

ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΗ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ



Εισηγητής
Αναπλ. Καθ. Πουλακάκης Νίκος
roulakakis@nhmc.uoc.gr

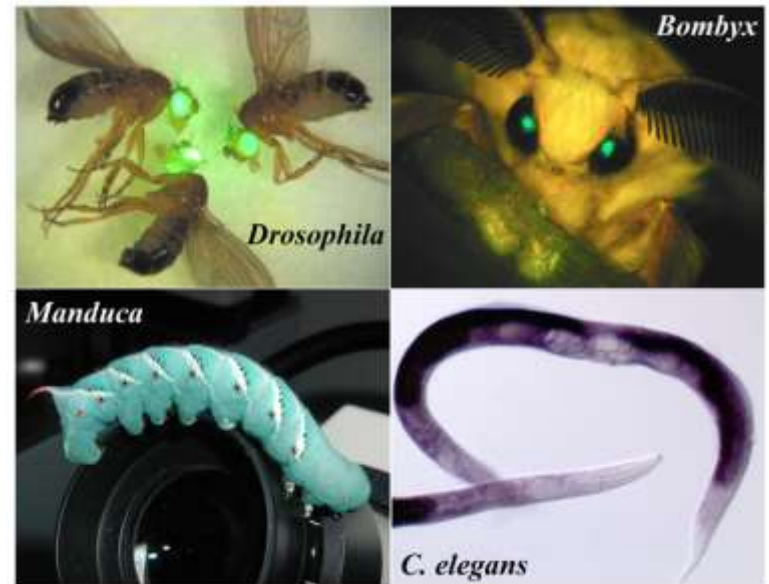
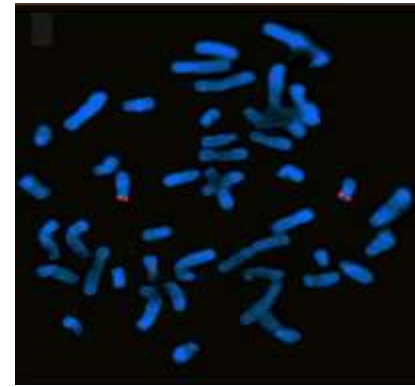
A. Περιγραφή μαθήματος

Το μάθημα αποτελεί μία εισαγωγή σε αυτό που σήμερα ονομάζουμε Μοριακή Οικολογία (Molecular Ecology), ένας σχετικά νέος τομέας που σε γενικές γραμμές μπορεί να οριστεί ως η εφαρμογή γενετικών δεικτών (molecular genetic markers) σε προβλήματα που σχετίζονται με την Οικολογία και την Εξέλιξη, περιλαμβάνοντας μελέτες των γενετικών σχέσεων μεταξύ ατόμων, πληθυσμών και ειδών.

Ως πεδίο έρευνας έχει την προέλευσή του στη Σχολή της Γενετικής Οικολογίας (School of Ecological Genetics, 1950-1970) με πρωτοπόρο τον E. B. Ford, ο οποίος παρουσίασε την πρώτη κοινά αποδεκτή προσπάθεια να ερμηνεύσει την ποικιλία της αρμοστικότητας διαφόρων σημαντικών οικολογικών γνωρισμάτων μέσα σε ένα εξελικτικό πλαίσιο.

Ορόσημο... Η ηλεκτροφόρηση αλλοενζύμων στα μέσα της δεκαετίας του 60' αποτέλεσε τον καταλύτη για την επέκταση της άμεσης γενετικής ανάλυσης των άγριων πληθυσμών όλων των ειδών, επιτρέποντας την ταυτόχρονη παραγωγή συγκριτικών συνόλων δεδομένων πρωτεϊνών για τη διαλεύκανση ουσιαστικών ερωτημάτων της μοριακής και προσαρμοστικής εξέλιξης.

Για τους περισσότερους ανθρώπους (βιολόγους και μη), η λέξη **γενετική** οδηγεί σε εικόνες χρωμοσωμάτων, σε συζητήσεις σχετικά με τη λειτουργία τους, με τη μεταγραφή και τη μετάφραση του DNA, στα πρότυπα της κληρονομής χαρακτήρων σε διάφορα πειράματα αναπαραγωγής π.χ. μυγών κ.α.

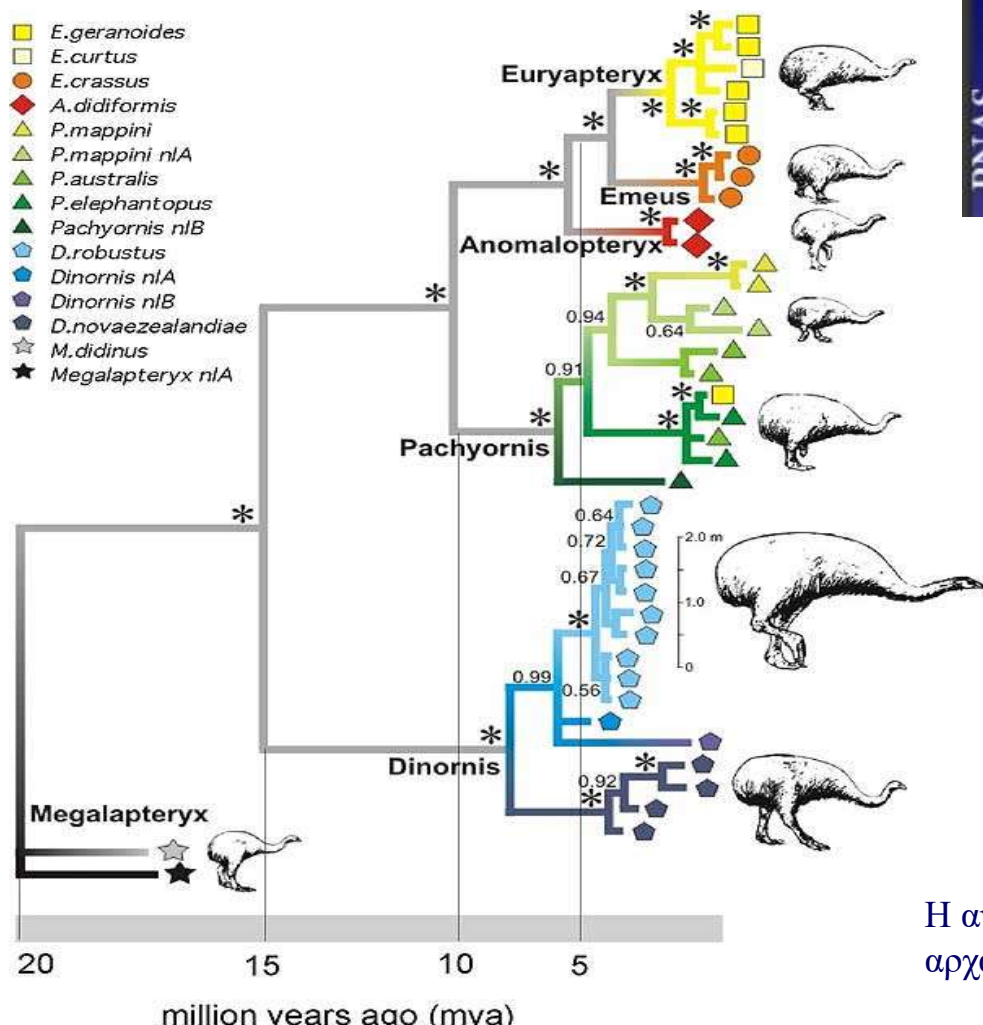


Αυτού του είδους η γενετική εστιάζεται κυρίως στους μηχανισμούς του λειτουργικού DNA (functional DNA).



Όμως, γενετική δεν είναι μόνο η μείωση και η μίτωση.

Υπάρχει ο κλάδος της γενετικής που μελετά τις γενετικές αλλαγές (γενετική ποικιλότητα) που έχουν μικρή ή καθόλου λειτουργική επίδραση (επίδραση στη ομαλή λειτουργία ενός οργανισμού) .



Reconstructing the tempo and mode of evolution in an extinct clade of birds with ancient DNA: The giant moas of New Zealand

Allen J. Baker^{1,2*}, Leon J. Huxley³, Oliver Heddith^{4*}, Craig D. Miller⁵, and David M. Lambert⁶

¹Department of Natural History, Royal Ontario Museum, 121 Queen's Park, Toronto, ON, Canada M5S 2C6; ²Department of Zoology, University of Toronto, Toronto, ON, Canada M5S 1A5; ³Max Planck Centre for Molecular Ecology and Evolution, Institute of Molecular Evolution, Max Planck University, Private Bag 4800, Auckland, New Zealand; ⁴and ⁵Max Planck Centre for Molecular Ecology and Evolution, School of Biological Sciences, University of Auckland, Private Bag 92019, Auckland, New Zealand

Edited by Svante Pääbo, Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology, Leipzig, Germany, and approved April 4, 2005 (received for review February 11, 2005)

The tempo and mode of evolution of the extinct giant moas of New Zealand remain obscure because the number of lineages and their divergence times cannot be estimated reliably by using fossil bone characters only. We therefore extracted ancient DNA from 125 specimens and genetically typed them for a 658-bp mtDNA control region sequence. The sequences detected 14 monophyletic lineages, 9 of which correspond to currently recognized species. One of the newly detected lineages was a genetically divergent form of *Megalapteryx* originally described as a separate species, two more were lineages of *Pachyornis* in southern and northeastern New Zealand, and two were basal lineages of South Island *Dinornis*. When results from genetic typing and previous molecular sexing were combined, at least 33.6% of the specimens were incorrectly classified. We used longer sequences of the control region and nine other mtDNA genes totaling 2,814 base pairs to derive a strongly supported phylogeny of the 14 moa lineages. Molecular dating estimated the most recent common ancestor of moas existed after the Oligocene drowning of New Zealand. However, a cycle of lineage-splitting occurred ~4–10 million years ago, when the landmass was fragmented by tectonic and mountain-building events and general cooling of the climate. These events resulted in the geographic isolation of lineages and ecological specialization. The spectacular radiation of moa lineages involved significant changes in body size, shape, and mass and provides another example of the general influence of large-scale paleoenvironmental changes on vertebrate evolutionary history.

Η ανακάλυψη νέων ειδών μοα με τη χρήση αρχαίου DNA

Ο Γατόπαρδος (*Acinonyx jubatus*) είναι σαρκοφάγο θηλαστικό της υποοικογενείας των αιλουριδών και αποτελεί μία χαρισματική (μεγάλη) γάτα. Ο γατόπαρδος είναι διάσημος λόγω της εκπληκτικής ταχύτητας την οποία μπορεί να αναπτύξει κατά την καταδίωξη της λείας του και θεωρείται το ταχύτερο χερσαίο ζώο.

Δυστυχώς οι πληθυσμοί και το εύρος κατανομής τους (όπως συμβαίνει και σε πολλά άλλα μεγάλα θηλαστικά) έχουν μειωθεί δραματικά!!!



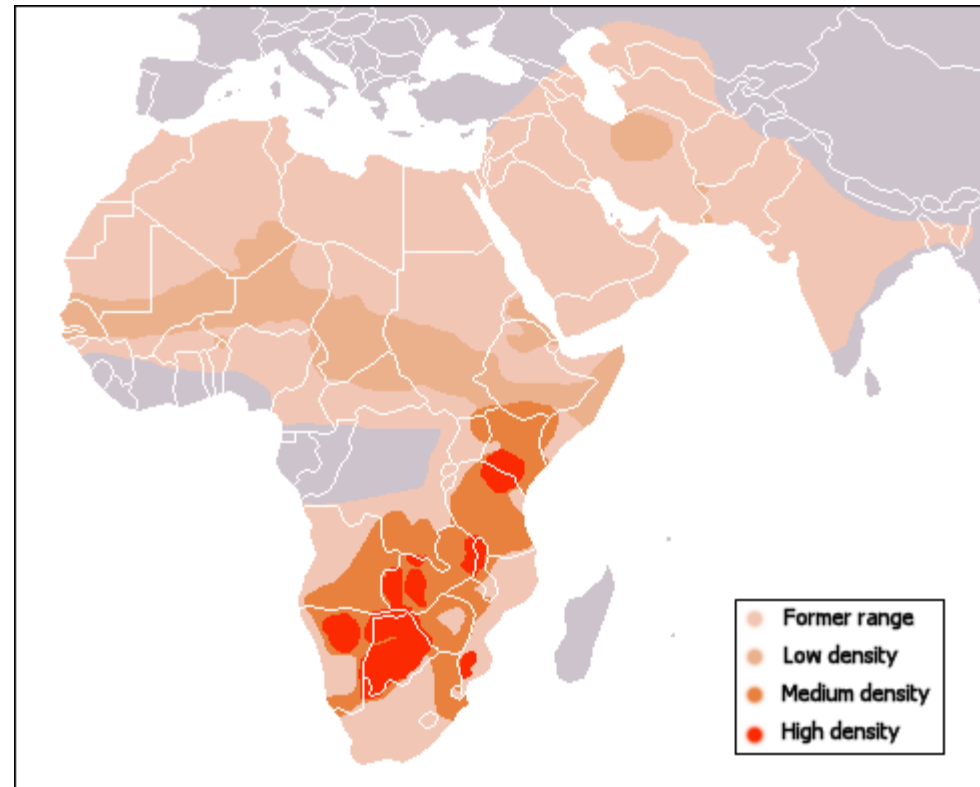
Κύριες αιτίες θεωρήθηκαν το κυνήγι και η καταστροφή των οικοτόπων του. Όμως μια πρόσφατη εφαρμογή Μοριακής Οικολογίας έδειξε ότι οι γατόπαρδοι αντιμετωπίζουν μια ακόμα δυσκολία!!! (*Menotti-Raymont & O'Brein, 1993 – PNAS, 90, 3172-3176*)

Οι Γατόπαρδοι της Νότιας Αφρικής εμφανίζουν σχεδόν μηδενική γενετική ποικιλότητα!!! Αυτό συνοδεύεται από πολύ χαμηλό αριθμό σπερματοζωαρίων, μειωμένη κινητικότητα και παραμορφωμένα μαστίγια στα σπερματοζωάρια.

Ενδεικτικό αυτής είναι το γεγονός ότι μοσχεύματα δέρματος μεταξύ μη συγγενικών γατόπαρδων γίνονται αποδεκτά, γεγονός που αποτελεί ισχυρή ένδειξη για το πόσο όμοια (γενετικά) είναι.

Η θνησιμότητα των γατόπαρδων οφείλεται κατά πολύ στη θήρευση από λιοντάρια και ύαινες.

Όμως σε αιχμαλωσία, οι γατόπαρδοι εμφανίζουν μειωμένη γονιμότητα και υψηλή ευαισθησία σε ασθένειες σε σχέση με άλλες μεγάλες γάτες.



Η Μοριακή Οικολογία αποκάλυψε ένα σημαντικό πρόβλημα για τους γατόπαρδους που μπορεί να γίνει εξαιρετικά σοβαρό στους άγριους πληθυσμούς, ειδικά εάν το περιβάλλον συνεχίζει να αλλάζει!!!

