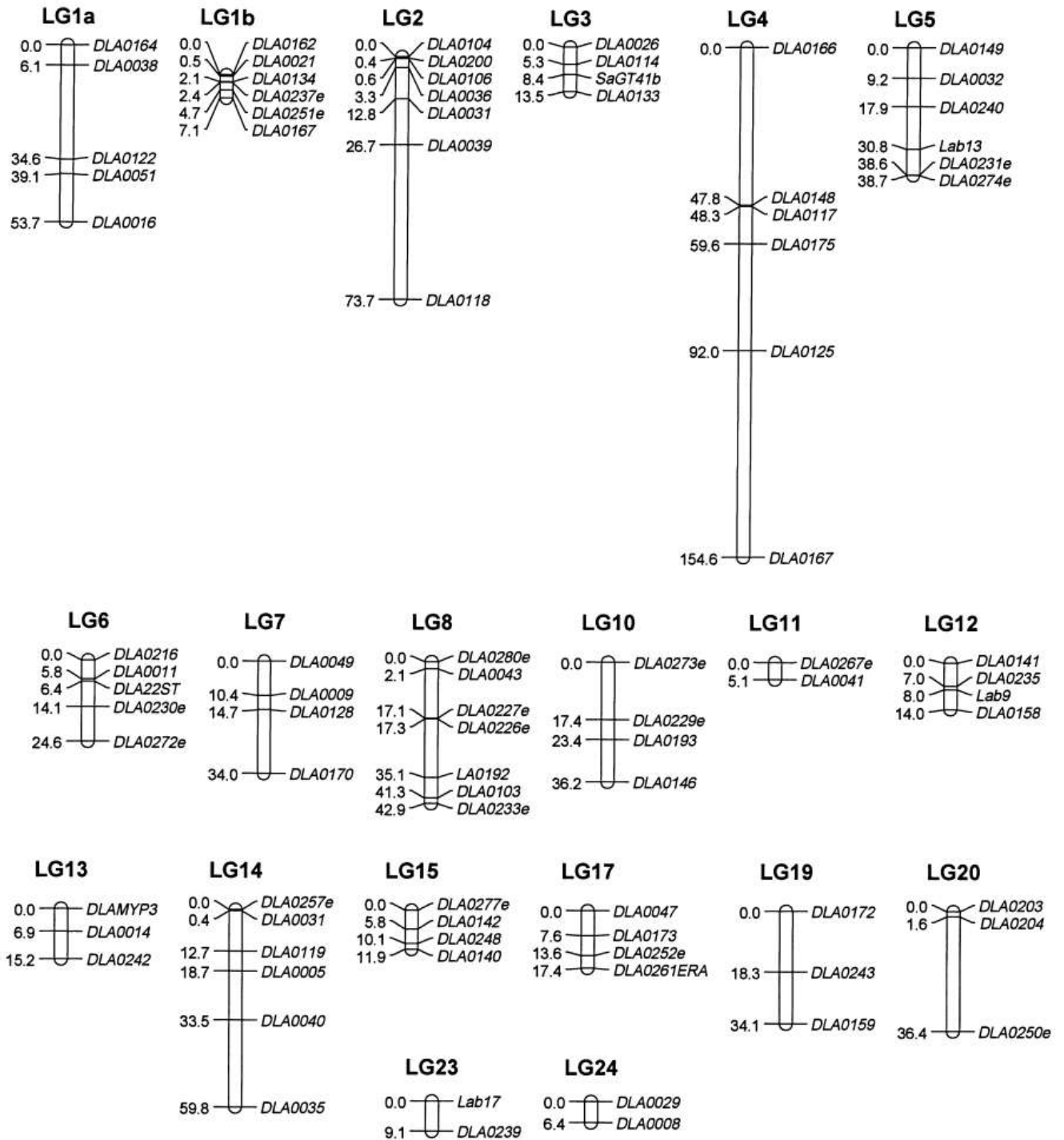


Άλλες χρήσεις των μοριακών εργαλείων στη γενετική βελτίωση

- **Candidate gene approach:** γονίδια με γνωστή έκφραση (πρωτεΐνη) ελέγχονται για την επίδρασή τους σε συγκεκριμένους χαρακτήρες
- **QTLs (Quantitative Trait Loci):** γονίδια, άγνωστα στην έκφραση, αλλά με επίδραση που ανιχνεύεται στατιστικά, στον υπό μελέτη χαρακτήρα. Συνδεδεμένοι σημαντές χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση τέτοιων τόπων.

