KVANTITATIVNA GENETIKA

Lastnosti, na osnovi katerih lahko rastline razvrstimo v posamezne razrede imenujemo **kvalitativne lastnosti** (barva cvetov, nekatere odpornosti na bolezni, itd.)

V drugo skupino sodijo lastnosti, ki kažejo večjo variabilnost in jim je praktično nemogoče določiti razrede. Običajno so to lastnosti, ki jih lahko izmerimo ali stehtamo. Te lastnosti imenujemo **kvantitativne lastnosti** (*quantitative* ali *metric characters*): količina pridelka, kakovost, čas dozorevanja oz. dolžina rastne dobe, itd.

Kvantitativne lastnosti določajo multipli geni ali **poligeni** (tudi minor geni – geni z majhnim vplivom).

1

FENOTIP JE REZULTAT VPLIVA GENOTIPA IN OKOLJA
Običajno je večji vpliv okolja pri izražanju kvantitativnih lastnosti.
Lahko pa zaradi vpliva okolja tudi kvalitativne lastnosti kažejo variabilnost, kot v primeru kvantitativne lastnosti.

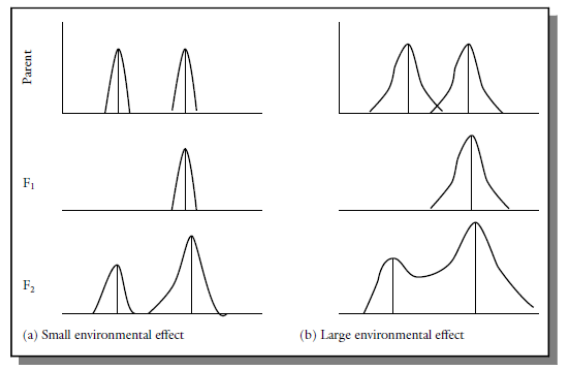


Figure 4.1 Environmental effect on gene expression. The phenotype = genotype + environment. Some traits are influenced a lot more than others by the environment. In cross (a) the environmental influence is small, such that the phenotypes are distinguishable in the F_2; in cross (b) the environmental influence is strong, resulting in more blurring of the differences among phenotypes in the segregating population.

Acquaah, 2012, Principles of Plant Genetics and Breeding, 2nd Edition

2

Primer dedovanja kvantitativnih lastnosti, upoštevajoč princip Mendlovega dedovanja
- Aditivni učinek -

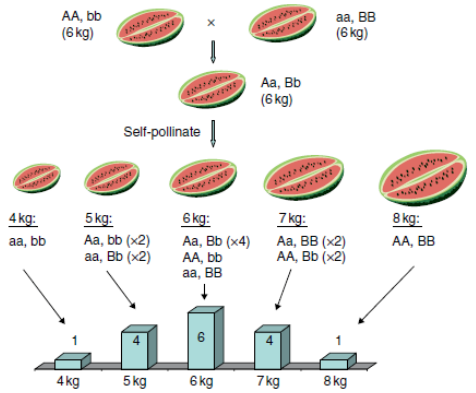


Figure 3.1. A hypothetical melon-breeding scenario that illustrates quantitative inheritance. Alleles at two loci (A and B) are represented by lower versus uppercase letters. Assume that the allele represented by the capital letter increases melon weight relative to the small allele, such that the average weight of melons (in kg) produced by a variety is determined by two times the total number of capital alleles plus the number of small alleles. Nine different genotypes will be present in the F_2 generation. If the two loci are not linked on the same chromosome, their expected segregation ratios will be as depicted in Figure 2.5. However, because some different genotypes result in the same melon size, only five sizes of melons will be produced, as shown. The expected proportions of each melon size in a random F_2 population are depicted by the histogram at the bottom of the figure.

Stewart. 2016. Plant biotechnology and genetics. Principles, Techniques and Applications. 2nd ed. John Wiley & Sons.

