مجموعه مقالات
چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹٤، پژوهشکده کشاورزی هسته ای)
The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

تغییرات اقلیمی و توانمندی القاء جهش در اصلاح گیاهان

بهنام ناصریان خیابانی
گروه پژوهشی اصلاح نباتات، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای
bnaserian@nrcam.org

چکیده: القاء جهش با استفاده از موتاژن ها به‌منظور افزایش فراوانی جهش در یک دوره زمانی کوتاه و تولید ارقام جدید است. فراوانی وقوع جهش طبیعی بسیار کم است و به همین دلیل استفاده از آن در برنامه‌های اصلاحی امکان‌پذیر نمی‌باشد. به‌طورمعمول جهش‌ها توسط موتاژن‌های فیزیکی نظیر اشعه گاما و موتاژن شیمیایی مانند EMS در بذر یا اندام‌های رویشی ایجاد می‌شوند در حال حاضر بیش از ۳۲۰۰ موتانت در گونه‌های مختلف زراعی، باغی و زینتی معرفی‌شده‌اند. با توجه به تغییرات اقلیمی و به‌منظور تأمین امنیت غذایی، نیاز به روش‌های کم‌هزینه، سریع و مؤثر در تولید و معرفی ارقام جدید است. موتاسیون روش کم‌هزینه و سریع است که در کشورهای درحال‌توسعه نسبت به روش‌های پرهزینه مانند مهندسی ژنتیک می‌تواند به‌طور موفق در تولید ارقام جدید عمل کند.

واژگان کلیدی: تغییرات اقلیم، اصلاح به روش موتاسیون، موتاژن فیزیکی، موتاژن شیمیایی

Climate change and Potential of induced mutations in plant improvement

Behnam Naserian Khiabani
Nuclear agricultural Research School, Nuclear Science and Technology
bnaserian@nrcam.org

Abstract: The purpose of mutation induction is to enhance mutation rate in a short duration in developing new plant varieties. The occurrence of spontaneous mutation frequency rate is very low and difficult to use in plant breeding. Traditionally mutations are induced by physical (e.g. gamma radiation) and chemical (e.g. ethylmethane sulfonate) mutagen treatment of both seed and vegetatively propagated crops. Currently more than 3,200 mutant introduced from different species of crops, horticultural and ornamental. Due to climate change and to meet the food security needs of low-cost, quick and effective method to devalopment and introduction of new varieties which adapt to new climatic conditions. Mutation is low cost and fast method in developing countries than in high-cost methods such as genetic engineering can successfully operate in the production of new varieties.

Keywords: Climate change, Mutation Breeding, physical mutagen, Chemical mutagen

مقدمه

افزایش جمعیت در سال‌های اخیر تولید بیشتر محصولات کشاورزی و ایجاد امنیت غذایی را ضروری کرده است. طبق پیش‌بینی فائو تا سال ۲۰۵۰ برای تأمین نیاز غذایی بیش از ۹ میلیارد ساکنین کره زمین باید میزان تولید محصولات

کشاورزی تا ۷۰ درصد افزایش یابد[۱]. تغییرات آب و هوایی باعث شده است که بسیاری از اراضی دیگر قابل‌کشت نباشند، بنابراین افزایش نیاز به مواد غذایی باید از طریق افزایش تولید در واحد سطح جبران شود و یا اینکه ارقام جدیدی ایجاد شوند که بتوانند در اراضی با محدودیت‌ها و عوامل نامساعد سازگار بوده و تولید قابل‌قبول داشته باشند. به‌عبارت‌دیگر باید گیاهان متحمل به تنش‌های غیر زیستی و زیستی ایجاد شوند و در اختیار کشاورزان قرار گیرند،، اما برای تأمین این نیاز باید تنوع ژنتیکی مناسب و کافی وجود داشته باشد. منابع تنوع عبارت‌اند از جهش،، نوترکیبی حاصل از هیبریداسیون،و انتخاب. این سه جز ارکان تکامل بوده و از آنجایکه بهنژادی تکامل هدایت‌شده است، باید بر این سه جزء استوار باشد. اصلاح نباتات علم و هنر بهبود ژنتیکی گیاهان است و هدف کلی آن اصلاح خصوصیاتی از گیاهان است که در ارزش اقتصادی نقش دارد[۱ و ۲]. وجود آلل‌های جدید شانس موفقیت را در بهنژادی افزایش می‌دهد. مشکل عمده بهنژادگران در دسترس نبودن تنوع و یا نبود تنوع ژنتیکی کافی می‌باشد [۱, ۳]. القاء مصنوعی جهش و افزایش فراوانی جهش به‌منظور انتخاب ژنوتیپ‌های برتر با هدف غلبه بر مشکل کمبود تنوع ژنتیکی به کار گرفته می‌شود. امبا و همکاران[۱] استفاده از موتانت‌ها را برای افزایش تنوع ژنتیکی و نیز دستیابی به آلل‌های جدید پیشنهاد کردند.