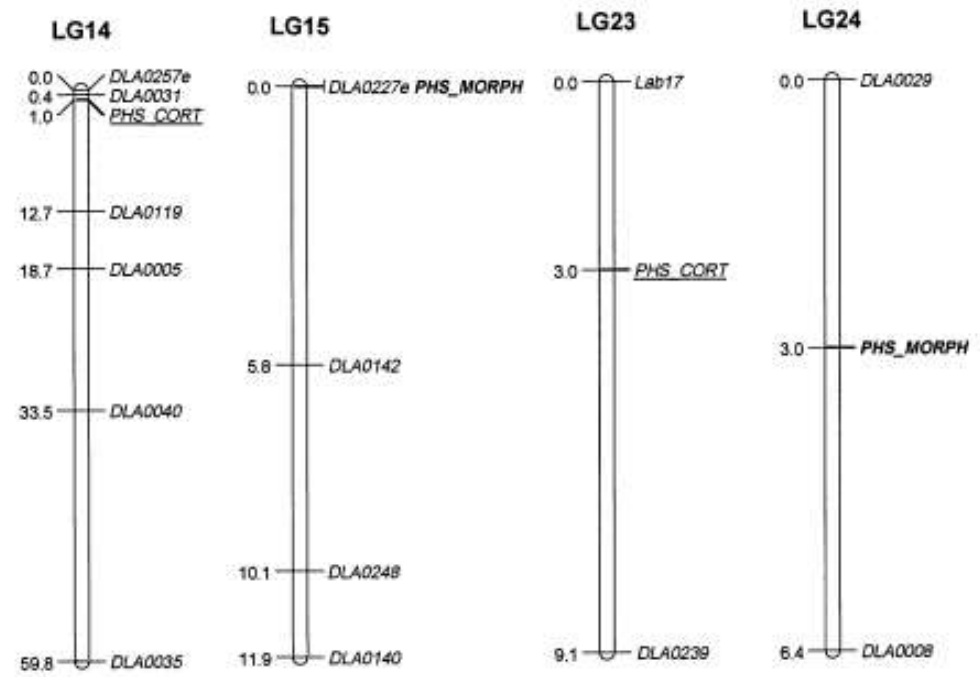
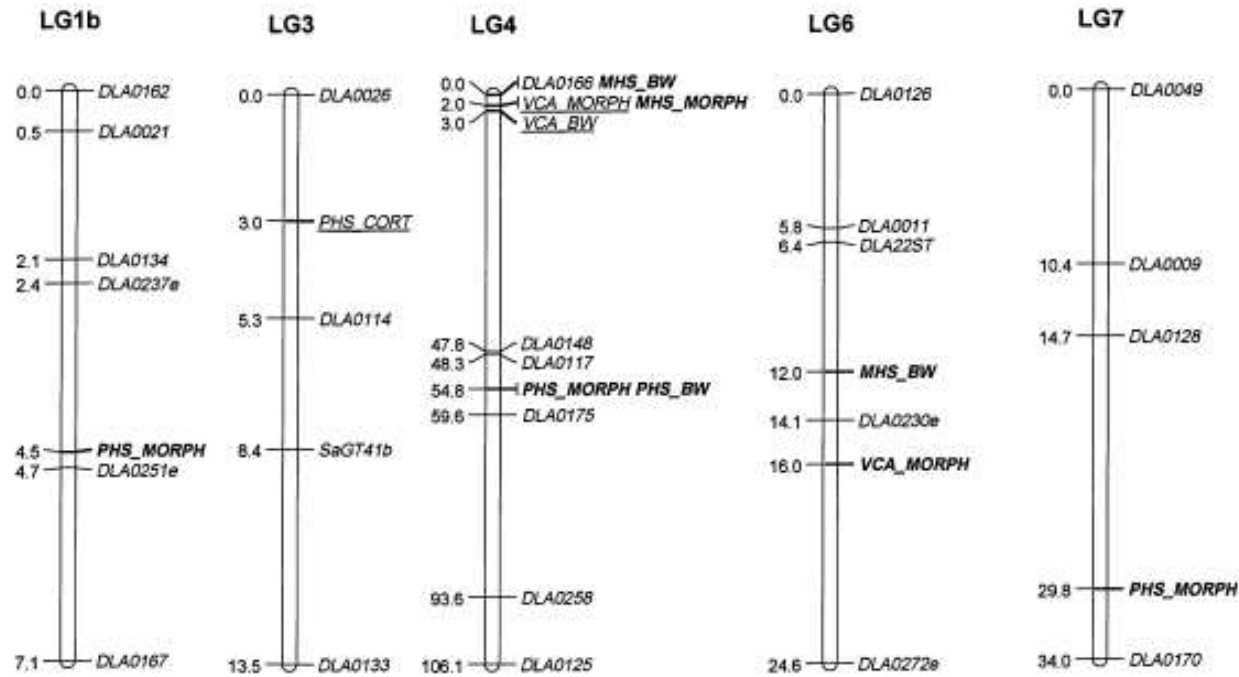


