



ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

تولید شبه ماده نمو بر چه در یک جهش یافته گلدار گیاه دو پایه silene

latifolia گل های غیر جنسی

خلاصه

ژن های sistm2, sistm1 (ارتولوگ های مرستم های ساقه آراییدوپسیس) و SICUC

(یک ارتولوگ کوتیلدون 1 به شل cuc2, cup) از گونه های دو پایه silene latifolia

پیشنهاد شده است که الگو موقوف سازی مادگی در نمو گل ها را کنترل می کند. در یک

جهش یافته از silene latifolia (k.34) هیپ نری را تولید نمی کند اما فقط گل های بدون

جنسیت و ماده های ناقص (شبه ماده) تولید می کند هر دو متعلق به یک فرد، مادگی به طور

کامل در گل های بدون جنسیت متوقف شده است و در گل های شبه ماده به طور جزئی

متوقف شده است. برای تشخیص اینکه این 2 فنوتیپ اپی ژنتیک در نمو مادگی توسط تغییرات

در بیان sistm , sicuc ایجاد می شوند ما هیبریداسیون آزمایشگاهی با پراب های , sicuc

sistm اجرا کرده ایم. ما دو الگوی متفاوت از بیان ژن در شکوفه های گل قبل از شروع تمایز

فنوتیپی یافته ایم که مشابه بیان معکوس 2 ژن توصیف شده در گیاهان نر و ماده نوع وحشی است. در شکوفه های جوان گل k.34، 14 درصد از ساختارهای نمو یافته ماده را نشان می دهند و بقیه نر تعیین می شوند این نسبت با نسبت گل های شبه ماده به بدون جنسیت برابر است سرانجام توسط گیاهان k.34 تولید می شود. همان نسبت (7-16) تنها در جهش یافته های اصلی یافت نمی شود بلکه در نسل های اول و دوم بک کراس و در کلون های رویشی جهش یافته اصلی نیز یافت می شود. بنابراین الگوهای بیان *sistm* , *sicuc* معکوس در k.34 برابر الگوهای موقوف سازی مادگی در نوع وحشی هستند، پیشنهاد می کند که جهش یافته های مسئول برای 2 ژنوتیپ جهش یافته مخالف *sistm* , *sicuc* عمل می کند.

مقدمه

ژن های مریستم ساقه (STM) و کوتیلیدون به شکل CUP در نمونه نهاندانگان آرابیدوپسیس تالیانا در عملکرد مریستم ساقه و گل مرکزیت دارد. در آرابیدوپسیس ژن STM که یک

فاکتور رونویسی قوی و knotted1 پروتئین همودایفر را کد می کند برای حفظ سلول های تمایز نیافته در مریستم ساقه و برای تصحیح تکثیر سلول ها در مریستم گل مورد نیاز است. ژن STM در مریستم رأسی ساقه، گل آذین و مریستم های گل بیان می شود همچنین در بافت های آوندی و در حدود بین حلقه ها بیان می شود.

رونوشت های STM در پریموردیوم های اولیه گل تنظیم می شوند.

ژن های CUC (CUC3,CUC2,CUC1) اعضای خانواده NAC, ATAF, cuc, NAM) از فاکتورهای رونویسی را کد می کنند. آن ها در انتشار و حفظ اندام های مرزی در رأس ساقه، گل آذین و مریستم های گل شرکت دارند بیان ژن cuc در یک یا دو ردیف از سلول هایی که با حدود هر اندام پریموردیوم برابرند، اتفاق می افتد. Breuil نشان داده است که cuc2 با یک فقدان تکثیر سلول خصوصا در حدود حلقه ها در ارتباط است لوپ های feedback منظم بین ژن های STM, cuc در مریستم های رأسی جنین آرابیدوپسیس وجود

دارد. $sistm2$, $sistm1$ Zlurora (اتهلوگ های STM) و $sicuc$ (ارتولوگ $cuc2, cuc1$) را در گیاه دو پایه سیلنه تشخیص داده است. آن ها هییدریداسیون آزمایشگاهی با $sicuc$, $sistm$, $(sistm2, sistm1)$ روی گل های نر جو و گل های ماده انجام داده اند و تفاوت هایی بین گل های نر و ماده در الگو بیان ژن هایشان یافته اند. در گل های ماده در سطح 2 رونوشت های $sistm$ در قمست مرکزی مریستم (ناحیه مادگی) بیان می شوند اما رونوشت های $sicuc$ اینگونه نبودند. در گل های نر در همان سطح رونوشت های $sistm$ در ناحیه مادگی غایب بودند در حالی که رونوشت های $sicuc$ حاضر بودند. بنابراین به نظر می رسد که $sicuc$, $sistm$ الگوی موقوف سازی مادگی را در سیلند در سطح اولیه هم در ماده و هم در نر کنترل می کند.