جهش منبع نامحدود برای تنوع ژنتیکی در برنامه‌های اصلاح نباتات است. تنوع حاصل از جهش القایی الزاماً با تنوع حاصل از جهش طبیعی یا خودبه‌خودی متفاوت نیست و اصول استفاده از آن‌ها نیز همسان است، اما پیگیری و شناسایی موتانت‌های حاصل از جهش طبیعی برای بهنژادگران بسیار مشکل است[۴]. در ۱۹۲۷ القا جهش توسط مولر بروی مگس سرکه و به دنبال آن در ۱۹۲۸ بر روی جو، توسط استدلر ، شاخه جدیدی را در علم ژنتیک تحت عنوان جهش القایی باز کرد، که بعدها در مطالعات مربوط به مکان‌یابی و ساختار ژن‌ها، تظاهر و بیان ژن، کاوش ژنوم و اصلاح نباتات به ابزار مهمی تبدیل شد[۵]. در طی ۴ دهه گذشته تحقیقات درزمینه ایجاد جهش به‌سرعت پیشرفت نموده است، و بسیاری از بهنژادگران و ژنتیک‌دانان مطالعه بر روی استفاده از القا جهش برای تغییر صفات در گیاهان را آغاز کردند. در طی ۸۰ سال گذشته بیش از ۳۲۱۱ واریته موتانت به‌طور رسمی معرفی شده‌است[۴]. تقریباً ۷۰درصد موتانت‌ها به‌طور مستقیم به‌عنوان یک رقم معرفی می‌شوند، سایر موتانت‌های تولیدشده به‌عنوان والد در تلاقی‌ها به کار گرفته می‌شوند. به‌عبارت‌دیگر در برخی موارد مواد حاصل از القا جهش به‌عنوان ژرمپلاسم در برنامه‌های اصلاحی قابل‌استفاده هستند و مستقیماً به‌عنوان رقم معرفی نمی‌شوند. به دلیل کاربرد آسان، و تکرارپذیر بودن، حدود ۸۰ درصد موتانت‌های معرفی‌شده توسط موتاژن‌های فیزیکی ایجاد شده‌اند[۵].

مواد موتاژن باعث تغییر در DNA هسته شده و در طول ترمیم باعث بروز تغییراتی در ساختمان آن می‌شوند که وراثت پذیر بوده و به نسل بعد منتقل می‌شوند، اما به‌صورت تصادفی در ساختمان ماده ژنتیکی رخ می‌دهند. این تغییرات در ژنوم سیتوپلاسمی هم امکان وقوع دارند که به‌صورت تغییراتی در رنگ گل، برگ و یا عقیمی سیتوپلاسمی دیده می‌شوند[۶]

در حال حاضر چالش‌های جدیدی مانند تغییرات آب و هوایی، تغییر اکوسیستم‌های محلی و رشد جمعیت امنیت غذایی را به خطر انداخته‌اند. این تهدید در کشورهای درحال‌توسعه ملموس‌تر می‌باشد، بنابراین لازم است تمهیدات لازم برای امنیت غذایی در جوامع دارای رشد جمعیت برای تولید بیشتر محصولات کشاورزی و معرفی ارقام پر محصول و سازگار به شرایط اقلیمی تغییریافته در نظر گرفته شود[۱, ۴]

تغییرات آب و هوایی باعث خشک‌سالی در مناطق خشک و بارندگی‌های بیشتر در نواحی مرطوب خواهد شد بنابراین علاوه بر تغییر الگوی بارندگی، پراکنش آفات و بیماری‌ها نیز تغییر خواهدکرد. بهنژادگران در تلاش‌اند با استفاده از روش‌های جدید ارقام پر محصول سازگار به تغییرات پیش‌آمده را از طریق مهندسی ژنتیک در کنار روش‌های اصلاح کلاسیک ایجاد کنند. در این مقاله بر پتانسیل روش القا جهش در ایجاد تنوع ژنتیکی و تولید آلل‌های جدید متناسب با تغییرات به وجود آمده و کاربرد تنوع ایجادشده در اصلاح نباتات و ایجاد ارقام سازگار جدید تأکید شده است.