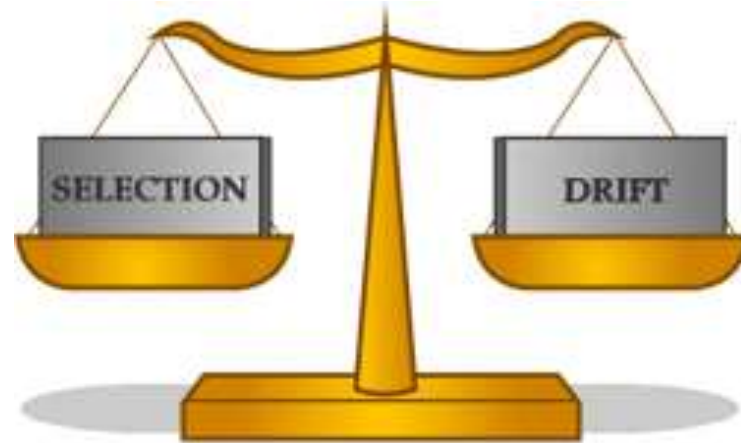
Οι αναλύσεις έδωσαν μάλιστα και σημαντικές ενδείξεις για το λόγο που μπορεί να συμβαίνει αυτό, το γιατί δηλαδή οι γατόπαρδοι είναι τόσο γενετικά υποβαθμισμένοι!

Βάσει των γενετικών δεδομένων διαπιστώθηκε ότι έχουν περάσει 2 σημαντικούς στενωπούς (bottlenecks: πληθυσμιακές συμπτώξεις)

1. πριν από 10 χιλ. χρ. - στο τέλος της τελευταίας παγετώδους περιόδου
2. τα τελευταία 100 χρόνια

Η γενετική υποβάθμιση και η εκτιμώμενη πληθυσμιακή του ιστορία θα παρέμεναν άγνωστα αν δεν είχαν εφαρμοστεί μοριακές οικολογικές προσεγγίσεις.

Ένα μέρος του DNA κάθε οργανισμού, και είναι αυτό στο οποίο όσες αλλαγές και αν συμβούν δεν θα επηρεάσουν τη βιωσιμότητα του ατόμου, είναι σχετικά «ελεύθερο» να αλλάζει μεταξύ των ατόμων ενός πληθυσμού, αφού οι συνέπειες των αλλαγών δεν είναι επιζήμιες.



Επομένως, οι αλλαγές (variants) σε αυτές τις περιοχές του γενετικού υλικού τείνουν να κληρονομούνται με ένα αμερόληπτο τρόπο και για καλή μας τύχη, μπορεί να μεταφέρουν πληροφορία σχετικά με την ιστορία των ατόμων που τα φέρουν.

Η μοίρα κάθε γενετικής παραλλαγής (variant) στο χώρο και στο χρόνο καθορίζεται από τη βιολογία των ατόμων (οργανισμών) και από τα φαινόμενα μέσα από τα οποία διέρχονται αυτά τα άτομα, συμπεριλαμβανομένων:

- της μετανάστευσης
- το πληθυσμιακό μέγεθος
- τυχαίων (ιστορικών) γεγονότων και φυσικά
- της φυσικής επιλογής



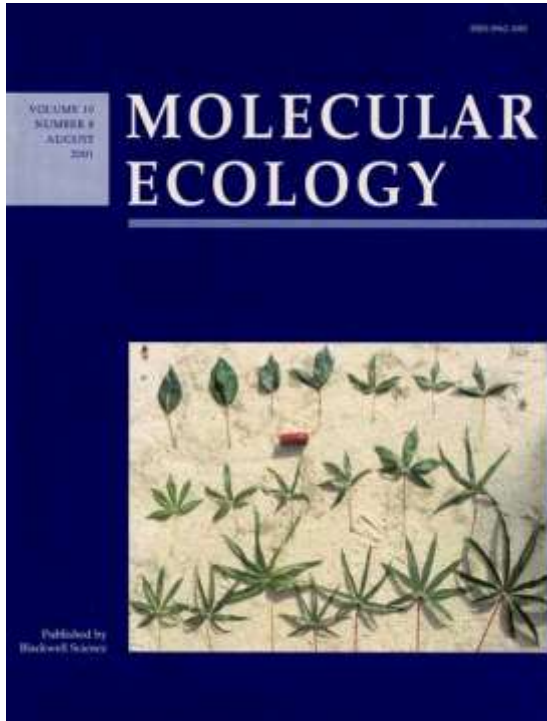
Natural selection does not grant organisms what they "need".

Μετρώντας τη **γενετική ποικιλότητα** των οργανισμών και εφαρμόζοντας διάφορα μοντέλα (μαθηματικά), μπορούμε να βγάλουμε συμπεράσματα σχετικά με τη **βιολογία** των οργανισμών.

Οι διεργασίες που επηρεάζουν τα άτομα, τελικά, επηρεάζουν τους πληθυσμούς και αυτοί με τη σειρά τους τα είδη (ειδογένεση) και ούτω καθεξής στην ταξινομική ιεραρχία.

Έτσι, εξετάζοντας γενετικούς δείκτες με το κατάλληλο σήμα (**πληροφορία**) και τους απαραίτητους ρυθμούς αλλαγών μπορούμε να συγκεντρώσουμε πληροφορίες σχεδόν για κάθε πληθυσμό και για κάθε εξελικτική διεργασία σε όλη την ιεραρχία της ζωής.

Εισαγωγή στην



Τι είναι η Μοριακή Οικολογία (ΜΟ);

Σε γενικές γραμμές, η ΜΟ αφορά τη χρήση γενετικών δεικτών στην απάντηση οικολογικών προβλημάτων, συμβάλλοντας ουσιαστικά σε άλλες παραδοσιακές περιοχές της Βιολογίας, όπως η Οικολογία, η Συστηματική, η Ηθολογία, η Παλαιοντολογία.

Ο όρος άρχισε να χρησιμοποιείται ευρύτατα από την πρώτη δημοσίευση του επιστημονικού περιοδικού *Molecular Ecology* (1992).

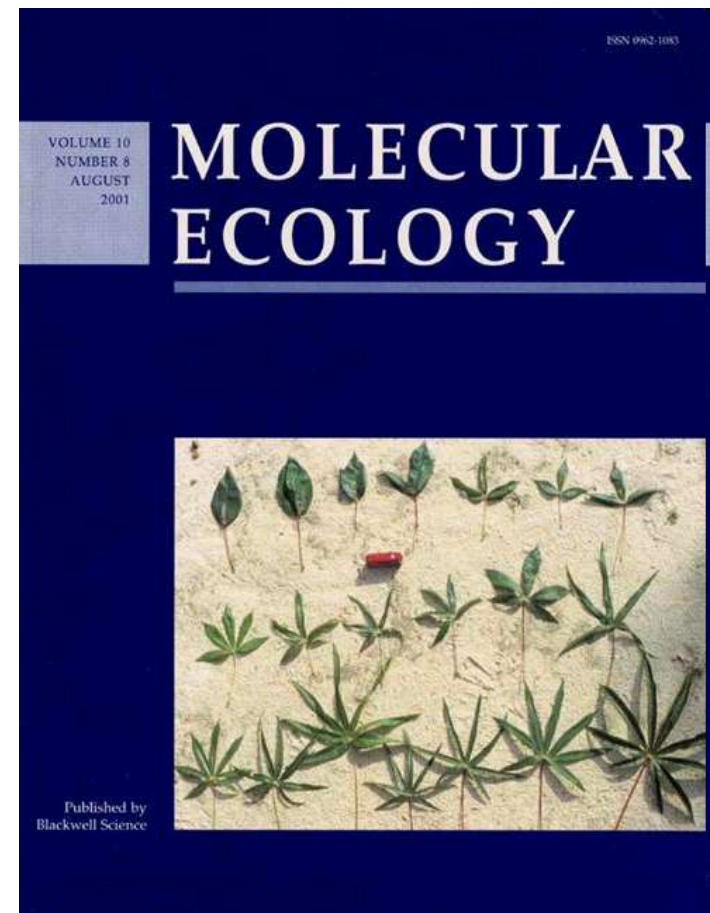
Molecular Ecology publishes papers that utilize molecular genetic techniques to address consequential questions in ecology, evolution, behaviour and conservation. Studies may employ neutral markers for inference about ecological and evolutionary processes ή examine ecologically important genes and their products directly.

Research areas of interest to *Molecular Ecology* include:

- population structure and phylogeography
- reproductive strategies
- relatedness and kin selection
- sex allocation
- population genetic theory
- analytical methods development
- conservation genetics
- speciation genetics
- microbial biodiversity
- evolutionary dynamics of QTLs
- ecological interactions
- molecular adaptation and environmental genomics
- impact of genetically modified organisms

Αντιγραφή από το website του *Molecular Ecology*

(<http://www3.interscience.wiley.com/journal/117989598/home>)



Μια εξελικτική προοπτική για την ΜΟ

Η ανάπτυξη της ΜΟ σχετίζεται και βασίζεται στην ανάπτυξη της εξελικτικής σκέψης.

Η Οικολογία είναι άμεσα συνδεδεμένη (ριζωμένη) (α) με τη Συστηματική, τη προσπάθεια να διακρίνουμε και να κατηγοριοποιήσουμε την ποικιλία της ζωής στο πλανήτη μας και (β) με τις εξελικτικές διαδικασίες που καθορίζουν την ποικιλότητα.

Μια εξελικτική προοπτική για την ΜΟ

- ✓ Θυμηθείτε ότι η συστηματική έχει τις ρίζες της στο Αριστοτέλη και τον Πλίνιο τον Πρεσβύτερο περίπου πριν από 2500 χρόνια.
- ✓ Κάρολος Λινναίος (1758, *Systema Naturae*)
- ✓ Κάρολος Δαρβίνος (1859, *The Origin of Species*)

Όλες οι μέχρι τότε προσπάθειες στηρίζονταν σε μορφολογικά δεδομένα.

Πότε χρησιμοποιήθηκαν πρώτη φορά «μόρια» στην αναγνώριση ειδών;

Μια εξελικτική προοπτική για την ΜΟ

Το 1867!!!!

Ο Church (1870) απομόνωσε τη χρωστική που είναι γνωστή ως turacin και η οποία περιέχει χαλκό (~6%) από τα κόκκινα φτερά των αφρικανικών turacos (Musophagidae). Ο Church βρήκε ότι η turacin υπάρχει μόνο στα Musophagidae.



Πολλά άλλα μόρια έχουν βρεθεί σε είδη και η παρουσία τους υποδηλώνει κοινή εξελικτική ιστορία για τα είδη που τα μοιράζονται.

Ωστόσο πολύ λίγα μόρια έχουν αποδειχθεί χρήσιμα στη ταξινόμηση των ζώων (χημικά μόρια που βρίσκουμε σε ζώα έχουν προέλθει από φυτά μέσω της τροφής, παραπλανώντας της προσπάθεια ταξινόμησης)!!

Μια εξελικτική προοπτική για την ΜΟ

Η πρόοδος της τεχνολογίας στην ανάλυση πρωτεϊνών και DNA άνοιξε το δρόμο για τη μοριακή φυλογένεση και τον καθορισμό των σχέσεων των ειδών.

Ο βαθμός της διαφοροποίησής τους θα αντανάκλα το χρόνο απόκλισης των ειδών από τον κοινό τους πρόγονο!

Η Έννοια του Είδους

Παρά την εννοιολογική του σημασία, είναι εκπληκτικό ότι μετά από τόσες δεκαετίες αντιπαραθέσεων δεν υπάρχει ένα καθολικά αποδεκτό ορισμός για το είδος.



Η Έννοια του Είδους

One should never quarrel about words, and never get involved in questions of terminology. One should always keep away from discussing concepts.

—Karl Popper,

Objective Knowledge: An Evolutionary Approach

Υπάρχουν περισσότεροι από 24 ορισμοί
για το είδος – species concept

(Mayden 1997, de Queiroz 2007)

Η Έννοια του Είδους

1. Agamospecies Concept;
2. Biological Species Concept
3. Cladistic Species Concept
4. Cohesion Species Concept
5. Composite Species Concept
6. Ecological Species Concept
7. Evolutionary Significant Unit
8. Evolutionary Species Concept
9. Genealogical Concordance Concept
10. Genetic Species Concept
11. Genotypic Cluster Concept
12. Hennigian Species Concept
13. Internodal Species Concept
14. Morphological Species Concept
15. Non-dimensional Species Concept
16. Phenetic Species Concept
17. Phylogenetic Species Concept
(Diagnosable version)
18. Phylogenetic species concept
(Monophyly version)
19. Phylogenetic Species Concept
(Diagnosable and monophyly version)
20. Polythetic Species Concept
21. Recognition Species Concept
22. Reproductive Competition Concept
23. Successional Species Concept
24. Taxonomic Species Concept

Η Έννοια του Είδους

One should never quarrel about words, and never get involved in questions of terminology. One should always keep away from discussing concepts.

—Karl Popper,

Objective Knowledge: An Evolutionary Approach

“No one definition [of species] has as yet satisfied all naturalists; yet every naturalist knows vaguely what he means when he speaks of a species.”

Darwin 1859

Η Έννοια του Είδους

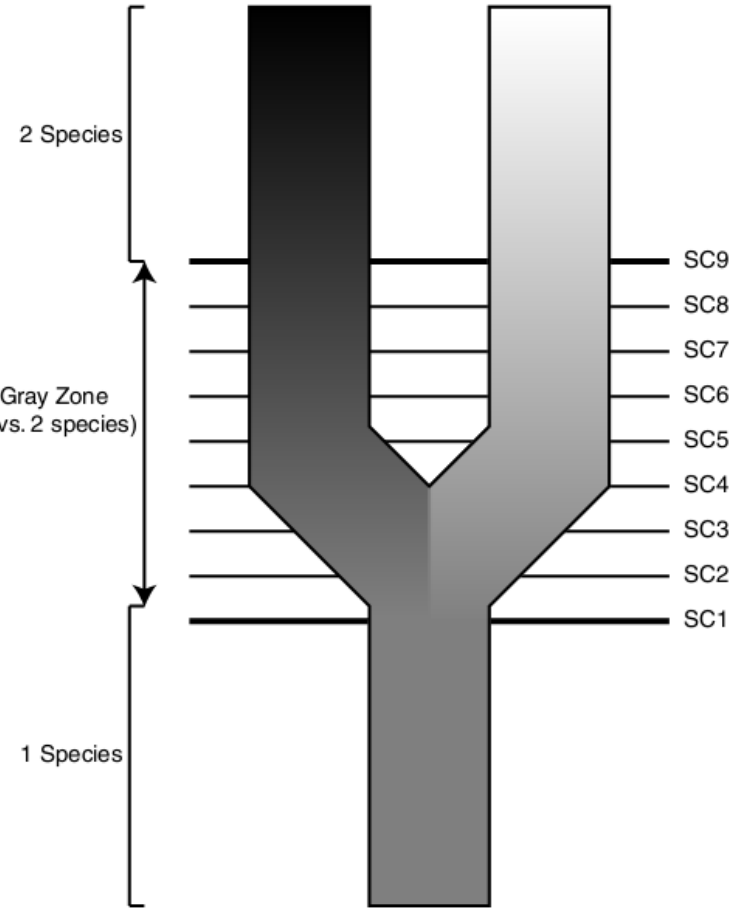
Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί περίπου 2 εκ. είδη, ενώ υπολογίζεται ότι υπάρχουν από 10 έως 100 εκ. είδη οργανισμών!!!

