بیوتکنولوژی براسیکا: پیشرفت در بیولوژی سلولی و مولکولی (قسمت دوم)

Brassica Biotechnology: progress in cellular and molecular biology (part 2)

مهتاب صمدی
Samadi.m@arc-ordc.ir
کارشناس ارشد بیوتکنولوژی گیاهی، مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

امتزاج سلول سوماتیکی (Somatic Cell Fusion)

با امتزاج پروتوپلاستی می‌توان ترکیبات هیبرید یا سیبرید (cybrid) از گونه‌های ناسازگار جنسی ایجاد نمود، بنابراین انتقال ژن از یک گونه خویشاوند به گونه دیگر ناسازگار از نظر جنسی بدون تغییر ژنتیکی تسهیل می‌شود. این فن آوری نه تنها امکان دورگ‌گیری درون جنسی، بلکه تولید هیبریدهای بین جنسی و سیبریدها را فراهم کرده است.

صفات مطلوب مختلفی از والدین به هیبرید و سیبریدها با استفاده از این تکنولوژی منتقل شده است. یکی از موفقیت‌های امتزاج پروتوپلاستی تولید هیبرید مقاوم در برابر بیماری بوده است. هیبریدهای سوماتیکی که به پوسیدگی نرم باکتریایی مقاوم هستند بوسیله امتزاج پروتوپلاست‌های *B . rapa* و *B. oleracea* ایجاد شده است. هیبریدهای مقاوم به عامل ساق سیاه (*Leptosphaeria maculans*) بوسیله امتزاج پروتوپلاست‌های *B. napus* و *Sinapis arvensis* (خویشاوند وحشی *B. napus*) ایجاد شده‌اند که کاملا بارور بوده‌اند. هیبریدهای بین‌گونه‌ای *B. juncea* و *B. spinescens* نیز بوسیله ترکیب پروتوپلاست‌های مزوفیل به وجود آمدند. هیبریدها ویژگی‌های ریخت شناسی و کروموزومی هر دو والدین را داشتند، اما دارای گرده عقیم بودند.

در بررسی‌های انجام شده، لاین‌های *B. napus* با دوره رشد سریع از طریق امتزاج پروتوپلاست بین دو گونه *B. oleracea* و *B. rapa* ایجاد شده‌اند که بذور آنها دارای ترکیبات اسید چرب جدید بوده است.

دورگ‌گیری سوماتیکی بین دو گونه *B. napus* و *Thlaspi caerulescens* هیبریدی با توانایی تجمع بالا فلزات ایجاد کرده است که سطوح بالای روی را تحمل می‌کند. یا در تحقیقی دیگر هیبریدهای سوماتیکی بین جنسی با استفاده از ترکیب پروتوپلاست مزوفیلی *Trachystoma ballii* و *B. juncea* تولید شده است و هیبریدهای حاصله از نظر ریخت‌شناسی بینابین والدین خود بودند. هرچند با بک‌کراس هیبریدهای دارای گرده عقیم با *B. juncea* بذر سالم به دست آمد. در مطالعات دیگر توانسته‌اند هیبریدهای سوماتیکی بین *B. napus* و *Lesquerella fendleri* توسط امتزاج پروتوپلاست تولید نمایند.

امتزاج پروتوپلاست بین دو گونه *B. oleracea* و *Moricandia nitens* سبب ایجاد یک سیستم فتوسنتزی بینابینی C3-C4 در گونه وحشی هیبرید بین جنسی شد که بیان کننده صفت تبادل گاز در والدین بوده است. یکی دیگر از کاربردهای مهم امتزاج پروتوپلاست، تولید لاین نر عقیم است.

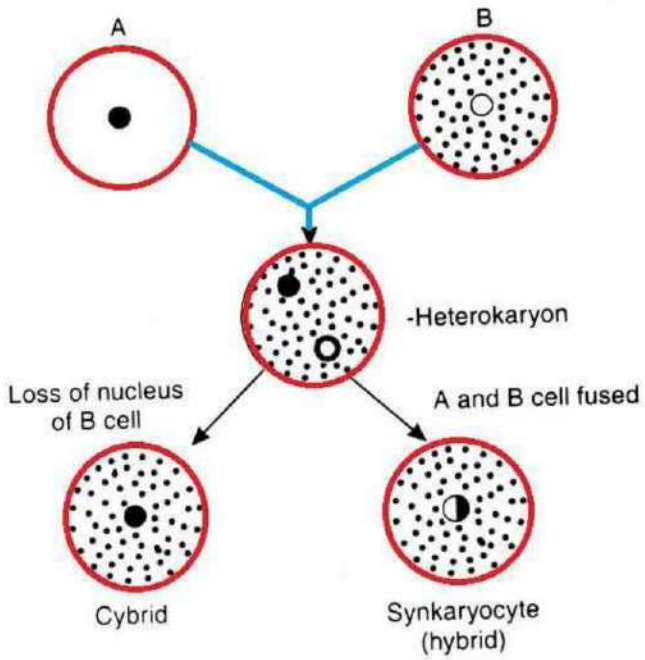
هیبریدهای سوماتیکی نرعقیم مقاوم در برابر سرما، *B. napus*، بوسیله امتزاج اینبرد لاین حساس به سرما و نرعقیم Ogura (*B. oleracea* var. botrytis) و کانولا بارور مقاوم به سرما (*B. rapa* cv. Candle) ایجاد شده است. سیبریدهای نرعقیم نیز توسط ترکیب پروتوپلاست‌های *B. napus* و *B. tournefortii* ایجاد گردیده‌اند.