در سیلنه، گیاهان نر یک جفت کروموزوم جنسی دو شکل (Y, X) دارند در حالی که ماده ها یک جفت کروموزوم جنسی هم شکل دارند (X, X) در گل های نر حضور کروموزوم Y منجر

به توقف نمودگی و ساخت یک ساختار شبه عصا می شود (بیشتر از 5 برچه ی لقاح یافته در گل های ماده یافت شده است). مسیر توقف سازی نمو برچه ممکن است تحت کنترل تنظیم اپی ژنتیکی باشد، این موضوع توسط تجزیه و تحلیل های جهش یافته آندروهرمافرودیتیک تحریک شده با تیمار 5-آزاسیتیدین (معرف دمتیلاسیون) و توسط تجزیه و تحلیل جهش یافته های هرمافرودیت حاصل از حذف کروموزوم y نشان داده می شود. جهش یافته k.34 حذف کروموزوم y در سیلند یک فنوتیپ گل دو شکلی دارد که به عنوان بدون جنسیت بیان می شود (شکل 1a) و گل های ماده ناقص (شبه ماده) (شکل 1-b). مادگی گل های شبه ماده 1 تا 3 برچه دارند که و هر برچه عادی و بالا راست کروموزوم y در k.34 دارای 2 حذف در ناحیه های توقف سازی مادگی و ارتقا پرچم است. ممانعت کامل از پرچم در k.34 به علت حذف ناحیه ارتقا پرچم است. متعاقباً همه ی گل های k.34 فاقد پرچم های بالغ هستند حذف جزئی

در ناحیه ممانعت مادگی در k.34 ممکن است به طور کامل مادگی متوقف شده در گل های بدون جنسیت تولید کند و مادگی جزئی متوقف شده در گل های شبه ماده.

هدف مطالعه ما تعیین این است که آیا ممانعت اپی ژنتیکی از نمو مادگی به علت تغییرات در

الگوهای بیان *sicuc* , *sistm* در گل های k.34 است. اگر الگوهای بیان *sicuc* , *sistm*

در k.34 با الگوهای ممانعت مادگی در نوع وحشی برابر باشند جهش یافته ها مسئول 2 ژنوتیپ

جهش یافته k.34 مخالف *sicuc* , *sistm* عمل می کنند.

مواد و روش ها

Silene latifolia یک نمونه از گیاهان دو پایه است که گل های تولید می کند که تنها یک

جنس روی هر گیاه است. تعیین جنسیت در سلیقه به طور کلی توسط کروموزوم های جنسی دو

شکلی (xx برای ماده و xy برای نر) تعیین می شود. *Inbred* سیلند *line k* توسط 12 نسل از

جفت های هم نیا تولید می شود این *line* گیاهان سالم آماده می کند. جهش k.34 درون

line k به طور خود به خودی ایجاد می شود. K.34 2 نوع گل دارد وقتی که شکل های

عادی برگ ها، stem ها و اندام های perianth باشد. یک فنوتیپ گلدار بدون جنسیت است

و دیگری یک گل ماده ناقص (شبه ماده) است. همه آزمایشات با اولاد حاصل از بک کراس

k.34 با نرهای نوع وحشی انجام شده است. شکوفه های گل k.34 < 0.25 میلی متر (<

سطح 5) در طول تحت یک میکروسکوپ استرو مشاهده شده اند و طول مادگی و گلبرگ ها

در نرهای نوع وحشی، ماده های نوع وحشی و گل های بدون جنسیت و گل های شبه ماده

اندازه گیری شده است کل RNA از شکوفه های گل جوان با استفاده از مینی کیت

RNeasy استخراج شده اند. RNA (100 ng) رونویسی معکوس شده است به CDNA با

استفاده از یک رشته ابتدایی کیت سنتز CDNA. پراب های استفاده شده ژن های

SICUC، SISTM2، با پرایمرهای خاص SICUC (3'-GAAA)

3'-CCAG-SICUCR1، CTGCTAGGGCTACTGA-5.