3

Nilsson-Ehle (1909) je križal dve sorti pšenice – eno s temno rdečo barvo zrna (genotip: R1R1R2R2) in drugo z belo barvo zrna (r1r1r2r2).

Table 4.1 Transgressive segregation.

P_1	$R_1R_1R_2R_2$ (dark red)	×	$r_1r_1r_2r_2$ (white)
F_1	$R_1r_1R_2r_2$		
F_2	1/16	=	$R_1R_1R_2R_2$
	4/16	=	$R_1R_1R_2r_2$, $R_1r_1R_2R_2$
	6/16	=	$R_1R_1r_2r_2$, $R_1r_1R_2r_2$, $r_1r_1R_2R_2$
	4/16	=	$R_1r_1r_2r_2$, $r_1r_1R_2r_2$
	1/16	=	$r_1r_1r_2r_2$

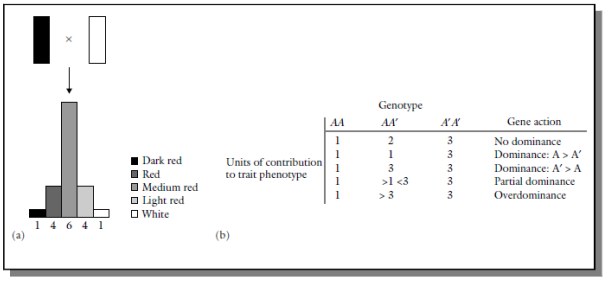


Figure 4.2 (a) Nilsson-Ehle's classic work involving wheat color provided the first formal evidence of genes with cumulative effect. (b) An illustration of gene action using numeric values.

4

Identifikacija kvantitativnih lokusov oz. regij na genomu, ki so povezane z določeno kvantitativno lastnostjo s pomočjo izdelave genetske mape

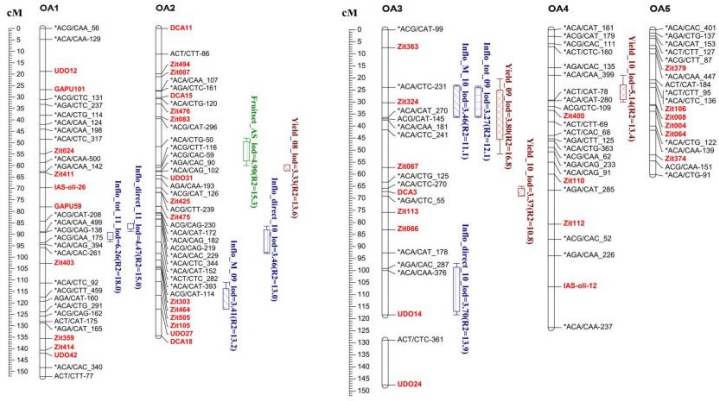


Figure 5. Genomic positions of the QTLs detected on the linkage groups of the 'Olivière' × 'Arbequina' integrated map by multiple QTL mapping (MQM) for the best linear unbiased predictors (BLUPs) of reproductive traits measured at both tree and GUs scale. Map distances were derived using the Kosambi mapping function and SSRs markers were colored in red. QTLs are represented by boxes extended by lines representing the LOD-1 and LOD-2 confidence intervals. Boxes are coloured according to the process of the traits: Blue and Green for flowering and fruiting at GUs scale, respectively; Brown for production at whole tree scale. For each trait, a distinct fill style was used for boxes representing QTLs. For each QTL, corresponding BLUP (computed from genotype effect or from the interaction between genotype and year), LOD peak and R^2 were indicated as detailed in Table 6.
doi:10.1371/journal.pone.0062831.g005

Ines Ben Sadok in sod. 2013. QTL Mapping of Flowering and Fruiting Traits in Olive

5

UČINEK GENA

Učinke genov delimo v naslednje skupine:
- Aditivni
- Dominanca
- Interakcija med geni (epistaza)
- Naddominanca (heteroza)

6

ADITIVNI UČINEK

O aditivnem učinku genov govorimo takrat, ko vsak dodaten gen enakovredno prispeva k močnejši izraženosti določene lastnosti.