QTL detection



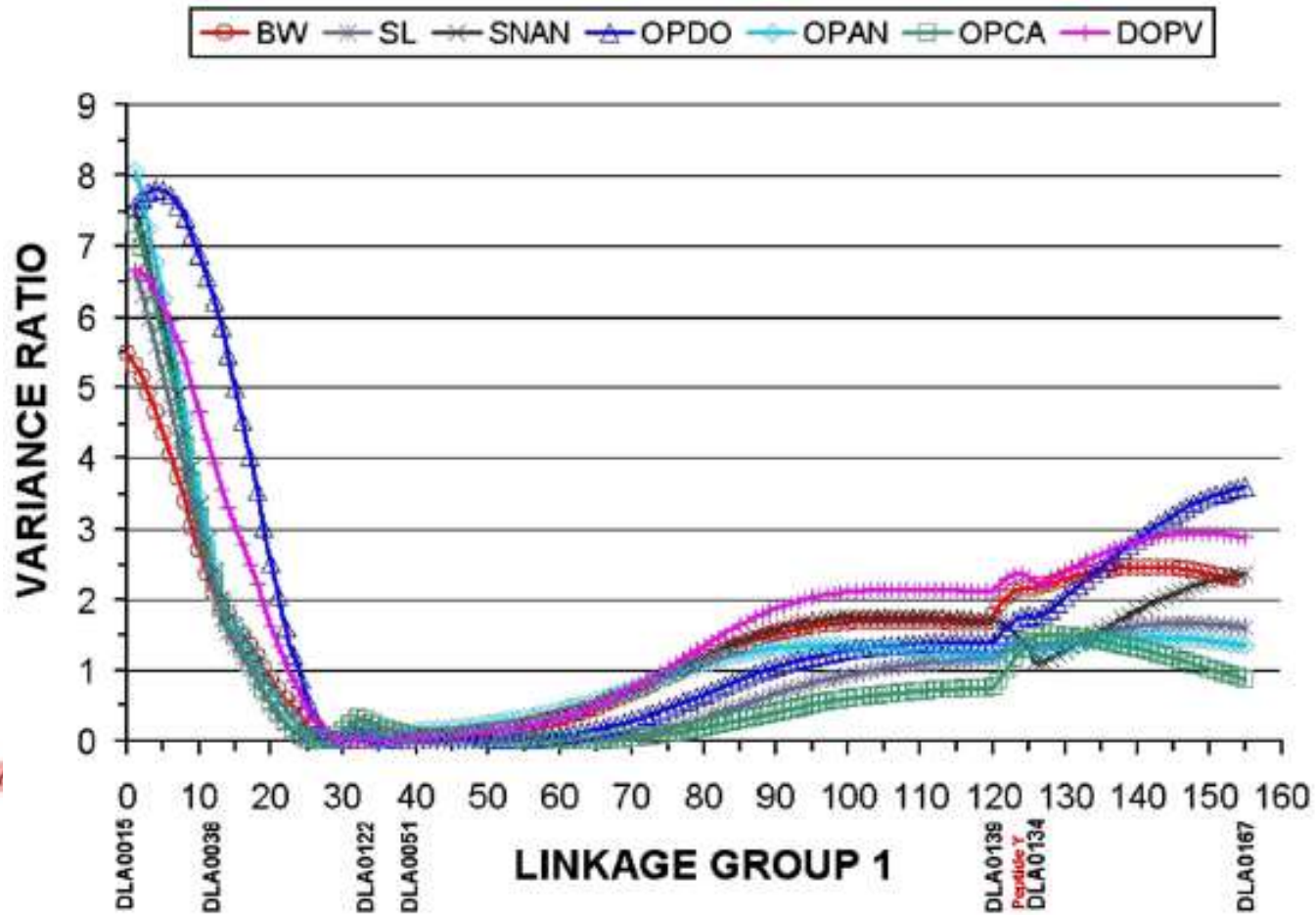
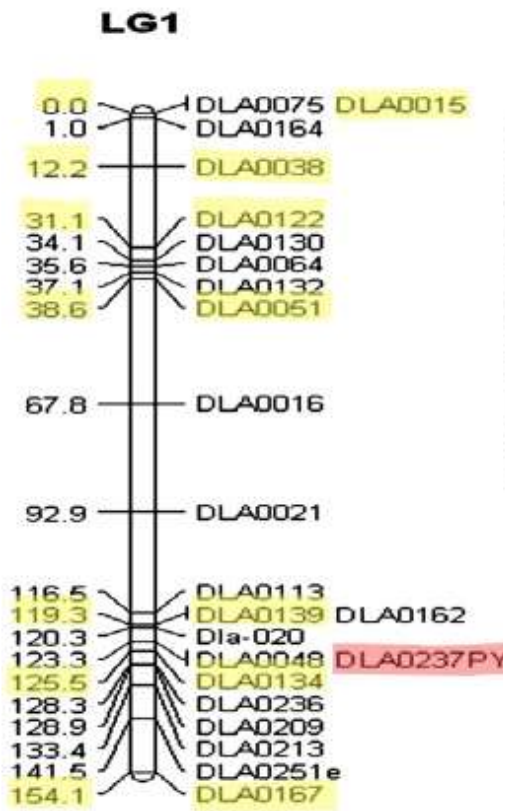


QTL detection





QTL detection - λαβράκι (*D. labrax*)



From Chatziplis et al. / Aquaculture 272S1 (2007) S172–S182



QTL detection - τσιπούρα (*S. aurata*)