تأثیر تغییرات آب و هوایی در کشاورزی

ازآنجایی‌که رشد محصولات کشاورزی با عوامل محیطی در ارتباط است، آلودگی‌های صنعتی و افزایش روزافزون جمعیت بر میزان آب‌های در دسترس، اراضی قابل‌کشت، ژرم‌پلاسم و محیط‌زیست تأثیر مخربی گذاشته است. علائم مشخص از اثرات منفی این تغییرات بر روی تولید مواد غذایی قابل‌مشاهده است. افزایش گازهای گلخانه‌ای، گرمایش زمین، تغییرات شدید در میزان بارندگی و نواحی دارای بارندگی، تخریب منابع آب‌وخاک و افزایش شدت اشعه ماورای بنفش ازجمله این علائم می‌باشند. تغییرات آب و هوایی می‌تواند بر بازدهی برداشت محصول و یا نابودی کامل آن تأثیرگذار باشد. مقابله با این تغییرات از جنبه‌های مختلف قابل‌بررسی است اما در این مقاله تنها از بعد اصلاح نباتات راه‌های مقابله بررسی می‌شود.

استراتژی‌های مقابله با تغییرات آب و هوایی

بهنژادگران و آگرونومیست‌ها برای تولید پایدار محصولات کشاورزی تحت‌فشار هستند. هزینه تولید محصولات کشاورزی به دلیل محدودیت نهاده‌های کشاورزی افزایش‌یافته است. در حال حاضر هیچ راه‌حل سریعی برای حل مشکل وجود ندارد، بنابراین شناسایی روش‌هایی که هزینه کمتری داشته باشند مدنظر است. برای مقابله با تغییرات سریع اقلیمی واریته‌های جدید به کمک اصلاح کلاسیک در تلفیق با روش‌هایی نظیر مهندسی ژنتیک، بیوتکنولوژی، جهش‌زایی، اصلاح مولکولی، استفاده از ژرم‌پلاسم بومی می‌توانند راهگشا باشند. به‌طورکلی برای مقابله با اثرات تغییرات اقلیمی نیاز به تنوع ژنتیکی کافی است. راهکارهایی که بتوانند این تنوع را در سطح وسیع و با سرعت تأمین کنند موردتوجه بهنژادگران است.

مهندسی ژنتیک

مهندسی ژنتیک به انتقال ژن از یک منبع خارجی (هر ارگانیسم زنده) به گیاه هدف گفته می‌شود که شامل شناسایی، جداسازی و انتقال ژن می‌باشد. حتی اگر مهندسی ژنتیک توان بالقوه بالایی در بهبود ژنتیکی محصولات کشاورزی داشته باشد، عملیاتی کردن این تکنولوژی به‌ویژه در کشورهای درحال‌توسعه به دلیل بالا بودن هزینه، کمبود نیروی انسانی آموزش‌دیده، نبود کتابخانه‌های ژنی، عدم پذیرش محصولات ترانسژنیک توسط مصرف‌کننده، به‌آسانی امکان‌پذیر نیست. همچنین وابستگی این روش به کشورهای صنعتی به‌منظور

جدول ۱ مقایسه روش اصلاح به کمک جهش و انتقال ژن در گیاهان

گیاهان موتانت	گیاهان ترانسژنیک
جهش پدیده تصادفی است	روش‌ها و ابزار بیولوژی مولکولی در جهت شناسایی، جداسازی و تکثیر ژن استفاده می‌شود
نیاز به جمعیت بزرگ به‌منظور انتخاب موتانت مطلوب دارد	نسبت به روش القاء جهش گران‌تر است
نمی‌توان تغییر هدفمند ایجاد کرد	انتقال ژن به شکل تصادفی در ژنوم اتفاق می‌افتد
موتانت‌ها الزاماً شامل یک ژن تغییریافته نیستند	تغییرات در پروتئین و DNA به‌خوبی مشخص‌شده است
جهش ژن‌های موجود یک ارگانیسم را تغییر می‌دهد	ژن یا ژن‌های جدید به گیاه اضافه می‌شود، این ژن‌ها می‌توانند از هر منبعی شامل گیاه حشره یا جانور باشند
پذیرش مواد موتانت توسط مصرف کنند	عدم اعتماد و نگرانی در خصوص گیاهان ترانسژنیک
مشکل ایمنی زیستی ندارد	ملاحظات ایمنی زیستی بزرگ‌ترین نگرانی درزمینه کاربرد ترانسژنیک ها ست
تنوع بالایی در ایجاد آلل‌های جدید و تغییرات فنوتیپی دارد	T-DNA و ترانسپوزون ها باعث جهش‌های غیرفعال می‌شوند

