انتقال ژن لوسیفراز حشره شب‌تاب به گیاهان زینتی

مصطفی حجتیان فر[۱]، عبدالرضا باقری*[۲]، نسرین مشتاقی[۲]، مختار جلالی جواران[۳]، احمد شریفی[۴]
E-mail: *abagheri@um.ac.ir
[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
[۲] گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
[۳] گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
[۴] عضو هیات علمی گروه پژوهشی بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، جهاد دانشگاهی مشهد- خراسان رضوی

چکیده

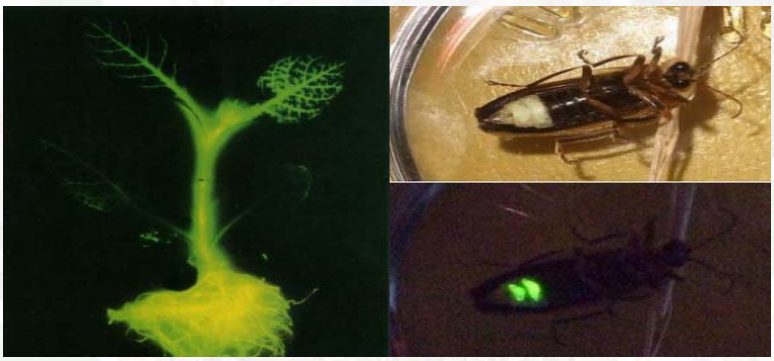
شب‌تابی به فرایند تولید نور توسط یک موجود زنده که نتیجه یک واکنش شیمیایی برای تبدیل انرژی شیمیایی به انرژی نور می‌باشد، می‌گویند. شب‌تابی کاربرد وسیعی در هر دو حوزه تحقیق و توسعه بهبود صنعت گیاهان زینتی دارد. لوسیفراز یک اصطلاح کلی برای آنزیم‌های کاتالیز کننده انتشار نور مرئی در شب تابی است. ژن لوسیفراز کاربردهای فراوانی داشته و از اهمیت بالایی در بیوتکنولوژی برخوردار می‌باشد. انتقال آن به گیاهان زینتی، بیان ژن و به تبع آن نشر نور آن در این گیاهان می‌تواند بسیار ارزشمند و گران بها باشد. تعداد زیادی از پژوهشگران به منظور افزایش جذابیت گل ها به انتقال ژن لوسیفراز کرم شب‌تاب به گیاهان زینتی اقدام کردند. هدف آن‌ها قابلیت درخشیدن گیاهان در تاریکی می‌باشد. شب تابی در گیاهان زینتی مانند درخشیدن در تاریکی ممکن است به عنوان یک راه جایگزین برای افزایش ارزش اقتصادی بیشتری در بازار بین المللی قابل قبول باشد.

کلمات کلیدی: انتقال ژن، شب‌تابی، گیاهان زینتی، لوسیفراز حشره شب‌تاب

مقدمه و بررسی منابع

پدیده بیولومینسانس یا واکنش شیمیایی نشر نور توسط موجودات زنده یکی از جالب ترین پدیده‌های زیستی است که در طیف وسیعی از موجودات زنده از قبیل باکتری‌ها، حشرات و بسیاری از نرم‌تنان و جانوران آبی دیده می‌شود. حشره ی شب تاب لفظی کلی برای حشراتی است که در شب می‌درخشند (شکل۱-الف). این موجود متعلق به راسته قاب بالان (Coleoptera)می باشد. نور تولید شده توسط این حشره همانند سایر قاب بالان به منظور دفاع و جلب جنس مخالف بکار می رود (۲).آنزیم‌های درگیر در بیولومینسانس با نام کلی لوسیفراز نام‌گذاری شده‌اند. به دلیل کاربرد فراوان لوسیفراز حشره شب‌تاب بیشتر مطالعات بر روی این آنزیم صورت گرفته است. این آنزیم در حشره Photinuspyralis، پروتئین۶۲ کیلو دالتون است که در طی واکنش با لوسیفرین، ATP، اکسیژن و نوری با طول موج ۵۶۲ نانومتر را نشر می‌کند که در محدوده نور مرئی (سبز- زرد) است.ژن لوسیفراز (luc) گونه شب تاب آمریکای شمالی (Photinus Pyralis) در سال ۱۹۸۵ کلون شد و خیلی سریع در سیستم های باکتریایی، جانوری و گیاهی با هدف گزارشگر فعالیت آغازگر ژن ها به کار گرفته شد (۵).برای اولین بار استفاده از luc به عنوان گزارشگر فعالیت ژن ها در گیاهان، در سال ۱۹۸۶ گزارش شد که با اسپری کردن

