بهبود ژنتیکی دانه‌های روغنی با استفاده از بیوتکنولوژی مدرن (قسمت دوم)

Genetic improvement of oilseed crops using modern biotechnology (part two)

مهتاب صمدی

Samadi.m@arc-ordc.ir

کارشناس ارشد بیوتکنولوژی گیاهی، مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

کانولا (*Brassica napus* L.)

کانولا/کلزا یکی از مهم‌ترین منابع روغنی برای استفاده خوراکی یا صنعتی محسوب می‌شود، تحقیق برای به دست آوردن کیفیت روغن مطلوب کلزا به عنوان یک روغن گیاهی با کیفیت بالا ضروری است. گروهی از محققان، دانه‌های کانولا ترانس‌ژنیک با افزایش معنی‌دار در میزان روغن ایجاد نمودند. این محققان نشان دادند که بیان بیش از حد ژن‌های BnLEC1 و BnL1L که تحت کنترل پروموتر پروتئین ذخیره‌سازی 2S-1 قرار می‌گیرند و به عنوان پروموتر napA نیز شناخته می‌شوند، به طور قابل ملاحظه‌ای در سطح مناسب میزان روغن دانه گیاه تراریخته را بدون افزایش منفی روی سایر ویژگی‌های زراعی افزایش می‌دهد. همچنین جهت بهبود تولید روغن کانولا، کای و همکاران (۲۰۱۲) پروتئین FCA (FCA-RRM2) را از رقم کانولا "Nannongyou "جدا کردند و سپس در گره‌های کوتیلدون با استفاده از *Agrobacterium rhizogenes* تحت پروموتر 35S-35S به منظور بیان ترانس‌ژنیک و به ناقل pBin438 با ژن مقاومت کانامایسین (برای انتخاب باکتری‌ها) و ژن فسفاتانسفراز هیگروماسین (برای انتخاب گیاهان) منتقل کردند. این محققان نشان دادند که در کانولا FCA-RRM2 افزایش در اندازه گیاه، اندازه اندام، اندازه سلول و همچنین عملکرد گیاه و روغن حاصل شده است. به گفته محققان این پژوهش، این نتایج رویکرد عملی برای بهبود ژنتیکی این گیاه ارائه داده است. همچنین به دلیل تأثیرات احتمالی اسیداروسیک بر کاهش رشد و تغییرات بیماری‌زایی در اندام‌های داخلی حیوانات آزمایشگاهی هنگام تغذیه با غلظت بالا اسیداروسیک، تحقیقی برای کاهش میزان اسیداروسیک در کلزا انجام شد. شی و همکاران (۲۰۱۵) گزارشی جهت ایجاد کانولا ترانس‌ژن با تغییر ترکیبات اسیدهای‌چرب، با استفاده از رقم "CY2" *B. napus* به عنوان گیرنده ترانس‌ژن BnFAE1، یک قطعه درگیر در سنتز اسیدهای‌چرب با زنجیره بلند ارائه کردند. این محققان قطعه BnFAE1 که به وسیله پروموتورهای ناپین A هدایت می‌شد ایجاد کردند و سپس هیپوکوتیل‌های کلزا را با *Agrobacterium tumefaciens* EHA105 جهت ورود به ساختار ژنتیکی سلول‌های کلزا کشت دادند. آن‌ها در پایان تحقیقات خود، به لاین‌های ترانس‌ژن کانولا با کاهش اسیداروسیک (کمتر از سه درصد) دست یافتند.

سویا (*Glycine max* L.)

سویا محصول مهمی است که بهترین روغن نباتی و پروتئین را برای مصرف غذایی در سراسر جهان تولید می‌کند. در میان گونه‌های لگوم، سویا بالاترین مقدار پروتئین (حدود ۴۰ درصد) دارد، در حالی که گونه‌های دیگر دارای میزان پروتئین بین ۲۰ تا۳۰ درصد می‌باشند. با توجه به اهمیت سویا، تکنیک‌های تغییرشکل ژنتیکی به طور گسترده‌ای برای بهبود ویژگی‌های ارزشمند این محصول مورد استفاده قرار گرفته است. سویا مقاوم به علف‌کش گلیفوسیت (N-فسفونومتیل گلیسین) اولین گونه ترانس‌ژنیک معرفی شده برای تولید تجاری در سال ۱۹۹۵ بوده است. لاین سویا متحمل به گلیفوسیت از طریق بیان آنزیم EPSPS (Enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) از