SICUCF2 (AGCGTTCGACTTCTTC-5' و پرایمرهای خاص SISTM2

3'-ATTCTTCGGGCAGTCGTTA-5', SISTM1-2 R1, 3'-)

(GATGGCGAAGGCGAAGAC-5',SISTM2F1 بدون منطقه های حفاظت

شده بودند. درج تقویت شده برای دیگوکسی ژن پراب های Antisense, sense, RNA

بایک برچسب DIG RNA می شدند. شکوفه های گل فوراً در محلول FAA ثابت می شدند

(3/7 درصد فرمالدهید، 50 درصد اتانول، 5 درصد استیک اسید) در دمای 4 درجه سانتی

گراد. شکوفه های تثبیت شده در سری های اتانول (25، 50، 75، 100 درصد) (هر مرحله به

مدت 20 دقیقه در 4 درجه سانتی گراد) دهیدراته می شدند و در مدت یک شب در اتانول 10

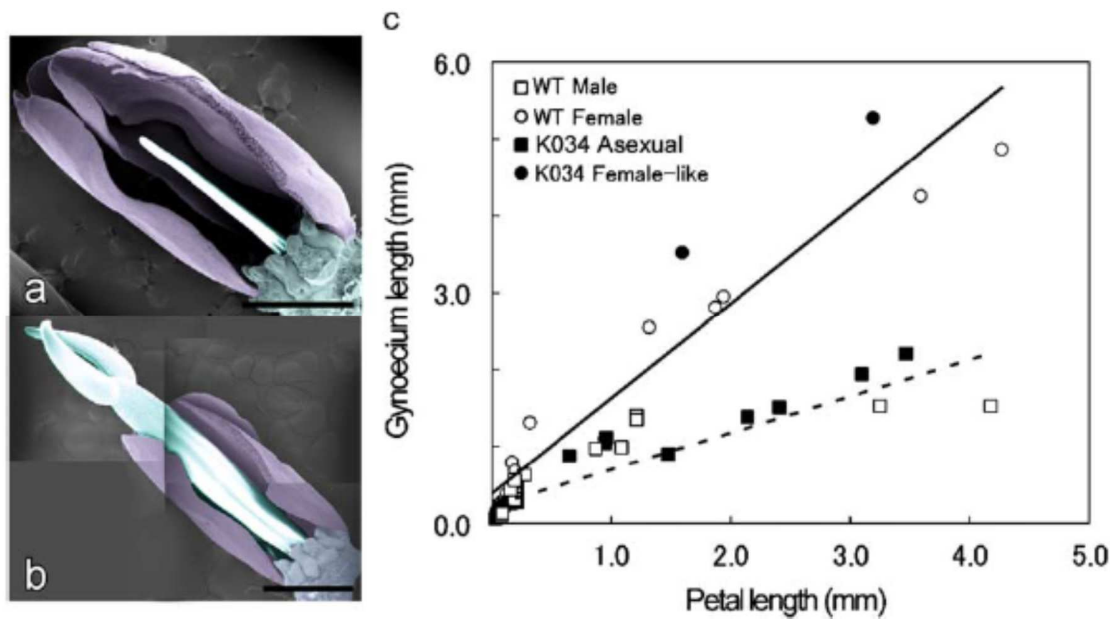
درصد حفظ می شدند. نمونه ها در HISTOSEC خوابانده می شدند. قطعات (8 میکرومتر)

با یک میکروتوم بریده می شدند و روی اسلایدهایی در 37 درجه در طول شب سوار می

شدند. نوشته Kazama برای هیبریداسیون آزمایشگاهی (با اندکی تغییرات) استفاده می شود.

هیبریداسیون در یک اتاق مرطوب در طول یک شب در دمای 55 درجه سانتی گراد اجرا می

شود.



شکل 1- یک جهش یافته بدون جنسیت و شبه ماده k.34 از *silene latifolia* میکروگراف های

الکترونی نگاره از یک گل بدون جنسیت (a) و یک گل شبه ماده (b). (c) الگوهای طویل سازی برچه پس

از سطح 5 در نوع وحشی و گل های k.34 توسط نقشه طول مادگی (mm) در مقایسه با طول گلبرگ

(mm). خط سقوط (خط تیره ها) نوع وحشی نر (سریع های باز) و گل های بدون جنسیت (مربع های پر)

توسط معادله $y=0.47x+0.28$ توصیف می شود ($r=0.90$). خط سقوط (خط توپر) از ماده نوع وحشی

(دایره های باز) و گل های شبه ماده k.34 (دایره های پر) توسط معادله $y=1.23x+0.42$ ($r=0.96$)

توصیف شده است.