لوسیفرین به بافت های گیاه توتون در شرایط طبیعی و قرار دادن آن بر روی فیلم عکاسی در اثر واکنش آنزیم – سوبسترا، فعالیت لوسیفراز را ردیابی کردند (شکل۱–ب) (۹).گیاهان زینتی گونه های زیادی را شامل می شوند اما تنها گروه کوچکیاز آنها به طور وسیعی تکامل یافته و با اهداف خاصی اصلاح شده‌اند (۶). اخیرا مهندسی ژنتیک به عنوان روشی برای تولید ارقام جدید مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۰).روش‌های به‌نژادی مدرن ابداع شده‌اند تا نیاز به ایجاد تنوع در گل و گیاهان زینتی که صنعتی جهانی است را برطرف سازند. این روش‌ها از طرفی طول دوره اصلاحی را به‌طور قابل توجهی کاهش می‌دهند و از طرف دیگر می‌توانند در به‌نژادی گیاهانی که با روش‌های سنتی اصلاح آن‌ها امکان‌پذیر نیست نقش موثری داشته باشند. با توجه به پیشرفت صنعت گیاهان زینتی، تلاش در استفاده از بیوتکنولوژی برای دست ورزی گیاهان زینتی شروع شده است (۱).

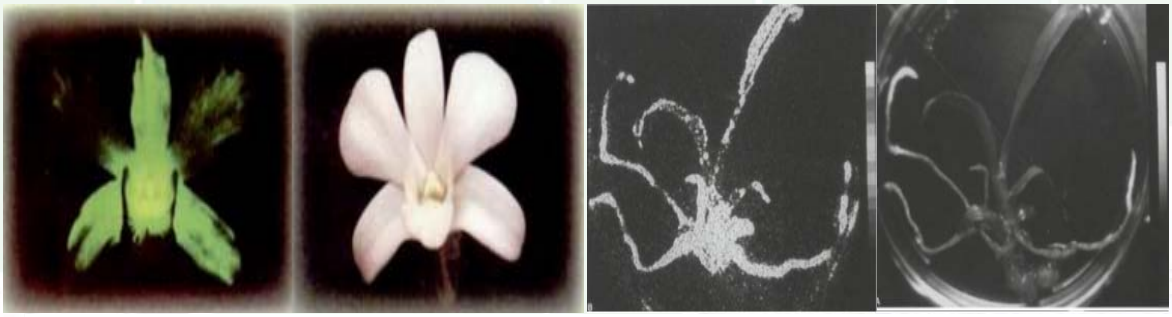


شکل۱– الف– حشره شب تاب(*Photinuspyralis*)

ب– اولین گیاه تراریخت شده با ژن لوسیفراز در سال ۱۹۸۶

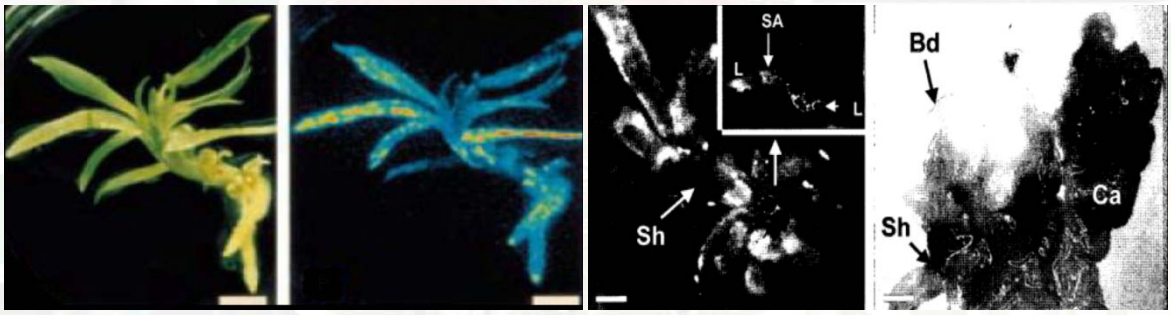
مزایای اصلاح گیاهان از طریق مهندسی ژنتیک (که اغلب اصلاح مولکولی نامیده می‌شود) این است که اصلاح‌گر با محدودیت تنوع ژنتیکی گونه خاصی مواجه نمی‌شود بلکه آن‌ها می‌توانند هر ژنی از هر موجودی را برای ایجاد یک واریته با ویژگی‌های جدید استفاده کنند(۱۰).در سال‌های اخیر یکی از اهداف اصلاح کنندگان گل انتقال ژن لوسیفراز به گیاهان زینتی و ایجاد گیاه شب‌تاب می‌باشد.بر این اساس آزمایش‌های متعددی بر روی گیاهان مختلف انجام شده که در زیر به چند مورد مهم و برجسته آن اشاره خواهیم کرد:

