## دانش فنی تولید لاین‌های والدینی بذور هیبرید کلزا، خیار و فلفل دلمه‌ای از طریق سیستم هاپلوئیدی و مهندسی اصلاح معکوس

تعریف مسئله:

اینبرد والدینی وجود دارد. هم اکنون سالانه بالغ بر ۱۲۰ میلیون دلار بذر سبزی و صیفی وارد کشور می‌شود که این آمار تنها مربوط به واردات قانونی بوده و واردات قاچاق لحاظ نشده است. از طرفی ۹۸٪ از بذور مصرفی سبزی و صیفی کشور وارداتی است. علاوه بر ارزبری، هیبریدهای خارجی برای شرایط آب و هوایی کشور ما اصلاح نشده‌اند و معمولا متوسط مصرف آب آن‌ها بالاست. در گیاهان دگر گشنی مثل ذرت، خیار، سبزیجات و کلزا عمده درآمد شرکت‌های به نژادی و اصلاح نباتات از بذور F1 حاصل می‌شود که این بذور یکبار مصرف هستند و بذرهایی که از کشت بذر هیبرید آنها به‌دست می‌آید به هیچ وجه صفات برتر نسل F1 را ندارد و کشاورز ناگزیر از خرید مجدد آنها از شرکت تولید کننده است. برای تولید بذور هیبرید، مهم ترین مسئله، داشتن فناوری تولید لاین‌های اینبرد است. دسترسی به لاین‌های اینبرد والدینی بذور هیبرید تجاری مطلوب در سبزیجات از شرکت‌های خارجی تولید کننده بذور تقریبا غیر ممکن است. این در حالی است که با استفاده از سیستم هاپلوئیدی و اصلاح معکوس امکان دسترسی به لاین‌های اینبرد والدینی وجود دارد.

راه حل پیشنهادی:

به نژادی از طریق سیستم هاپلوئیدی فصلی جدید در برنامه های اصلاحی است که به دلیل تولید لاین‌های کاملا خالص از نسل F۱ یک تلاقی خاص طی یک مدت بسیار کوتاه، بر روش‌های سنتی کاملا برتری دارد. این کار با تولید گیاه هاپلوئید و بدست آوردن لاین‌های کاملا خالص دابل‌هاپلوئید از طریق دو برابر کردن تعداد کروموزوم‌های آنها میسر است.

برای تولید هاپلوئیدها در گیاهانی چون کلزا و فلفل دلمه‌ای استفاده از روش کشت میکروسپور (آندروژنز) یکی از کاراترین و معمول‌ترین روش‌های ایجاد گیاه هاپلوئید است. بدین ترتیب که میکروسپور (دانه گرده نارس در مرحله ابتدائی نمو) را در محیط درون شیشه قرار داده و از طریق تنش القایی نظیر دمایی، غذایی و شیمیایی مسیر نمو آن از تولید دانه گرده به سمت جنین‌زایی و ایجاد گیاهچه هاپلوئید و در ادامه تولید گیاه دابلدهاپلوئید تغییر داده می‌شود.

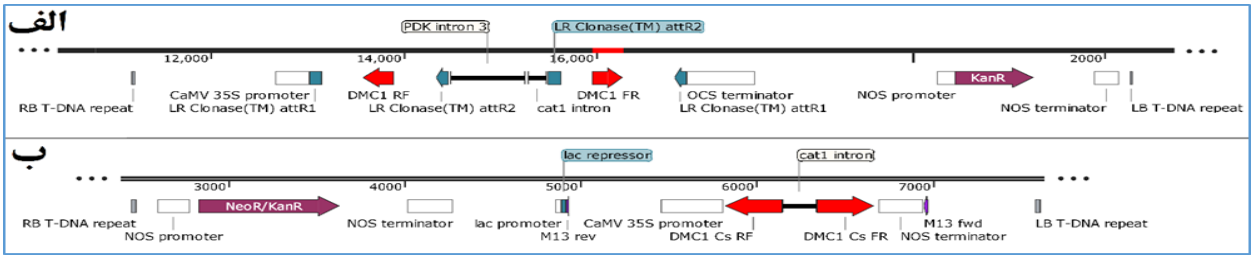
اما در خیار برای تولید گیاه هاپلوئید، دانه‌های گرده را با قرار دادن در معرض پرتوهای گاما عقیم کرده و از آنها برای گرده-افشانی گیاهان هدف استفاده می‌شود. حاصل این فرایند جنین هاپلوئیدی است که فاقد ژنوم گیاه پدری می‌باشد. در ادامه جنین را اصطلاحا نجات داده و اقدام به تولید گیاه هاپلوئید می‌شود که در تولید لاین اینبرد قابل استفاده است.