باکتری *Agrobacterium* sp. سویه CP4 تحت پروموتور 35S ویروس موزاییک (P-E35S) با پپتید انتقالی کلروپلاست EPSPS (CTP) و بخش '۳ ناحیه ترجمه نشده از ژن سنتاز نوپالین (NOS 3) ایجاد شدند. این لاین سویا در برابر گلیفوسیت بسیار متحمل بود. از لحاظ روش‌های تغییر شکل ژنتیک، بسیاری از گزارشات مربوط به تغییر شکل سویا توسط بمباران ذرات با استفاده از مریستم به عنوان بافت هدف منتشر شده است. یک روش برای بهبود فراوانی بالا سویا ترانس‌ژنیک با ترکیب مقاومت در برابر علف‌کش imazapyr به عنوان یک نشانگر انتخابی، القاء چندین ساقه از محورهای جنینی دانه‌های بالغ و روش‌های تفنگ‌ژنی توسط ریچ و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شده است. همچنین روش هدفمند برای وارد کردن ژن‌ها با تفنگ‌ژنی به مکان‌های از پیش تعیین شده ژنوم سویا با استفاده از سیستم نوترکیب FLP-FRT مخمر ایجاد شده است. ژن اتصال‌دهنده عنصر واکنش‌پذیر هیدراتاسیون (DREB) وابسته به اسیدآبسیزیک از خانواده *Arabidopsis thaliana* به گیاه سویا برای بهبود تحمل به تنش‌های زیستی با استفاده از روش تفنگ ژنی وارد شده است. بیوتکنولوژی مهندسی ژنتیک پلاستید برای تولید یک روش قابل تجدید برای ایجاد تغییرشکل پلاستیدی در سویا استفاده شد. به طور خلاصه، ناقلین تغییرشکل توسط ذرات با روش تفنگ‌ژنی به سلول‌های جنینی منتقل شدند و انتخاب با استفاده از ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک aadA، هموپلاسمی اولیه و اجتناب از چرخه انتخاب بیشتر انجام می‌شود. روش‌های مهندسی ژنتیک برای غنی‌سازی میزان روغن سویا در اسیدچرب خاص یا رده‌ای از اسیدهای‌چرب به کار گرفته شد. محققان دانه‌های سویا ترانس‌ژنیک با تنظیم بیان ژن‌های FAD2 که آنزیم تبدیل اسیداولئیک را به اسیدلینولئیک غیراشباع کد می‌کند ایجاد کردند. این دانه‌های سویا ترانس‌ژنیک حاوی مقادیر اسیداولئیک حدود ۸۰ درصد از کل روغن بودند، در حالی که روغن سویا معمولی حاوی اسیداولئیک در سطوح ۲۵ درصد از کل روغن بود. با همان هدف، گروهی از محققان ایجاد واریته‌های سویا با اسیداولئیک بالا را با استفاده از موتان‌زایی هدفمند در ژن‌های FAD2-1A و FAD2-1B با کارایی بالا گزارش کردند. این محققان گزارش دادند که گیاهان سویا جهش یافته تقریباً چهار برابر بیشتر اسیداولئیک نسبت به والدین وحشی (۸۰ درصد در مقابل ۲۰ درصد) تولید می‌کنند. علاوه بر این، چون آن‌ها از تکنیک "ویرایش ژنتیکی" استفاده می‌کنند، لاین‌های سویا فاقد DNA خارجی در ژنوم بوده بنابراین ترانس‌ژنیک نیستند و تنها حذف کوچک از توالی‌کدکننده FAD2-1 در ژن هدف دارند. از سوی دیگر سویا ترانس‌ژنیک با بهبود مقاومت در مقابل SMV ایجاد شده است. توالی‌های کدکننده HC-Pro میان RNAi القاکننده ساختار مویی شکل با سیستم تغییر شکل *Agrobacterium* وارد شدند. مهار بیان HC-Pro مقاومت ویروسی را در مقایسه با گیاهان غیرترانس‌ژنیک افزایش داد. برخی از منابع علمی که در آن ژن cry از Bacillus برای ایجاد سویا ترانس‌ژنیک استفاده شده است، نشان می‌دهد که از دست رفتن خصوصیات زراعی ناشی از حشرات راسته Lepidoptera مثل *Anticarsia gemmatalis*، *Pseudoplusia includes* و *Helicoverpa zea* جلوگیری می‌شود.