Η πλειονότητα των ειδών έχει βασιστεί σε μορφολογικές ή ανατομικές διαφορές

Η Έννοια του Είδους

Ενωτική θεώρηση «Ανεξάρτητα
Εξελισσόμενη Γενεαλογία
Μεταπληθυσμών» [De Queiroz, 2007 (02)]

Η διαβάθμιση του γκρι αντιπροσωπεύει τις απογονικές γενεαλογίες που αποκλίνει μέσα στο χρόνο. Οι οριζόντιες γραμμές (SC, species criterion) 1 έως 9 αντιπροσωπεύουν τις στιγμές που οι γενεαλογίες αποκτούν διαφορετικές ιδιότητες (π.χ. όταν γίνονται φαινοτυπικά διακριτές ή αμοιβαία μονοφυλετικές ή αναπαραγωγικά απομονωμένες ή οικολογικά διακριτές).



Η Γενετική στην Οικολογία

Τι είναι η Οικολογία;

Η Οικολογία είναι η μελέτη των αλληλεπιδράσεων των οργανισμών και του περιβάλλοντος

Στο παρελθόν...

μέσω παρατηρήσεων και πειραμάτων πεδίου



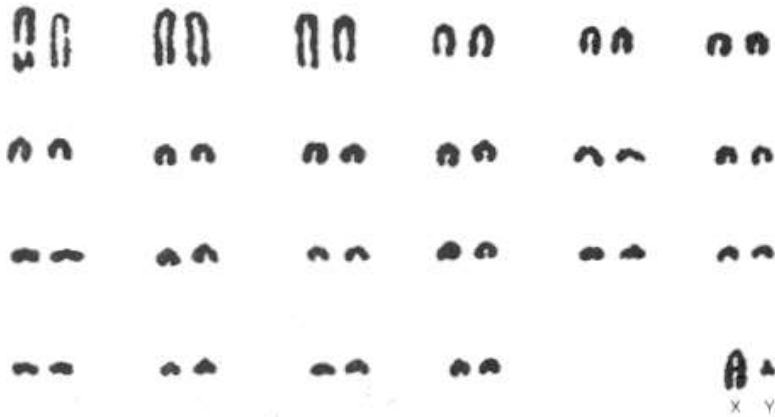
για συλλογή φαινοτυπικών δεδομένων (μορφολογία, φυσιολογία, βιοχημεία και ηθολογία).



Η Γενετική στην Οικολογία

Αν και ευρύς κλάδος, οι περισσότεροι οικολόγοι δεν έχουν άμεση σχέση με τη γενετική (παρά την εξαιρετική σημασία της στην κατανόηση της πληθυσμιακής βιολογίας).

Από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα ήταν γνωστό για παράδειγμα ότι ο αριθμός, το σχήμα και το μέγεθος των χρωμοσωμάτων μπορεί να διαφέρει ανάμεσα στα είδη.



Muntiacus reevesi (2n=46)



Muntiacus muntjak (2n=6)

Η Γενετική στην Οικολογία

Η περίπτωση της *Cerpea nemoralis*: τα χρωματικά πρότυπα και οι ζώνες στο κέλυφος διαφέρουν από πληθυσμό σε πληθυσμό. Η φαινοτυπική ομοιότητα σχετίζεται με τη φύση του ενδιαιτήματος που ζει το σαλιγκάρι και όχι με τη συγγένεια των πληθυσμών. Η διατήρηση αυτής της ποικιλομορφίας είναι θέμα επιλογής που σχετίζεται με την κρυπτικότητα έναντι των θηρευτών στα διαφορετικά ενδιαιτήματα.



Χωρίς ζώνες,
κίτρινο κέλυφος



Με πολλές ζώνες,
κίτρινο κέλυφος



Χωρίς ζώνες,
κοκκινωπό
κέλυφος



Με μία ζώνη,
κίτρινο κέλυφος

Η Γενετική στην Οικολογία

Δυστυχώς υπάρχουν σημαντικοί περιορισμοί στη μελέτη των μορφολογικών χαρακτήρων.

- Πολλοί χαρακτήρες εμφανίζουν κλινές (διαβαθμισμένη ποικιλομορφία χωρίς διακριτές καταστάσεις) κατά μήκος μεγάλων γεωγραφικών εκτάσεων
- Άλλοι είναι κάτω από πολυγονιδιακό έλεγχο

Έτσι είναι πολύ δύσκολο να διακρίνουμε ανάμεσα σε φυσική επιλογή και σε τυχαία γενετική παρέκκλιση!

Η Γενετική στην Οικολογία

Το 1909 ο Wilhelm Joahannsen έκανε μια ουσιαστική διάκριση ανάμεσα στο γονότυπο και τον φαινότυπο.

Γονότυπος: είναι το σύνολο των γονιδίων που έχει ένα άτομο

Φαινότυπος: είναι το σύνολο των μορφολογικών, φυσιολογικών, βιοχημικών, ηθολογικών χαρακτηριστικών που έχει ένα άτομο.

Η ποικιλότητα ανάμεσα στα άτομα εμφανίζεται εξαιτίας ενός συνδυασμού των γονοτυπικών διαφορών και του περιβάλλοντος.

Ο Simpson (1944) καθόρισε το ρυθμό εξέλιξης των φαινοτυπικών χαρακτήρων ως τη ποσότητα της γενετικής αλλαγής στη μονάδα του χρόνου, θεωρώντας ότι η φαινοτυπική αλλαγή υποδηλώνει γενετική αλλαγή!!!

Η Γενετική στην Οικολογία

Πόσο αληθινή είναι αυτή η διατύπωση;

Ο Wilson (1977) απέρριψε τη θεώρηση του Simpson!!!

Υπάρχουν αδελφά είδη (μοιράζονται δηλαδή τον πιο πρόσφατο κοινό πρόγονο) όπου ενώ έχουμε γενετική διαφοροποίηση δεν παρατηρείται μορφολογική αλλαγή.

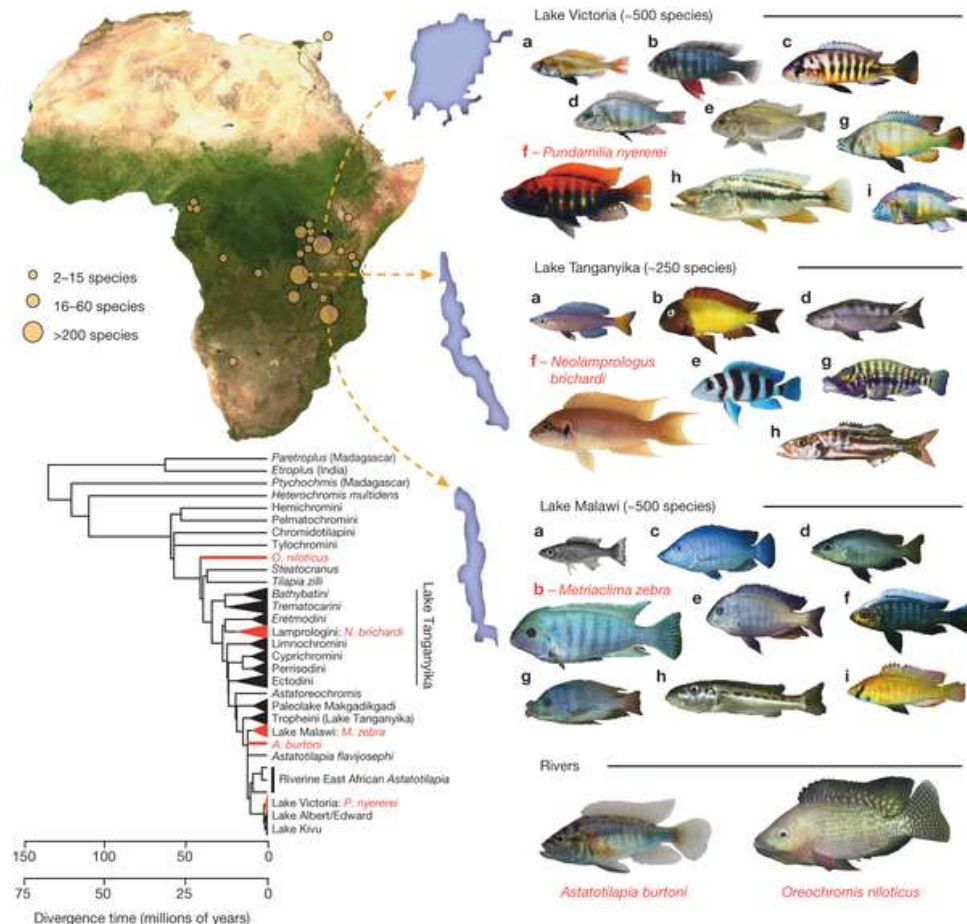
Οι σαύρες του γένους *Emoia* (Scincidae) σε νησιά του Ειρηνικού εμφανίζουν διαφορετικό ρυθμό εξέλιξης σε γενετικό και μορφολογικό επίπεδο

Bruna et al. 1996, Proc. R. Soc. Lond. B 1996 263, 681-688



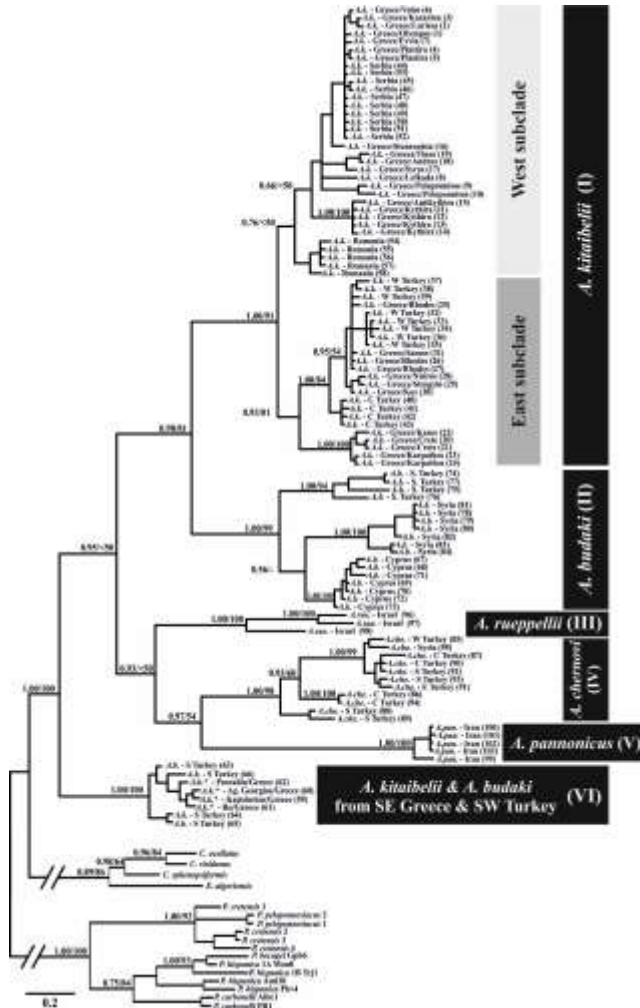
Η Γενετική στην Οικολογία

Από τη μία, ισχυρή κατευθυνόμενη επιλογή μπορεί να οδηγήσει σε εντυπωσιακή μορφολογική διαφοροποίηση όπως έχει συμβεί με τα κηχλίδες της Αφρικής (Kornfield & Smith 2000, *Annual Review of Ecology & Systematics* 31: 163-196).



Η Γενετική στην Οικολογία

Από την άλλη, μπορεί να υπάρχει μεγάλη γενετική διαφοροποίηση χωρίς την αντίστοιχη μορφολογική, δημιουργώντας τα επονομαζόμενα «κρυπτικά» είδη (Poulakakis et al. 2005 MPE, 34(2), 245-256).



Ablepharus kitaibelii



Περιορισμοί... λόγω
φαινοτυπικής πλαστικότητας



υπερεκτίμηση της γενετικής ποικιλότητας

Η ικανότητα του γονοτύπου ενός ατόμου να ανταποκρίνεται σε περιβαλλοντικές επιρροές, παράγοντας διαφορετικούς φαινότυπους ανάλογα με τις τοπικές συνθήκες

Θεωρείται αποτέλεσμα φυσικής επιλογής [West-Eberhard, 1989, *Annual Review of Ecology & Systematics*, 20, 249-278 (03)]. Ξεκάθαρα αυτό θα μπορούσε να είναι ένας σημαντικός μηχανισμός επιβίωσης.

Παράδειγμα: Οι προνύμφες που τρέφονται με σκληρά αγρωστώδη έχουν διπλάσιο σε μέγεθος κεφάλι από ότι όταν τρέφονται με μαλακό σιτάρι. Η μυϊκή προσπάθεια αυξάνει τη μυϊκή ανάπτυξη, η οποία επάγει δραματική αύξηση στο μέγεθος της κεφαλής. (Bernays 1986, *Science*, 231, 495-497)



Χαρακτήρας	Περιβαλλοντική επίδραση	Παράδειγμα
Φύλο	Θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης	Τα αυγά της Αμερικάνικης νεροχελώνας <i>Chelydra serpentina</i> αναπτύσσονται κυρίως σε θηλυκά σε χαμηλές θερμοκρασίες, κυρίως σε αρσενικά σε μεσαίες θερμοκρασίες και αποκλειστικά σε θηλυκά σε υψηλές θερμοκρασίες. (Ewert et al. 2005, <i>J Zoology</i> 265, 81–95)
Χρωματισμός φτερώματος	Δίαιτα με καροτενοειδή	Το φτέρωμα του αρσενικού σπίνου (<i>Carpodacus mexicanus</i>) ποικίλει από κόκκινο έως πορτοκαλί και κίτρινο ανάλογα με τα καροτενοειδή που εμπεριέχονται στη διαίτά του. (Hill et al. 2002, <i>Proc R Soc L</i> 207, 2221–2227)
Τροφο-εξαρτώμενη μορφολογία	Διαθεσιμότητα τροφής	Οι προνύμφες των θαλάσσιων αχινών (<i>Strongylocentrotus purpuratus</i> , <i>S. franciscanus</i>) παράγουν μακρύτερες δαγκάνες και μικρότερα στομάχια όταν η τροφή είναι δυσεύρετη. (Miner 2005 <i>J Exp Marine Biol& Eco</i> , 315, 117-125)
Μέγεθος φύλλων	Ένταση φωτός	Το άγριο ραδίκι (<i>Taraxacum officinale</i>) παράγει μεγαλύτερα φύλλα κάτω από συνθήκες υψηλής έντασης φωτός. (Brock et al. 2005 <i>New Phytologist</i> , 166, 173-183)
Αναπτυξιακά πρότυπα σε φυτά	Συστατικά εδάφους και διαθεσιμότητα νερού	Ένα είδος παραλιακής βιολέτας (<i>Viola septemloba</i>) αποθέτει μεγαλύτερη, αναλογικά, βιομάζα στις ρίζες και στα ριζίδια σε φτωχά περιβάλλοντα. (Moriuchi & Winn 2005 <i>New Phytologist</i> , 166, 149-158)



Δύο ώριμα άτομα σπίνων



Telostylinus angusticollis (ένα είδος μύγας, Δίπτερα): Τα άτομα αυτά είναι πραγματικά αδέρφια και όμως εμφανίζουν σημαντική διαφοροποίηση στο μέγεθος και το σχήμα

	Natural habitat	After cultivation
<i>Potentilla nivea</i>		
<i>Potentilla anthers</i>		
<i>Potentilla hyparctica</i>		

Συνεπώς, οι πολυμορφικοί μορφολογικοί χαρακτήρες δεν είναι ιδεατοί χαρακτήρες για τη διερεύνηση πολλών πληθυσμιακών διεργασιών, καθώς αυτοί μπορεί να επηρεάζονται από τη φυσική επιλογή, το εκάστοτε περιβάλλον ή και από τα δύο.