در سال ۱۹۹۴پروفسور چیا و همکاران برای به دست آوردن ارکیده دندروبیوم تراریخت از بمباران ذره‌ای استفاده کردند (شکل۲–الف). این پژوهشگران اولین کسانی بودند که ژن لوسیفراز حشره شب تاب را از طریق مهندسی ژنتیک به گیاه ارکیده دندروبیوم منتقل کردند (۳).بعد از طی سال‌های متمادی اولین گل ارکید شب‌تاب مهندسی ژنتیکی شده توسط پروفسور چیا در موسسه تحقیقات ملی سنگاپور در سال ۱۹۹۹ به دست آمد. آن‌ها با استفاده از بمباران ذره‌ای ژن لوسیفراز را به بافت‌های گیاه ارکیده منتقل کرده و با استفاده از ریزازدیادی اقدام به رشد و تکثیر این گیاه کردند. مدت زمان رشد گیاه ارکید دندوریوم از بذر تا گلدهی تقریبا سه سال به طول می‌انجامد. تحقیقات بر روی ایجاد ارکیده شب تاب از سال ۱۹۸۸ شروع شد و اولین گیاه ارکیده تراریخت شب‌تاب در سال ۱۹۹۹، بعد از ۱۱ سال حاصل شد (شکل۲–ب)(۴).



شکل۲- الف- ارکیده دندروبیوم تراریخت در شرایط نور و تاریکی
ب- اولین ارکیده دندروبیوم شب تاب در سال ۱۹۹۹

در یکی دیگر از پژوهش ها انتقال ژن لوسیفراز (luc) توسط لین و همکاران(۲۰۰۰) به گیاه آلسترومریا بررسی شد. این پژوهشگران دو ژن گزارشگر لوسیفراز و GUS را به طور همزمان به گیاه آلسترومریا توسط بمباران ذره‌ای منتقل کرده و بعد از مدتی میزان بیان آن‌ها را به طور جداگانه بررسی کردند (شکل۳-الف) و همچنین بعد از گذشت چندین ماه از انجام آزمایش به اولین گیاه آلسترومریای تراریخت دست یافتند (شکل۶)(۷).



شکل۳: الف- تصویر سمت راست: فعالیت ژن *GUS* بعد از ۵ ماه
تصویر سمت چپ: فعالیت آنزیم لوسیفراز بعد از ۸ ماه
Bd: جوانه جانبی، Ca: کالوس فشرده، Sh: ساقه
ب- گیاهچه تراریخت گیاه آلسترومریا در زیر دوربین لومینومتر

در تحقیقی ماریانی (۲۰۱۶) به منظور افزایش زیبایی و جذابیت گل ارکیده پروانه‌ای (Phalaenopsis amabilis)اقدام به انتقال ژن لوسیفراز از طریق بمباران ذره‌ای به این گیاه کردند (شکل۴) (۸).

شکل۴- الف: گل ارکیده پروانه‌ای
(*Phalaenopsis amabilis*)
ب: برگ تراریخت در نور
ج: برگ تراریخت در تاریکی

نتیجه‌گیری

با توجه به مطالب فوق می توان نتیجه گرفت که این ژن از اهمیت بالایی برخوردار بوده و انتقال آن به گیاهان زینتی و بیان ژن و به تبع آن نشر نور آن در این گیاهان می تواند بسیار ارزشمند و گران بها بوده و در پرورش و اصلاح گل و گیاه از این ژن می توان استفاده کرده و ارقام جدیدی به بازار گل و گیاهان زینتی معرفی نمود. امروزه پرورش و تولید گل و گیاهان زینتی به یکی از مشاغل پرطرفدار در دنیا تبدیل شده است. اصلاح و تولید ارقام جدید گیاهان زینتی و تکثیر و پرورش صنعتی آن‌ها رو به رشد و در حال گسترش است. هر ساله در برخی از کشورهای اروپایی مانند هلند و آلمان و کشور ایالات متحده آمریکا برای این صنعت میلیون ها دلار هزینه می شود. درآمد حاصل از فروش گیاهان زینتی در سال ۲۰۰۷ بالغ بر ۱۵۰–۱۰۰ میلیارد یورو بوده است.