Na primer:
aabb=0
Aabb=1
AABb=3
AABB=4

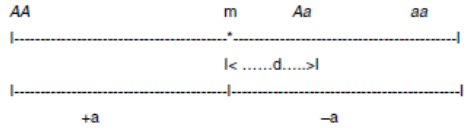
V primeru posameznega lokusa heterozigot izkazuje srednjo vrednost med starši (AA=2, Aa=1, aa=0)

Učinek alela je enak ne glede na prisotnost ostalih alelov na tem istem lokusu.

Fenotip v tem primeru odraža genotip z aditivnim učinkom.

7

Additive effect. Consider a gene with two alleles (A, a). Whenever A replaces a, it adds a constant value to the genotype:



ADITIVNI UČINEK lahko ocenimo iz razlike med homozigoti:
a -> aditivni učinek alela A
m -> povprečna vrednost dveh homozigotov (AA in aa) (del m predstavlja tudi variabilnost zaradi okolja)
d -> odklon od sredine kaže na določen del dominance

$AA=m+a_A$
$aa=m-a_A$
$Aa=m+d_A$

Pri tujeprašnicah nimamo čistih linij, zato namesto o aditivnem učinku govorimo o povprečnem vplivu (average effect).

V primeru dedovanja z aditivnim učinkom je primeren pristop žlahtnjenja razvoj čistih linij.

8

VPLIV DOMINANCE

Dominantnost/recesivnost je odnos med aleli istega gena.
Epistaza – interakcija med aleli različnih genov.

d_A- vpliv dominance
d_A=0 - dominanca ni prisotna
$d_A = a_A$ - popolna dominanca
$d_A < a_A$ - nepopolna dominanca
$d_A > a_A$ - naddominanca

Vpliv dominance za posamezni lokus lahko ugotovimo iz primerjave treh genotipov
m = ½(AA+aa)
a_A = ½(AA-aa)
d_A =Aa-1/2(AA+aa)

V primeru dedovanja naddominance oz. heteroze je primeren pristop žlahtnjenja razvoj hibridov (hibridi F1 generacije).

9

Poznavanje genetskega vpliva je ključno za določanje pravega pristopa k žlahtnjenju

Na primer, ko prevladujejo aditivni učinki genov (ter interakcija med aditivnimi učinki) pri:

- Samoprašnicah: selekcija čistih linij, masovna selekcija.
- Tujeprašnicah: rekurentna selekcija za identifikacijo staršev z dobro kombinacijsko sposobnostjo, sintetične sorte

Aditivna varianca edina, ki se uspešno odzove na selekcijo.

V primeru dominantnega učinka (ter interakcije med dominantnimi učinki) se priporoča žlahtnjenje za izrabo heteroze (hibridi).

V primeru mešanih vplivov genov, se lahko ustvari sorto populacijo (tujeprašna sorta).

10

Ocenjevanje/določite učinka gena

Učinke gena se lahko oceni z izvedbo načrtovanih križanj.

11

Uporaba statističnih metod

Osnovni statistični parametri:

- Mere sredine: povprečje
- Mere variabilnost: varianca in standardni odklon (opredeljeni na osnovi vsote kvadriranih odklonov od aritmetične sredine, krajše VKO

$$VKO = \sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2$$

Varianca σ^2 je povprečni kvadrirani odklon od aritmetične sredine:

$$\sigma^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2 = \frac{1}{n} \cdot VKO$$

Če imamo podatke iz vzorca in ne iz celotne populacije, izračunamo t. i. **vzorčno varianco** s^2 takole:

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2$$

Opomba: dokaz, da je pri izračunu vzorčne variance bolj primerno VKO deliti z n-1 kot z n, posreduje matematična statistika. Kot bomo videli kasneje, je tako izračunana vzorčna varianca nepristranska ocena populacijske variance.