- Χαρτογράφηση QTL

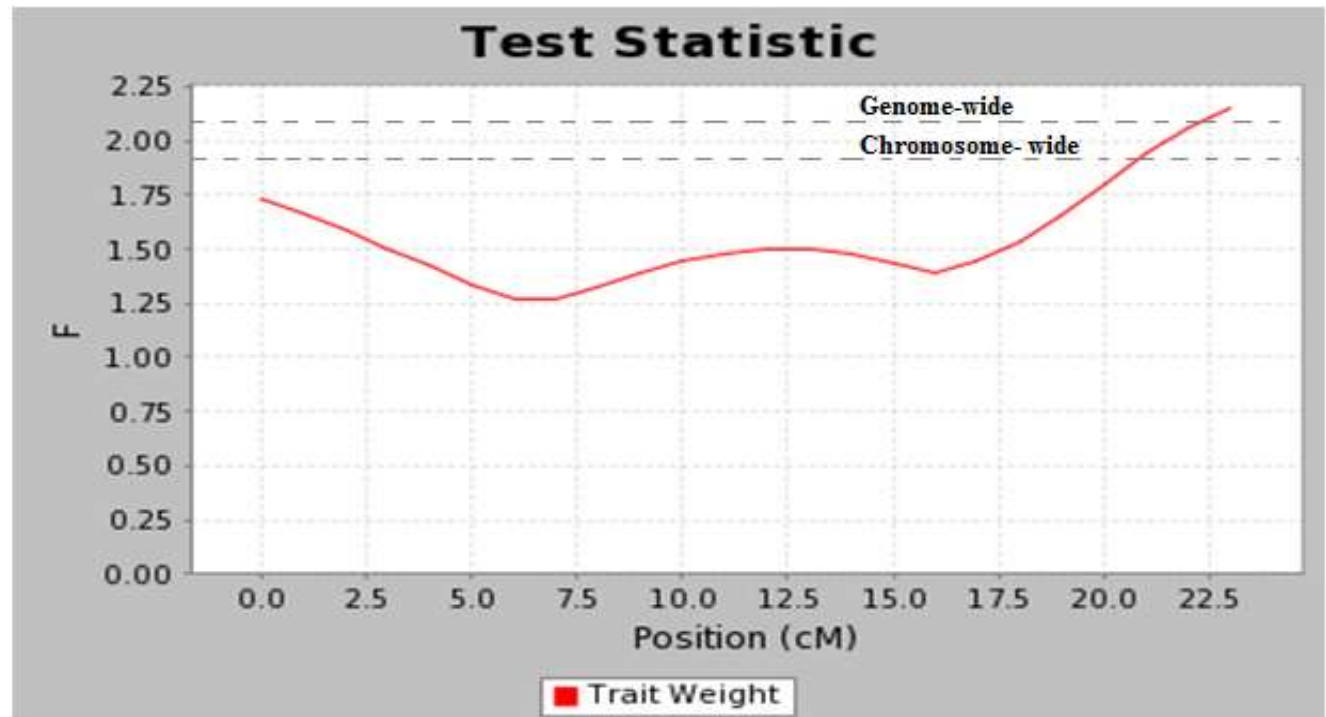
Επιβεβαίωση QTL στην ομάδα σύνδεσης 1 , θέση 23

Ομάδα σύνδεσης 1

F	Likelihood Ratio
2,15	37,84

Chromosome-wide P Search	
p	F-statistic Threshold
0.05	1,9
0.01	2,2

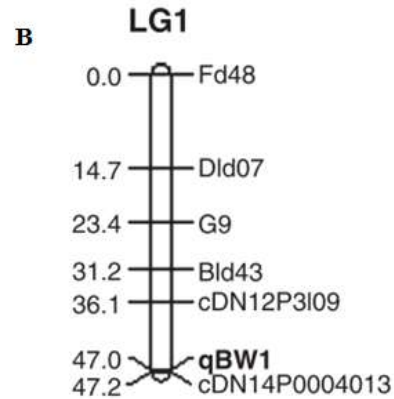
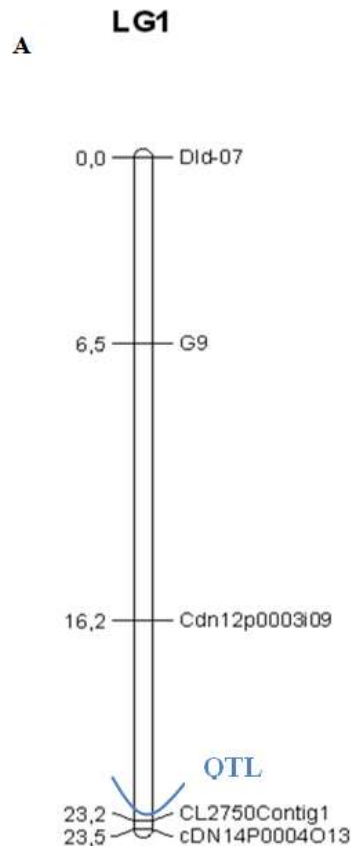
Genome-wide P Search	
p	F-statistic Threshold
0.05	2,1
0.01	2,4