تأمین تجهیزات و مواد شیمیایی موردنیاز مشکل دیگر کاربرد انتقال ژن است. ازنظر اجرایی انتقال ژن، تنظیم بیان ژن در ژنوم هدف است که موقعیت محل درج ژن، درج بیش از یک نسخه در ژنوم هدف از دیگر مواردی است که کاربرد این تکنیک را محدود می‌کند. تحقیقات مهندسی ژنتیک در مورد اکثر صفات در مرحله آزمایش هستند و حتی در مورد موارد موفقی مانند Bt در برنج و پنبه، شانس بقایی آن‌ها در شرایط خشک‌سالی، بارندگی‌های نامنظم یا ظهور آفات و بیماری‌های جدید بسیار کم است[۲].

اصلاح به روش جهش‌زایی

ایجاد تنوع به کمک القا جهش و گزینش موتانت‌ها یکی از روش‌های مؤثر در مقابله با تغییرات اقلیمی است. از مزایای موتانت‌ها وجود چندین صفت تغییریافته در یک فرد است که امکان مقابله و سازگاری سریع به تغییرات اقلیمی را مهیا می‌کند و شانس بقای گونه‌های جهش‌یافته را افزایش می‌دهد. درواقع استفاده از روش‌های هسته‌ای در ایجاد جهش و گزینش موتانت‌ها ایده آل‌ترین روش در جهت تولید ارقام جدید سازگار به تغییرات شرایط اقلیمی است که نسبت به هر روش جدید دیگری ارزان‌تر و قابل‌دسترس‌تر است. جدول ۱ مقایسه اجمالی برای دو روش القا جهش و انتقال ژن نشان

می‌دهد. کاربرد هر دو روش مزایا و معایبی دارد، اما روش موتاسیون به دلیل ارزان بودن، سریع بودن، اجرای آسان، میزان تنوع بالا، برای ایجاد تنوع ژنتیکی مناسب‌تر است.

ایجاد جهش

تغییرات در مواد ژنتیکی را یا جهش بیشترین اثر را در سازگاری گونه‌ها با طبیعت در طول تاریخ تکامل داشته است. موفقیت در اصلاح گیاهان زراعی به میزان تنوع ژنتیکی موجود در آن‌ها بستگی دارد. از آنجایکه فراوانی جهش طبیعی نادراست، اصول ایجاد جهش وارد چرخه حیات شده و به‌این‌ترتیب تنوع ژنتیکی و سازگاری ژنوتیپی به‌منظور گسترش دامنه گزینش مؤثر افزایش‌یافته است. مواد جهش‌زا امکانات لازم به‌منظور ایجاد جهش و تغییرات ژنتیکی را فراهم می‌آورند. در طی ۴ دهه گذشته تحقیقات درزمینه ایجاد جهش به‌سرعت پیشرفت نموده است. جدول ۲ [۳]کاربردهای مختلف القاء جهش در اصلاح نباتات را نشان می‌دهد.

کاربرد مستقیم جهش

استفاده مستقیم از جهش، به‌ویژه زمانی که هدف اصلاح یک یا دو صفت قابل‌شناسایی در واریته زراعی باشد، مکمل ارزشمندی در اصلاح گیاهان است. مزیت اصلی روش آن است که واریته مادری معمولاً تغییر کمی پیدا می‌کند ضمن آن‌که صفت یا صفات مطلوب اضافه می‌شوند. درروش موتاسیون نیز همانند روش‌های اصلاح به کمک دورگ‌گیری چندین نسل خودگشنی یا تکثیر غیرجنسی برای تثبیت صفت موردنیاز است[۳] .اما زمان لازم برای اصلاح در مقایسه با روش‌های دورگ‌گیری به‌منظور دستیابی به اهداف مشابه، کوتاه‌تر می‌شود و موتانت مطلوب در نسل‌های M_2 یا M_3 قابل بازیابی است که در مقایسه با نسل‌های هوموزیگوس F_6 یا F_7 مزیت دیگر این روش است. درواقع این روند مشابه آنچه در طبیعت رخ‌داده و منجر به تثبیت صفات شده، می‌باشد. این روش در گونه‌های گیاهی که گلدهی و تولید بذر در یک سال اتفاق می‌افتد قادر است،طول مدت برنامه را به نصف کاهش دهد به‌طورکلی موتاسیون، روش انعطاف‌پذیر، قابل‌اجرا، تصادفی، ایمن، کم‌هزینه است که می‌تواند جایگزینی برای گیاهان ترا ریخته محسوب کرد[۲].

