فنوتیپ سنجی نسل‌های آینده

مریم محمدی[1]

دانشجوی کارشناسی مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی

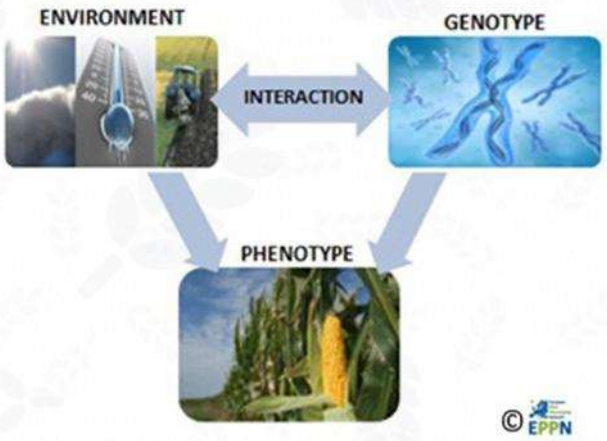
دانشگاه تهران

چالش امروزه...

طی ۵۰ سال آینده ملزم به تولید غذایی بیش از مقداری که در ۱۰۰۰۰ سال قبل داشتیم، هستیم بنابراین نیاز داریم راه‌هایی برای به خدمت گرفتن تکنولوژی و دانش به‌منظور افزایش تولید محصولات برای سیر کردن یک سیاره گرسنه پیدا کنیم.

امنیت و پایداری غذایی به پیشرفت‌های گیاه بنیان در کشاورزی بستگی خواهد داشت. ما ملزم به گسترش و توسعه گیاهان با بازدهی بالا که مغذی‌تر هستند، از آب و مواد مغذی مؤثرتر استفاده می‌کنند و می‌توانند تغییر بیشتری را در محیط تحمل کنند، هستیم.

محصولات مشتق شده از گیاهان در رأس چالش‌های بزرگ مطرح‌شده با افزایش نیاز به مواد غذایی، خوراک و مواد خام هستند. رویکردهای تلفیقی در تمامی مقیاس‌ها از کاربرد مولکولی تا مزرعه برای توسعه محصول گیاه پایدار با عملکرد بالاتر و استفاده از منابع محدود ضروری است. درحالی‌که پیشرفت‌های قابل‌توجهی در رویکردهای مولکولی و ژنتیکی در سال‌های اخیر انجام شده است، تجزیه‌وتحلیل کمی از فنوتیپ های گیاهی - ساختار و عملکرد گیاهان - تبدیل به تنگنا و مشکل عمده شده است.



فنوتیپ سنجی گیاهی یک علم نوظهور است که ژنومیک را با اکوفیزیولوژی گیاهی و زراعت پیوند می‌دهد. بدنه و ساختمان عملکردی گیاه (PHENOTYPE) در طول رشد و تکامل گیاه از طریق تعامل پویا بین پس‌زمینه ژنتیکی (GENOTYPE) و جهان فیزیکی که در آن گیاهان رشد می‌کنند (EVNIRONMENT) ایجاد می‌شود. این تعاملات عملکرد و بهره‌وری گیاه را که به‌صورت بیوماس (زیست‌توده) انباشته شده، تعیین می‌کند و برای بازده تجاری و بهره وری منابع استفاده می‌شود.