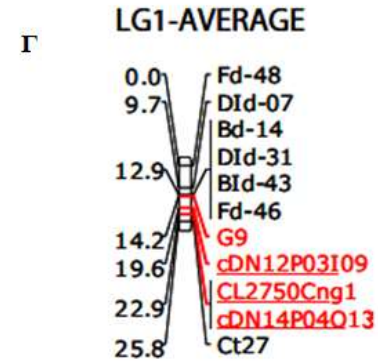
Loukovitis et al. (2010)



QTL detection - τσιπούρα (*S. aurata*)



Loukovitis et al., 2012



Tsigenopoulos et al., 2014

**Ανάλυση σύνδεσης
Ομάδα σύνδεσης 1**



Άλλες χρήσεις των μοριακών εργαλείων στη γενετική βελτίωση

- **Marker Assisted Selection (MAS):** επιλογή για ένα συγκεκριμένο αλληλόμορφο που συνδέεται με κάποιον τόπο που επηρεάζει ένα χαρακτήρα και συνεκτίμηση της πληροφορίας στην εκτίμηση των κληροδοτικών τιμών. Χρήσιμο σε χαρακτήρες με μικρή κληρονομησιμότητα
- **Marker assisted Introgression:** Η εισαγωγή ενός συγκεκριμένου αλληλομόρφου σε ένα άλλο πληθυσμό με επαναδιασταύρωση καθοδηγούμενη από τους μοριακούς σημαντές