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)

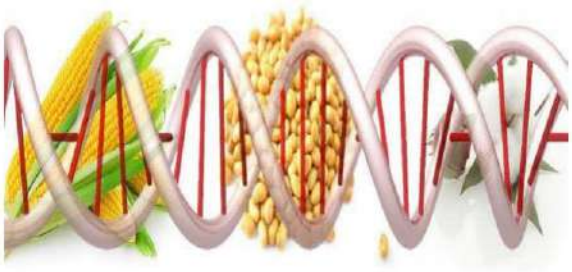
آفتابگردان یکی از مهم‌ترین محصولات روغنی است که در سطح جهان کشت می‌شود. دانه‌های آفتابگردان از ۲۰ درصد پروتئین و ۵۰ درصد چربی تشکیل می‌شوند. چندین روش علمی و تحقیقاتی برای ایجاد روش‌های بهبود ژنتیکی در آفتابگردان با استفاده از بیوتکنولوژی مدرن ایجاد شده است. شاید یکی از اولین کارهایی که در آفتابگردان رخ داد ورود پلاسمید به پروتوپلاست‌های آفتابگردان است.

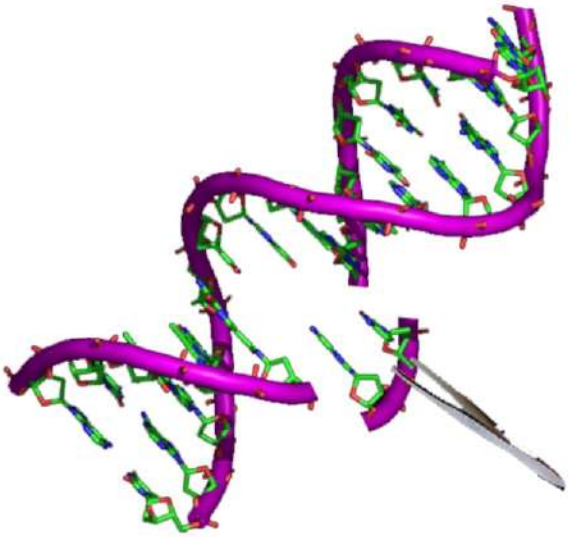
تلاش‌های دیگری که صورت گرفته است استفاده از بمباران ذره‌ای محور جوانه و به دنبال آن کشت با *Agrobacterium tumefaciens*، برای به دست آوردن شاخه‌های ترانس‌ژنیک است. صرف نظر از پیشرفت‌های انجام شده در کنار روش‌های تغییر شکل و تمرکز بر پیشرفت به منظور ارتقاء ژنتیکی با برخی از ویژگی‌های عملکردی، اخیراً برخی از تلاش‌ها جهت بهبود روغن در آفتابگردان انجام شده است. داگوستی و همکاران (۲۰۰۸) ژن‌های دستراز (Crtl) و Hydroxymethylglutaryl-CoA (Hmgr-CoA) را به آفتابگردان وارد کردند که کیفیت روغن را بالقوه افزایش داد. از سوی دیگر گیاهان آفتابگردان تراریخته مقاوم به *Verticillium dahliae* و *Sclerotinia sclerotiorum* با ورود ژن‌های ضد قارچی، از جمله gln2 (یک گلوکاناز) از *Nicotiana tabacum*، یک کیتیناز (ch5B) از *Phaseolus vulgaris*، یک ژن اسموتین (ap24) از *N. tabacum* و یک ژن برای ریبوزوم پروتئین مهارکننده (rip) ایجاد شدند. ایجاد آفتابگردان ترانس‌ژنیک مقاوم در برابر علف‌کش فسفین تریسین صورت گرفت که برای انتخاب گیاهان تراریخته مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین در برخی از منابع تحقیقاتی گزارشاتی در زمینه کاهش سطح اسیدپالمتیک و اسیداستئاریک به دلیل نقش آن‌ها در افزایش سطح کلسترول پلاسما انسان و ایجاد بیماری قلبی ارائه شده است. اسکوریک و همکاران (۲۰۰۸) جهش‌های ناشی از طریق تیمار بذر با اشعه گاما، اشعه ایکس و مواد شیمیایی جهشی مانند اتیل‌متان‌سولفانات (EMS) و دی‌متیل‌سولفات (DMS) را برای تولید ژنوتیپ‌های آفتابگردان با سطوح بالا C 18: 2، C 18: 1، C 18: 0، C 16: 1 و C 16: 0 ایجاد کردند.

بادام‌زمینی (*Arachis hypogaea* L.)

بادام‌زمینی در سراسر جهان به عنوان یک محصول روغنی زراعی کشت می‌شود. دانه‌های بادام‌زمینی در بسیاری از کشورها سهم مهمی در رژیم غذایی افراد دارند زیرا آن‌ها منبع خوبی از پروتئین‌ها و چربی‌ها برای تغذیه انسان هستند. تحقیقات در زمینه محصولات تراریخته بادام‌زمینی برای ایجاد مقاومت به قارچ‌ها انجام شده است. این محصول به بسیاری از انواع بیماری‌ها، از جمله موارد ناشی از قارچ‌ها، حساس است. چناولز و همکاران (۲۰۰۲) ایجاد بادام‌زمینی تراریخته با معرفی دو ژن هیدرولاز، یک گلوکاناز از یونجه (*Medicago sativa* L.) و یک کیتیناز از برنج (*Oryza sativa* L.) به جنین‌های سوماتیکی با استفاده از روش تفنگ‌ژنی گزارش کردند. اگرچه مطالعه بر روی خصوصیات گیاهچه‌ها (تا ۳۷ درصد فعالیت هیدرولاز در سطوح ترانس‌ژنیک یافت می‌شود) متمرکز بود، این محققان بر این باورند لاین‌های تراریخته به دست آمده بدلیل بیان بالا ترانس‌ژن که مقاومت در برابر طیف وسیعی از بیماری‌های قارچی را نشان می‌دهد، می‌تواند امیدوارکننده باشد. چناولز و همکاران (۲۰۰۳) آزمایشی تحت شرایط گلخانه‌ای در لاین‌های بادام‌زمینی تغییر یافته انجام دادند که این لاین‌ها برای مقاومت به *Sclerotinia minor* توسط تلقیح با یک پلاگ میسیلیوم مورد بررسی قرار گرفتند. در لاین‌ها تا ۸۴ درصد مقاومت در برابر پاتوژن وجود داشت. از سوی دیگر، لاین‌های بادام‌زمینی با مقاومت بیشتر برای مقاومت *S. minor* در شرایط مزرعه مورد آزمایش قرار گرفتند. در این گزارش، سه لاین ترانس‌ژنیک نسبت به رقم وحشی مقاومت قابل‌توجهی در مقابل پاتوژن نشان دادند. در نهایت، جونالا و همکاران (۲۰۰۵) ترکیب روغن از سه ترانس‌ژنیک به دست آمده در گزارشات قبلی را تعیین کردند. این محققان گزارش کردند میزان روغن همه لاین‌های ترانس‌ژنیک بادام‌زمینی مشابه رقم وحشی آن

بود که نشان می‌دهد که تغییرات ژنتیکی، تغییرات اساسی غیرمعمول در ترکیب شیمیایی بادام‌زمینی ایجاد نمی‌کند. به همین ترتیب، نگ و همکاران (۲۰۰۸) ویژگی‌های شیمیایی، اجزای فرار و ویژگی‌های بویایی سه لاین بادام‌زمینی ترانس‌ژنیک (که قبلا در شرایط مزرعه آزمایش شده‌اند) با استفاده از کروماتوگرافی گازی مجهز به آشکارساز بویایی مورد بررسی قرار دادند. این محققان گزارش دادند که حداقل تغییرات در ترکیب غذایی میان بادام‌زمینی تراریخته و نوع وحشی، نشان می‌دهد که تغییرات ژنتیکی باعث تغییر قابل‌توجهی در بادام‌زمینی نشد.





منبع:

-Villanueva-Mejia, D, and Alvarez, J. C. (2017). Genetic Improvement of Oilseed Crops Using Modern Biotechnology. In Advances in Seed Biology. InTech.