Varianca je izražena v kvadriranih merskih enotah obravnavane spremenljivke (npr. kg^2, SIT^2, ...) in je vsebinsko težje obrazložljiva mera. Če varianco korenimo, dobimo standardni odklon σ:

$$\sigma = \sqrt{\sigma^2}$$

oz. **vzorčni standardni odklon** s:

$$s = \sqrt{s^2}.$$

Košmelj K. 2007. Uporabna statistika.

12

KOMPONENTE VARIABILNOSTI KVANTITATIVNIH LASTNOSTI

P (fenotip) = G (genotip) + E (okolje) ali P=G+(GxE)+E

Za določitev variabilnosti v populaciji izračunamo varianco.
V_P= varianca fenotipa segregirajoče populacije
V_G= varianca genotipa
V_E= varianca zaradi vpliva okolja
V_{GE} =varianca zaradi interakcije genotipa in okolja

Osnovna žlahtniteljska enačba za določitev fenotipske variance:
$V_P = V_G + V_E$

Oziroma, vključno z interakcijo:
$V_P = V_G + V_E + V_{GE}$

13

Genetsko komponento lahko nadalje razdelimo v:
$V_G = V_A + V_D + V_I$

V_A – aditivna variabilnost (variabilnost zaradi aditivnega učinka genov)
V_D – dominantna variabilnost (variabilnost zaradi dominantnega učinka genov)
V_I – interakcija (variabilnost zaradi interakcije med geni)

Aditivni učinek je možno v nekaterih primerih dokaj natančno določiti. Zato je običajno genetska variabilnost razdeljena na **aditivno nasproti vsej ostali variabilnosti (V_A/V_P)**.

14

Interakcija genotip x okolje

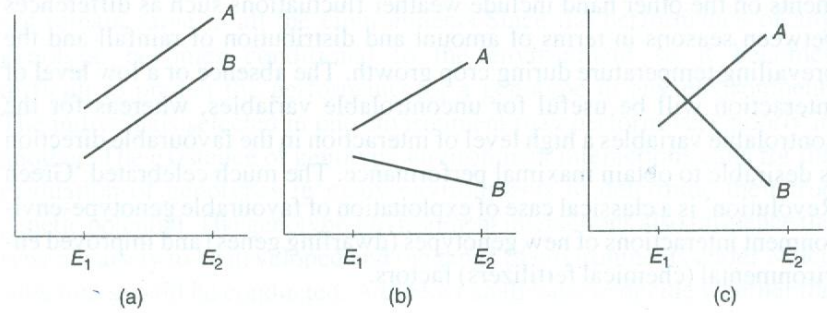


Fig. 7.1 *Different types of GE shown by two varieties grown in two environments*

Chal & Gosal (2002) Principles and Procedures of Plant Breeding

15

Skupno variabilnost (upoštevajoč delitev genetske komponente) fenotipa lahko torej definiramo kot:

$V_P = V_A + V_D + V_I + V_E + V_{GE}$

Za določitev posameznih virov variabilnosti je potrebno izvesti skrbno načrtovane poljske poskuse in podatke statistično obdelati.

Metoda za izračun genotipske variabilnosti iz F2 in povratnih križanj (K. Mather):

$$V_{P1} = E;\ V_{P2} = E;\ V_{F1} = E$$
$$V_{F2} = \tfrac{1}{2}A + \tfrac{1}{4}D + E$$
$$V_{B1} = \tfrac{1}{4}A + \tfrac{1}{4}D + E$$
$$V_{B2} = \tfrac{1}{4}A + \tfrac{1}{4}D + E$$
$$V_{B1} + V_{B2} = \tfrac{1}{2}A + \tfrac{1}{2}D + 2E$$

V_{P1} in V_{P2} - variabilnost maternih in očetovskih rastlin
V_{F1} – variabilnost F1 generacije (P1xP2)
VF_2- variabilnost F2 generacije
A in D – aditivni in dominantni učinki
V_E – vpliv okolja
V_{B1} in V_{B2} – variabilnost povratnega križanca F1 generacije z maternimi rastlinami (BC1 = F1xP1) in variabilnost križanca F1 generacije z očetnimi rastlinami (BC2=F1xP2)