کاربرد جهش در اصلاح به طریقه هیبریداسیون

استفاده از جهش‌ها در برنامه‌های تلاقی احتمالاً از کاربرد مستقیم جهش مهم‌تر است. در تلاقی موتانت‌هایی از یک والد که در دو ژن متفاوت جهش‌یافته‌اند، به دلیل شباهت لاین‌های تلاقی داده‌شده، جمعیت F_2 کوچکی موردنیاز است. بعضی شواهد نشان می‌دهند تلاقی بین موتانت‌ها تفکیک متجاوز ایجاد می‌کنند. در گیاهان دگرگشن کمتر از جهش استفاده می‌شود، بااین‌وجود روش موتاسیون می‌تواند در اصلاح لاین‌های اینبرد به‌منظور افزایش هتروزیس استفاده کرد. باوجود تمایل به استفاده از هیبریدهای ساده به‌جای هیبریدهای مضاعف، استفاده از جهش به دلیل آسان‌تر بودن مراحل آزمون نتاج نقش مهمی دارد. همچنین ثابت‌شده است که هیبریدهای پر محصول با تلاقی موتانت‌ها در بین یکدیگر امکان‌پذیر است[۳]. در طول پرتوتابی و القا جهشموتانت‌های ناخواسته یا ژن‌های موتانت با اثرات پلیوتروپیک نیز به وجود می‌آیند اما می‌توان با تلاقی موتانت‌های حاصل با واریته‌های دیگر از ژن‌های موتانت مطلوب استفاده کرد. موتانت‌های حاصل تقریباً همسان با والدین خود هستند لذا یک یا دو تلاقی برگشتی برای حذف صفات نامطلوب از موتانت کافی است. در موارد وجود پلیوتروپی یا پیوستگی ژنی می‌توان تیمار با موتاژن را برای واریته والدی یا لاین موتانت تکرار کرد[۷].

القا جهش در گیاهان با تکثیر غیرجنسی

جهش‌های طبیعی عامل تنوع در گیاهان با تکثیر غیرجنسی هستند. بنابراین استفاده از جهش توان بالقوه زیادی در ایجاد تنوع در چنین گیاهانی دارد. در گیاهان زینتی روش جهش در سطح وسیعی به‌کاربرده می‌شود. هرگونه تغییر رنگ می‌تواند با تهیه قلمه و بدون نیاز به طی مراحل اصلاحی به‌طور مستقیم استفاده شود[۷]. مهم‌ترین کاربرد روش جهش در گیاهان با تکثیر غیرجنسی تغییر در یک یا تعداد کمی صفات بدون تغییر در کل یک رقم برجسته زراعی است. در این قبیل گیاهان از بسیاری موتانت‌هایی که در تفکیک نتاج حاصل از بذر به دلیل اثرات غالبیت ژنی قابل‌تشخیص نیستند، می‌توان استفاده کرد. درگاهانی نظیر موز که تولید بذر ندارند روش جهش تنها راه اصلاح آن‌هاست. اندام‌های مورداستفاده برای تیمار با اشعه در این دسته از گیاهان، غده(سیب‌زمینی)، بنه (زعفران)، پیاز (سنبل،پیاز)، ریزوم، استولن‌ها، قلمه (انار، مرکبات، زردآلو، رز و...)، جوانه (نارنگی، سیب‌زمینی) است. به دلیل ماهیت چند سلولی این بافت‌ها بروز شیمر قابل پیش‌بینی است. از موتاژن‌های فیزیکی و شیمیایی برای ایجاد جهش در این گیاهان استفاده می‌شود اما کارایی موتاژن‌های فیزیکی بیشتر است. احتمالاً نفوذپذیری کم موتاژن‌های شیمیایی در بافت‌های مورداستفاده دلیل کارایی کمتر آن‌ها نسبت به موتاژن‌های فیزیکی می‌باشد.