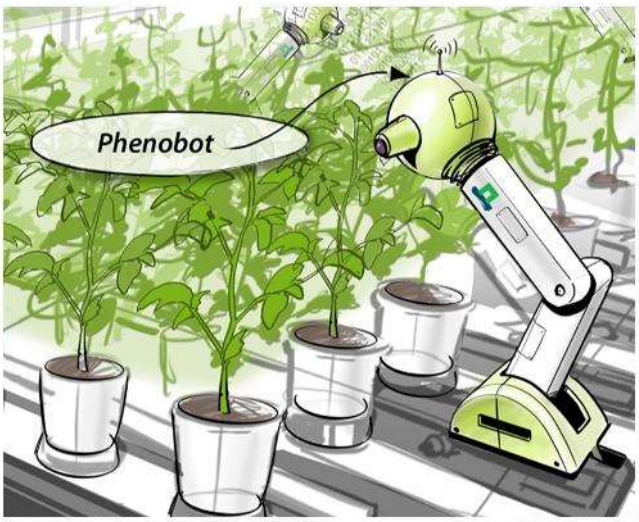
1. m.mohammadi13771998@gmail.com

پیشرفت کنونی در تکنولوژی توالی DNA، امکان جمع‌آوری اطلاعات زیادی از ژنوم را فراهم کرده است. ژنوتایپینگ به‌عنوان یک فعالیت معمول با هزینه‌های کمتر به‌عنوان تکنولوژی جدید معرفی شده است. در این زمان پس از ژنوم، فنومیک به‌عنوان یک رشته جدید ظهور می‌کند که هدف آن دستیابی به اطلاعات فنوتیپی با کارایی بالا در تمام سطوح سازمان‌های بیولوژیک است و یکپارچه کردن داده‌های مختلف "omics" است. (توالی یابی کامل ژنوم انسان منجر به پیدایش عصر جدیدی در علوم زیستی شد تحت عنوان «امیکس» (omics). واژه امیکس اشاره به آنالیز جامع سیستم‌های زیستی دارد. انواع شاخه‌ها و زیرشاخه‌های امیکس، هر یک با مجموعه‌ای از ابزارها، تکنیک‌ها، واکنشگرها و نرم‌افزارها، به ظهور رسیدند). فن‌آوری جدید در فنوتیپ سنجی گیاه دارای طیف گسترده و پیچیده‌ای شامل نرم‌افزارهای تجزیه‌وتحلیل تصویر، سیستم‌عامل‌های بزرگ و سیستم‌های فن‌آوری مزرعه می‌باشد.

فن‌آوری‌های ژنوتایپینگ و توالی چند دهه پیش توسعه داده شد و در حال حاضر با روش‌هایی با کارایی بالا و کم‌هزینه در دسترس هستند. ژنوم چند ارگانیسم توالی شده‌اند و اطلاعات ژنومی به‌صورت عمومی توسط پایگاه داده‌های مختلف در دسترس هستند. تجزیه‌وتحلیل ژنومی موفق بوده است، اما تلاش‌های قابل‌توجه برای معنی‌دار کردن و بهره‌برداری از اطلاعات ژنتیکی لازم است. روش‌های فنوتیپی از ژنومیک عقب مانده است. بیشتر اطلاعات فنوتیپی فاقد اتوماسیون و دقت است. مقدار زیادی از اطلاعات ژنتیکی باید در زمینه فنوتیپ و زراعت قرار گیرد تا بتواند عملکرد ژن را درک کند و در پرورش گیاهان مفید باشد. به همین دلیل یک تغییر اساسی در تحقیق برای رفع کمبود اطلاعات فنوتیپی ضروری است. به این‌ترتیب، فنوتایپینگ به تنگنا تبدیل شده است. امروزه به نحوی پیش بینی شده است که کشف ژن‌های جدید و کشف تعاملات پیچیده به لطف پیشرفت تکنولوژی فنوتیپ سنجی دقیق امکان‌پذیر است. جستجو در پایگاه داده PubMed برای فنوتایپ گیاهی (که در سپتامبر ۲۰۱۳ انجام شد) بیش از ۴۰۰ نتیجه را دریافت کرد و از آن تعداد ۳۰۰ تحقیق در ۵ سال اخیر منتشر شده است. الگویی جدید با تمرکز بر فنوتیپ سنجی در تحقیقات گیاهی، به‌ویژه در زمینه ژنومیک، فیزیولوژی و پرورش کشف شده است. در حال حاضر پیشرفت هایی در تکنیک‌های با توان بالا و غیرتهاجمی (غیر مخرب) در سطح کل گیاه انجام شده است، درحالی‌که فنوتیپ سنجی در سطوح پایین مانند اندام، بافت یا سلول هنوز دست‌کاری محسوب می‌شود و اغلب برای نمونه مخرب است. علاقمندی به HTP (فنوتیپ سنجی با کارایی بالا) منجر به یک‌رشته جدید شناخته‌شده به‌عنوان فنومیک که شامل استخراج داده‌های فنوتیپی با ابعاد بزرگ در مقیاسی گسترده به‌اندازه یک موجود زنده می‌شود، شده است (Houle et al. ، ۲۰۱۰).