16

ZA ŽLAHTNITELJA JE NUJNO, DA RAZUME, KOLIKŠEN DELEŽ VARIABILNOSTI PREDSTAVLJA GENOTIP – SPREMENLJIVKA S KATERO OPIŠEMO TO VREDNOST JE **HERITABILNOST**

TIP HERITABILNOSTI

- HERITABILNOST V ŠIRŠEM SMISLU – ocena heritabilnosti z vso genetsko variabilnostjo

$H = V_G/V_P$

- HERITABILNOST V OŽJEM SMISLU – ocena heritabilnost z aditivno komponento genetske variabilnosti
  - Bolj uporabna za žlahtnitelja, ker heritabilnost v ožjem smislu določa odziv na selekcijo

$h=V_A/V_P$

17

Primer izračuna heritabilnosti z F2 in povratnimi križanji

Variabilnost v F2 generaciji je enaka skupni variabilnosti fenotipa (V_P), torej je:
$V_{F2} = V_P=V_A+V_D+V_E$

• **Variance components.** The variance component method of estimating heritability uses the statistical procedure of **analysis of variance**. Variance estimates depends on the types of populations in the experiment. Estimating genetic components suffer from certain statistical weaknesses. Variances are less accurately estimated than means. Also, variances are not robust and are sensitive to departure from normality. An example of heritability estimate using F_2, and backcross populations is as follows:

$$V_{F2} = V_A + V_D + V_E$$
$$V_{B1} + V_{B2} = V_A + 2V_D + 2V_E$$
$$V_E = [V_{P1} + V_{P2} + V_{F1}]/3$$
$$H = (V_A + V_D)/(V_A + V_D + V_E) = V_G/V_P$$
$$h^2 = (V_A)/(V_A + V_D + V_E) = V_A/V_P$$

Example
Using the data in the following table:

	P_1	P_2	F_1	F_2	BC_1	BC_2
Mean	20.5	40.2	28.9	32.1	25.2	35.4
Variance	10.1	13.2	7.0	52.3	35.1	56.5

$$V_E = [V_{P1} + V_{P2} + V_{F1}]/3$$
$$= [10.1 + 13.2 + 7]$$
$$= 30.3/3$$
$$= 10.1$$

$$V_A = 2V_{F2} - (V_{B1} + V_{B2})$$
$$= 2(52.3) - (35.1 + 56.5)$$
$$= 104.6 - 91.6$$
$$= 13.0$$

$$V_D = [(V_{B1} + V_{B2}) - F_2 - (V_{P1} + V_{P2} + F_1)]/3$$
$$= [(35.1 + 56.5) - 52.3 - (10.1 + 13.2 + 7.0)]/3$$
$$= [91.6 - 52.3 - 30.3]/3$$
$$= 3.0$$

Broad sense heritability

$$H = [13.0 + 3.0]/[13.0 + 3.0 + 10.1]$$
$$= 16.0/26.1$$
$$= 0.6130$$
$$= 61.30\%$$

Narrow sense heritability

$$h^2 = 13.0/[13.0 + 3.0 + 10.1]$$
$$= 13.0/26.1$$
$$= 0.4980$$
$$= 49.80\%$$

Other methods of estimation

$$H = [V_{F2} - \tfrac{1}{2}(V_{P1} + V_{P2})]/V_{F2}$$
$$= [52.3 - \tfrac{1}{2}(10.1 + 13.2)]/52.3$$
$$= 40.65/52.3$$
$$= 0.7772$$
$$= 77.72\%$$

(The estimate is very close to that obtained by using the previous formula.)

18

Za kaj je izračun heritabilnosti še pomemben?

Za izračun **selekcijske odzivnosti** (response to *selection, genetic gain, genetic advance*)

Selekcijska odzivnost R je razlika v povprečju fenotipske vrednosti potomstva odbranih staršev in celotne starševske generacije, pred selekcijo.