جدول ۲- روش‌های کاربرد موتاسیون در اصلاح گیاهان

روش	کاربرد
جهش‌های نقطه‌ای	گونه‌های خودبارور استفاده مستقیم از جهش : الف) موتانت‌ها به عنوان واریته‌های اصلاح شده مستقیما به کار می‌روند ب) استفاده از موتانت‌ها در برنامه‌های اصلاحی به کمک تلاقی: • تلاقی با واریته یا لاین والدی • تلاقی موتانت‌های مختلف حاصل از یک والد • تلاقی موتانت‌های مختلف از والدین متفاوت • تلاقی موتانت با لاین یا واریته‌ای به غیر از والد خود گونه‌های دگرگشن : القا جهش به منظور افزایش تنوع اصلاح به منظور دستیابی به هتروزیس : الف) ایجاد جهش در لاین‌های اینبرد ب) ایجاد نرعقیمی در گونه‌های خودگشن و دگرگشن (تولید هیبرید) گیاهان با تکثیر غیر جنسی
جهش‌های کروموزومی	کاربرد جابه‌جایی: برای انتقال خصوصیات و صفات مطلوب از گونه یا جنس‌های دیگر کاربرد جابه‌جایی با اطلاع از نقطه شکست برای ایجاد مضاعف‌شدگی‌های هدایت شده برای دیپلوییدی کردن پلی‌پلوییدها
کاربرد عوامل موتاژن برای برنامه‌های خاص اصلاحی	کاربرد پرتوها در تولید دابل‌هاپلوییدی کاربرد موتاژن‌ها در افزایش یا کاهش فراوانی کیازما کاربرد پرتوها در ایجاد موقتی سیستم تولید مثل جنسی در آپومیکسی‌ها کاهش ناسازگاری در تلاقی با گونه‌های وحشی کاربرد القا جهش در مطالعات ژنتیکی؛ فیزیولوژیکی؛ مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان زراعی

کشت بافت و جهش

جهش‌ها اکثراً کشنده و مضر هستند. وقوع یک جهش مطلوب کاملاً تصادفی است. به همین دلیل بر اساس قوانین احتمال اگر فراوانی افراد را افزایش دهیم احتمال دست یافتن به موتانت موردنظر بیشتر می‌شود. اگر قرار باشد از طریق جهش درنتیجه پرتو تابی با اشعه گاما یک صفت را تغییر دهیم، بعد از تعیین دُز مناسب، با قرار دادن تعداد زیادی از آن

گیاهان تحت تأثیر دُز موردنظر اشعه گاما احتمال دستیابی به گیاهی که تنها در مورد آن صفت دستخوش تغییر شده باشد بالا می‌رود. کشت بافت و ریز ازدیادی امکان افزایش جمعیت را در فضای کوچک و کنترل شده فراهم می کند.

علاوه بر پرتو تابی بذر و یا گیاه بالغ می‌توان کالوس یا سلول‌های جداشده را نیز پرتو تابی کرد. بدیهی است که برای هر بافت دُز مناسب آن بافت باید تعیین شود. با توجه به هدف کشت بافت و همچنین نوع گیاه موردنظر، قسمت‌های مختلفی از گیاه برای کشت در نظر گرفته می‌شود و در مواقعی که از دو سیستم کشت بافت و جهش به‌منظور اصلاح نباتات استفاده می‌کنیم باید به دو موردتوجه داشته باشیم

۱. افزایش جمعیت تحت تأثیر موتاژن به منظور افزایش احتمال دستیابی به موتانت مورد نظر که توسط ریز ازدیادی و کشت کالوس امکان پذیر است.

۲. در بافت گیاهی است که تحت تأثیر موتاژن قرارگرفته احتمال بروز شیمر است. بنابراین بایستی با کمک دستگاه‌هایی نظیر کشت مریستم انتهایی، کشت سلول و یا جنین‌زایی سوماتیکی، احتمال بروز شیمر را کاهش داد.