نتایج

گل های نر نوع وحشی از سیلند 10 تا پرچم و یک مادگی متوقف شده در شکل یک عصای

متمایز نیافته دارد. گل های ماده نوع و وحشی سیلند یک مادگی شامل 5 برچه لقاح یافته است و

فاقد پرچم های بالغ است. K.34 اولین جهش یافته توصیف شده در سیلند است که گل های

بدون جنسیت و گل های ماده ناقص در یک فرد دارد. گل های بدون جنسیت بالغ k.34 پرچم

های ناقص و یک مادگی متوقف شده دارد (شکل 1a). گل های شبه ماده 1 تا 3 (اکثراً 2)

خامه دارد به طور عادی 5 تا در گل های ماده نوع وحشی وجود دارد برچه های گل های شبه

ماده شبیه به ماده های نوع و وحشی بودند (شکل 1b).

مادگی k.34 2 الگوی ممانعت کننده دارد وقتی که همه ی پرچم ها به طور کامل متوقف

شدند مادگی اولین گل ها در گل آذین متمایل به ممانعت جزئی است که دارای یک تخمدان

کاهش یافته و 2 خامه است (گل های شبه ماده). فراوانی کل مادگی متوقف شده (مادگی گل های بدون جنسیت) در گل های روی شاخه های بعدی گل آذین افزایش یافته است.

ما طول مادگی را در نوع وحشی و شکوفه های گل k.34 بعد از سطح 5 اندازه گیری کرده ایم (وقتی پریموردیوم گلبرگ و پرچم بیرون می آید) و آن ها را در مقابل طول گلبرگ رسم می کنند (شکل 1c) زیرا طول گلبرگ در گل ها با اندازه های دیگر گل مرتبط است. ما یک ارتباط مثبت بین طول مادگی و طول گلبرگ در هر دو نوع وحشی و k.34 پس از سطح 5 شکوفه های گل مشاهده کرده ایم. در افراد نوع وحشی طویل سازی برچه در انواع نر و ماده حاصل می شود.

در سطح 9 یا بیشتر ماده های نوع وحشی، طویل سازی برچه در گل ها با گلبرگ ها بیشتر از 0/2 میلی متر طول تسریع می شود در آن زمان مادگی نوع وحشی ماده خامه ها را از نوک های برچه تولید می کند. در k.34 ما 2 نوع الگو طویل سازی برچه مشاهده می کنیم مشابه آن ها

در نوع وحشی نر و ماده اولین تفاوت های مورفولوژیکی جنسی در سطح 5 در سیلند ظاهر می شود. شبیه به k.34 که قبلا در سطح 5، 2 نوع برچه دارد وقتی که تفاوت های مورفولوژیکی جنسی ظاهر می شوند.

برای تعیین که آیا این 2 فنوتیپ اپی ژنتیک از نمو مادگی به علت تغییرات در الگوهای بیان Sicuc, sistm2, sistm1 در k.34 است، ما بیان Sicuc, sistm2, sistm1 توسط هیبریداسیون آزمایشگاهی در گل های جوان قبل از سطح 5 تجزیه و تحلیل می کنیم. سطوح نمو گل های نوع و وحشی توسط Farbos , Grant توصیف شده است. در سطح 2 هیچ پریموردیوم گلی قابل رؤیت نیست و پریموردیوم (دورترین نقطه) از 2 برگچه، در سطح 3 پریموردیوم کاسبرگ در کناره های مریستم گل ظاهر می شود. سطح 4 توسط بیرون آمدن همه 5 کاسبرگ قبل از ظهور پرچم ها و گلبرگ ها تعریف می شود. در سطح 5، تمام پریموردیوم اندام گل شکل گرفته اند. در گل های نوع وحشی در سطح 2، (sistm2,

sistm1) sistm به طور شفاف در مرکز مریستم گل بیان می شوند و در نخستین پریموردیوم کاسبرگ میانی تحت تنظیم قرار می گیرد (شکل b,2a). در گل های نر نوع وحشی نواحی sistm منفی درون توده های لکه های تیره از سلول ها در موقعیت هایی که برای پریموردیوم مادگی در انتهای سطح 3 مورد انتظار است تحریک می شود (شکل m,I,2e) در مقایسه sistm به بیان شدن در موقعیت های مرکزی مریستم گل ماده نوع وحشی ادامه می دهد. (شکل n,j,2f).