$R = S \times h^2$

Izračun **selekcijskega diferenciala** S (selection differential)

$S = T_S - T$ (selekcijski diferencial=povprečje odbranih staršev – povprečje celotne populacije

19

Primer uporabe heritabilnosti za določitev, kako se bo populacija odzvala na selekcijo.

Primer:

Osnovna populacija sončnic je začela cveteti povprečno v 100 dneh. Heritabilnost tega znaka je 0,2. Odbrali smo dva starša, ki zacvetita v 90 dneh. Koliko se bo spremenilo povprečje populacije potomcev teh dveh staršev?

R= (90-100) x 0,2 = -2
Nova populacija bo v povprečju zacvetela v 98 dneh.

20

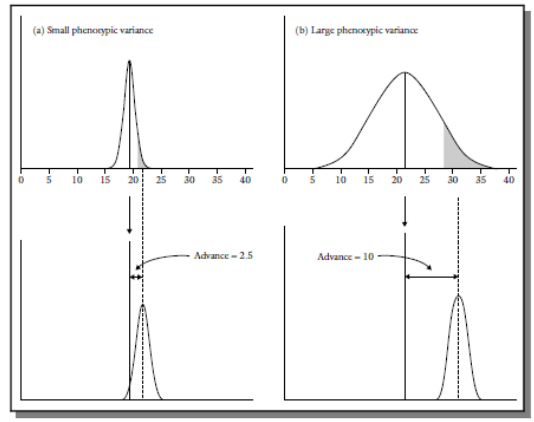


Figure 4.3 The effect of phenotypic variance on genetic advance. If the phenotypic variance is too small, the genetic variability from which to select will be limited, resulting in a smaller genetic gain. The reverse is true when the phenotypic variance is large.

A large phenotypic variance would provide the breeder with a wide range of variability from which to select. Even when the heritability of the trait of interest is very high, genetic advance would be small without a large amount of phenotypic variation (Figure 4.3).

Acquaah, 2012, Principles of Plant Genetics and Breeding, 2nd Edition

21

Ko je heritabilnost visoka bo odbira zgolj nekaj najboljših rastlin rezultirala v večjem genetskem napredku, v primerjavi z z odbiro več manj superiornih rastlin.

Ko pa je heritabilnost nižja, mora žlahtnitelj odbrati več rastlin (manjša selekcijska intenziteta) zato, da se v naslednjo generacijo prenese čim več najboljših genotipov.

22

Selekcijsko odzivnost v eni generaciji lahko definiramo tudi kot:

$$\bar{X}o - \bar{X}p = R = ih^2\sigma (\text{or } \Delta G = ih^2\sigma)$$

(breeders equation / ponazoritev enačbe na naslednjem diapozitivu)

- ΔG (ali R).... genetski napredek po selekciji (*predicted genetic advance*)
- Xo – fenotipsko povprečje potomstva,
- Xp – fenotipsko povprečje starševske generacije
- σ_P.....standardni odklon fenotipa starševske generacije
- h^2..... heritabilnost v ožjem smislu
- *i*.....(selekcijska intenziteta) konstanta (standardiziran selekcijski diferencial), za praktičen izračun zadošča tabela:

selekcijska intenziteta (%)	*i*
1	2,668
5	2,06
10	1,755
20	1,40

Selekcijski napredek je odvisen od: 1) variabilnosti (fenotipske) populacije, iz katere bodo odbrane rastline, 2) heritabilnosti želene lastnosti in 3) selekcijske intenzitete (delež populacije oz. število rastlin odbranih za naslednjo generacijo)

23

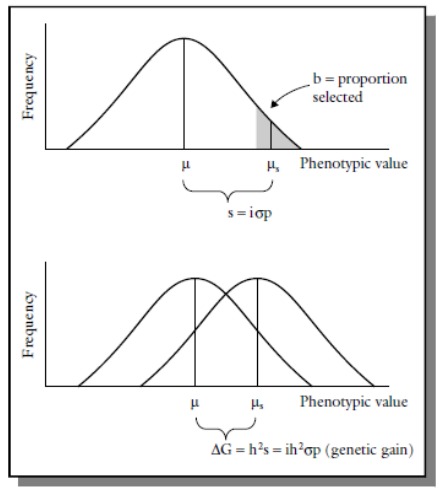


Figure 4.4 Genetic gain or genetic advance from selection indicates the progress plant breeders make from one generation to another based on the selection decisions they make.

