بیوتکنولوژی در براسیکا

مهندس مهتاب صمدی
کارشناس مجتمع آموزشی و تحقیقات کاربردی
شرکت توسعه کشت دانه های روغنی

در چند دهه گذشته پیشرفت قابل توجهی در زیست شناسی سلولی و مولکولی گونه های براسیکا صورت گرفته است. باززایی گیاه از طریق اندام زایی و جنین زایی سوماتیک با استفاده از ریز نمونه های (Explant) مختلف با تمرکز بر روی عواملی مانند سن ریز نمونه، ژنوتیپ و مواد افزودنی به محیط کشت، بهینه سازی شده است. تولید هاپلوئید و دابل هاپلوئید با استفاده از کشت دانه گرده، تولید لاین های هموزیگوت در گونه های براسیکا را تسریع کرده است. امتزاج سلول های سوماتیک، ایجاد هیبریدهای بین گونه ای و بین جنسی در گونه های جنسی ناسازگار براسیکا را تسهیل کرده است. بهبود محصول با استفاده از تنوع سوماکلونال نیز حاصل شده است. همچنین امروزه استفاده از نشانگرهای مولکولی در انتخاب به کمک نشانگر و تکنولوژی انتقال ژن صفات مطلوب به عنوان بخش مهم استفاده از بیوتکنولوژی در محصولات براسیکا مطرح هستند. بطور کلی می توان گفت در چند دهه اخیر بیوتکنولوژی ابزار قدرتمندی برای محصولات روغنی بوده است که منجر به بهبود کیفیت روغن و صفات زراعی در محصولات روغنی اصلی جهان شامل سویا، کانولا، پالم و آفتابگردان شده است. کشت بافت، مهندسی ژنتیک و روش های انتخاب به کمک مارکر، همگی امروزه در این محصولات پیشرفته هستند و این با بهره وری بالای این روش ها در کانولا و اثرات اقتصادی بسیار بزرگ در سویا با دستیابی به بهبود مقاومت به علفکش و کیفیت روغن، بیشتر نمود پیدا می کند.

روغن های نباتی نه تنها برای اهداف تغذیه ای مورد استفاده قرار می گیرند بلکه برای استفاده صنعتی مانند سوخت، اجزای تشکیل دهنده صابون، رنگ، جوهر پرینت وصیقل دهنده ها مورد استفاده قرار می گیرند. بنابراین تمرکز اصلی اصلاحگران در محصولات روغنی همیشه روی افزایش کمی و کیفی روغن بوده است. افزایش آگاهی نسبت به سلامتی، تمایل به سمت انتخاب و استفاده از روغن های سالم با سطوح پایینی از چربی های اشباع و ترانس بیشتر شده است. بنابراین در میان بسیاری از موضوعات اصلاحی کلاسیک و غیر کلاسیک این صفات هدف قابل توجه برای اصلاحگر هستند. از همه مهمتر اغلب این صفات به سادگی در گونه های بومی وجود ندارند تا بتوانند بطور کلاسیک اصلاح شوند. در مقابل، بیوتکنولوژی در کشاورزی در فرآیند ایجاد محصولات با بهبود میزان روغن اثرات فوق العاده داشته است. با استفاده از کشت بافت، مهندسی ژنتیک و روش های انتخاب به کمک مارکر، توسعه محصولات روغنی با صفات مطلوب تجاری امکان پذیر شده است.

کانولا (*Brassica napus* L.) محصول روغنی مهمی است که با تولید جهانی بالا بعد از سویا و روغن پالم در ردیف سوم جهان قرار دارد. ابزارهای بیوتکنولوژی بطور گسترده در پژوهش و بهبود کانولا بکار گرفته شدند. روش های مختلف از کشت بافت، دورگ گیری سوماتیکی و تولید دابل هاپلوئیدها جهت ایجاد واریته های کانولا با صفات مطلوب مورد استفاده قرار گرفته است.

دورگ گیری سوماتیکی

از طریق دورگ گیری سوماتیکی، هیبریدهای مقاوم به بیماری در *B. napus* تولید شدند. هیبریدهای سوماتیکی که به *Leptosphaeria maculans* مقاوم هستند از طریق امتزاج پروتوپلاست بین *B. napus* و گونه وحشی *Sinapis arvensis* ایجاد شدند. اهمیت دیگر امتزاج پروتوپلاست، تولید لاین های عقیم سیتوپلاسمی است. هیبریدهای سوماتیکی نرعقیم، متحمل به سرما *B. napus* از طریق دورگ گیری بین لاین اینبرد کلم نر عقیم با سیستم اوگرا و حساس به سرما (*B. oleracea* var. botrytis NY7642A) با تیپ کانولا بارور متحمل به سرما (*B. rapa* cv. Candle) تولید شدند. هیبریدهای نر عقیم سیتوپلاسمی از طریق امتزاج پروتوپلاست *B. napus* و *B. tournefortii* ایجاد شدند.

مهندسی ژنتیک

امروزه استفاده از مهندسی ژنتیک در بهبود صفات مختلف حیاتی شده است، به هرحال گسترده ترین صفت اصلاح شده از این طریق، ایجاد مقاومت به علفکش (HR) است و کانولا HR چهارمین گیاه زراعی ترانسژنیک قابل کشت در جهان است. در حال حاضر واریته های کانولا تجاری مقاوم به علفکش قابل دسترس، کانولا راندآپ ردی (از شرکت Monsanto) و کانولا لیبرتی لینک (از شرکت Cropscience Bayer) هستند. مهمترین هدف استفاده از مهندسی ژنتیک در کانولا بهبود کیفیت روغن بوده است. کانولا با افزایش اولئیک اسید به وسیله خاموش کردن بیان ژن مربوط به آنزیم آندوژنوز اولئات دستراز تولید شده است. بطور مشابه کانولا با گاما- لینولنیک اسید با انتقال ژن ها از قارچ *Mortierella alpina* تولید شده است.

انتخاب به کمک مارکر

تلاش قابل ملاحظه ایی برای ایجاد کانولا با اولئیک اسید بالا و لینولنیک اسید پایین صورت گرفته است. بطور کلی پروفیل روغن کانولا شامل ۶۵ درصد C18:1 (اولئیک اسید)، ۲۰ درصد C18:2 (لینولنیک اسید) و ۱۰ درصد C18:3 (لینولنیک اسید) است. لینولنیک اسید ترکیبی از روغن کانولا است که به آسانی اکسید شده و سبب طعم نامطلوب در روغن می شود. همچنین ماندگاری و کیفیت روغن کانولا را کاهش می دهد. اولئیک اسید، اسید چرب غیر اشباع تک باند مضاعف بوده که سبب کاهش کلسترل بد خون (LDL) و افزایش کلسترول خوب خون (HDL) می شود. ایجاد انواع کانولا با لینولنیک و لینولنیک اسید پایین بطور غیر مستقیم سطح اولئیک اسید را افزایش می دهد و روغن کانولا با پایداری بیشتر در مقابل گرما یا توان اکسید شوندگی کمتر، تولید می شود. مکان یابی ژن های کنترل کننده صفات کمی (QTL) برای شناسایی ژن های کنترل کننده ارومیک و لینولنیک اسید در *B. napus* استفاده شده است. مارکرهای مولکولی همبسته با لینولنیک اسید در جمعیت دابل هاپلوئید حاصل از تلاقی بین لاین های کانولا Apollo (لینولنیک پایین) در YN90-1016 (لینولنیک بالا) با استفاده از RAPDs و آنالیز تفرق بالک شناسایی شدند. ایجاد مارکرهای همبسته یا آلل خاص می تواند به انتخاب به کمک مارکر (MAS) محصولات روغنی براسیکا کمک کند. با استفاده از نقشه یابی QTL، لوکوس های مقاومت به بیماری ساق سیاه در *B. napus* شناسایی شده است. نقشه یابی ژنتیکی ژن بازگرداننده باروری هسته ای برای نر عقیمی سیتوپلاسمی در کانولا با استفاده از مارکرهای RFLP و RAPD صورت گرفته است.

منابع

1. Gupta, S. 2012. Technological innovation in major world oil crops, volume 1 breeding, Chapter3: Brassica. P. 52-83.
2. Cardozo, V. and Stewart C. N. 2004. Invited review: *Brassica* biotechnology :progress in cellular and molecular biology. In Vitro Cell. 542–551.

ارزیابی صفات زراعی لاین های موتانت کلزا (نسل M5)

کد طرح: ۰۲-۹۰۶۴۱۸
سال اجرا: ۹۱-۹۰
مجری مسئول: مهتاب صمدی

چکیده

بذور سه رقم کلزا PF، RGS003 و زرفام، به منظور ایجاد تنوع ژنتیکی القایی و انتخاب ژنوتیپ و لاین هایی با صفات زراعی مطلوب، با دزهای مختلف اشعه گاما (۵۰۰، ۷۰۰ و ۹۰۰ گری) تیمار شدند. جهت تائید پایداری تغییرات ژنتیکی القایی صفات زراعی، ۶۶ لاین موتانت انتخابی مطلوب از نسل M4 موتاسیون همراه با واریته های شاهد بصورت نسل پنجم موتاسیون (M5) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار مورد مطالعه قرار گرفتند. ۲۲ لاین انتخابی نسل M5 از نظر صفاتی مانند ارتفاع، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، میانگین طول غلاف، وزن هزار دانه و عملکرد ارزیابی شدند. میانگین طول غلاف، وزن هزار دانه و عملکرد در دو لاین موتانت بطور معنی داری بیشتر از واریته های شاهد بود و از آنجایی که این لاین ها از نظر سایر صفات مورد بررسی اختلافی با واریته های شاهد نداشتند، به عنوان لاین های برتر در نظر گرفته شدند.