فنومیکس شامل ادغام سایر امیکس ها (ترنسکریپتومیکس، اپی ژنومیکس، پروتئومیکس و متابولومیکس) است و با پیشرفت تکنولوژی با توان بالا، فعال می‌شود. هدف از فنومیکس گیاهی این است که همه فنوتیپ های احتمالی در شرایط مختلف محیط‌زیست برای یک ژنوتیپ مشخص را توصیف کند. برای این منظور، فنومیک شامل فنوتیپ سنجی در سطوح مختلف سازماندهی (از اجزای سلولی به تمام گیاهان و کانوپی) و شامل صفات ساختاری، فیزیولوژیکی و عملکردی است (Dhondt et al. ، ۲۰۱۳).

فناوری تصویربرداری یک ابزار اساسی برای جمع‌آوری داده‌های HTP (فنوتیپ با کارایی بالا) است. تجزیه‌وتحلیل تصویر دیجیتالی، به دست آوردن دقیق پارامترهای مورفومتری که بتواند رشد و شکل اندام‌های گیاهی را اندازه‌گیری کند، ممکن می‌سازد. به‌طور مشابه، تولید و گسترش سلول‌ها از تصاویر میکروسکوپ اندازه‌گیری می‌شود. روش‌های اتوماتیک یا نیمه اتوماتیک برای جایگزینی روش‌های استاندارد دستی برای افزایش دقت و فعال کردن مطالعات ژنتیکی جمعیت ضروری هستند (Spalding and Miller ، ۲۰۱۳).



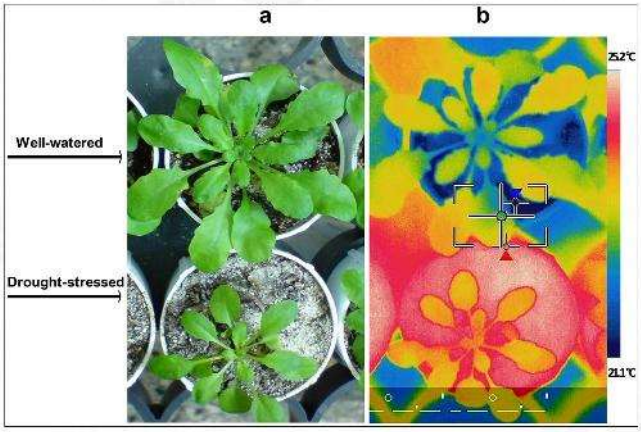
تجزیه‌وتحلیل تصویر دیجیتال می‌تواند یک جایگزین قدرتمند برای دستیابی به فنوتیپ سنجی باشد که از رتبه بندی سنتی بصری دقیق تراست و به ذهنیت اپراتور بستگی دارد. علاوه بر این، اتوماسیون امکان مطالعات گسترده‌ای را فراهم می‌کند. یک لیست به‌روز شده از ابزارهای تجزیه‌وتحلیل تصویر در لینک داده‌شده در دسترس است (www.plant image analysis.org ، ۲۰۱۳).

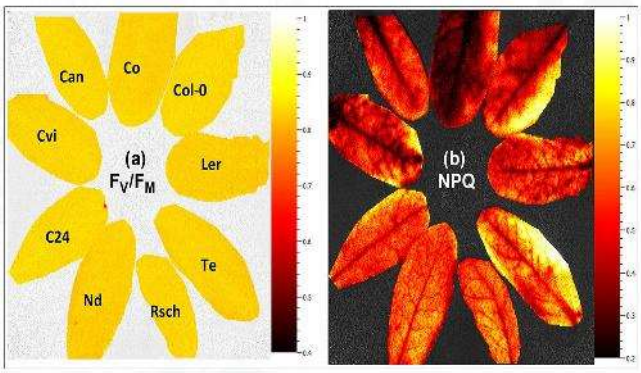
بنا بر تجربه ما، اجرای این تکنولوژی، ارزیابی مورفولوژی، رنگ و دقت افزایش یافته در ارزیابی متغیرهای رشد، بدون افزایش، هزینه‌ها را بهبود بخشید. به‌عنوان‌مثال، نرم‌افزار آنالایزر گوجه فرنگی (Rodríguez et al.، ۲۰۱۰) یک ارزیابی عینی و قابل اعتماد از اندازه و تغییر رنگ برگ‌های آفتابگردان تحت درمان با علف‌کش ارائه داد (Breccia et al.، ۲۰۱۲).