منابع

Brand, H. (2006). Ornamental plant transformation. Journal of Crop Improvement 17: 27–50.
Carlson, A.D. and Copeland J. (1985). Communication in insects. 1. Flash communication in Fireflies. Review of Biology, 60:415-436.
Chia, T.F., Chan, Y., and Chua, N. (1994). The firefly luciferase gene as a non-invasivereporter for Dendrobium transformation. The Plant Journal. 6(3): 441-446.
Chia, T.F., Lim, A.Y.H., Luan, Y., and NG, L. (2001). Transgenic Dendrobium (Orchid). Biotechnology in Agriculture and Forestry. Transgenic Crops III. 48: 95-106.
De Wet, J.R., Wood, K.V., Helinski, D.R. and Deluca, M. (1985). Cloning of firefly luciferase cDNA and the expression of active luciferase in *Escherichia coli*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:7870-7873.
Horn, W. (2004). The Patterns of Evolution and Ornamental Plant Breeding. Acta Hort, ISHS, 651: 19-31.
Lin, H.S., van der Toorm, C., Raemakers, K.J.J.M., Visser, R.G.F., de Jue, M.J., and Jacobsen, E. (2000). Genetic transformation of Alstroemeria using particle bombardment. Molecular Breeding 6, 369-377.
Mariani, T.S. (2016). GENETIC TRANSFORMATION OF PHALAENOPSIS AMABILIS WITH RESISTANCE TO SOFT ROT DISEASE, HERBICIDE AND GLOWING IN THE DARK BY PARTICLE BOMBARDMENT METHOD. International Research Journal of Natural Sciences. Vol 4 (02):1-11.
Ow, D.W., Wood, K.V., Deluca, M., De WET, J.R., Helinski, D.R. and Howell, S.H. (1986). Transient and stable expression of the Firefly luciferse gene in plantcells and transgenic plants. Science, 234:856-859.
Tanaka, Y and Aida, R. (2010). Genetic engineering in floriculture. Molecular Techniques in Crop Improvemen695-717.

IRAN Association of flowers and ornamental plants
Ferdowsi University of Mashhad
Mashhad Municipality
NIOP National Institute of Ornamental Plants

Transformation of Firefly Luciferase Gene into Ornamental Plant

Mostafa Hojatian Far[1], Abdolreza Bagheri[2]*, Nasrin Moshtaghi[2], Mokhtar Jalali Javaran[3], Ahmad Sharifi[4]
Email: *abagheri@um.ac.ir
[1]M.Sc. Student of Plant Breeding, Agricultural Biotechnology and Plant Breeding Department, Agricultural College, Ferdowsi University of Mashhad
[2]Agricultural Biotechnology and Plant Breeding Department, Agricultural College, Ferdowsi University of Mashhad
[3]Department of Plant Breeding and Biotechnology, University of Tarbiat Modares
[4]Ornamental Plants Biotechnology Department, ACECR-Khorasan Razavi Organization

Abstract
Bioluminescence is a process inwhich light is produced and emittedby an organism, which converts chemicalenergy to light energyduring a chemicalreaction. Bioluminescence is widely applied in both research and development of improved ornamental industry. Luciferase is a general term for enzymes catalyzing visible light emission in bioluminescence. Luciferase gene has many applications and is of great importance in biotechnology. Transfer of this gene to ornamental plants, its expression and consequently emitting light in plants can be very valuable and precious.For increasing aesthetics of the flowers, many researchers inserted firefly luciferase gene into ornamental plants. The purpose is to enable the plant to glow in the dark. Bioluminescence in ornamental plants such as glowing in the dark may be acceptable as an alternative way to increase the economic value in international market.

Keywords: Bioluminescence, Firefly luciferase, Gene transformation, Ornamental plant