به‌طورکلی مزایای کاربرد کشت بافت در اصلاح نباتات از طریق جهش عبارت‌اند از تکثیر انبوه، تکثیر سریع نمونه‌ای گیاهی در فضایی کوچک، کنترل شرایط، فراهم آوردن امکان گزینش آزمایشگاهی سلول و بافت، شناسایی بافت موتانت (جهش‌یافته)، هیبریداسیون سو ماتیکی بین موتانت‌ها، امکان مطالعات ترانسفورماسیون در کشت‌های پروتوپلاستی، نگهداری طولانی‌مدت قسمتی از گیاه موتانت به‌عنوان ذخیره ژنتیکی به‌طور منجمد در سیستم‌های کشت تک جوانه و قسمت انتهایی ساقه، جلوگیری از سقط‌جنین به کمک کشت جنین به هنگام تلاقی بین‌گونه‌ای یا بین جنسی، اصلاح گیاهانی که تکثیر غیرجنسی دارند، حذف عوامل پاتوژنیک در سیستم‌هایی نظیر کشت مریستم.

در شرایط این ویترو امکان گزینش آزمایشگاهی وجود دارد و می‌تواند بسته به هدف هر یک از قسمت‌های گیاه موتانت را با استفاده از محیط‌های شرطی وارد فرایند انتخاب کرد.در این حالت لاین های سلولی یا گیاهچه های ریز ازدیاد شده برتر نسبت به عامل تنش انتخاب می‌شوند[۳].

روش القا جهش

روش‌های هسته‌ای کاربرد زیادی در القا جهش و اصلاح ژنتیکی گونه‌های با تکثیر جنسی و غیرجنسی داشته است[۶, ۷]. موتاژن های فیزیکی و شیمیایی برای القا جهش استفاده می‌شوند. جدول ۳ مقایسه موتاژن‌های فیزیکی و شیمیایی را نشان می‌دهد. اشعه گاما و EMS پرکاربردترین موتاژن ها هستند. قبل از به کار بردن موتاژن ها به‌منظور داشتن نتایج قابل تکرار باید دز مناسب تعیین شود. بدون تعیین دز مناسب ممکن است دزهای بسیار بالاتر یا بسیار پایین‌تر به‌کاربرده شوند. دزهای بالاتر به دلیل اثرات بیولوژیک شدید و دزهای پایین به دلیل فراوانی جهش پایین مطلوب نیستند.

موتاژن‌های فیزیکی بیشترین کاربرد را در ایجاد تنوع ژنتیکی و تولید واریته‌های موتانت دارد. بیش از ۹۰٪ واریته‌های موتانت از این طریق ایجادشده‌اند (۶۴٪ به‌وسیله اشعه گاما و ۲۲٪ اشعه X)[۵]. موتاژن‌های فیزیکی شامل پرتوهای غیر یونیزان (UV 250-270 nm) و پرتوهای یونیزان ($N,P^+, \gamma,\beta,\alpha$) می‌باشند، عمق نفوذ پرتوهای یونیزان در مقایسه با اشعه UV و موتاژن‌های شیمیایی بیشتر است، بنابراین تغییرات بیشتری می‌توانند ایجاد کنند، همچنین دزیمتری دقیق‌تر و تکرارپذیری بیشتر دارند[۷]

جدول ۳ مقایسه موتاژن‌های فیزیکی و شیمیایی

موتاژن های شیمیایی	موتاژن های فیزیکی
مزایا:	**مزایا:**
جهش‌های نقطه‌ای	دزیمتری آسان و تکرارپذیری
ارزان هستند	نفوذپذیری بالا و یکنواختی نفوذ بخصوص در ساختارهای چند سلولی
فراوانی جهش بالا	
معایب:	**معایب:**
ارزیابی و تعیین دز مناسب همانند موتاژن فیزیکی آسان نیست و همچنین تکرارپذیری کم است	منبع پرتوزایی موردنیاز است
نفوذپذیری غیریکنواخت	اشعه UV نفوذپذیری کمی دارد برای ساختارهای تک‌سلولی کاربرد دارد
سرطان‌زا هستند	جهش‌های کروموزومی و ژنی رخ می‌دهد

جدول ۴ مقایسه حساسیت به پرتو در چندگونه گیاهی به پرتو گاما

گونه گیاهی	تعداد ژنوتیپ‌های بررسی‌شده	دامنه تغییرات LD_{50}	دز مناسب برای اصلاح نباتات
کلزا	۱۲	۱۴۰۰-۱۲۰۰	۱۰۰۰-۷۰۰
نخود	۴	۲۶۰-۱۸۰	۱۸۰-۱۲۰
گندم	۳۴	۳۵۰-۲۰۰	۲۵۰-۱۰۰