با استفاده از فرآیند اصلاح معکوس، این قابلیت وجود دارد که در کلیه گونه‌ها از گیاهان هتروزیگوس جهت ایجاد والدین خالص استفاده شده و با تلاقی این والدین خالص، گیاه هتروزیگوس باز تولید شود. قدم اول در اصلاح معکوس، توقف کراسینگ‌آور (CO) در گیاه هتروزیگوس و جلوگیری از نوترکیبی کروموزوم‌ها با روش‌های دستکاری ژنتیکی

(خاموش‌سازی ژن DMC1) است. در قدم بعدی با کشت اسپورها در محیط کشت مصنوعی، گیاهان هاپلوئید تولید شده و سپس توسط تیمار با کلشی‌سین گیاهان دابل‌هاپلوئید (DH) ایجاد می‌شوند. در نهایت با انتخاب گیاهان DH مکمل، باز تولید گیاه هتروزیگوت اولیه از طریق بذر برای نسل‌های متوالی فراهم می‌شود. این فناوری در گیاه خیار منجر به دستیابی به گیاهانی با خاموشی ژن DMC1 شده است.

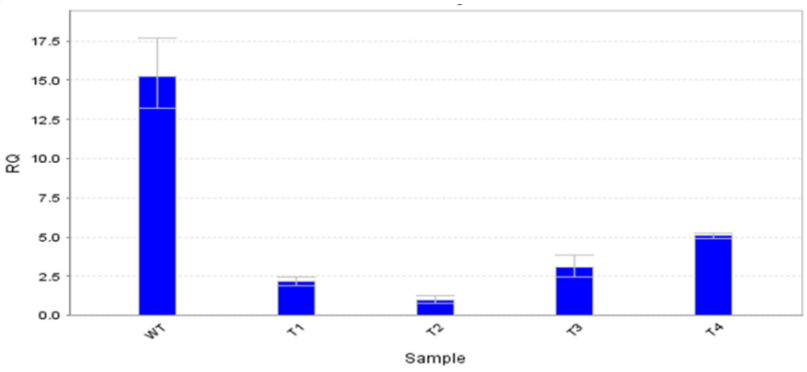
سیستم هاپلوئیدی

سیستم اصلاح معکوس




تصویر ناحیه T-DNA در دو وکتور (الف) pHELLSGATE12 DMC1-RNAi (ب) pBI121 DMC1-RNAi جهت خاموش‌سازی ژن *CsDMC1* در خیار

گیاهچه‌های حاصل از اصلاح معکوس




تولید ۱۰ گیاه تراریخته خیار با خاموشی ژن *DMC1*

کاربردها:

امکان سفارش تولید لاین اینبرد سبزیجات و کلزا در سطح ملی و بین‌المللی از بخش‌های دولتی و خصوصی

امکان انتقال فناوری به شرکت‌های دانش بنیان داخلی و بین‌المللی

امکان دسترسی به لاین‌های اینبرد والدینی بذور هیبرید تجاری مطلوب

مزایای فناوری:

| مزایای فناوری | توضیحات |
| --- | --- |
| جلوگیری از خروج ارز از کشور به منظور واردات بذور هیبرید سبزی و صیفی | هر ۱۰ درصد کاهش واردات بذور معادل ۱۲ میلیون دلار در سال صرفه‌جویی ارزی بهمراه دارد. |
| معرفی و تولید بذور هیبرید سازگار با شرایط اقلیمی کشور | |
| امکان عرضه و صادرات فناوری تولید بذور هیبرید به کشورهای منطقه | تحقق این موضوع ارزآوری مناسب برای کشور بهمراه دارد. |
| اشتغال‌زایی مولد | |
| بومی سازی فناوری تولید بذور هیبرید در کشور | |
| ایجاد مرجعیت علمی بین المللی | |


Niazian M, Shariatpanahi ME, Abdipour M, Oroojloo M (2019) Modeling callus induction and regeneration in another culture of tomato (Lycopersicon esculentum L.) using image processing and artificial neural network method. Protoplasma. DOI:10.1007/s00709-019-01379-x

Heidari AA, Shariatpanahi ME, Mousavi A, Kalatejari S (2018) Enhancement of microspore embryogenesis induction and plantlet regeneration of sweet pepper (Capsicum annuum L.) using putrescine and ascorbic acid. Protoplasma. https://doi.org/10.1007/s00709-018-1268-3.

Ebrahimzadeh H, Shariatpanahi ME, Ahmadi B, Soltanloo H, Lotfi M, Zarifi E (2018) Efficient Parthenogenesis Induction and In Vitro Haploid Plant Regeneration in Cucumber (Cucumis sativus L.) Using Putrescine, Spermidine, and Cycocel. Journal of Plant Growth Regulation. https://doi.org/10.1007/s00344-018-9803-1.

Ebrahimzadeh H, Soltanloo H, Shariatpanahi ME, Eskandari A, Ramezanpour SS (2018) Improved chromosome doubling of parthenogenetic haploid plants of cucumber (Cucumis sativus L.) using colchicine, trifluralin, and oryzalin. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). https://doi.org/10.1007/s11240-018-1473-y.