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

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

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

نشانگرهای مولکولی و اصلاح براسیکا

تقریباً تمام روش‌های مدرن اصلاح گیاهان بر نشانگرهای مولکولی متکی است که استفاده‌های بی‌شمار دارند. ظهور نشانگرهای مولکولی مختلف امکان ارزیابی تنوع ژنتیکی، شناسایی ژنوتیپ‌ها، تجزیه فیلوژنتیک، تعیین نوع گیاهان تکثیر یافته به‌صورت کلونی یا ریزازدیادی و همچنین انتخاب به کمک نشانگر و به‌نژادی را امکان پذیر کرده است.

نشانگرهای مولکولی برای تائید صحت و درستی ژنتیکی گیاهان درون شیشه‌ای(*in vitro*)

همانطور که عنوان گردید تنوع سوماکلونال ممکن است در گیاهان باززایی شده از کشت بافت رخ دهد. محدودیت عمده، در تکثیر کلونی ارقام یا کلون‌های با تنوع نامطلوب است. چندین نشانگر مولکولی برای ارزیابی درستی ژنتیکی گیاهان درون آزمایشگاهی مانند ایزوزیم و RFLP استفاده شده است. به عنوان مثال در گل کلم *B. oleracea* var. botrytis، از توالی تکراری ساده میانی (ISSR) برای تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی جنین‌های سوماتیکی حاصل از هیپوکوتیل استفاده شده است. نشانگرهای ISSR بسیار کارآمد هستند چون به مقدار کم DNA نیاز دارند، تعداد زیادی باند تولید می‌کنند و تکرار پذیر می‌باشند. به نظر می‌رسد انگشت نگاری نشانگر ISSR یک ابزار امیدوار کننده در تحلیل تنوع سوماکلونال گل کلم باشد که می‌تواند درگونه‌های دیگر براسیکا نیز بکار گرفته شود.

لوکوس‌های صفات کمی (QTL)، انتخاب به کمک نشانگر و ژنومیکس

توسعه نشانگرهای جدید و نقشه‌یابی ژنتیکی ژنوم براسیکا راه جدیدی را در برنامه‌های اصلاح انتخاب به کمک نشانگر بازکرده است. تجزیه و تحلیل نشانگرهای مختلف مانند RAPD، RFLP، AFLP و SSR در انتخاب به کمک نشانگر در محصولات مختلف براسیکا استفاده شده است. انتخاب به کمک نشانگر پتانسیل بالقوه‌ای برای بهبود کارایی انتخاب ژنوتیپ‌های گیاهی با صفات مورد نظر ارائه می‌دهد. این رویکرد متکی بر پیوستگی‌های کروموزومی بین نشانگر مولکولی و صفات و ژن (های) انتخابی است. با استفاده از نشانگرهای مختلف، لوکوس ژن‌های تاثیرگذار در صفات کمی(QTL) در چندین گونه براسیکا مشخص شده است. بطور معمول QTL، توسط چندین ژن کنترل می‌شود و فنوتیپ مشاهده شده اثر ترکیبی از همه آللها در تمام لوکوس‌ها است که تحت تأثیر شرایط محیطی قرار دارد. استفاده از QTL می‌تواند در حل مسائل مربوط به تکامل و تنوع کمک کند. توسعه نشانگرها و شناسایی QTL کنترل

کننده صفات مختلف مانند میزان روغن، مقاومت به بیماری، زمان گلدهی و بازگرداندن باروری، گام‌های مثبتی به سوی اصلاح جنس براسیکا با کمک نشانگر است. نکته مهمی که به توسعه محصولات براسیکا بیش از هر گروه گیاهی دیگر کمک خواهد کرد در دسترس بودن اطلاعات ژنومی وسیع محبوب‌ترین عضو شناخته شده Brassicaceae یعنی آرابیدوپسیس تالیانا است. از آنجا که گونه‌های براسیکا نسبت به هر گروه گیاهی دیگر، خویشاوندی نزدیک‌تری با آرابیدوپسیس دارند توالی ژنوم *Arabidopsis* و شباهت بین آنها درک مسئله ژنومیک براسیکا را تسریع خواهد کرد.

انتقال ژن (*Genetic Transformation*)