پس از شروع همه پریموردیوم اندام گل ما هنوز بیان باقیمانده شان را در پایه های پریموردیوم اندام در گل های نر و ماده نوع وحشی نیافته ایم (شکل n,2m). ما همچنین بیان شان را در ناحیه مرکزی مادگی گل ماده نوع وحشی در حال نمو مشاهده کرده ایم (شکل 2n). تخمدان ها از کنار این ناحیه نمو یافته اند.

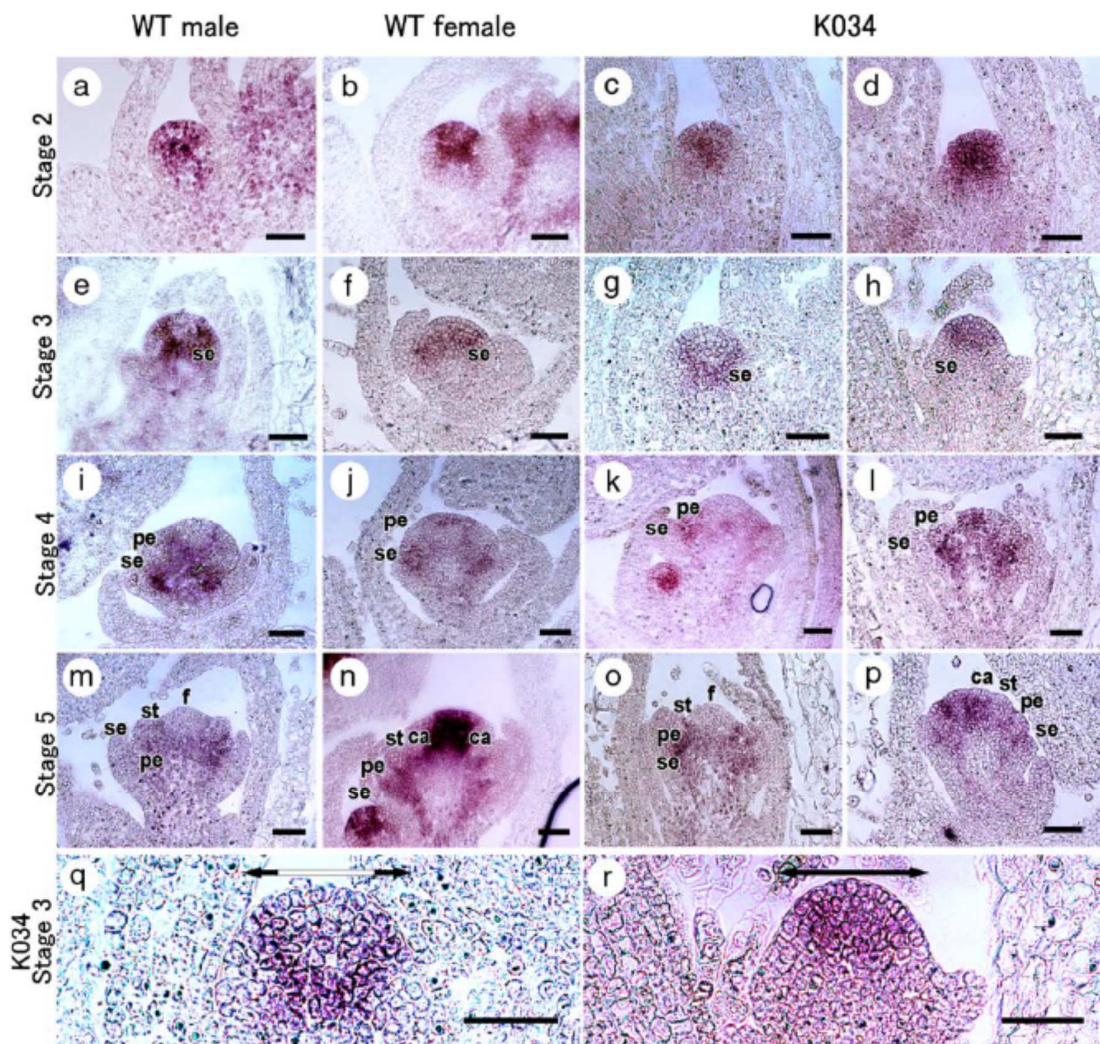
در سطح 2 گل های k.34, sistm در مرکز مریستم گل بیان می شوند و در کناره هایشان تحت تنظیم قرار می گیرد (شکل d,2c). تنظیم برای پیشبرد رشد خارجی پریموردیوم کاسبرگ شبیه به نوع وحشی ظاهر می شود (شکل d-2a). در سطح 3، اکثر گل های k.34 ناحیه های Sistm منفی در موقعیت های مرکزی مریستم گل دارند (شکل q,2q) اگرچه برخی ندارند (شکل r,2h). متعاقباً ما دو الگوی بیان k.34 مشاهده می کنیم (شکل p,o,l,k,h,2q). در همه 32 گل امتحان شده، 27 گل در نوع نر (شکل 2e,l,m) در حالی که 5 گل در نوع ماده (شکل 2f,j,n) طبقه بندی شده اند. STM در آراییدوپسیس برای تکثیر به موقع سلول ها در مریستم گل مورد نیاز است. پیشنهاد می شود که مادگی گل K.34 بدون بیان sistm باز داشته می شود (شکل عصاها ظاهر می شود) وقتی که مادگی با بیان sistm مادگی بالغ با 1 تا 3 برچه می شود. در گل های نوع وحشی جوان، رونوشت sicuc قابل کشف بودند در حدود بین حلقه های پریموردیوم (شکل 3a,b,d,e,g,h). در سطح 3 گل