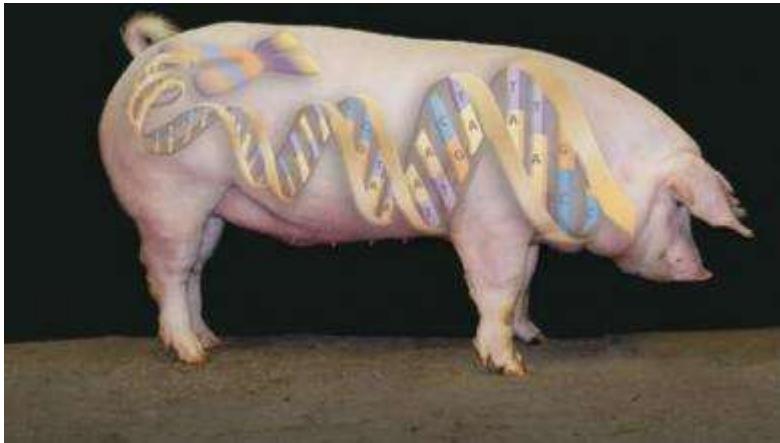
Η πολύπλοκη σχέση γονοτύπου, φαινοτύπου και περιβάλλοντος οδήγησε και οδηγεί στην αναζήτηση πιο αξιόπιστων μεθόδων για τη μελέτη άγριων πληθυσμών.

Η ΜΟ έχει στραφεί και αναζητά ουδέτερους γενετικούς δείκτες, δηλαδή περιοχές του γονιδιώματος που είναι πληροφοριακές σε σχέση με τη δομή και την ιστορία του πληθυσμού με λιγότερη μεροληψία από τις πολύπλοκες επιδράσεις της φυσικής επιλογής και των περιβαλλοντικών παραγόντων.

Οι γενετικοί δείκτες επιτρέπουν, τουλάχιστον, την άμεση ποσοτικοποίηση της γενετικής ποικιλότητας.

Τι είναι ο γενετικός δείκτης (ΓΔ);

Ο μοριακός (γενετικός) δείκτης έχει τη δυναμική να αντιμετωπίσει (απαντήσει) ερωτήματα στην Οικολογία που είναι πολύ δύσκολο να προσεγγιστούν με άλλο τρόπο. Βασικό πλεονέκτημα των ΓΔ είναι ότι η ποικιλότητά τους μπορεί να ποσοτικοποιηθεί με πολύ μεγαλύτερη ακρίβεια σε σχέση με πολλές άλλες οικολογικούς παραμέτρους, παρέχοντας «καλύτερα» δεδομένα για στατιστικές συγκρίσεις.



Οι μοριακοί δείκτες είναι πολυμορφικές πρωτεΐνες ή νουκλεϊκά οξέα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ενδείξεις για τη ποικιλομορφία του γονιδιώματος του οργανισμού.

Τι είναι ο γενετικός δείκτης (ΓΔ);

Οι μοριακοί δείκτες είναι τμήματα του γονιδιώματος ή του πρωτεϊνώματος, συνήθως πολύ μικρά σε σχέση με το συνολικό μέγεθός τους, τα οποία επιλέγονται με την ελπίδα ότι αντιπροσωπεύουν μεγαλύτερο μέρος της ιστορίας του DNA του οργανισμού.

Κάθε τμήμα αντιμετωπίζεται ως ένας απλός τόπος (single locus), που μπορεί να εδράζεται ή όχι σε κάποιο λειτουργικό γονίδιο.

Τι είναι ο γενετικός δείκτης (ΓΔ);

Η λίστα με τους κυριότερους δείκτες στη ΜΟ

	Single locus	Codominant	PCR assay	Overall variability
Mitochondrial and chloroplast DNA				
RFLP	Yes	Haplotypes	Yes	Low/medium
Sequence	Yes	Haplotypes	Yes	Low-high
Nuclear multilocus				
Minisatellite and microsatellite fingerprints	No	No	No	High
RAPD	No	No	Yes	High
AFLP	No	No	Yes	High
Ribosomal DNA*	No	No	Yes	Medium/high
Nuclear single locus				
Allozymes	Yes	Yes	No	Low/medium
Minisatellites	Yes	Yes	Not usual	High
Microsatellites	Yes	Yes	Yes	High
Sequence	Yes	Yes	Yes	Low-high

Notes: Codominant markers are those in which homozygotes and heterozygotes can be distinguished. RFLP, restriction fragment length polymorphism; RAPD, randomly amplified polymorphic DNA; AFLP, amplified fragment length polymorphism.

*Mostly used in microbial molecular ecology.

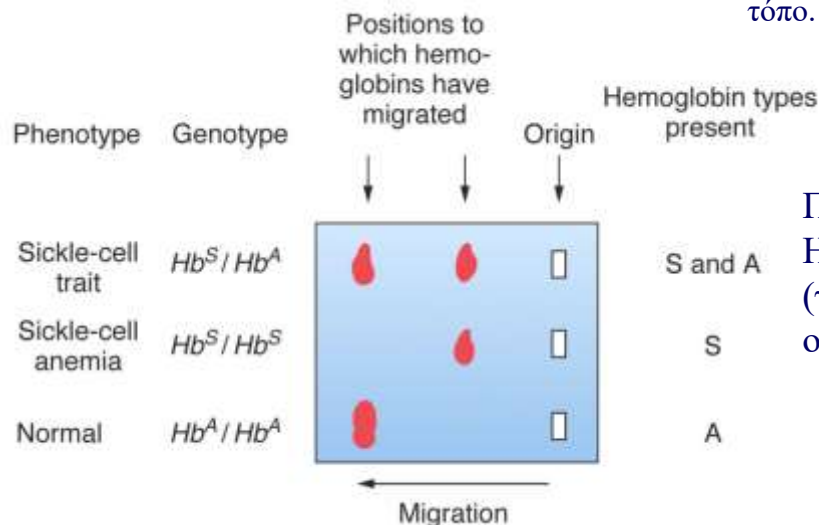
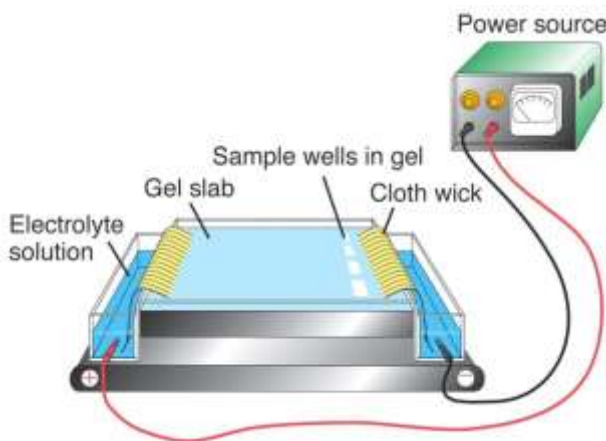
Αν και νέοι δείκτες που ανακαλύπτονται πολλές φορές αντικαθιστούν κάποιους παλιότερους (τα μικρο-δορυφορικά έχουν αντικαταστήσει μίνι-δορυφορικά), είναι σημαντικό να συνειδητοποιήσουμε ότι κανένας ΓΔ δεν είναι κατάλληλος για όλες τις εφαρμογές

Ορόσημο...

η ποσοτικοποίηση της γενετικής ποικιλότητας μέσω της αναγνώρισης δομικών διαφορών στις πρωτεΐνες

Η ηλεκτροφόρηση αλλοενζύμων

Αλλοένζυμο. Μια από τις δύο ή περισσότερες μορφές ενζύμου που κωδικοποιούνται από τον ίδιο τόπο.



Πιο αρνητικά φορτισμένη η HbA σε σχέση με την HbS (γλουταμίνη αντί της ουδέτερης βαλίνης)

Πρωτεϊνική ηλεκτροφόρηση για την εκτίμηση της αλλοενζυμικής ποικιλότητας της αιμοσφαιρίνης.

Ο ρυθμός μετακίνησης μέσα στο πήκτωμα καθορίζεται από το μέγεθος, το σχήμα, και το ηλεκτρικό φορτίο των μορίων δηλαδή από την αμινοξική σύνθεση των αλλοενζύμων.

Μειονεκτήματα αλλοενζύμων

1) Ο εκφυλισμένος γενετικός κώδικας....

η ποικιλότητα σε επίπεδο νουκλεοτιδικών αλληλουχιών δεν αντικατοπτρίζει την ποικιλότητα σε επίπεδο αμινοξικών αλληλουχιών

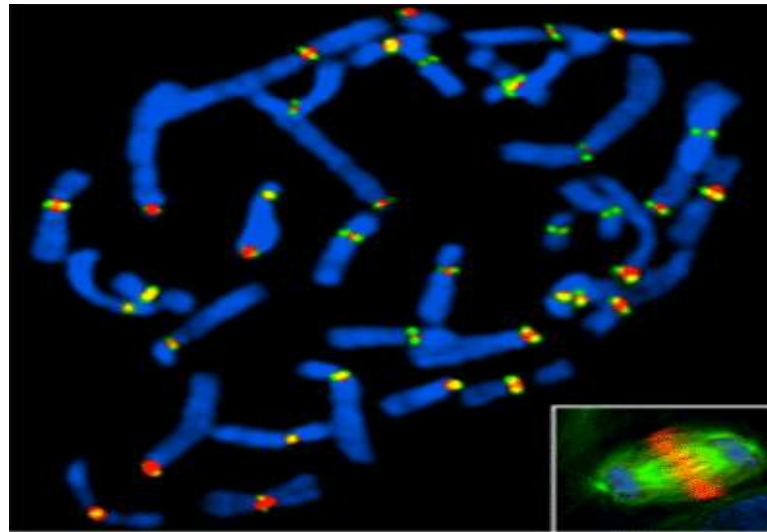
		Second letter				
		U	C	A	G	
U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U C A G	
	UUC } Phe	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys		
	UUA } Leu	UCA } Ser	UAA Stop	UGA Stop		
	UUG } Leu	UCG } Ser	UAG Stop	UGG Trp		
C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U C A G	
	CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg		
	CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Gln	CGA } Arg		
	CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gln	CGG } Arg		
A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U C A G	
	AUC } Ile	ACC } Thr	AAC } Asn	AGC } Ser		
	AUA } Ile	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg		
	AUG Met	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg		
G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U C A G	
	GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp	GGC } Gly		
	GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Glu	GGA } Gly		
	GUG } Val	GCG } Ala	GAG } Glu	GGG } Gly		

2) Τεχνικά δύσκολη διεργασία που απαιτεί

- οι οργανισμοί να σκοτωθούν αμέσως πριν την συλλογή του απαραίτητου ιστού
- να αποθηκευτεί σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες (-70°C)

DNA: μία απεριόριστη πηγή δεδομένων

Ακόμα και οι πολύ μικροί οργανισμοί έχουν εξαιρετικά πολύπλοκα γονιδιώματα. Η μονοκύτταρη ζύμη *Saccharomyces cerevisiae*, παρά το μικρό της μέγεθος (4 δις ζύμες μπορούν να χωρέσουν σε ένα κουταλάκι του τσαγιού), έχει γονιδίωμα που φτάνει τα 12 Mb (12 εκατομμύρια βάσεις).



Το γονιδίωμα αποτελεί την **συνολική ποσότητα DNA** που έχει ένας οργανισμός και σίγουρα **δεν** είναι μόνο γονίδια

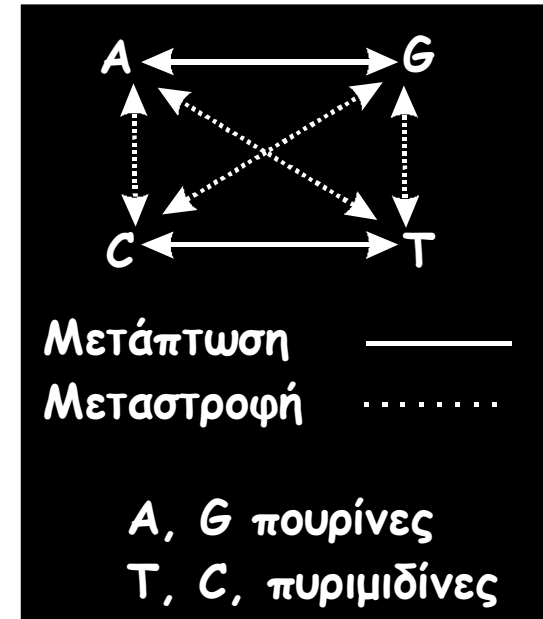
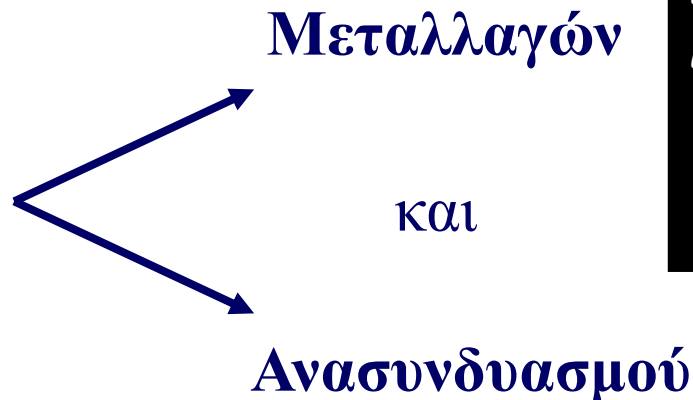
DNA: μία απεριόριστη πηγή δεδομένων

Αν και η δομή και η λειτουργία των γονιδίων διαφέρει μεταξύ των ειδών, είναι σε γενικές γραμμές διατηρημένη μεταξύ των μελών του ίδιου είδους. Αυτό βέβαια δεν σημαίνει ότι όλα τα άτομα ενός είδους είναι γενετικά παρόμοια.

Γιατί;

Επειδή το DNA αλλάζει!

Η γενετική ποικιλότητα δημιουργείται μέσω δύο κυρίως διαδικασιών:



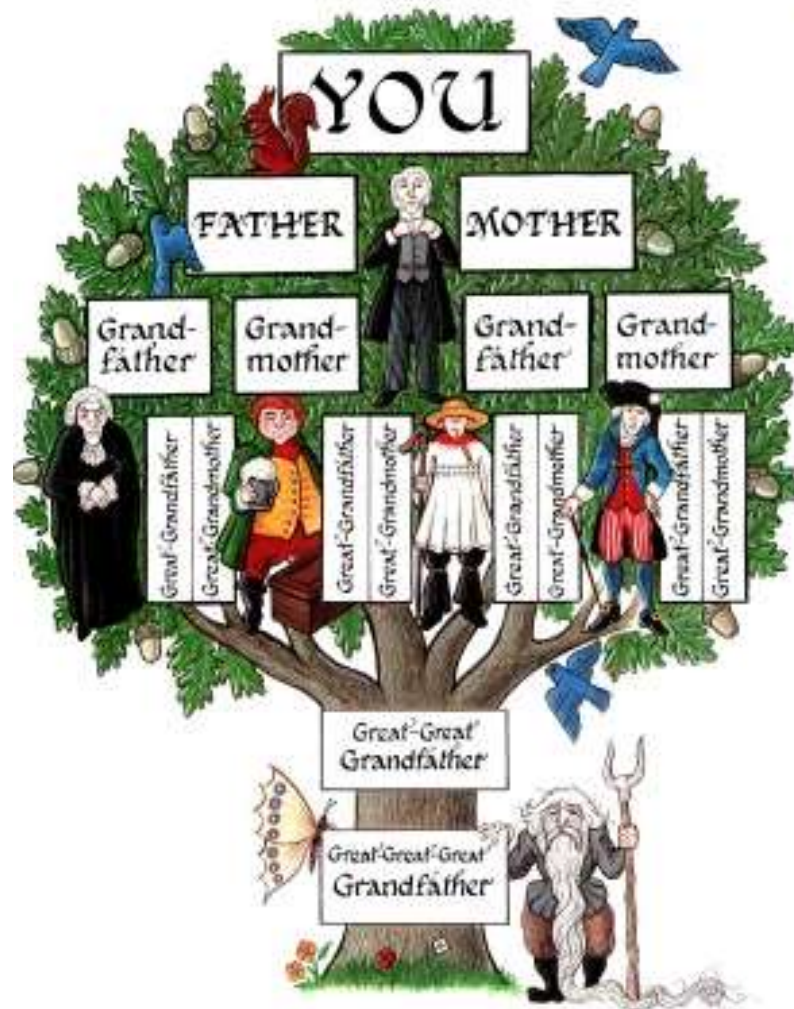
Γιατί χρησιμοποιούμε γενετικούς δείκτες;

Οι γενετικοί δείκτες μας δίνουν την δυνατότητα να δούμε και να μελετήσουμε με διαφορετικό μάτι τη ζωή, επιτρέποντας να έχουμε μεγαλύτερη ακρίβεια και ευκολία.