سیبرید نرعقیمی سیتوپلاسمی از گونه *B. oleracea* بوسیله انتقال سیتوپلاسم عقیم Anand (گونه‌وحشی *B. tournefortii*) از *B. rapa* به *B. oleracea* تولید شده است. نر عقیمی سیتوپلاسمی (CMS) متحمل به سرما کلم (*B. oleracea* spp. Capitate) از طریق ترکیب پروتوپلاست‌های برگ از کلم بارور و بروکلی مقاوم به سرما و نرعقیم Ogura تولید شده است. دیگر کاربرد جالب امتزاج پروتوپلاستی، ترکیب سیستم‌های نرعقیم و بازگرداننده باروری برای تولید هیبریدهای هتروتیک است. این فن آوری در *B. juncea* با استفاده از امتزاج پروتوپلاست با *Moricandia arvensis* با عملکرد بازگرداننده باروری در *B. juncea* بکار گرفته شد. با این حال، این لاین‌های CMS کلروتیک بودند. امتزاج پروتوپلاست نرعقیم *B. juncea* با *B. juncea* نرعقیم سبز منجر به تولید گیاهان نرعقیم سبز شد. امتزاج پروتوپلاست بین *Arabidopsis thaliana* و *B. napus* هیبریدهای نامتقارن ایجاد کرد که سه تا از این هیبریدها نرعقیم بودند. گیاهان نرعقیم نامزدهای مناسب برای مطالعه ژن‌های درگیر در CMS خواهند بود زیرا ژنوم *A. thaliana* توالی یابی شده است و از طرفی عملکرد ژنومی هیبریدهای سوماتیکی گونه‌های *A. thaliana* و *Brassica* spp. شناخته شده است.

تنوع سوماکلونی (Somaclonal Variation)

تنوع ژنتیکی در بهبود محصولات زراعی و ایجاد واریته‌های جدید بسیار مهم است. تنوع سوماکلونال ابزار ارزشمندی در اصلاح گیاهان است که در آن تنوع حاصله در گیاهان باززایی شده کشت بافت از سلول‌های سوماتیکی می‌تواند در ایجاد محصولات با صفات جدید استفاده شود. با استفاده از فشار انتخاب در طول کشت بافت ایجاد سوماکلونی‌های مقاوم در برابر تنش‌های زنده و غیر زنده نیز امکان پذیر شده است. تنوع سوماکلونال همراه با تغییرات در تعداد و ساختار کروموزوم، موتاسیون نقطه‌ای و متیلاسیون DNA است. تنوع سوماکلونال حاصل از مریستم‌های ریشه نابه‌جا در گل کلم و گیاهان هاپلوئید حاصل از کشت بساک در *Brassica napus* مشاهده شده است. در گیاهان حاصل از کشت بساک *B. juncea* var. Rai-5، تنوع در خصوصیات زراعی، محتوای روغن و ترکیب اسید چرب مشاهده شده است. همچنین واریته‌های با رنگ زرد بذر در نتاج گیاهان باززایی شده از ریزنمونه‌های کوتیلدونی *Brassica juncea* cv. TM-4 بدست آمده است.

در آزمایشی تنوع سوماکلونال در گیاهان نسل R1 خردل هندی (*B. juncea* cv. Prakash) ایجاد شده از طریق جوانه حاصل از کالوس‌های کوتیلدونی مورد بررسی قرار گرفتند. گیاهان خردل هندی حاصله تنوع زیادی در تمام خصوصیات مورد ارزیابی داشتند. برخی از گیاهان عملکرد بیشتر نشان دادند و از نظر سایر خصوصیات زراعی مهم در مقایسه با گیاهان شاهد قابل توجه بودند. تنوع سوماکلونال منجر به انتخاب لاین‌های پاکوتاه جهش یافته و لاین اصلاحی true در نسل R2 شدند. تنوع سوماکلونال در *B. Juncea* عملکرد بالا و مقاومت زیادی در برابر ریزش غلاف داشته که پس از انتخاب بطور تجاری معرفی گردیدند. همچنین بررسی‌ها و تلاش‌ها در فشار انتخاب در مطالعات in vitro سوماکلونال‌های مقاوم به نمک در *B. juncea* نتایج مثبتی داشته است.



منبع

Cardoza, V., & Stewart Jr, C. N. (2004). Invited review: Brassica biotechnology: progress in cellular and molecular biology. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, *40*(6), 542-551.