های ماده، رونوشت های sicuc در حدود حلقه قابل کشف بودند اما آن ها در نوک مریستم پیدا نمی شدند (شکل 3e). در گل ها در سطح 4، رونوشت ها بین پریموردیوم کاسبرگ و گلبرگ و بین پریموردیوم گلبرگ و پرچم قابل کشف بودند (شکل 3g,h). در سطح 5 مرز اندام جنسی نر- ماده به طور شفاف قابل رویت بود زیرا sicuc در حدود بین حلقه های سوم و چهارم گل های نر و ماده نوع وحشی پیدا می شد (شکل 3j,k). در سطح 5 گل های ماده sicuc mRNA همچنین در برخی تخمدان های آینده یافت می شد (شکل 3k). این نتایج در گل های نر و ماده نوع وحشی اغلب در تحقیقات zluvova قابل تشخیص هستند.

در گل های k.34 باین سیسگنال sicuc در حدودی برابر با حلقه های کاسبرگ، گلبرگ، پرچم و مادگی تعیین می شود (شکل 3c,f,I,l). الگوهای بیان sicuc اغلب هم در مریستم های گل نوع وحشی و هم در گل های k.34 در همه سطوح امتحان شده به جز سطح 3 قابل تشخیص اند گل های k.34، 2 الگو بیان sicuc شبیه به الگو بیان آن ها در نرها و ماده های

نوع و حشی در سطح 3 دارند (شکل 3f,m,n). این تغییر در الگوهای بیان sicuc در بیان های

sistm نوع نر و نوع ماده در نسبت 27:5 شرکت دارد.



شکل 3. بیان sicuc در نمو نوع وحشی و گل های k.34 گل های نر نوع وحشی (a,d,g,j) و ماده

(b,e,h,k) نوع نر k.34 و نوع ماده آن (c,f,l,i). گل های k.34 محتوی 2 نوع بیان sicuc در سطح 3

(m,n) توسعه عکس های راست و چپ در [f]. یک نوع بیان sicuc را در بخش مرکزی مریستم گل نشان می دهد (ردیف های مشکی در m) در حالی که دیگران نشان نمی دهند (ردیف های سفید در n) تعداد در عکس (m) و (n) حلقه های گل مربوط به آینده را نشان می دهد. Se (کاسبرگ)، pe (گلبرگ)، st (پرچم)، Ca (برچه).