Οι λόγοι που μας «εξαναγκάζουν» να τους χρησιμοποιήσουμε είναι:

1. Κληρονομησιμότητα

Εξ ορισμού, οι γενετικοί δείκτες είναι γενετικά κληρονομήσιμοι (μόνο οι κληρονομούμενοι χαρακτήρες είναι φυλογενετικά πληροφοριακοί).



2. Όλα τα άτομα όλων των ειδών έχουν γενετικούς δείκτες

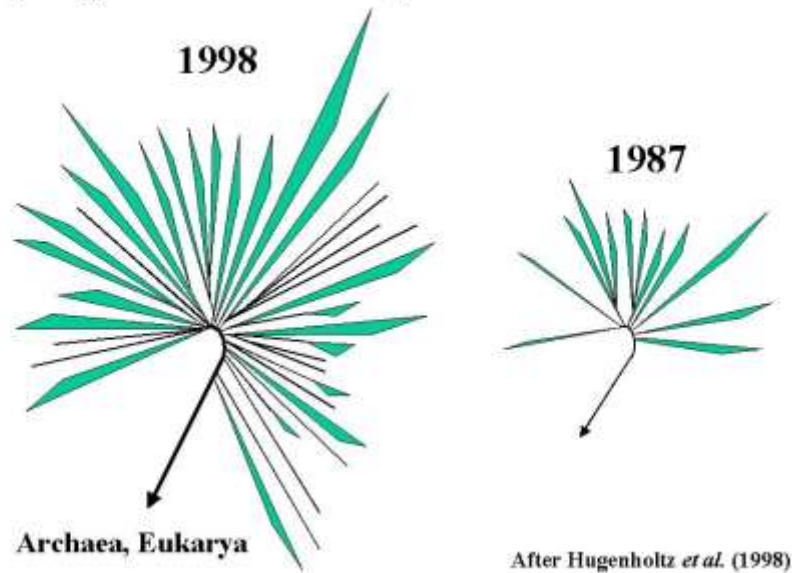
Η χρήση των γενετικών δεικτών απελευθερώνει τους ερευνητές από τον περιορισμό να δουλεύουν μόνο σε είδη που να μπορούν να αναπαραχθούν σε αιχμαλωσία και σε είδη που να διαθέτουν εμφανείς π.χ. μορφολογικούς δείκτες.



Για μελέτες μετανάστευσης πουλιών ισχύει ότι «λίγα πουλιά έχουν δακτυλίδια, όμως όλα έχουν γονότυπους»
[Waser and Strobeck 1998 in *TREE* (04)]

Τα βακτήρια αποτελούν ίσως το πιο τρανταχτό παράδειγμα αυτού του περιορισμού, στα οποία το 99% των ειδών δεν μπορούν να καλλιεργηθούν εργαστηριακά. Ολόκληρα Βασίλεια έχουν ανακαλυφθεί βάσει της αλληλούχισης γονιδίων που είναι κοινά στην πλειονότητα των μορφών ζωής

Phylogenetic diversity in the Bacteria



Η ανάλυση DNA απευθείας από δείγματα που συλλέγονται από το πεδίο (περιβάλλον) έχει ταχύτατα αυξήσει τις γνώσεις στην ποικιλότητα των υψηλών ταξινομικών βαθμίδων.

Το 1987 υπήρχαν **12 Βακτηριακές Υποδιαιρέσεις (Divisions)** (σχεδόν ισοδύναμες με τα Φύλα των Μεταζώων)

Η ανάλυση του 16S rRNA (μικρή ριβοσωμική υπομονάδα βακτηρίων) αύξησε τον αριθμό σε **40** και η αύξηση συνεχίζεται

3. Οι γενετικοί δείκτες αντιπροσωπεύουν μια σχεδόν απεριόριστη πηγή ποικιλομορφίας και συνεπώς πληροφορίας

Υπάρχουν αρκετοί γενετικοί τόποι στα ευκαρυωτικά κύτταρα που ακόμα και τα μέλη του ίδιου γενετικού κλώνου διαφέρουν σε μία ή περισσότερες μεταλλάξεις



Θεωρητικά όλα τα προβλήματα στην πληθυσμιακή και εξελικτική βιολογία μπορούν να προσεγγιστούν μέσω γενετικών δεδομένων

4. Οι γενετικοί δείκτες μπορούν να διακρίνουν εάν οι μορφολογικοί χαρακτήρες είναι όμοιοι εκ καταγωγής (Ομολογία) ή μέσω εξελικτικής σύγκλισης (Αναλογία)

Το επιλεκτικά ουδέτερο DNA είναι:

- λιγότερο πιθανό να εμφανίζει συγκαλυμμένη συγκλίνουσα εξέλιξη συγκρινόμενο με τους μορφολογικούς (φαινοτυπικούς) χαρακτήρες
- σχετικά εύκολο να ελέγξουμε πολλές εκατοντάδες χαρακτήρες (ειδικά για τις νουκλεοτιδικές θέσεις του DNA), οπότε ο θόρυβος της σύγκλισης είναι εύκολο να «μπλοκαριστεί»



Ομολογία

Π.χ. η περίπτωση γυπών του Παλαιού και του Νέου Κόσμου



Οι γύπες του Νέου Κόσμου



τάξη Cathartiformes

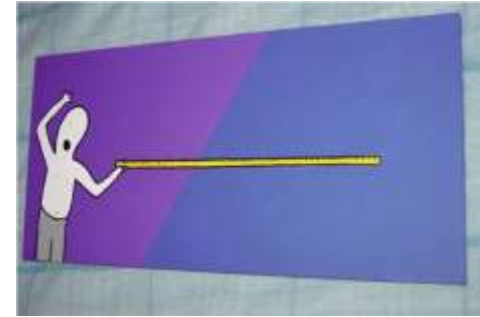
Οι γύπες του Παλαιού Κόσμου



τάξη Accipitriformes

Δεν είναι συγγενικά. Η ομοιότητα τους είναι αποτέλεσμα εξελικτικής σύγκλισης

5. Οι γενετικοί δείκτες αποτελούν μια καθολική «βαθμονομημένη ράβδος» για τη μέτρηση της ποικιλομορφίας σε όλους τους οργανισμούς

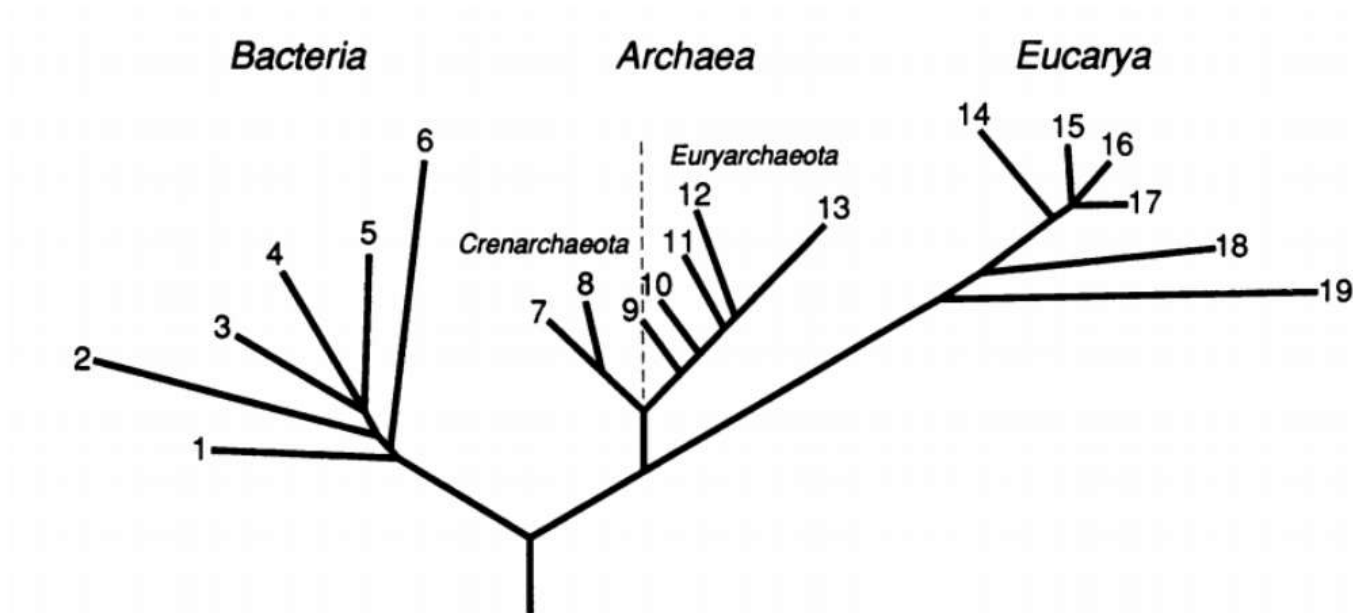


Η άμεση σύγκριση γενετικών δεικτών μεταξύ διαφορετικών οργανισμών παρέχει μια μοναδική πληροφόρηση για τη σχετική διαφορά αυτών των οργανισμών.

π.χ. βάσει μορφολογικών χαρακτήρων δεν είναι εφικτή η ανοικοδόμηση της φυλογένεσης όλων των μορφών ζωής, αφού το σύνολο των μορφών ζωής δεν μοιράζονται κάποιους κοινούς μορφολογικούς χαρακτήρες. Όμως, καθώς ο γενετικός κώδικας είναι καθολικός και πολλά γονίδια εμφανίστηκαν μόνο μία φορά και σήμερα εντοπίζονται σε όλες τις μορφές ζωής, η φυλογένεση της πλειονότητας των μορφών ζωής είναι πιθανή μέσα από τις αλληλουχίες του DNA.

Το δέντρο της ζωής με τις 3 επικράτειες, βασισμένο στην ανάλυση της μικρής υπομονάδας του rRNA (Woese et al. 1990) .

A proposal for three domains of life



Universal phylogenetic tree in rooted form, showing the three domains.

Woese, Kandler and Wheelis 1990 PNAS 87, 4576

The root of the universal tree and the origin of eukaryotes based on elongation factor phylogeny

SANDRA L. BALDAUF*†, JEFFREY D. PALMER‡, AND W. FORD DOOLITTLE*

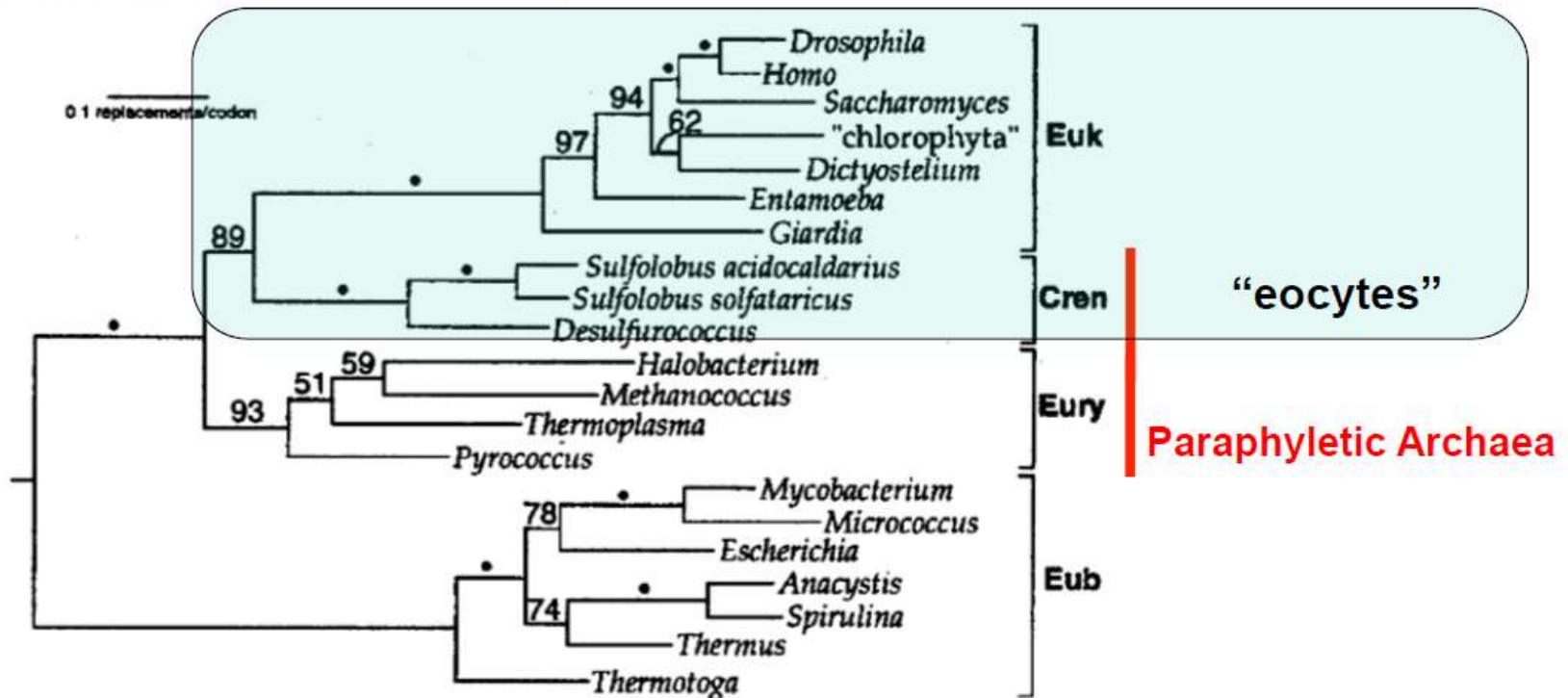
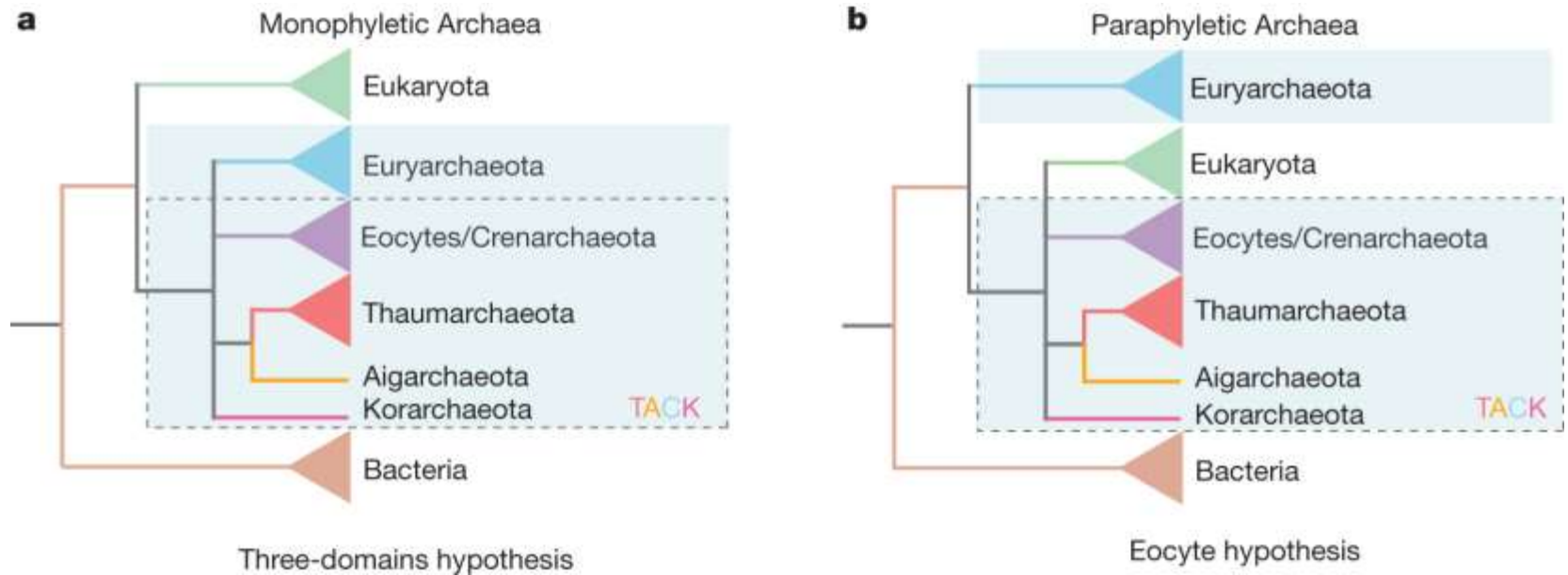


