مهندسی متابولیک جهت ایجاد تحمل به تنش در گیاهان باغی

بهنام اسفندیاری[1*]، نرجس سادات روحانی[2] و بهرام عابدی[3]

۱- دانشجوی دکترای علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.

۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.

* نویسنده مسئول

چکیده

تنش‌های محیطی از جمله عوامل مهم در کاهش عملکرد گیاهان باغبانی محسوب می‌شود. مهندسی متابولیک رویکردهای مختلفی را جهت تحمل به تنش در گیاهان ارائه می کند. از جمله این رویکردها می توان به انتقال یک یا چند ژن کدکننده چرخه‌های بیوشیمیایی، مهندسی انتقال واکوئل، مهندسی تنظیم کننده‌ها و غیره اشاره داشت.کشف ژن‌های جدید، تعیین الگوهای بیان آن‌ها در پاسخ به تنش‌های غیرزنده و بهبود شناخت نقش آن‌ها در سازگاری به تنش توسط استفاده از فناوری‌های اومیکس، زیر ساخت لازم برای راهکار مواد متابولیکی را فراهم می‌سازد که منجر به ایجاد ارقام جدید می‌گردد. در مطالعه حاضر بطور خلاصه به بررسی برخی جنبه‌ها و کاربردهای مهندسی متابولیک جهت ایجاد ارقام مقاوم به برخی تنش‌های محیطی پرداخته است.

کلمات کلیدی: تنش‌های محیطی، ژن و مهندسی متابولیک.

۱- مقدمه

تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری، دمای بالا و غیره یکی از مهمترین عوامل محدودکننده در عملکرد محصولات باغبانی است. سالانه حدود ۴۲ درصد قابلیت تولید محصولات بر اثر تنش‌های زنده و غیرزنده از بین می‌روند(۴).

مهندسی متابولیک را می‌توان دستکاری فرایندهای سلولی، آنزیمی، تنظیمی و انتقال تعریف نمود که از فناوری نوترکیبی DNA استفاده می‌نماید.توسعه روش‌هایی برای انتقال ژن‌ها در گونه‌های گیاهی منجر به انجان تحقیقاتی شده است که هدف آن تولید گیاهان تراریخته مقاوم به تنش با استفاده از مهندسی متابولیک است. ابزارهای لازم برای مهندسی متابولیک گیاهان باغی شامل فناوری‌های مختلف انتقال ژن، ویژگی‌های فیزیولوژیک و مولکولی گونه‌های وحشی، انتخاب اهداف برای مهندسی متابولیک و تشخیص مسیرها و ژن‌ها می‌باشد (۱).

۲- انتخاب اهداف برای مهندسی متابولیک

مواد متابولیکی و چرخه‌های بیوسنتزی آنها در تحمل به تنش در گیاهان دخالت دارند. مهندسی متابولیک برای تحمل تنش می‌تواند بوسیله افزایش غلظت ساختمانی آنتی‌اکسیدان‌ها و تجمع مواد حل‌شونده سازگار در بافت‌های گیاهان انجام شود. رویکردهای مهندسی اخیر بر روی انتقال یک یا چند ژن کدکننده چرخه‌های بیوشیمیایی یا نقاط انتهایی چرخه‌های پیغام دهی وابسته است. این محصولات ژنی بطور مستقیم و غیرمستقیم گیاه را در برابر تنش محافظت می‌کنند. ترکیبات عمده یا اهداف برای مهندسی تحمل به تنش در گیاهان در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. اجزای متابولیکی و انتقالی عمده مهندسی تحمل به تنش‌های محیطی در گیاهان