بحث و بررسی

نرها و ماده های نوع وحشی 2 تفاوت مورفولوژیکی در مادگی نشان می دهند، یکی وجود برچه و دیگری اندازه حلقه ی چهارم است. sicuc , sistm به نظر می رسد که در این تمایز شرکت دارند زیرا الگوهای باین این ژن ها در مادگی بین نرها و ماده های نوع وحشی متفاوت است. بنابراین الگوهای بیان sicuc , sistm ممکن است وجود برچه ها یا اندازه حلقه چهارم را تعیین کند. از سوی دیگر، ما نشان داده ایم که k.34 گل های بدون جنسیت (بدون برچه) و گل های شبه ماده (یک تا 3 برچه) تولید می کند اگرچه گل های k.34 دارای حلقه های

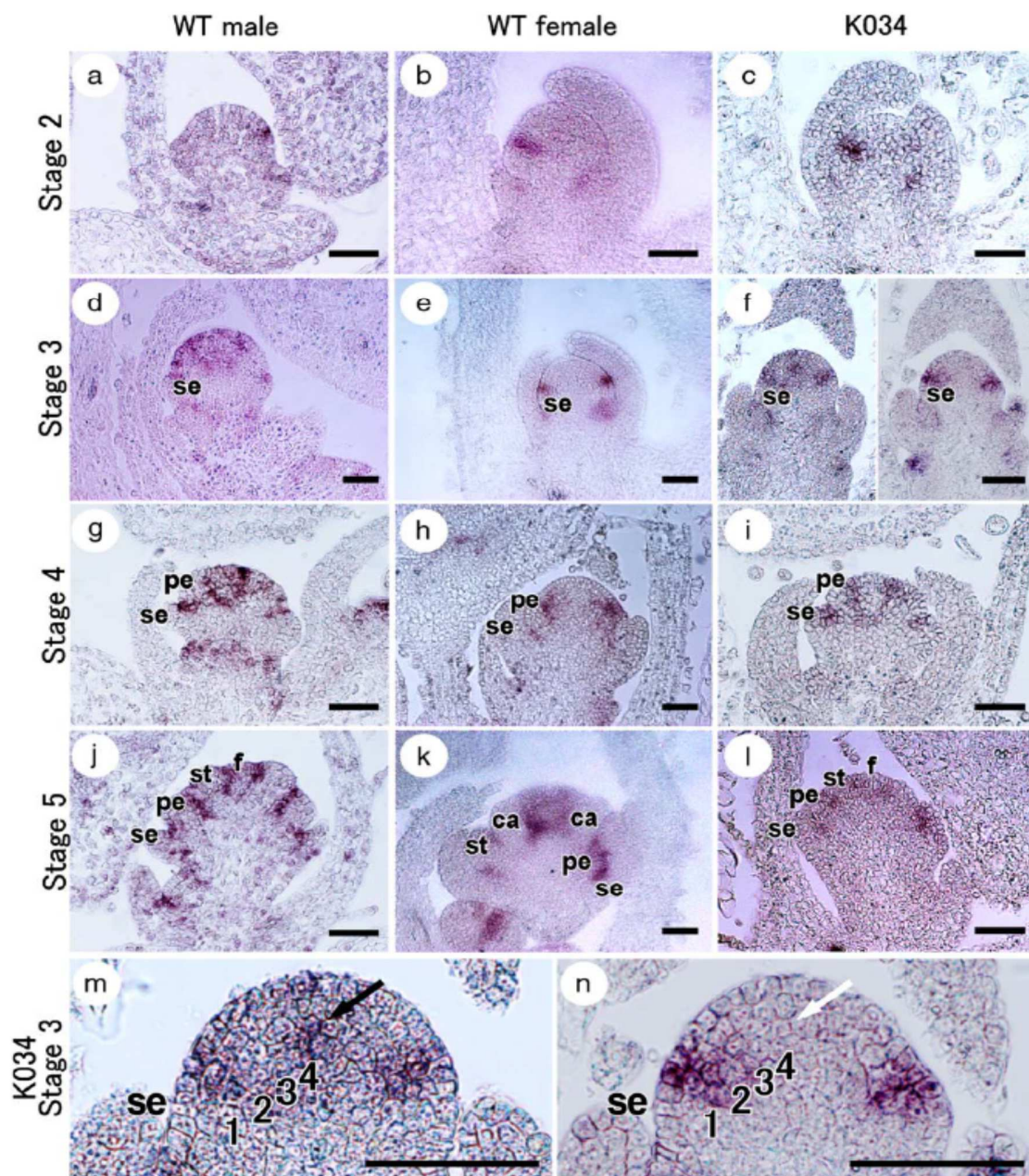
چهارم کمی هستند شبیه به همان ها در نرهای نوع وحشی. علاوه بر این k.34، 2 نوع الگوی بیان *sistm* , *sicuc* دارد. بنابراین مسیر *sistm* , *sicuc* در نمو برچه ها شرکت دارند و نه در اندازه حلقه چهارم.