نرم‌افزار SmartRoot در تجزیه‌وتحلیل طراحی و ساختمان ریشه ژنوتیپ های آفتابگردان تحت درمان علف‌کش‌های مختلف مؤثر بود. پارامترهای رشد ریشه‌های اولیه و جانبی، مؤلفه‌های کلیدی در تعیین رشد ریشه در استفاده از علف‌کش و تعیین درجه‌های مختلف مقاومت علف‌کش بودند. سخت‌افزار، تصویربرداری، نرم‌افزار و ابزارهای تجزیه‌وتحلیل در توسعه سیستم‌های فن‌آوری سازی استفاده می‌شود. نمونه‌های مختلفی از سیستم‌های موفق خودکار در شرایط کنترل‌شده برای اندازه‌گیری صفات زمینی (مزرعه) وجود دارد (به‌عنوان مثال Pereyra-Irujo و همکاران، ۲۰۱۲؛ Tisné و همکاران، ۲۰۱۳)، معماری ریشه (به‌عنوان‌مثال Clarck et al.، ۲۰۱۱؛ Famoso et al.، ۲۰۱۰) و هر دو ساقه و رشد ریشه (به‌عنوان‌مثال Ruts و همکاران، ۲۰۱۳). ابتکارات با زمینه فنوتیپ سنجی نیز با استفاده از دستگاه‌های حسگر پروگزیمال (مانند Busemeyer و همکاران، ۲۰۱۳) توسعه می‌یابد.

تصاویر مادون‌قرمز، تجزیه‌وتحلیل تصویر استریو، سنجش از راه دور مبتنی بر آکوستیک، اندازه‌گیری بدون تماس با فلورسانس کلروفیل، سنجش از راه دور لیزر و طیف‌سنجی نزدیک به مادون قرمز ابزارهایی بالقوه برای به دست آوردن اطلاعات فنومیک در شرایط مزرعه هستند (White et al.، ۲۰۱۲).

از سوی دیگر، سیستم‌عامل‌های بزرگ درزمینهٔ بافت یا سلول‌های فنوتیپی هنوز توسعه نیافته‌اند. پیشرفت در نمونه‌برداری روباتیک از گیاهان زراعی یا گلخانه‌ای با ترکیب خودکار و تجزیه‌وتحلیل خودکار و حفظ مناسب نمونه برای تجزیه وتحلیل بیشتر، ویژگی‌های بیوشیمیایی و بافت‌شناسی را در فنوتیپ های بزرگ اندازه‌گیری خواهد کرد.



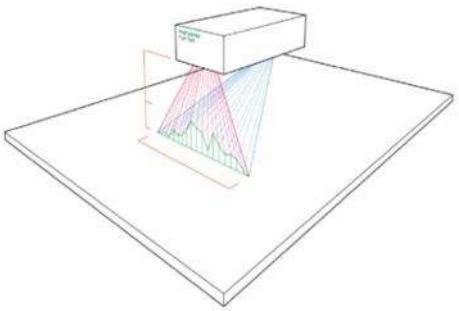


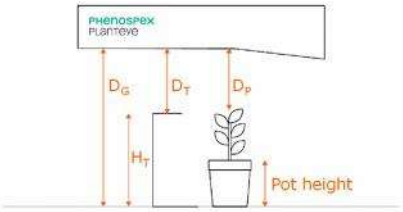
تعیین صحیح فنوتیپ از اهمیت ویژه‌ای برای بازیابی عملکرد ژن و پاسخ گیاه به چندین تنش بیوتیک (زیستی) و آبیوتیک (غیر زیستی) برخورداراست. آیا فناوری‌های با کارایی بالا به این هدف دست می‌یابند؟ اکثر سیستم‌های فن‌آوری سازی گلخانه‌ای و آزمایشگاهی بر روی غربالگری آبیوتیک (مثلاً Shi et al. ، ۲۰۱۳) و بیوتیک (مثلاً Chen et al.، ۲۰۱۲) تحمل استرس طراحی‌شده‌اند. از سوی دیگر، فنوتیپ سنجی با کارایی بالا (HTP) در تجزیه‌وتحلیل جهش باعث شناسایی و مشخص کردن عملکرد ژن می‌شود (Sozzani and Benfey، ۲۰۱۱). بررسی اخیر نشان می‌دهد که چگونه ابزارهای فنوتیپ سنجی در ترکیب با استراتژی‌های زراعی شناخته‌شده، بهبود محصول را قدرت می‌بخشند (Cobb et al.، ۲۰۱۳).

به‌این‌ترتیب، شناسایی فنوتیپ سنجی سه‌بعدی و تعیین جایگاه ژنی صفات کمی، شناسایی مناطق اصلی ژنوم برنج که کنترل‌کننده طراحی و ساختار ریشه هستند را ممکن می‌سازد (Topp et al. ، ۲۰۱۳).

به‌طور مشابه، مناطق ژنومی مرتبط با سختی اندوسپرم،

تراکم و اندازه دانه در جو با استفاده از یک پلت فرم فنوتیپی تحت شرایط کنترل‌شده (Walker et al.، ۲۰۱۳) به‌سختی شناسایی شدند. همچنین فنوتیپ سنجی مبتنی بر مزرعه، محاسبه معماری ژنتیکی تجمع زیست‌توده توسط مطالعات مرتبط با سراسر ژنوم را در تریتیکاله (چاودم) ممکن ساخته است (Busemeyer و همکاران، ۲۰۱۳).





بیشتر اطلاعات فنوتیپی به‌ویژه برای صفات عملکردی محصول، عملاً از دست می‌روند. کمتر از ۱٪ از ۵،۰۰۰ نشریه در نقشه‌برداری صفات کمی (QTL)، گزارش عمومی برای ارائه داده‌های خام تهیه می‌کنند (Zamir، ۲۰۱۳). در دسترس بودن داده‌های فنومیکی از طریق مخزن پایگاه داده‌های عمومی، یک نیاز ضروری برای افزایش تولید محصول و تولید مواد غذایی است.

درنتیجه...

پیشرفت‌های بزرگ در فناوری فنوتیپ سنجی، ابزارهایی برای اندازه‌گیری دقیق کاراکترهای گیاهی در مقیاس‌های بزرگ را به کار می‌گیرد و به‌این‌ترتیب تفاوت بین ژنومیک، عملکرد گیاهی و صفات کشاورزی محدود می‌شود. همان‌طور که کوب و همکاران (۲۰۱۳) اشاره کردند که فنوتیپ سنجی نسل آینده به ژنتیک و پرورش‌دهندگان اجازه خواهد داد تا به‌طور سازنده پروتئین پیچیده بین ژنوتیپ، فنوتیپ و محیط‌زیست را موردمطالعه قرار دهند. بااین‌وجود این امکان وجود دارد؟ آیا تنگنای جدیدی ظاهر خواهد شد؟ چه چیز دیگری برای درک روابط ژنتیکی-فنوتیپ-محیط موردنیاز است؟ ما احتمالاً پاسخ ها را نمی‌دانیم تا این فنّاوری‌ها قابل‌دسترسی شوند و مقدار زیادی اطلاعات فنوتیپی در دسترس قرار گیرد. چگونه پیچیدگی اطلاعات فنوتیپی در سطوح مختلف سازمانی را مدیریت کنیم؟ تلاش‌های هماهنگ در زمینه‌های مختلف فناوری، آمار و زیست‌شناسی برای حل این و دیگر مسائل در آینده ضروری خواهد بود. بر اساس این سناریو جدید، پرورش دهندگان گیاهان ملزم هستند به استفاده از فن‌آوری‌های جدید که می‌توانند به‌طور دقیق تنوع فنوتیپی صفات موردتوجه در برنامه‌های پرورش را برآورده کنند.

منابع:

Breccia G. Gil M., Vega T., Zorzoli R., Picardi L., Nestares G. (2012) Effect of cytochrome P450s inhibitors on imidazolinone resistance in sunflower. 18th International Sunflower Conference, Mar del Plata & Balcarce, Argentina, pp. 507-512.

Busemeyer L., Ruckelshausen A., Möller K., Melchinger A.E., Alheit K.V., Maurer H.P., Hahn V., Weissmann E.A., Reif J.C., Würschum T. (2013) Precision phenotyping of biomass accumulation in triticale reveals temporal genetic patterns of regulation. Sci. Rep. 3: 2442.

Chen X., Vosman B., Visser R.G., van der Vlugt R.A., Broekgaarden C. (2012) High throughput phenotyping for aphid resistance in large plant collections. Plant Methods 8: 33.

Pereyra-Irujo G.A., Gasco E.D., Peirone L.S., Aguirrezábal L.A.N. (2012) GlyPh: a low-cost platform for phenotyping plant growth and water use. Funct. Plant Biol. 39: 905-913.

Rodriguez G.R., Moyseenko J.B., Robbins M.D., Morejón N.H., Francis D.M., van der Knaap E. (2010) Tomato Analyzer: A Useful Software Application to Collect Accurate and Detailed Morphological and Colorimetric Data from Two-dimensional Objects. J. Vis. Exp.37: 1856.

Ruts T., Matsubara S., Walter A. (2013) Synchronous high-resolution phenotyping of leaf and root growth in Nicotiana tabacum over 24-h periods with GROWMAP-plant. Plant Methods 9: 2.

Shi L., Shi T., Broadley M.R., White P.J., Long Y., Meng J., Xu F., Hammond J.P. (2013) High-throughput root phenotyping screens identify genetic loci associated with root architectural traits in Brassica napus under contrasting phosphate availabilities. Ann. Bot. 112: 381-389.

Spalding E., Miller N. (2013) Image analysis is driving a renaissance in growth measurement. Curr. Opin. Plant Biol. 16: 100-104.

White J.W., Andrade-Sanchez P., Gore M.A., Bronson K.F., Coffelt T.A., Conley M.M., Feldmann K.A., French A.N., Heun J.T, Hunsaker D.J., Jenks M.A., Kimball B.A., Roth R.L., Strand R.J., Thorp K.R., Wall G.W., Wang G. (2012) Field-based phenomics for plant genetics research. Field Crop Res. 133: 101-112.

Zamir D. (2013) Where have all the crop phenotypes gone? PLoS Biol. 11 (6) e1001595.

Clark R.T., MacCurdy R.B., Jung J.K., Shaff J.E., McCouch S.R., Aneshansley D.J., Kochian L.V. (2011) Three-Dimensional Root Phenotyping with a Novel Imaging and Software Platform. Plant Physiol. 156: 455-465.

Cobb J.N., DeClerck G., Greenberg A., Clark R., McCouch S. (2013) Next-generation phenotyping: requirements and strategies for enhancing our understanding of genotype–phenotype relationships and its relevance to crop improvement. Theor. Appl. Genet. 126: 867-887.

Dhondt D., Wuyts N., Inze D. (2013) Cell to whole-plant phenotyping: the best is yet to come. Trends Plant Sci. 18: 428-439.

Famoso A.N., Clark R.T, Shaff J.E., Craft E., McCouch S.R., Kochian L.V. (2010) Development of a novel aluminum tolerance phenotyping platform used for comparisons of cereal aluminum tolerance and investigations into rice aluminum tolerance mechanisms. Plant Phisiol. 153: 1678-1691.

Furbank R.T., Tester M. (2011) Phenomics – technologies to relieve the phenotyping bottleneck. Trends Plant Sci. 16: 635-644.

Houle D., Govindaraju D., Omholt S. (2010) Phenomics: the next challenge. Nat. Rev. Genet. 11: 855-866.

Lobet G. (2013) http://www.plant-image-analysis.org/ (accessed September 2013).

Lobet G., Pagès L., Draye X. (2011) A novel image-analysis toolbox enabling quantitative analysis of root system architecture. Plant Physiol. 157: 29-39.