استفاده از بیوتکنولوژی در اصلاح گوجه فرنگی

محمد فارسی ۱ و بنفشه جلال زاده ۲
۱ -عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲ -عضو هیئت علمی جهاد دانشگاهی واحد مشهد

برای صدها سال اصلاح کنندگان گیاهان خویشاوند را در تلاقی‌های بارور شرکت داده‌اند و از میان نتاج آنها ترکیباتی را انتخاب کرده‌اند که به گیاه خصوصیات جدیدی را می‌دهد که برای بشر سودمند می‌باشند. بیوتکنولوژی گیاهی پروسه تولید گیاهان تغییر یافته ژنتیکی است که از طریق انتقال اطلاعات ژنتیکی از یک موجود، دستورزی آن در آزمایشگاه و انتقال آن به یک گیاه به منظور تغییر ماهیت خصوصیات آن صورت می‌گیرد. به کمک این تکنولوژی دانشمندان قادرند که ژن دلخواه خود را از هر موجودی به گیاه میزبان انتقال دهند. روش‌های مختلف معرفی ژن‌های خارجی به داخل گیاهان زراعی عبارتند از: استفاده از آگروباکتریوم، ریزتزریقی، درشت تزریقی، الکتروپوراسیون و تفنگ ژنی. به عنوان مثال در ذرت تراریخته Bt، که آفت کشش را خود تولید می‌کند، حاوی ژنی از یک باکتری است. گوجه‌فرنگی‌هایی که در مدت نگهداری در انبار قرمزی و آبداری خود را از دست نمی‌دهند، نتیجه مهندسی ژنتیک هستند. همچنین با استفاده از این روشها گوجه فرنگی هایی تولید شده اند که قابلیت ماندگاری بیشتری در سوپر مارکت دارند و دیرتر پلاسیده می شوند.

هدف اصلاح نباتات تلفیق صفات دلخواه از واریته‌های مختلف گیاهی به منظور تولید گیاهانی با کیفیت برتر می‌باشد. اصلاح نباتات کلاسیک چندین دهه است که در حال انتقال صفات مطلوب به واریته‌های تجاری است. معذالک این روش‌ها معمولا وقت‌گیر می‌باشند و از شانس موفقیت بالایی برخوردار نیستند. با این وجود تا به حال دستاورد بهبود کیفیت تولدات گیاهی بسیار موفق بوده‌است. برای صدها سال اصلاح‌کنندگان نبات گیاهان خویشاوند را در تلاقی‌های بارور شرکت داده‌اند و از میان نتاج آنها ترکیباتی را انتخاب کرده‌اند که به گیاه خصوصیات جدیدی را می‌دهد که برای بشر سودمند می‌باشند. به عنوان مثال تلاقی یک نوع گوجه‌فرنگی که میوه‌های شیرین‌تری تولید می‌کند با نوعی که مقاومت بیشتری به بیماری‌ها نشان می‌دهد، بسیار سودمند بوده است.

بیوتکنولوژی گیاهی فرآیند تولید گیاهانی با تغییرات ژنتیکی است که این تغییرات با استفاده از تکنولوژی DNAی نوترکیب انجام می‌شود . بیوتکنولوژی گیاهی به طور عمده شامل وارد کردن ژن‌های خارجی به گونه‌های گیاهی تجاری است که منجر به اصلاح محصولات زراعی و تولید فرآورده‌های جدید در این گیاهان می‌شود. امروزه، از بیوتکنولوژی به عنوان یک ابزار برای اعطای صفات جدیدی، که برای تولیدات کشاورزی، محیط زیست، تغذیه و سلامت بشر سودمند هستند، استفاده می‌شود. بیوتکنولوژی گیاهی به دو حوزه کشت بافت گیاهی و مهندسی ژنتیک گیاهی محدود می‌شود.

یک محصول تراریخته حاوی ژن یا ژن‌هایی است که به جای آنکه گیاه آنها را از طریق گرده‌افشانی و تلافی کسب کند، با استفاده از مهندسی ژنتیک به صورت مصنوعی وارد گیاه شده‌اند. توالی ژن داخل شده (که به آن ترانسژن نامیده می‌شود) می‌تواند از گیاه غیرخویشاوند دیگری و یا حتی گونه‌ای کاملاً متفاوت باشد. به عنوان مثال در ذرت تراریخته Bt، که آفت‌کش را خود تولید می‌کند، حاوی ژنی از باکتری باسیلوس تورینجینسیس است. گیاهان حاوی ترانسژن غالباً محصولات تغییر یافته ژنتیکی یا GM نامیده می‌شوند. ژن‌های دلخواه ممکن است ویژگی‌هایی مانند عملکرد بالا، کیفیت برتر، مقاومت به آفت یا بیماری، تحمل به گرما سرما و یا خشکی را فراهم آورند. تلفیق بهترین ژن‌ها در یک گیاه به روش کلاسیک فرآیندی طولانی و مشکل می‌باشد، خصوصاً اینکه اصلاح نبات سنتی به تلاقی مصنوعی گیاهان در داخل یک گونه یا گونه‌های بسیار نزدیک محدود می‌باشد. امروزه استفاده از بیوتکنولوژی این مشکلات را مرتفع نموده است. ذرت و سویای مقاوم به آفت در امریکا، در خط مقدم انقلاب بیوتکنولوژیکی قرار دارند. گوجه‌فرنگی‌هایی که در مدت نگهداری در مغازه رنگ قرمز و طراوت خود را از دست نمی‌دهند نتیجه مهندسی ژنتیک هستند. محققان در شرکت کالژن ژنهای باکتریایی را وارد گوجه فرنگی کرده اند که نسبت به علف‌کش‌های کنترل کننده علف‌های هرز پهن‌برگ مقاومند. این مقاومت ناشی از حضورآنزیم‌هایی است که سم را تجزیه می‌نماید. این آنزیم‌ها توسط ژن‌های باکتریایی کنترل می‌شوند. روش‌های اصلاح گیاهان از جمله گوجه‌فرنگی به قرار ذیل می‌باشد.

الف- اصلاح انتخابی:

این روش معمولا از طریق تلاقی دو فرد از یک گونه مشترک که برای ژن‌های مشخص آلل های غالب دارند استفاده می‌شود. به عنوان مثال تلاقی یک موجود با متابولیسم سریع و پیوسته با موجود دیگری که دارای ژن‌هایی برای رشد سریع و عملکرد بالا می‌باشد را در نظر بگیرید. از آنجاییکه هر دوی این موجودات برای خصوصیات مورد نظر دارای ژن‌های غالب می‌باشند، در صورت تلاقی آنها با یکدیگر حداقل تعدادی از نتاج آنها تمامی این صفات مطلوب را دارا خواهند بود. زمانیکه چنین تلاقی رخ دهد، نتیجه تلاقی هیبرید خوانده می‌شود.

ب- کلونینگ (رشد گیاه از یک سلول منفرد)

کلونینگ عبارت از تولید یک نسخه مشابه از روی یک نسخه اصلی می‌باشد. کلونینگ در گیاهان از طریق روش‌های کشت بافت صورت می‌گیرد.

ج- روش طبیعی

آگروباکتریوم یک باکتری خاکزی است که از طریق انتقال بخشی از ماده ژنتیکی (DNA) خود به گیاه میزبان سبب ایجاد بیماری گال طوقه می‌گردد. DNA انتقال یافته (که به آن T-DNA گفته می‌شود) به طور پایدار در ژنوم گیاه تلفیق می‌گردد. بیان ژن‌های موجود در این قطعه باعث تولید هورمون‌های گیاهی شده و در نهایت رشد توموری سلول‌ها را سبب می‌گردد. پس از کشف این پدیده، دانشمندان توانستند با خلع سلاح باکتری و قرار دادن ژن‌های جدید به داخل آن، از این باکتری برای انتقال بی‌خطر ژن‌های دلخواه به ژنوم گیاهان استفاده نمایند.

د- روش‌های سلولی انتقال ژن:

بسیاری از روش‌های مورد استفاده در بیوتکنولوژی گیاهی را می‌توان تحت عنوان کشت بافت گیاهی و مهندسی ژنتیک گیاهی دسته‌بندی نمود. یک مشکل کار با گیاهان این است که گیاهان دارای دیواره سلولی هستند و بنابراین می‌بایست راهی پیدا کرد تا پلاسمید نوترکیب را از این مانع عبور داد. برخی روش‌های مورد استفاده به این منظور عبارتند از:

۱. ریزتزریقی به سلول‌های منفرد
۲. انتقال به روش بیولیستیک: در روش تفنگ ژنی یا بیولیستیک، که ترکیبی از علم بیولوژی و بالستیک می‌باشد، ذرات ریز میکروسکوپی از جنس طلا با ژن مورد نظر پوشانده می‌شوند و به کمک یک پالس هلیوم به داخل سلول گیاهی شلیک می‌گردند. در داخل سلول قطعه ژن از روی ذره جدا شده و به داخل ژنوم سلول تلفیق می‌گردد.
۳. الکتوپوراسیون سلول‌های رشد یافته بدون دیواره سلولی(پروتوپلاست‌ها): الکتروپوراسیون عبارت از مخلوط نمودن ژن دلخواه با پروتوپلاست‌های سلول گیاهی و سپس ایجاد منافذ ریزی در سلول به کمک پالس‌های الکتریکی است، به طوریکه DNA بتواند از آنها عبور نموده و وارد سلول گردد. متعاقباً ژن مورد نظر به عنوان قسمتی از ژنوم گیاهی درآمده و سلول نیز قادر است منافذ را ترمیم نماید.
۴. انتقال به کمک آگروباکتریوم: روش تراریختی مبتنی بر آگروباکتریوم شامل خلع سلاح باکتری، قرار دادن ژن‌های جدید به داخل آن و استفاده از باکتری به منظور انتقال ژن‌های دلخواه به ژنوم گیاهی می‌باشد.
۵. امتزاج پروتوپلاست‌ها (کشت بافت گیاهی): کشت بافت گیاهی عبارت از کشت سلول‌ها یا بافت‌های گیاهی روی محیط‌های غنی‌شده با فرمول‌های خاص می‌باشد. تحت شرایط مطلوب، هر سلول منفرد گیاهی می‌تواند به یک گیاه کامل باززایی شود. این پدیده امکان تولید سریع انبوهی از گیاهان کاملاً مشابه را فراهم می‌آورد. پروتوپلاست، یک سلول گیاهی بدون دیواره سلولوزی است. پروتوپلاست‌ها قادرند با یکدیگر ترکیب شوند و حتی در گیاهانی که از لحاظ ژنتیکی ناسازگار هستند هیبریدهای سوماتیکی تولید نمایند. پروتوپلاست‌های هیبرید سپس از طریق کشت بافت به صورت گیاهان هیبرید کامل باززا می‌شوند. به عنوان مثال بوکوفلاور یک هیبرید سوماتیکی است که حاصل دو رگ‌گیری بین کلم بروکلی و کلم گل می‌باشد.
۶. روش دیسک برگی: سلول‌های گال طوقه دو ویژگی را کسب می‌کنند که سلول‌های عادی فاقد آن هستند. این دو خصوصیت یکی توانایی رشد در محیط‌های عاری از هورمون حارجی و دیگری تولید ترکیبات غیر عادی با نام اوپین‌ها می‌باشد. اوپین‌ها به عنوان منابع کربن و نیتروژن توسط باکتری مورد استفاده قرار می‌گیرند. به این ترتیب باکتری در محیط گال طوقه یک محیط غذایی مناسب برای رشد ایجاد می‌کند. اساس مولکولی بیماری گال طوقه در سال ۱۹۷۴ با کشف یک پلاسمید ۲۰۰ کیلو بازی به نام پلاسمید T کشف گردید. حذف این پلاسمید سبب غیربیماریزا شدن باکتری و انتقال دوباره آن سبب بازگشت خاصیت بیماریزایی می‌گردد. این پلاسمید می‌تواند با کمک ژن‌های نشانگر

مقاومت به آنتی‌بیوتیک و یا ژن‌های حامل ویژگی‌های زراعی مفید مانند تحمل به علف‌کش، مقاومت به ویروس‌ها و حشرات، ساخته شود. یک یافته مهم در مورد پلاسمید T این است که قطعه‌ای به طول ۱۳ کیلو باز از آن به داخل سلول پذیرنده منتقل می‌شود. انتقال این قطعه که T-DNA نامیده می‌شود به سلول‌های گیاهی مرحله کلیدی در استفاده از آگروباکتریوم تومفاشینس به عنوان عامل تراریختی مستقیم و دستورزی‌های ژنتیکی در گیاهان عالی می‌باشد. پلاسمید این باکتری به عنوان یک ابزار ایده‌ال برای انتقال DNA عمل می‌کند. به طوریکه تا کنون شمار رو به افزایشی از گونه‌های گیاهی با استفاده از اینگونه ناقلین پلاسمیدی به گونه‌ای موفقیت‌آمیز با ژن‌های خارجی تراریخت شده‌اند. این عمل غالبا از طریق کشت قطعات کوچک برگ در محیط حاوی آگروباکتریوم‌های دستورزی شده ژنتیکی انجام می‌شود. محدودیت اصلی این روش این است که اگروباکتریوم نمی‌تواند روی گیاهان تک‌لپه مثل ذرت عمل کند اما به راحتی قادر است گیاهان دو لپه‌ای مانند گوجه‌فرنگی، سیب زمینی و سویا و غیره را آلوده سازد.

مهندسی ژنتیک گیاهی دستورزی ژن‌ها در سطوح مولکولی و سلولی را شامل می‌شود. هم‌اکنون با استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک در گوجه فرنگی صفات زیر مورد دستورزی قرار گرفته اند:

- **نرم شدن بافت و طعم‌گرفتن**: پلی‌گلاکتورئاز (PG) آنزیمی است که پکتین را در دیواره سلول تجزیه می‌نماید و همرا با آنزیم‌های دیگر باعث نرم‌شدن میوه در خلال رسیدگی می‌شود. میوه‌های با فعالیت کم این آنزیم وقتی می‌رسند نرم نمی‌شوند، در نتیجه از حمله قارچ‌ها و باکتری‌ها کمتر آسیب می‌بینند و دارای مواد جامد محلول بیشتری می‌باشد. گوجه فرنگی‌های Flavour Savour در سال ۱۹۹۵ به عنوان یک محصول GM وارد بازار شدند. در این واریته ژن PG توسط سیستم RNAی آنتی‌سنس خاموش شده بودند و گوجه‌ها می‌توانستند دیرتر برداشت شوند. در این صورت گوجه‌ها در روی بوته طعم بهتری می‌گرفتند و در مغازه از دوام بیشتری برخوردارند.
- **رسیدگی میوه و طعم‌گرفتن**: کشاورزان گوجه‌فرنگی به رسیدگی گوجه اهمیت می‌دهند چرا که این خصوصیت زمان برداشت و قیمت میوه را تعیین می‌نماید. در سال ۱۹۸۹ دانشمندان ژنی کشف کردند که مرتبط با سنتز اتیلن بود. اتیلن ترکیبی طبیعی و گازی است که در مرحله بخصوصی از رشد میوه سنتز و منجر به رسیدگی کامل میوه می‌شود. گوجه‌های تازه بردشت شده را در انبار با اتیلن تیمار می‌کنند تا رنگ قرمز به خود بگیرند. در واریته‌های مهندسی ژنتیک شده، تولید اتیلن بلوکه می‌شود. در نتیجه گوجه‌فرنگی را می‌توان دیرتر برداشت کرد بطوریکه حداکثر طعم را به خود بگیرد و خیلی زیادرس نشود و نپوسد. این میوه‌ها پس از برداشت در انبار نگهداری می‌شوند و در موقع مناسب به صورت مصنوعی با اتیلن تیمار و سپس به بازار عرضه می‌شوند.
- **مقاومت به ویروس**: ویروس‌های زیادی به گوجه فرنگی حمله می‌کنند. یکی از این ویروس‌ها که باعث خسارت قابل توجهی می‌شود ویروس موزائیک خیار می‌باشد (CMV). استراتژی های متعددی برای کنترل این بیماری وجود دارد اما آنکه بیشتری استفاده را دارد، استراتژی پوشش پروتئینی (CP) است. در مقاومت به ویروس توسط CP، ژنهای مسئول پوشش پروتئینی ویروس توسط مهندسی ژنتیک به سلولهای گیاهی وارد می‌شوند و به صورت دائمی در گیاه بیان می‌شوند. حضور این ژن در گیاه مانع از تولید نسخ زیاد ویروس در سلول می‌شود.

Abstract:
During hundred of years plant breeders have crossed fertile relative plants and have selected progenies with new characters useful to human. Plant biotechnology is the process of genetically engineered plants through transfer of genetic information from one organism to crops in laboratory in order to change the desirable character of the crop. By the help of this technology scientists are able to introduce desirable genes from any organism to the host plant. Transgenic plants are produced trough *Agrobacterium* mediated approach, micro injection, Electroporation and Biolistic. Through biotechnology, tomatoes have been bred which lasts long periods without spoiling, and are transportable over long distances without loss, and produces maximal yields of the desired product In the genetically engineered varieties, ethylene production is blocked, so tomatoes can be picked later, at a more flavorful stage, and do not over-ripen and rot. Once picked, fruits can be ripened when commercially appropriate by simple exposure to external ethylene.

Refrences

Liu K. Biotech Crops: Products, properties, and prospects. Food Technology. 1999;53:42-48.
4. Mahan LK, Escott-Stump S. Krause's Food, Nutrition, and Diet Therapy. 10th Ed. 2000:756.
http://www.biores-irl.ie/biozone/plants.html
http://search.yahoo.com/search?p=Selective+breeding&ei=UTF-8&fr=FP-tab-web-t&fl=0&x=wrt
http://www.colorado.edu/che/BioProcess%20Engineering/Lecture%208/protoplastfusion.htm
http://www.inform.umd.edu/genetics/leafdisc.html
http://dragon.zoo.utoronto.ca/~jlm-gmf/T0501D/methods.html
http://dragon.zoo.utoronto.ca/~jlm-gmf/T0101A/Enzyme.html