از آنجائیکه *sistm1*, *sistm2* تقریبا 80 درصد آمینو اسید سهم دارد و الگوهای مشابهی را نشان می دهد، ما هیبریداسیون آزمایشگاهی با استفاده از یک پراب *sistm2* که هم با *sistm1* و هم با *sistm2* هیبرید شده انجام دادیم. نتایج ما گل های نر و ماده نوع وحشی را بوجود آورد که مطابق با یافته های *zluvoVZ* است به جز بیان *sistm* در ناحیه مرکزی مادگی در حال نمو از گل های ماده نوع وحشی در سطح 5 این تفاوت بین این مطالعات ممکن است به خاطر تفاوت در پراب ها باشد. ما پراب از *sistm2* استفاده کردیم در حالی که آن ها از پراب *sistm1* استفاده کردند.

گل های ماده و نر به ترتیب 14/3 درصد و 85/7 درصد از شکوفه های گل جوان k.34 را تشکیل می دهند (از مجموع 32 گل) از میان آنها ما توسط هیبریداسیون آزمایشگاهی , sicuc , sistm تجزیه و تحلیل می کنیم. تجزیه و تحلیل الگوهای طویل سازی برچه در همه ی شکوفه های گل در شکل 1c در یک موضوع ثابت 3 گل شبه ماده (13 درصد) و 23 گل بدون جنسیت (87 درصد) نشان می دهد. این نسبت اغلب برای آن ها در گل های شبه ماده در گیاهان k.34 که برای 1 ماه شکوفه می کند قابل تشخیص است در تکثیرهای مقطعی و در فرزندان نوع k.34 در نسل های بک کراس اول و دوم. بنابراین الگوهای بیان sicuc , sistm با الگوهای توقف سازی برچه در k.34 برابر است.

در k.34 ما 2 نوع الگوی بیان sicuc , sistm (قبل از هر تمایز مورفولوژیکی) تشخیص داده ایم که شبیه به آنها در نرها و ماده های نوع وحشی بودند. فراوانی انواع گل در اولاد نوع k.34 از بک کراس k.34 با نرهای نوع وحشی بدست آمده که اغلب از k.34 اصلی هستند.

این نتایج از امکان chimerism در k.34 جلوگیری می کند. 2 نوع الگوی بیان , sicuc , sistm در گل های k.34 به نظر نمی رسد که حاصل از تمایز سلولی بین گل های k.34 باشد. ما هیچ فنوتیپ بین جنسی بین گل های بدون جنسیت و گل های شبه ماده به جز در تنوع تعداد برچه مشاهده نکردیم. به علاوه ما هیچ الگوی بیان بین جنسی , sistm , sicuc در k.34 مشاهده نکردیم. این پیشنهاد می کند که جهش ها مسئول 2 ژنوتیپ جهش یافته در k.34 مخالف مسیر درگیر در , sistm , sicuc عمل می کند. روی کروموزوم y k.34 هم ناحیه متوقف سازی مادگی و هم ناحیه ارتقا پرچم حذف هایی دارند. ما باور داریم که تنها حذف در ناحیه متوقف سازی مادگی در فنوتیپ مادگی دو شکل در k.34 شرکت دارد. برای کشف جهش اپی ژنتیک در مادگی سیلند مطالعات بیشتر حذف ژن در k.34 ضروری است.



شکل 4. بیان SICUC در نمو گل‌های نوع وحشی و K034. گل‌های نر نوع وحشی (a,d,g,j) و گل‌های ماده نوع وحشی (b,e,h,k): گل‌های K034 شامل دو نوع بیان K034 (c,f,i,l). یک نوع SICUC بیان را در سطح 3 (nom {بزرگی عکسهای راست و چپ در f}).

قسمت مرکزی مریستم گل نشان می دهد(ردیف های سیاه در m) در حالی که بقیه اینگونه نیستند(ردیف

های سفید در n).

این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

لیست مقالات ترجمه شده ✓

لیست مقالات ترجمه شده رایگان ✓

لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI ✓

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی