جوامع نقشه یابی (قسمت چهارم)

Mapping Populations (part four)

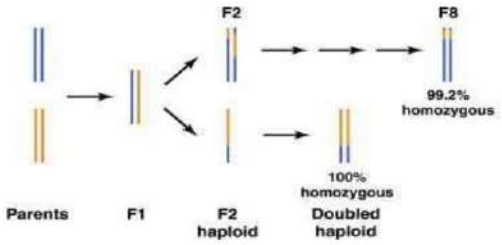
مصطفی حق‌پناه

Haghpanah.m@arc-ordc.ir

کارشناس ارشد اصلاح نباتات، مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

جوامع دابل هاپلوئید

گیاهان دابل هاپلوئید (DH) از دو برابر شدن کرموزم گیاه هاپلوئید حاصل می‌شوند و معمولا از تکنیک کشت بساک و گرده گیاهان F_1 برای تولید آن استفاده می‌گردد (شکل ۱).



شکل ۱. مقایسه خلوص ژنتیکی لاین دابل هاپلوئید و نسل‌های در حال تفرق

در برخی از گونه‌های گیاهان زراعی با استفاده از تلاقی بین گونه‌ای یک هاپلوئید بوجود می‌آید. برای مثال در تلاقی گیاه جو یا گندم با علف شال دم (*Hordeum bulbosum*) در طی تکامل جنین به تدریج کرموزم‌های علف شال دم حذف می‌شود و به دلیل بروز مشکلاتی که در تقسیم سلولی بوجود می‌آید می‌بایست از تکنیک نجات جنین جهت تولید گیاه هاپلوئید استفاده شود. یکی از روش‌های متداول در تولید گیاهان هاپلوئید در ذرت استفاده از گونه‌های القاء کننده گرده افشانی است. در این روش جمعیت دابل هاپلوئید ذرت با استفاده از گرده افشانی بوته‌های F_1 و یک گونه القاء کننده مانند RWS پدید می‌آید. بذور حاصله دارای جنین هاپلوئید و آندوسپرم طبیعی تری‌پلوئید (3N) می‌باشند. کرموزم‌های گونه القاء کننده در طی مراحل تکامل جنین حذف می‌شوند.

بذور هاپلوئید بر اساس رنگ جنین و آندوسپرم قابل تشخیص می‌باشند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که ژن *Rnj*، دخیل در رنگ متمایز بذور هاپلوئید ذرت می‌باشد. الل غالب ژن مذکور (*Rnj*) سبب ایجاد رنگ بنفش و الل مغلوب سبب بی رنگ شدن جنین و آندوسپرم می‌شود. والد ماده در این مثال (F_1) می‌بایست هموزیگوت مغلوب (*rnj rnj*) و القاء کننده می‌بایست هموزیگوت غالب (*Rnj Rnj*) در این ژن باشد. بذر هاپلوئید حاصل از این تلاقی دارای آندوسپرم بنفش و جنین بی‌رنگ است. اما بذور دیپلوئید هیبرید دارای آندوسپرم و جنین رنگی (بنفش) می‌باشند و این در حالی است که بذور دیپلوئید حاصل از خودگشنی این هیبریدها دارای جنین و آندوسپرم بی‌رنگ است. میانگین موفقیت تولید بذور هاپلوئید در این روش حدود هشت تا ۱۰ درصد است و این وابسته به عواملی نظیر، گونه القاء کننده، استفاده القاء کننده به عنوان والد ماده، روش گرده افشانی و شرایط محیطی می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد توانایی القاء والد مادری هاپلوئید یک صفت پلی‌ژنیک است.

از ماده کلشی‌سین برای تولید گیاهان دابل‌هاپلوئید استفاده می‌شود، این آلکالوئید با تاثیر بر رشته‌های دوک در جریان تقسیم سلولی سبب دو برابر شدن تعداد کروموزم‌ها می‌شود. بذور تولید شده از هرگیاه دابل‌هاپلوئید به عنوان یک لاین دابل هاپلوئید در نظر گرفته شده و جداگانه برداشت و نگهداری می‌شوند. یک لاین دابل هاپلوئید از نظر ژنتیکی در تمامی جایگاه‌های ژنی (Locus) کاملا خالص بوده و دارای خطای هتروزیگوتی نمی‌باشند. این در حالی است که خطای هتروزیگوسیتی در لاین‌های خالص نوترکیب (RIL) قابل مشاهده است. اگر هیچ انتخابی در تشکیل این جمعیت وجود نداشته باشد انتظار می رود جمعیت دابل هاپلوئید بصورت تصادفی شامل تمامی لاین‌های هموزیگوت حاصل از یک تلاقی باشد. نسبت ژنی مورد انتظار در یک جامعه دابل هاپلوئید ۱:۱ است بدون در نظر گرفتن اینکه نشانگرهای غالب و یا همبارز باشد (به دلیل اینکه افراد DH خالص می‌باشند نحوه تفرق نشانگرهای همبارز و غالب مشابه است). جمعیت DH مشابه جمعیت F_2 حاصل از یک چرخه میوز در F_1 می‌باشد. اما نرخ نوترکیبی در یک جمعیت DH نسبت به F_2 مشابه بالاتر است، نرخ نوترکیبی در جمعیت DH برابر است با r در حالی که در جمعیت F_2 برابر است با $r-(r^2/2)$، در این فرمول r نرخ نوترکیبی بین دو جایگاه‌ژنی یا نشانگر می‌باشد. جمعیت DH مانند لاین‌های خالص نوترکیب از لحاظ ژنتیکی تفرق نمی‌یابند و قابل تکثیر می‌باشند. از این رو می‌توان بذور آنها را با سایر محققین و آزمایشگاه‌ها به اشتراک گذاشت. از جمعیت دابل هاپلوئید می‌توان در آزمایشات تکراردار استفاده کرد و از این نظر برای نقشه‌یابی صفات کمی و کیفی مناسب می‌باشد. ساخت یک جمعیت DH از نظر تعداد سال زراعی مشابه یک جمعیت F_2 می‌باشد، اما ایجاد این جمعیت نیازمند به استفاده از تکنیک کشت بافت و امکانات گلخانه‌ای است. از این رو برای ساخت یک جمعیت دابل هاپلوئید، نسبت به سایر جمعیت‌های نقشه‌یابی، دانش فنی بیشتری لازم می‌باشد. علاوه بر این روش‌های تولید گیاهان دابل هاپلوئید در برخی از گونه‌های زراعی کاربرد ندارند و برخی از ژنوتیپ‌های یک گونه زراعی قابل کشت بافت کردن نمی‌باشند و یا کشت بافت آنها مشکل است. باید در نظر گرفت در کشت بساک ممکن است کلشی‌سین سبب بروز تنوع ژنتیکی گردد. علاوه بر این با استفاده از جمعیت DH تنها می‌توان اثر افزایشی و اثر متقابل افزایشی×افزایشی ژنها را در افراد هموزیگوت بررسی کرد. بنابراین نمی‌توان از این جمعیت برای نقشه‌یابی QTLهای هتروزیس استفاده کرد. اهمیت استفاده از جمعیت دابل هاپلوئید در نقشه یابی گیاهانی نظیر فلفل، گندم، جو، برنج و بسیاری گیاهان دیگر به اثبات رسیده است.

منبع:

Singh, B. D., & Singh, A. K. (2015). Marker-assisted plant breeding: principles and practices. New Delhi, India: Springer.