FIG. 3. A Combined EF-Tu/EF-G phylogeny places the origin of eukaryotes within the Archaea. The tree shown is the single best tree derived by maximum likelihood analysis of combined EF-Tu and EF-G

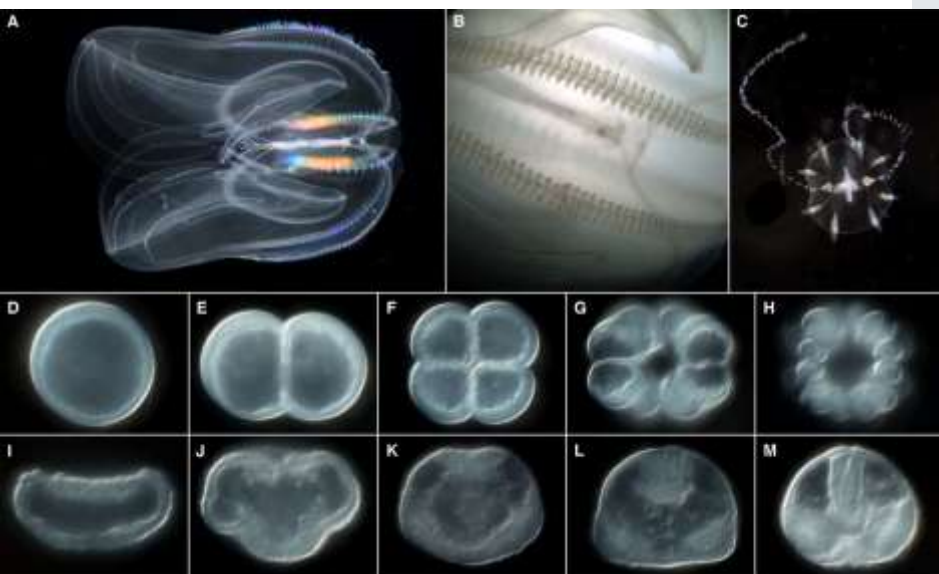
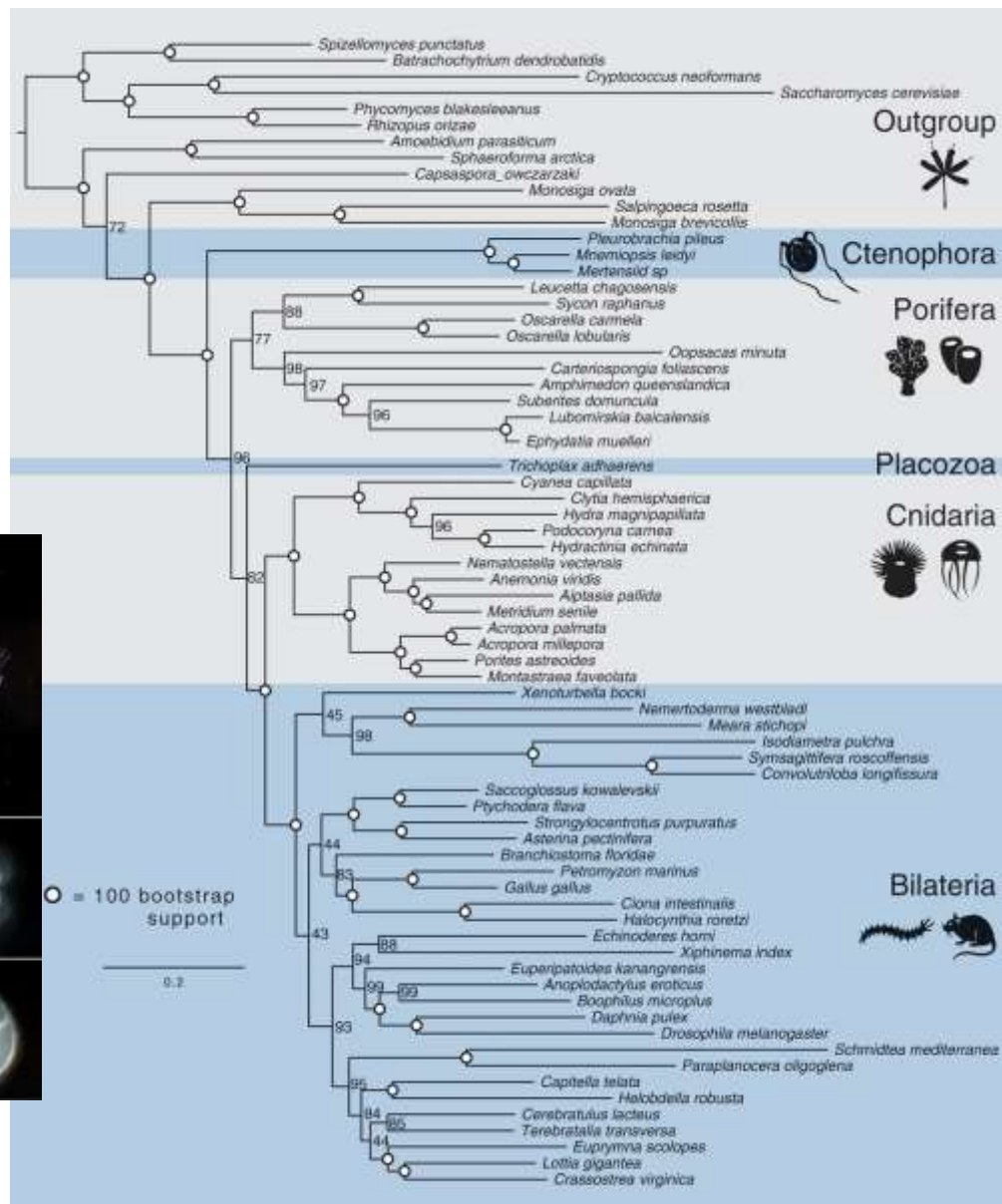
Competing hypotheses for the origin of the eukaryotic host cell.



Williams et al. 2013 Nature 504, 231-236 (05)

Φυλογένεση των Ζώων

Η ανάλυση του γονιδιώματος ενός κτενοφόρου (*Mnemiopsis leidyi*) έδειξε ότι στη βάση των Μεταζώων βρίσκονται όχι οι σπόγγοι αλλά τα Κτενοφόρα!!!!
 [Ryan et al. 2013 Science, 342(6164) (06)]



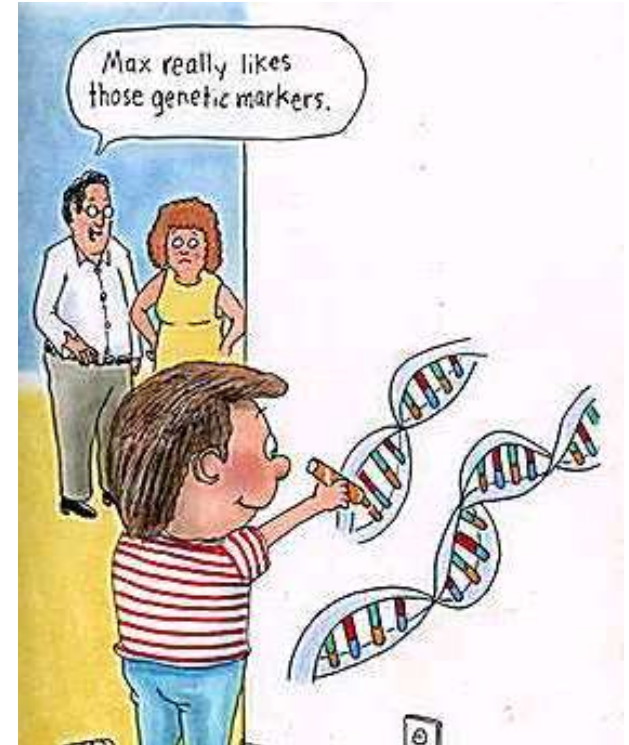
6. Οι γενετικές προσεγγίσεις επιτρέπουν τη μελέτη των μηχανισμών της εξέλιξης.

Αν και οι παραδοσιακές μέθοδοι εκτίμησης του φαινοτύπου είναι απόλυτα κατατοπιστικές στην αναγνώριση «ορατών» στο φαινότυπο μεταλλαγών (νέοι χαρακτήρες) και στην αποσαφήνιση της δράσης των εξελικτικών δυνάμεων (π.χ. της φυσικής επιλογής), οι μοριακοί μηχανισμοί που κρύβονται πίσω από αυτούς του χαρακτήρες παραμένουν άγνωστοι.

- η μοριακή βάση γενετικών ασθενειών, της ανθεκτικότητας των εντόμων σε εντομοκτόνα, π.χ. μοριακή ανάλυση στο γενετικό τόπο esterase έδειξε ότι η παγκόσμια κατανομή της ανθεκτικότητας σε κάποιο εντομοκτόνο στα κουνούπια οφείλεται στην εξάπλωση μιας μεταλλαγής και όχι στην πολλαπλή εμφάνιση της μεταλλαγής αυτής.

Γιατί να ΜΗΝ χρησιμοποιούμε γενετικούς δείκτες;

1. Απαιτείται χρονοβόρα εκπαίδευση όσων εμπλέκονται στις μοριακές αναλύσεις
2. Το χρηματικό κόστος είναι υψηλό (όμως ποικίλει σημαντικά μεταξύ των μεθόδων)



Χαρακτηριστικά των γενετικών δεικτών

- Οι γενετικοί δείκτες είναι **κληρονομικοί** χαρακτήρες με **πολλαπλές** καταστάσεις για κάθε χαρακτήρα. Σε κάθε διπλοειδή οργανισμό, κάθε άτομο έχει δύο ή περισσότερες καταστάσεις (**αλληλόμορφα**) για κάθε χαρακτήρα (**γενετικό τόπο**).
- Όλοι οι γενετικοί δείκτες αντανακλούν διαφορές σε επίπεδο DNA, συνήθως με μία αντίστροφη σχέση ακρίβειας και ευκολίας.
- Γενετικά χωριστοί τόποι παρέχουν ανεξάρτητους ελέγχους για τις υποθέσεις μας και έτσι χρησιμοποιώντας πολλούς τόπους μαζί αυξάνουμε την ακρίβεια.
- Η γενετική ποικιλότητα είναι συνήθως ιεραρχικά δομημένη (π.χ. δύο αλληλολόμορφα σε ένα άτομο, N άτομα σε ένα υποπληθυσμό, Y υποπληθυσμούς σε ένα πληθυσμό...).

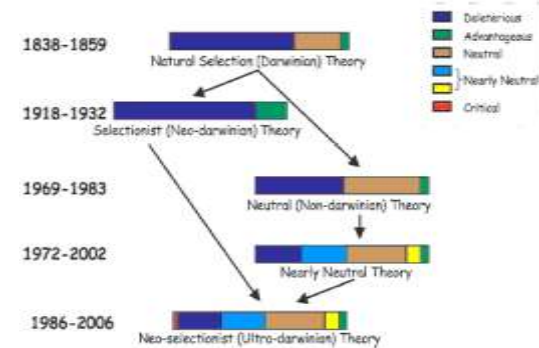
Θεωρία της Ουδετερότητας

Αρμοστικότητα. Η μέση συνεισφορά ενός αλληλομόρφου ή ενός γονοτύπου στην επόμενη γενιά ή σε επιτυχημένες γενιές, σε σύγκριση με αυτήν ενός άλλου αλληλομόρφου ή γονοτύπου.

Πριν το 1960, οι περισσότεροι βιολόγοι πίστευαν ότι μια γενετική μεταλλαγή θα αύξανε ή θα μείωνε την **αρμοστικότητα** ενός ατόμου. Με άλλα λόγια οι μεταλλαγές διατηρούνται μέσα σε ένα πληθυσμό ως αποτέλεσμα της φυσικής επιλογής.

Όμως....

γιατί η **φυσική επιλογή** να διατηρήσει τόσους διαφορετικούς γονοτύπους μέσα σε ένα πληθυσμό



Θεωρία της Ουδετερότητας

Αν και ορισμένες μεταλλαγές δίνουν ένα επιλεκτικό πλεονέκτημα ή μειονέκτημα, οι περισσότερες είναι ουδέτερες ή σχεδόν ουδέτερες, δηλαδή έχουν μικρή ή καθόλου επίδραση στην αρμοστικότητα του ατόμου.

Οι μοριακές αλλαγές μπορούν να αποδοθούν σε τυχαίες ή επιλεκτικές διεργασίες.

Η Ανάπτυξη της Μοριακής Οικολογίας (ΜΟ)

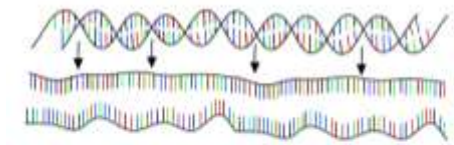
Η αρχική ανάπτυξη της ΜΟ ήταν σχετικά αργή εξαιτίας των περιορισμών των πρώτων προσεγγίσεων. Σχετικά πρόσφατες ανακαλύψεις (νέες εργαστηριακές τεχνικές της Μοριακής Βιολογίας και προηγμένες μέθοδοι στατιστικής επεξεργασίας) έχουν αυξήσει την δυναμική της ΜΟ.