اجزا	نحوه عمل
تنظیم کننده‌های رشد	تغییر در هورمون‌ها
پروتئین‌های شوک گرمایی	ممانعت از معکوس نمودن تغییرات نامناسب پروتئین‌ها
ناقل‌های یون/ پروتئین	حذف و جداسازی یونهای سمی از اندامکها، دریافت و انتقال یونها
محافظت اسمزی	تنظیم اسمزی، محافظت از پروتئین‌ها و غشا، تجزیه گونه‌های فعال اکسیژن
تجزیه گونه‌های فعال اکسیژن	سمیت زدایی تجزیه گونه های فعال اکسیژن
مسیرهای علامت دهی	اجزای مربوط به ترجمه علائم وابسته به یون کلسیم یا تنظیم ژن‌های ساختاری
عوامل ترجمه	فعال شدن ترجمه یا تنظیم ژن‌های ساختاری

۳- تشخیص مسیرها و ژن‌ها: مدل Post-genomic

دریافت تنش، ترجمه علامت، فعال شدن عوامل ترجمه و بیان ژن‌های ساختاری، از مراحل اساسی در پاسخ به تنش هستند (۳). بسیاری از فنون بسیار اختصاصی مانند آنالیزهای ریزماهواره، پروتئومیکس و متابولومیک‌ها برای تشخیص سریع تعداد زیادی از رونوشت‌ها، پروتئین‌ها یا مواد متابولیکی تغییر یافته که در پاسخ به تنش تولید می‌شوند، قابل دسترس هستند. صحت بیشتر می‌تواند از طریق جهش یافته هایی حاصل شود که در مورد تحمل به تنش یا همبستگی داده ها بین ژنوتیپ ها، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. قابلیت دسترسی به جهش یافته‌های حاصل از وارد کردن DNA تراریخته، در مورد بیشتر ژن‌ها در آرابیدوپسیس، این امکان را فراهم ساخته تا کارکرد ژن‌هایی که نقش آن‌ها ناشناخته است، را شناسایی نمود. جدول ۲ نمونه‌های گزینش شده از فعالیت‌های مهندسی متابولیک مستدل را که بر اساس آن‌ها یک فنوتیپ مقاوم به تنش بدست آمده است، را نشان می‌دهد.

جدول ۲. انتخاب مطالعات برجسته روی مهندسی متابولیک برای تحمل تنش در گیاهان

مکانیسم	تحمل تنش
غیراشباع شدن اسیدهای چرب	سرمازدگی
آنتی‌اکسیداسیون	تنش آنتی‌اکسیداسیونی و خشکی
سنتز مواد سازگار	شوری، سرما، یخزدگی و گرما
پروتئین‌های شوک گرما و چاپرون‌ها	گرما
پروتئین‌های LEA	شوری و خشکی
متابولیسم گلوتاتیون و آمینواسیدها	تنش آنتی‌اکسیداسیونی، شوری و خشکی
کنترل رونویسی مسیرهای تنش	سرما و خشکی
انتقال واکوئلی سدیم	شوری

۴- مهندسی انتقال واکوئل

وجود واکوئل‌های درشت، اسیدی و متصل به غشا در بسیاری از گیاهان شوری‌رست، اجازه کدبندی (Compatmentalization) کارآمد سدیم به داخل واکوئل‌ها را از طریق فعالیت آنتی پورت‌های واکوئلی H^+ /$^+$

Naمی‌دهد. گیاهان تراریخته گوجه‌فرنگی که رونوشت برداری بالای ژن آنتی پورتر واکوئلی را نشان می‌دهند، سدیم را در برگ‌های خود تجمع می کنند ولی در میوه ها این تجمع صورت نمی گیرد. (۵)

ژن SOS1 از آرابیدوپسیس، کدکننده یک آنتی‌پورتر NA^+/H^+ غشا پلاسمایی برای ایجاد تحمل به شوری ضروزی است. گازیولا و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که گیاهان تراریخته دارای ژن پمپ پروتونی AVP1، مقاوم به خشکی و شوری هستند(۲). این امر نشان می‌دهدکه بهبود در تحمل به تنش در گیاهان را می‌توان از طریق دستکاری تک ژن یک ناقل، مسیر ترجمه و ژن تنظیم کننده شبکه انجام داد.

