ملیحه شلتوکی
کارشناس تحقیقات
مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

مروری بر دستکاری ژنتیکی سویا (بخش دوم)

An Overview of Genetic Transformation of Soybean

۱. انتقال مبتنی بر جنین نابالغ

باززایی جنین نابالغ از طریق جنین‌زایی غیرجنسی (سوماتیکی) اولین بار توسط کریستیانسون و همکاران (۱۹۸۳) انجام شد. در آن تحقیق، جنین‌های نابالغ خارج شده از غلاف‌های سویا بر روی محیط کشت مایع یا نیمه جامد با غلظت بالای اکسین و 2-4-D قرار داده شد و گیاهچه‌های کامل باززایی شدند. بعد از این که جنین نابالغ به عنوان یک ماده گیاهی جایگزین توسعه یافت، گیاهان تراریخته ابتدا از طریق این بافت به وسیله‌ی بمباران ژنی به دست آمدند. این سیستم به طور انحصاری برای تولید سویا تراریخته مانند سویا مقاوم به گلیفوزات، مقاوم به هیگرومایسین و باسیلوس تورینگنسیس (BT) استفاده شده است.

از آن جا که تشکیل بافت جنینی تکثیری به ژنوتیپ بستگی دارد، استفاده از جنین‌های نابالغ تاکنون برای تراریختگی به تعداد کمی از کولتیوارها مانند "Jack" و "Williams 82" محدود شده است. نتایج استفاده از بمباران ژنی در جنین‌های نابالغ بسیار متغیر است و معمولا باعث ایجاد کپی‌های متعدد از DNA می شود. علاوه بر این، مشکل از دست رفتن باروری در کشت‌های سوسپانسیون جنینی با سن بالا وجود دارد. علیرغم این محدودیت ها، کشت‌های جنینی مزایای مختلفی دارند که یکی از آنها کارآیی نسبتاً این روش و کاهش گیاهان بافت ناهمسان (شیمر) است.

۲. انتقال مبتنی بر سرشاخه‌های جنینی

ریز نمونه‌ی سرشاخه‌ی جنینی منبع دیگری از ریزنمونه‌ها است که در تراریختگی سویا مورد استفاده قرار گرفته است. مکیب و همکاران (۱۹۸۸) برای اولین بار انتقال پایدار با استفاده از سلول‌های مریستمی از طریق بمباران ژنی را گزارش کردند. سرشاخه‌های حاصل از این مریستم‌ها از طریق ارگانوژنز، برای تولید شاخه‌های متعدد قبل از گیاهان بالغ ایجاد شدند. با این حال گیاهان تراریخته‌ی اولیه شیمر بودند. مارتینل و همکاران (۲۰۰۲) روش موفقیت‌آمیزی را گزارش کردند که در آن از نوک سرشاخه مریستمی متعلق به گیاهچه‌ی جوانه زده در محیط انتقال اگروباکتریوم، استفاده شده بود. این سیستم، باعث افزایش سرعت انتقال ژن در سویا شده است.

۳. انتقال مبتنی بر هیپوکوتیل

ریزنمونه هیپوکوتیل ۱۳ ژنوتیپ مختلف سویا مورد بررسی قرار گرفت. بیشتر ژنوتیپ‌ها در این نوع ریزنمونه باززایی را از سرشاخه آغاز کردند. بررسی ها نشان داد که این روش باززایی از طریق اندام زایی (ارگانوژنز) مستقل از ژنوتیپ است و از انتهای اکروپتال بخش هیپوکوتیل متعلق به گیاهچه‌ی هفت روزه استفاده شده است. با وجود شاخه‌های القا شده از ریزنمونه، اکثرا آن‌ها در محیط خاک بالغ نشدند. ونگ و همکاران (۲۰۰۸) تولید موفقیت‌آمیز گیاهان تراریخته‌ی بارور را با استفاده از انتقال مبتنی بر هیپوکوتیل در محیط اگروباکتریوم گزارش کردند. برای بهبود سیستم انتقال ژن، دو ماده‌ی شیمیایی مختلف،شامل BAP و نیترات نقره، به محیط تشکیل سرشاخه اضافه شدند. علیرغم اصطلاح " هیپوکوتیل" که در سیستم انتقال فوق به کار رفته است، بافت‌های واقعی مسئول برای باززایی در واقع بافت‌های مریستمی از قبل موجود در ناحیه‌ی گره کوتیلدونی هستند.

۴. انتقال مبتنی بر بافت برگ

روش‌های باززایی تجدیدپذیر برای کل گیاه از بافت برگ اولیه یا اپیکوتیل اولین بار توسط رایت و همکاران (۱۹۸۷)گزارش شد. شاخه‌های متعددی از آن ریزنمونه‌ها به طور مداوم آغاز به رشد کردند و با هورمون‌های BAP و سایتوکنین تکثیر شدند. راجاسکاران و همکاران (۱۹۹۷) باززایی واریته‌های متعددی از سویا را از طریق جنین‌زایی از اپیکوتیل و بافت‌های اولیه‌ی برگ گزارش کردند، که منجر به ایجاد گیاهان بارور شد.کان و همکاران (۲۰۰۶) برای اولین بار بازدهی انتقال را با استفاده از اپیکوتیل و بافت برگ در محیط اگروباکتریوم مورد آزمایش قرار دادند و در آن از سویه‌های EHA101 و LBA4404 همراه با تیمار ساکاروز و مانوز استفاده کردند.

منبع

Board, j. (2013). A comprehensive survey of international soybean research- genetic, physiology, agronomy and nitrogen relationships. InTech. Chapter 23. Lee, H., Park, S., Zhang, Z. 489-506.