Εργαστηριακές τεχνικές

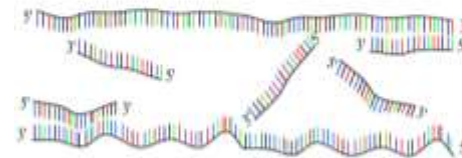
- ❑ η Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμερισμού (PCR) για τον πολλαπλασιασμό του DNA μέσω συντηρημένων εκκινητών (primers)
- ❑ η γρήγορη χρονικά αλληλούχιση του DNA
- ❑ η ανακάλυψη νέων πολυμορφικών δεικτών DNA, π.χ. μικροδορυφορικά, SNPs

PCR : Polymerase Chain Reaction

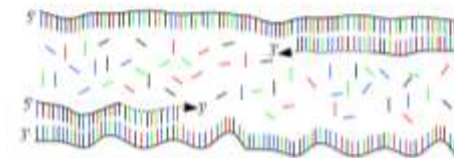
30 - 40 cycles of 3 steps



Step 1 : denaturation
1 minut 94 °C



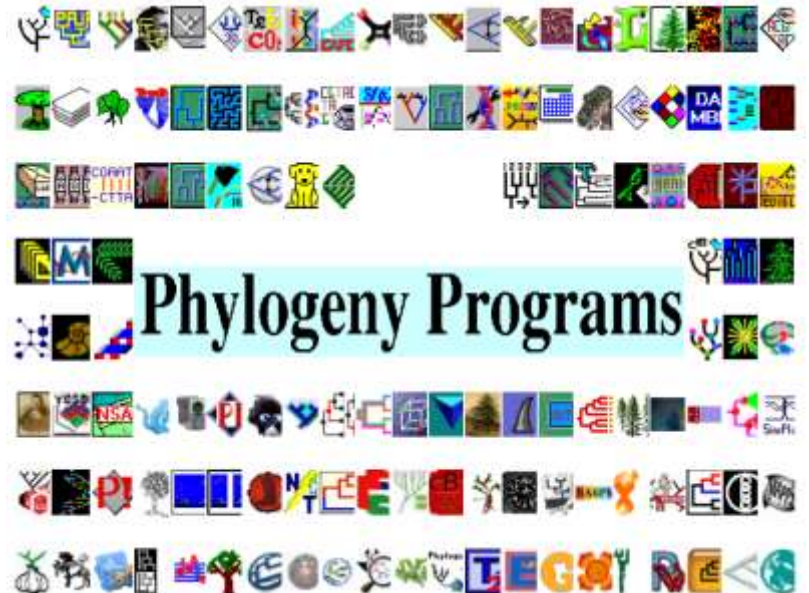
Step 2 : annealing
45 seconds 54 °C
forward and reverse primers !!!



Step 3 : extension
2 minutes 72 °C
only dNTP's

Στατιστική επεξεργασία

- η χρήση προηγμένης στατιστικής (π.χ. μέγιστη πιθανοφάνεια) και προσομοιώσεων σε υπολογιστές
- η ανάπτυξη πιο σύνθετων και ελκυστικών μοντέλων που εκφράζουν τις εξελικτικές αλλαγές
 - αυτές οι προσεγγίσεις αυξάνουν την ακρίβεια και το εύρος των συμπερασμάτων που μπορούν να εξαχθούν για τις πληθυσμιακές διεργασίες
- η αύξηση της υπολογιστικής ισχύος και η ανάπτυξη φιλικών για το χρήστη υπολογιστικών προγραμμάτων



Πως επιλέγουμε τον κατάλληλο δείκτη;

1. Ευαισθησία - ακρίβεια: Ένας δείκτης πρέπει να έχει την σωστή ευαισθησία για το υπό εξέταση ερώτημα.

Είναι πιθανό να έχει πολλή πληροφορία (αναλογία: προσπαθήστε να ταξιδέψετε από το Ηράκλειο στη Πρέβελη με ένα τοπογραφικό χάρτη 1:100.000) ή πολύ λίγη πληροφορία (προσπαθήστε να βρείτε ένα εστιατόριο στο κέντρο του Ηρακλείου έχοντας το χάρτη της Κρήτης).

Η εμπειρία μας έχει δώσει μια καλή γνώση για το είδος των δεικτών που είναι πληροφοριακοί στα διάφορα ταξινομικά επίπεδα



Πως επιλέγουμε τον κατάλληλο δείκτη;



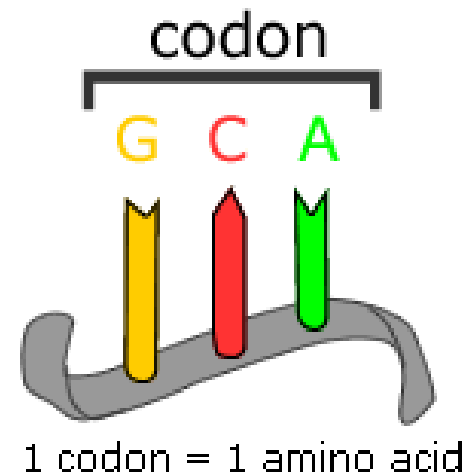
2. Κωδικές έναντι μη κωδικών περιοχών DNA

Η γνώση σχετικά με τις περιοχές του DNA που χρησιμοποιούνται ως γενετικοί δείκτες συμβάλλει στην εκτίμηση της ευαισθησίας/ακρίβειάς τους.

Για παράδειγμα ένα γονίδιο που κωδικοποιεί μια δομική λειτουργία είναι συνήθως πιο συντηρημένο (λιγότερη ποικιλότητα) από μια μη κωδική περιοχή.

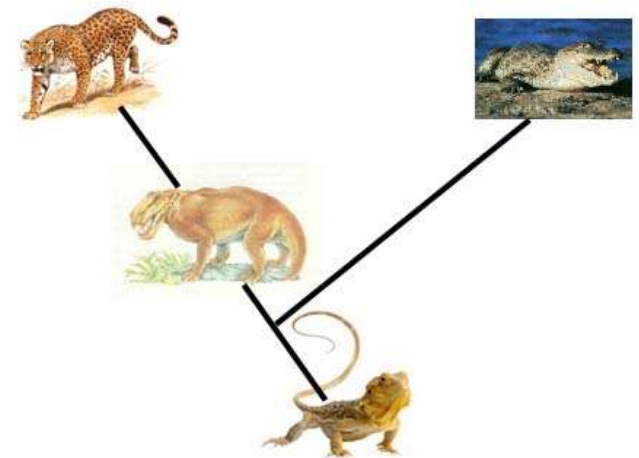
Παρομοίως, μέσα σε κωδικές περιοχές, υπάρχει ένα σαφές πρότυπο όπου τα νουκλεοτίδια μέσα στα κωδικόνια αλλάζουν με ένα συγκεκριμένο ρυθμό

τρίτη < πρώτη < δεύτερη θέση κωδικονίου.



Συνεπώς, μη κωδικές περιοχές αναμένουμε να εξελίσσονται γρηγορότερα, να είναι πιο πολυμορφικές και να είναι πιο κοντά σε ουδέτερη επιλογή από ότι οι κωδικές περιοχές και αναλογικά το ίδιο ισχύει και για τις 3 θέσεις των νουκλεοτιδίων μέσα στα κωδικόνια κωδικών περιοχών.

Αυτή η πληροφορία για τα πρότυπα μοριακής εξέλιξης μας βοηθάει στην επιλογή των κατάλληλων δεικτών για το υπό εξέταση ερώτημα και στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων.



3. Ασυσχέτιστοι ή Συσχετισμένοι;

Δεδομένα διαφορετικών μελετών και οργανισμών τα οποία είναι εύκολο να συγκριθούν μεταξύ τους τα θεωρούμε συσχετισμένα. Κάποιοι δείκτες παράγουν πληροφορία που είναι πολύ δύσκολο έως αδύνατο να συγκριθεί με ακρίβεια μεταξύ διαφορετικών μελετών (ασυσχέτιστα).

Τα συσχετισμένα δεδομένα είναι σαφώς καλύτερα, αφού είναι χρήσιμα σε διάφορες μελέτες πέραν εκείνης για την οποία παράγονται, όμως συνήθως είναι πιο ακριβά και δύσκολο να αποκτηθούν.

4. Multilocus ή single-locus? Κυρίαρχοι ή συγκυριάρχοι?

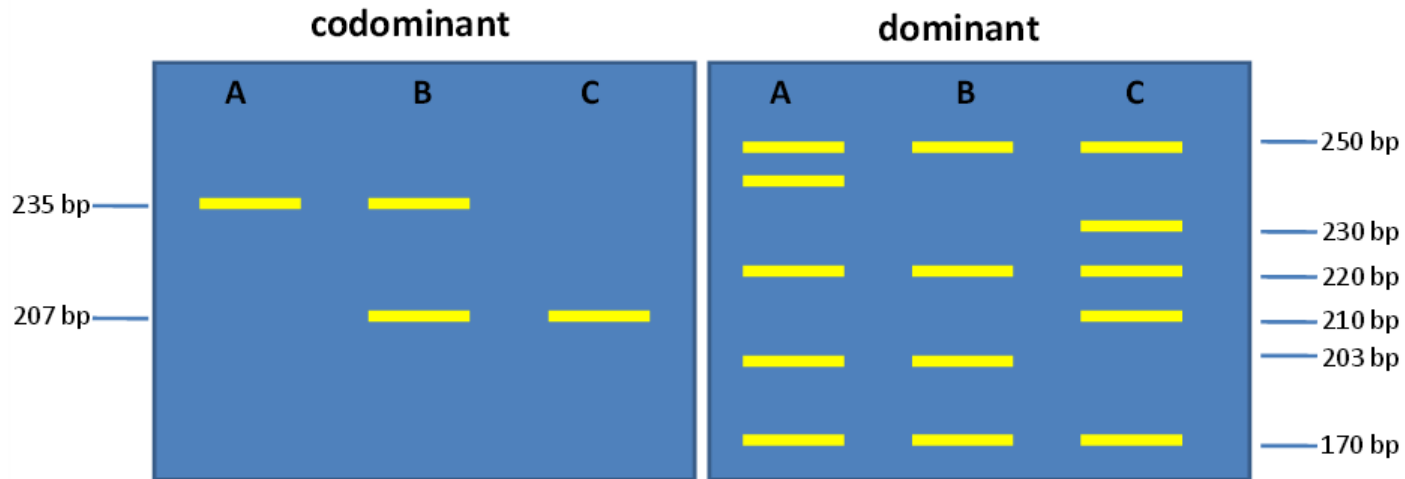
Υπάρχει συνήθως μία αντίστροφη σχέση μεταξύ της πρακτικότητας και της ακρίβειας των γενετικών δεικτών, το οποίο φαίνεται σαφέστατα στη σύγκριση δεικτών που στοχεύουν έναν (single-locus) ή πολλούς ταυτόχρονα γενετικούς τόπους (multilocus-locus).



4. *Multilocus ή single-locus? Κυρίαρχοι ή συγκυριάρχοι?*

Κυρίαρχοι δείκτες (RAPDs, AFLPs, SMPLs) επιτρέπουν την ανάλυση πολλών τόπων ταυτόχρονα.

Συγκυριάρχοι δείκτες (RFLPs, microsatellites) επιτρέπουν την ανάλυση ενός τόπου τη φορά, οπότε είναι πιο ακριβείς αφού μπορεί να διακριθεί η αλληλική ποικιλομορφία σε κάθε τόπο (ομόζυγο ή ετερόζυγο άτομο).

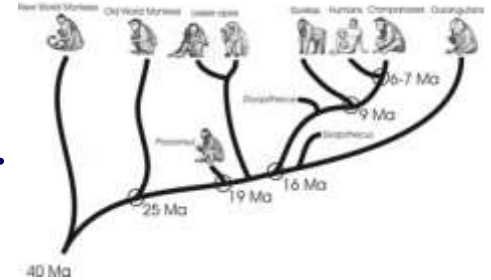


hetero- and homozygotes can be distinguished only using codominant markers

- codominant – identify all of the alleles at a particular locus (allozymes, microsatellites, RFLP, DNA sequences, SNP)
- dominant – identify only a single dominant allele (RAPD, AFLP)

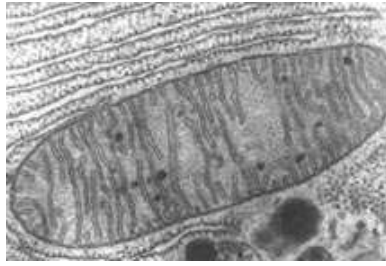
5. Γονιδιακές γενεαλογίες και συχνότητες

Δείκτες που παράγουν γονιδιακές γενεαλογίες (π.χ. mtDNA) έχουν ορισμένα πλεονεκτήματα έναντι κάποιων άλλων:



Η μοριακή φυλογένεση μπορεί να βοηθήσει στην αποσαφήνιση της **τρέχουσας δομής από τις επιδράσεις ιστορικών γεγονότων**

Πιθανά ο μόνος τρόπος για την απόκτηση μακροχρόνιων δημογραφικών δεδομένων για διαχειριστικά σχέδια



Οργανιδιακό (μιτοχόνδρια, χλωροπλάστες) και πυρηνικό DNA

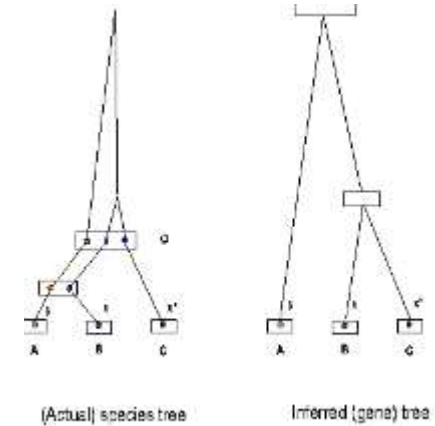


Οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί περιέχουν δι-γονεϊκά κληρονομήσιμο DNA (πυρηνικό) και μονογονικά κληρονομούμενο DNA (οργανιδιακό DNA) .

- οι γονιδιακές γενεαλογίες του mtDNA και του πυρηνικού DNA αντανακλούν διαφορετικές πτυχές της βιολογίας και της ιστορίας των οργανισμών
- το mtDNA έχει μικρότερο ενεργό πληθυσμιακό μέγεθος από το πυρηνικό DNA και έτσι η ποικιλότητά του γίνεται διαγνωστική για τα taxa πιο γρήγορα
- η σύγκριση πυρηνικών και μιτοχονδριακών απλοτύπων συμβάλουν στην αναγνώριση υβριδίων, τυχαίες κατανομές γονότυπων, προτιμήσεις ζευγαρώματος κ.α.

Συμφωνία μεταξύ πολλών δεικτών: γονιδιακά και οργανισμικά δέντρα

Για αρκετές εφαρμογές, όπως η κατασκευή φυλογενετικών δέντρων, η χρήση πολλών δεικτών είναι πολύ σημαντική, αφού κάθε τύπος έχει τη δική του ιστορία που μπορεί να μην συμπίπτει με το δέντρο των ειδών.