UNIVERSITY OF
PATRAS
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ

Ευχαριστώ για την προσοχή σας

Κ. Μπαταργιάς



Γενετικές επιδράσεις των υδατοκαλλιεργειών στους φυσικούς πληθυσμούς

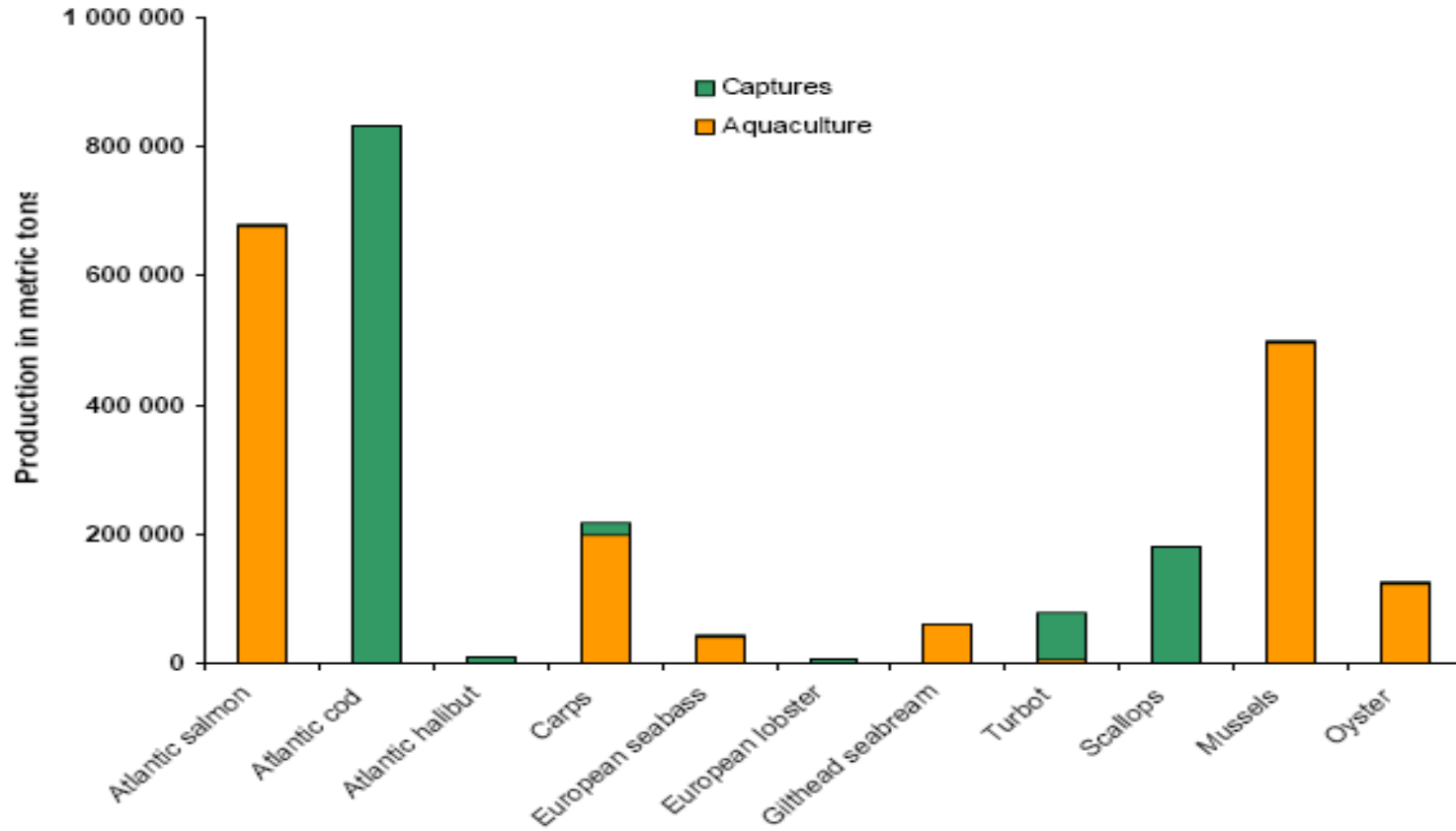


Figure 2. Production and capture and aquaculture production of selected important aquaculture species in Europe in 2002 (data from www.FAO.org)



Γενετικές επιδράσεις των υδατοκαλλιεργειών στους φυσικούς πληθυσμούς

- Πρέπει να εξεταστεί η γενετική δομή και βιολογία των άγριων και καλλιεργούμενων αποθεμάτων των παραπάνω ειδών ώστε να αναγνωριστούν οι πιθανοί γενετικοί κίνδυνοι που οι διαφυγές εγκυμονούν για τους τοπικούς πληθυσμούς.
 - Μελέτες σε σολομό έχουν δείξει ότι η επιβίωση και άλλα χαρακτηριστικά των καλλιεργημένων είναι κατώτερα αυτών των άγριων.
 - Χρήζει διερεύνησης



«Domestication»

1.ώστε το ζώο να χάνει την δυνατότητα επιβίωσης στη άγρια φύση