۵- مهندسی تنظیم کننده‌ها

عوامل نسخه‌برداری بعنوان گروه هدف بعدی برای هدایت تنظیم ژن بمنظور بهبود تحمل به تنش تشخیص داده شده است. شناخت مسیرهای پیغام‌دهی یک راه حل برای این راهکار مهندسی تنظیم است. مزیت این تکنیک بدین‌گونه است که تنها یک ژن تنظیم کننده نیاز است تا بیان بالا انجام شود و این در حالیست که تحمل به تنش بعلت القای ژن‌های بسیاری است (۸). سه زن فعال کننده نسخه برداری CBF/DREB1 در آرابیدوپسیس وجود دارد. رونوشت برداری بالای cDNA برای عامل راه‌انداز فعال کننده سیس DREBIA در گیاهان تراریخته موجب بهبود تحمل به تنش خشکی، شوری و یخ زدگی در گیاهان می گردد (۸). ژن CBF1 در آرابیدوپسیس با رونوشت برداری بالا، موجب بیان ژن‌های تنظیم کننده مقاومت به سرما و افزایش تحمل به یخ‌زدگی می‌شود(۷). گیاهان تراریخته آرابیدوپسیس با میزان بالای القای عامل نسخه‌برداری AtMYB2 (که برای بیان ژن الکل دهیدروژناز ضروری است)، تحمل به خشکی بیشتری نشان دادند(۸). بیان بالای عامل نسخه‌برداری تحمل به گرما (HsfA1) در گوجه‌فرنگی موجب بروز تحمل به گرمای بیشتر شد (۶). تحقیقات بیشتر نشان‌دهنده امکان استفاده از مهندسی تنظیم کننده‌ها برای دستیابی به افزایش تحمل به تنش در گیاهان مختلف است.

۶- نتیجه‌گیری

مکانیسم‌های متعدد تحمل به تنش در گیاهان تا حدودی شناخته شده است. استفاده از گیاهان تراریخته بعنوان ابزارهای مهم برای تمایز این مکانیسم‌ها ادامه خواهد داشت. کشف ژن‌های جدید، تعیین الگوهای بیان آن‌ها در پاسخ به تنش‌های غیرزنده و بهبود شناخت نقش آن‌ها در سازگاری به تنش توسط استفاده از فناوری های اومیکس (omics)، زیر ساخت لازم برای راهکار مواد متابولیکی را فراهم می سازد که منجر به ایجاد ارقام جدید می گردد.

منابع

1) Bailey, J.E. 1991. Toward a science of metabolic engineering. Science 252, 1668-1674.
2) Gaxiola, R.A., Li, S. Undurraga, L.M. Alper, S.L, and Fink, G.R. 2001. Drought and salt tolerant plant result from over expression of the AVP H+ pump. Proc. Natl. Acad. Sci. 11444-11449.
3) Krauss, G. 2001. Biochemistry of signal transduction and regulation. Wiley, New York.
4) Lemer, H.R. 1999. Introduction to the response of plants to environmental stress. In: Plant Responses to environmental stresses.Ed. H.R. Lerner. Marcel Dekker. New York. 1-26.
5) Martinoia, E., A. Massonneau, and N. Frangne. 2000. Transport processes of solutes across the vacuolar membrane of higher plants. Plant Cell Physio. 41. 1175-1186.
6) Mishra, S.K., J. Tripp, S. Winkelhaus, B. Tschiersch, K. and K.D. Scharf. 2002. In the complex family of heat stress transcription factors, HsfA1 has a unique role as master regulator of thermotolerance in tomato. Gene. Dev. 16, 1555-1567.
7) Stockinger, E.J., S.J. Gilmour, and M.F. Thomashow. 1997. *Arabidopsis Thaliana* CBF1encodes an AP2 domain-containing transcriptional activator that binds to the C-repeat/DRE, a cis –acting DNA

regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit. Proc. Natl. Acad. Sci. 94, 1035-1040.

8) Zhang, J.Z., R.L. Creelman, and J.K. Zhu. 2004. From laboratory to field. Using information from Arabidopsis to engineer salt, cold and drought tolerance in crops. Plant Physio. 135, 615-621.