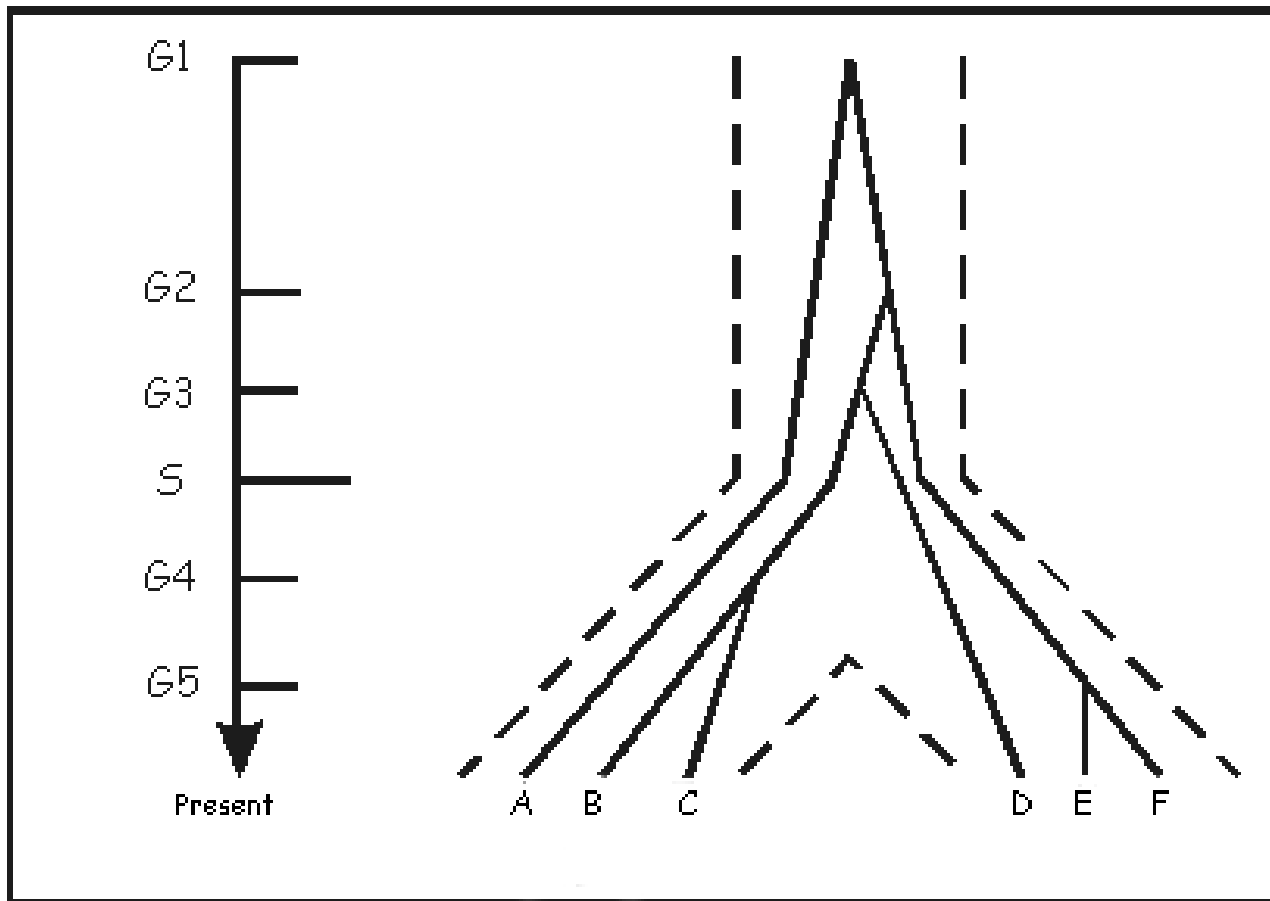
Ειδικό δέντρο vs Γονιδιακό

Συνεπώς είναι σημαντικό να διακρίνουμε μεταξύ του γονιδιακού δέντρου (το δέντρο που περιγράφει τις εξελικτικές σχέσεις των υπό εξέταση γονιδίων) και του οργανισμικού δέντρου (το δέντρο των οργανισμών που φέρουν τα γονίδια).

Γονιδιακά Δέντρα και Δέντρα Ειδών

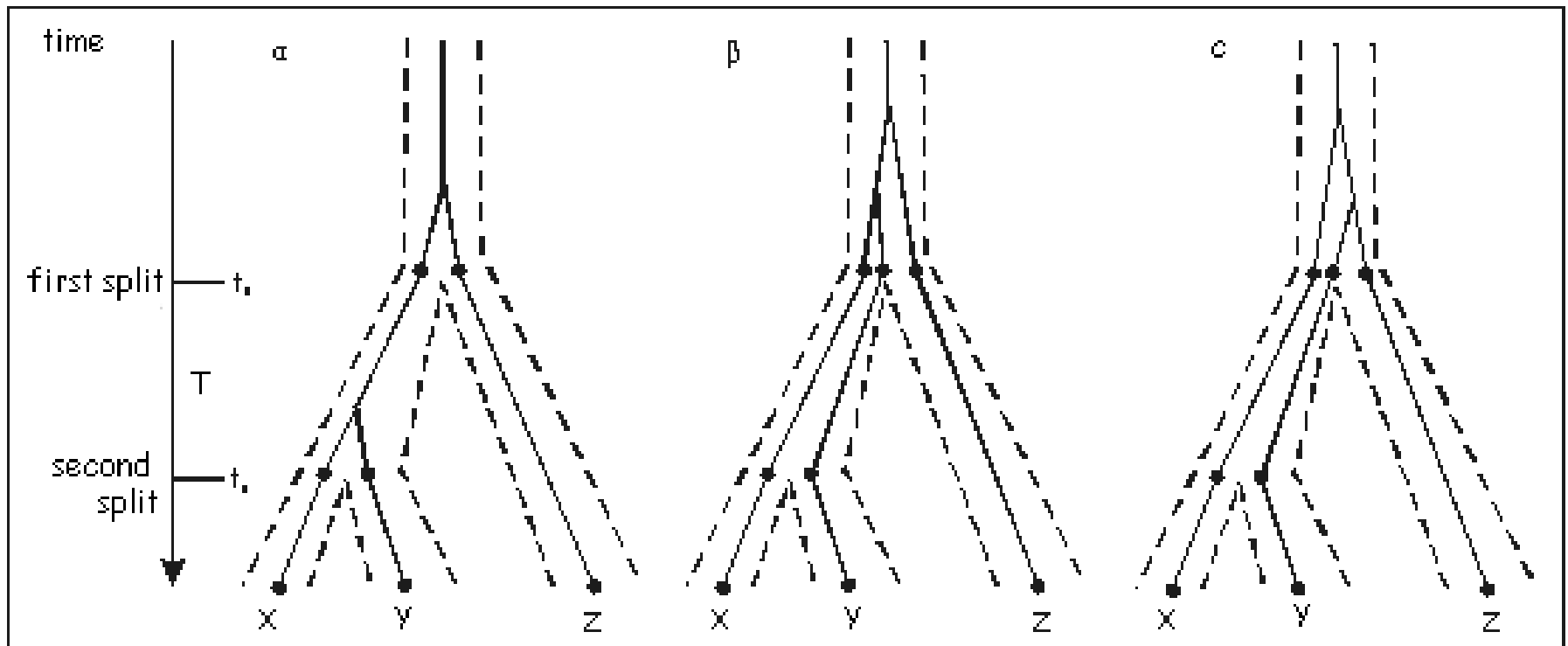
Δεν συμφωνούν πάντα τα δύο αυτά τα δένδρα

✓ η απόκλιση των γονιδίων προηγείται της απόκλισης των ειδών



Γονιδιακά Δέντρα και Δέντρα Ειδών

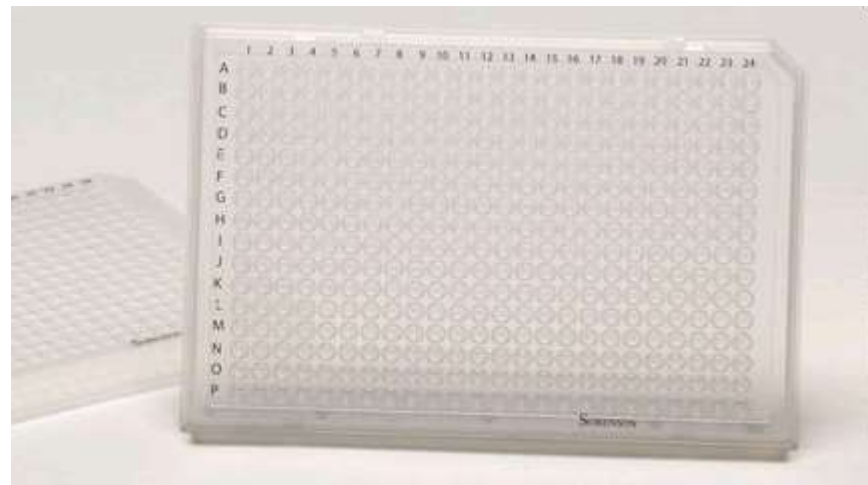
- η τοπολογία (πρότυπο διακλάδωσης) μπορεί να είναι διαφορετική, λόγω γενετικού πολυμορφισμού των προγονικών ειδών



6. Γρήγορη ανάπτυξη και εύκολη παραγωγή δεδομένων (*screening*)

Γρήγορη ανάπτυξη: Ορισμένοι δείκτες είναι άμεσα εφαρμόσιμοι ή εύκολα μετατρέψιμοι για να χρησιμοποιηθούν σε άλλα είδη.

Γρήγορη παραγωγή δεδομένων: Πρόσφατες τεχνολογικές ανακαλύψεις έχουν οδηγήσει στο εξαιρετικά γρήγορο διάβασμα των δεικτών (*screening*) σε ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων.

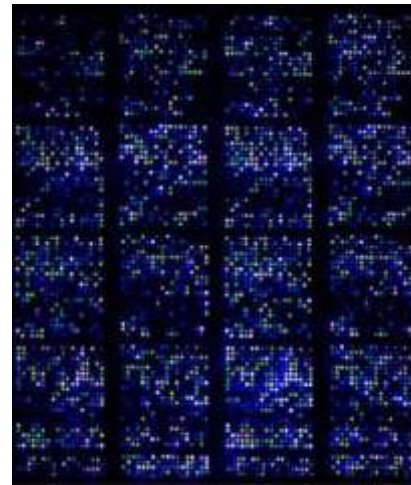


Ωστόσο, οι πιο σημαντικοί και πληροφοριακοί δείκτες είναι ακόμα πολύ ακριβοί για τους περισσότερους ερευνητές.

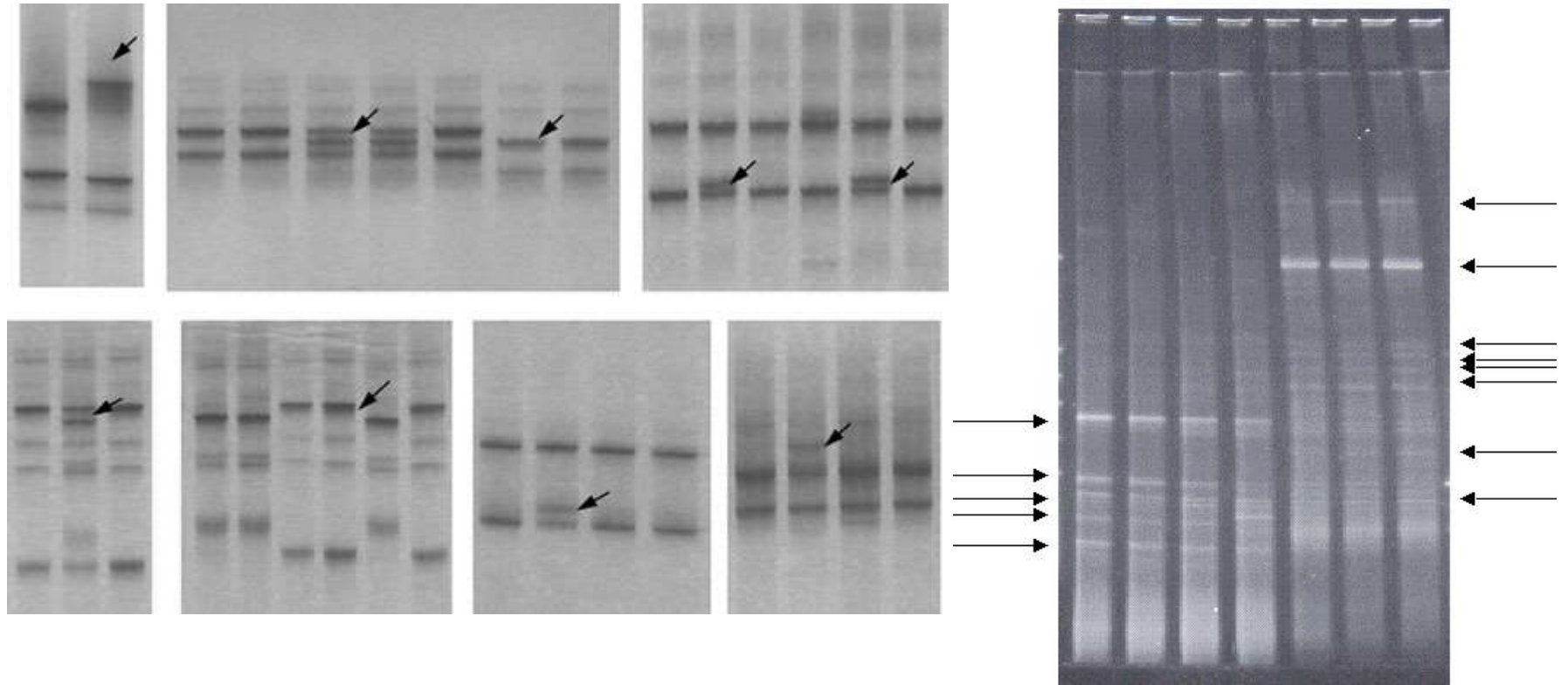
➤ Για παράδειγμα, στις μικροσυστοιχίες (microarray technology) χρησιμοποιείται μικρορομποτική για την τοποθέτηση μικροποσοτήτων (nanolitre) DNA σε ειδικά πλακίδια, όπου θα δράσουν ως ανιχνευτές για τα υπό μελέτη δείγματα.

➤ Υψηλής ευκρίνειας σαρωτές χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του DNA

➤ Έως 100,000 διαφορετικά δείγματα DNA μπορούν να τοποθετηθούν σε ένα μικροσκοπικό πλακίδιο!!!!



Ευτυχώς υπάρχουν πιο ρεαλιστικές και γρήγορες τεχνικές για εφαρμογή στη Μοριακή Οικολογία, τις οποίες θα δούμε στα επόμενα μαθήματα.



SSCP gels, τα βέλη υποδεικνύουν διαφορετικές ζώνες

Τύποι γενετικών δεικτών που χρησιμοποιούνται στη ΜΟ:

RFLP (ή Restriction fragment length polymorphism)

SSLP (ή Simple sequence length polymorphism)

AFLP (ή Amplified fragment length polymorphism)

RAPD (ή Random amplification of polymorphic DNA)

VNTR (ή Variable number tandem repeat)

SSR Microsatellite polymorphism, (ή Simple sequence repeat)

SNP (ή Single nucleotide polymorphism)

STR (ή Short tandem repeat)

SFP (ή Single feature polymorphism)

DArT (ή Diversity Arrays Technology)

RAD markers (ή Restriction site associated DNA marker)



Στο επόμενο

**Γονιδιώματα οργανισμών
και γενετικοί δείκτες**