 - Μειωμένη αναπαραγωγική επιτυχία: 16% του φυσικού πληθυσμού αλλά και μείωση της παραγωγικότητας του φυσικού πληθυσμού κατά 30% (ανταγωνισμός) (Flemming et al., 2000)
 - Τα «υβρίδια» εμφάνισαν μειωμένες τιμές στους χαρακτήρες αρμοστικότητας (fitness), επιβίωσης κ.λ.π. (McGinnity et al., 2003)
- Τι γίνεται με τα Μεσογειακά είδη (τσιπούρα, λαβράκι κ.λ.π.;



Γενετικές επιδράσεις των υδατοκαλλιεργειών στους φυσικούς πληθυσμούς

- Οι διαφυγές απειλούν(;) την γενετική ακεραιότητα των άγριων πληθυσμών μέσω των διασταυρώσεων
- Ο ρυθμός γενετικής ροής και διείσδυσης (introgression) απαιτεί
 - Επιβίωση
 - Επιτυχή πρώιμη ανάπτυξη
 - Γεννητική ωρίμανση (δηλ όλα τα χαρακτηριστικά αρμοστικότητας - fitness)
- Ο ρυθμός διείσδυσης του σολομού σε 20 Νορβηγικά ποτάμια εξαρτάται από τη σύνθεση και αρμοστικότητα του ντόπιου πληθυσμού (Heino, 2015)



UNIVERSITY OF
PATRAS
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ

Ευχαριστώ για την προσοχή σας

Κ. Μπαταργιάς