Example
Using the data in the table below:

	X	σp	V_P	V_A	V_E
Parents	15	2	6	4	3
Offspring	20.2	15	4.3	2.5	3

$R = ih^2\sigma$

Parents

$h^2 = V_A/V_P$
$= 4/6$
$= 0.67$

for i at p = 10% = 1.755 (read from tables and assuming a very large population):

$R = 1.755 \times 0.67 \times 2$
$= 2.35$

Offspring

$h^2 = V_A/Vp$
$= 2.5/4.3$
$= 0.58$
$R = 1.755 \times 0.58 \times 1.5$
$= 1.53$

Z vsako nadaljnjo generacijo varianca in heritabilnost padata. Podobno, genetski napredek z vsako naslednjo generacijo pada, medtem ko povprečna vrednost lastnosti, ki jo izboljšujemo, narašča.

Acquaah, 2012, Principles of Plant Genetics and Breeding, 2nd Edition

24

Primer:
Povprečni pridelek 100 F3 rastlin iz križanja dveh sort bombaža je 450 g/rastlino s standardnim odklonom 58 g/rastlino. Heritabilnost pridelka na rastlino je 60 %. Povprečni pridelek najboljših populacij (zgornjih 5 %) je 570 g/rastlino.

Selekcijski diferencial S=570-450 = 120 g
Selekcijska intenzivnost, i, pri 5 % je 2,06
$h^2 = 0,60$

$\Delta G = 2,06 \times 58 \times 0,60 = 71,69$

Pričakovan pridelek potomstva populacije 5 % najboljših rastlin je 450 + 71,69 = 521,69 g

25

Molekularna osnova kvantitativne raznolikosti

QTL – Quantitative trait loci – lokusi kvantitativnih lastnosti

Različice na nivoju posameznega nukleotida – QTNs – quantitative trait nucleotides

Selekcija več lastnosti

Npr.
- Selekcija z indeksom (index selection) – tehtana žlahtniteljska vrednost (upoštevajoč ekonomsko vrednost lastnosti in korelacijo med lastnostmi)

26

Sistemska genetika (systems genetics, tudi genetical genomics)

- Sodi v tretjo generacijo kvantitativne genetike (po klasični genetiki in molekularni kvantitativni genetiki)

- Obrazložitev fenotipske variabilnosti z genetsko raznolikostjo

Napovedovanje žlahtniteljske vrednosti (breeding value)

- Metoda BLUP - BLUP je kratica za statistični pojem, ki se v angleščini glasi Best Linear Unbiased Predictor oziroma ga v slovenščini imenujemo najboljša linearna nepristranska napoved. To pomeni, da ima napoved žlahtniteljske vrednosti z metodo mešanih modelov najmanjšo napako (je najboljša) izmed vseh nepristranskih napovedi in je izpeljana s preprostimi funkcijmi (linearna funkcija) iz podatkov.
(https://agri.bf.uni-lj.si/Enota/html/revija/sppI/revijaI_1.pdf)

Genomic selection (genome-wide selection)
– v primerjavi z MAS temelji na molekulskih markerjih preko celotnega genoma
- Genetska vrednost se oceni na osnovi vseh razpoložljivih visoko-gostotnih podatkih o markerji
- **edX tečaj na temo žlahtnjenja in uporabe alphaSimR R knjižnice -** https://www.edx.org/course/breeding-programme-modelling-with-alphasimr

27