سیستم‌های انتقال ژن تقریباً در تمام گونه‌های مهم اقتصادی براسیکا مانند *B. napus, B. juncea* ، *B. rapa* ، *B. nigra, B. oleracea* و *B. carinata* توسعه یافته است. روش‌های مختلفی برای انتقال ژن براسیکا و عوامل تاثیرگذار بر کارایی آن توسط پولسن بررسی شده است. انتقال ژن با استفاده از *Agrobacterium tumefaciens* به‌طور گسترده‌ای برای براسیکا استفاده می‌شود. این روش عموماً بسیار کارآمد است و برای اکثر گونه‌های این جنس مناسب است. گزارش‌های اخیر در مورد افزایش کارایی انتقال ژن در براسیکا مانند بروکلی و کانولا از مهم‌ترین محصولات براسیکا وجود دارد. انتقال ژن درگونه‌های براسیکا برای بهبود بسیاری از صفات صورت گرفته است. اما مهم‌ترین آنها برای مقاومت به علف‌کش (Herbicide Resistance) کلزا بوده است. کلزا مقاوم به علف‌کش (HR)، چهارمین محصول ترانس ژن کاشته شده در جهان است. در سال ۲۰۰۳، سطح زیر کشت کلزا تراریخته کشور کانادا ۳/۱۵ میلیون هکتار بود که حدود دو سوم کل کشت کلزا در آن کشور محسوب می‌شد. کلزای تراریخته تولید شده، به علف‌کش‌هایی مانند ایدزولین، گلوفوسینات و گلیفوسات مقاوم بوده در حال حاضر به صورت تجاری در ایالات‌متحده آمریکا و کانادا تولید می‌شود. سایر نمونه‌های مقاوم به علف‌کش عبارتند از: مقاومت گلوفوسیانات در بروکلی و *B. rapa* ، مقاومت سولفونیل اوره در *B. napus* و مقاومت بموکسینیل در *B. napus* است. بهبود کیفیت روغن هدف دیگر انتقال ژن در براسیکا بود. کانولا با اسید g-linolenic بالا با انتقال ژن *d12-desaturase* از قارچ *Mortierella alpine* تولید شد. علاوه بر بهبود در بخش روغن، انتقال ژن در براسیکا می‌تواند یک محصول را به کارخانه‌های بیوشیمی برای تولید محصولات دارویی و صنعتی مانند پلیمر (hydroxybutyrate) (PHB) تبدیل کند. گونه‌های روغنی براسیکا گزینه مطلوبی برای تولید تجاری PHB از استیل CoA بوده که ماده مورد نیاز برای مرحله اول بیوسنتز PHB است. در تولید یک پروتئین ضد انعقاد خون به نام هیرودین از *B. carinata* استفاده می‌شود. امتزاج پروتئین ائوزین-هیرودین با استفاده از *Agrobacterium* انجام شد.

همچنین *B. napus* در تولید کاروتنوئیدهای استفاده می‌شود که به عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن انسان عمل می‌کند.

با وجود علاقه‌مندی حشرات به محصولات براسیکا، مقاومت به حشرات هدف بزرگی در محصولات براسیکا است. از آنجا که محصولات براسیکا به بید کلم(*Diamondback moth*) حساس هستند، یک روش خوب برای کنترل آنها این است که پروتئین کریستال اندوتوکسین *Bacillus thuringiensis* همانند *Bt Cry1A (c)* بیش از حد در آنها تولید شود. این ژن در *B. napus*، ارقام چینی *B. napus*، *rutabaga*، کلم، کلم بروکلی و کلم چینی وارد شده است. گیاهان براسیکا متحمل به شوری با بیش بیان ژن *AtNHX1* از *Arabidopsis thaliana* ایجاد شدند. مهندسی ژن *codA* باکتریایی سطح تحمل شوری و سرما را در *B. juncea* افزایش داده است. ایجاد گیاهان متحمل به شوری می‌تواند به کاشت کلزا در خاک شور کمک کند. یکی دیگر از پیشرفت‌های مهم در انتقال ژن محصولات زراعی براسیکا ایجاد لاین نرعقیم و سیستم بازگرداننده باروری است. در *B. juncea*، ورود ژن *barnase* (ژن نرعقیمی) امکان‌پذیر شده است. باروری لاین نرعقیم با تلاقی آن با لاین ترانس‌ژنیک حاوی *Barstar* (ژن بازگرداننده باروری) انجام شده است. دو ژن مذکور در سیستم نر عقیمی و باروری *Barnase-Barstar* در گیاهان زراعی مختلف نقش دارند و از باکتری *Escherichia coli* گرفته شده‌اند. سیستم عقیمی و بازگرداندن باروری پتانسیل بسیار بالایی در اصلاح ارقام هیبرید دارد.

نتیجه‌گیری و چشم انداز آینده

علم و فناوری در زیست شناسی سلولی و مولکولی پتانسیل فوق العاده‌ای برای بهبود گیاهان ارائه می‌دهد. کشت بافت، امتزاج سلول‌های سوماتیکی، تنوع سوماکلونال، اصلاح به کمک نشانگر و انتقال ژن می‌توانند در توسعه گیاهان با صفات جدید استفاده شوند. نقشه‌یابی و توالی یابی ژنوم براسیکا، جداسازی ژن‌های خاص در جهت کمک به بهبود محصولات براسیکا را تسهیل خواهد کرد و به ما در درک بهتر زیست شناسی اولیه این جنس جذاب کمک می‌کند. تا به امروز محصولاتی که با این روش ترانس‌ژن شدند شامل *B. rapa ssp. chinensis*، تربچه (*Raphanus sativus* L. *longipinnatus* Bailey) و از همه مهم‌تر *B. napus* می‌باشند. مزایای این فن‌آوری شامل نادیده گرفتن خصوصیات ژنوتیپ، عدم امکانات آزمایشگاهی مورد نیاز کشت بافت و از طرفی افزایش سرعت تولید گیاهان تراریخته می‌باشد.

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.