تعیین دز مناسب از مراحل اولیه در تیمار با موتاژن ها است. واحد دز جذبی GY(Gray) است که برابر $1\ J\ kg^{-1}$ و آن‌هم برابر ۱۰۰ راد است. تعیین دز مناسب مبتنی بر تعیین حساسیت به پرتو مواد گیاهی است. ناصریان و همکاران[۸ و ۹] روش تعیین دز مناسب را با استفاده از فاکتورهای رشد و تجزیه رگرسیون نشان دادند. شرایط ژنوتیپی شامل تنوع گونه‌ای و واریته‌ای (جدول ۴) در حساسیت به پرتو مؤثر است مقایسه دز LD50 نخود، کلزا و گندم نشان می‌دهد که

گیاه کلزا نیاز به دزهای بالاتری نسبت به نخود و گندم دارد که احتمالاً ترکیب شیمیایی بذر و اندازه آن در این حساسیت به پرتو مؤثر باشند. از عوامل دیگر تأثیرگذار می‌تواند شرایط فیزیولوژیک گیاه، میزان رطوبت بافت مورد تیمار، شرایط قبل و بعد از پرتو تابی در تعیین دز برشمرد[۳ و ۵] مولکول‌های آب هدف اولیه پرتوهای یونیزان هستند. همبستگی مثبتی بین میزان آب و شرایط فیزیولوژیکی وجود دارد. پرتو تابی بافت‌هایی که تحت تأثیر رطوبت قرارگرفته باشند باعث بروز فراوانی بیشتر جهش خواهد شد. برای بافت خشک مانند بذر رطوبت مناسب اولیه ۱۲-۱۳٪ تعیین‌شده است و برای بافت‌های آب‌دار نظیر قلمه‌ها، پیوندک‌ها، جوانه و کالوس بسته به میزان رطوبت دزهای کمتری استفاده می‌شود[۲].

جمع‌بندی

واریته‌های موتانت در ۵۰ سال اخیر و در طی انقلاب سبز تأثیرات اقتصادی بزرگی را به‌واسطه وجود موتانت‌های پاکوتاه و نیمه پاکوتاه در غلات داشته‌اند. این امکان وجود دارد که پاکوتاهی و نیمه پاکوتاهی در نسل‌های جهش‌یافته، با فراوانی نسبی بالا دیده شوند. لذا، می‌توان با القاء جهش به کمک موتاژن‌ها در ارقام بومی یا ارقام سازگار به شرایط و منطقه خاص، به ژنوتیپ‌های پاکوتاه، با ساقه ضخیم و زودرس دست‌یافت. از آن جمله می‌توان به برنج، گندم، جو اشاره داشت که در مناطق خاصی از جهان به‌صورت سنتی کاشته می‌شوند. این روش در تعداد زیادی از کشورهای درحال‌توسعه، بسیار موفقیت‌آمیز بوده است، مخصوصاً در برنج که باعث شده برنامه اصلاحی آن کوتاه و ساده شود. تنها محدودیت آن مربوط به انتخاب فنوتیپ های مطلوب از نسل‌های در حال تفرق M_2 و M_3 است.

امروزه استفاده از تکنیک‌های موتاسیون، برای اصلاح گیاهان، در آزمایشگاه‌های پیشرفته به‌صورت گسترده‌ای در حال افزایش است تا از این طریق منابع ژنتیکی جدیدی را برای تنش‌های زیستی و غیر زیستی یا مقاومت به علف‌کش‌ها به دست آورند و همچنین برای اصلاح و بهبود صفات کیفی خاص نیز کاربرد پیداکرده است. برای سرعت دادن به انجام این‌گونه اهداف، تکنیک‌های موتاسیون اغلب با روش‌های دابل هاپلوئید و انتخاب توده‌ای ترکیب‌شده است که به‌عنوان‌مثال می‌توان به برنامه‌های اصلاح واریته‌های جدید کلزا برای نیازهای خاصی در صنایع غذایی اشاره کرد. همچنین با آسان‌تر شدن انتقال ژن‌های جهش‌یافته به کمک نشانگرهای مولکولی، روند واردکردن ژن‌های موتانت در ژنوتیپ‌های مختلف سرعت یافته است. پیشرفت‌های غیرمنتظره در روش‌های کشت میکرو سپور گیاهان گندم، جو و ذرت، کاربرد تکنیک‌های موتاسیون در اصلاح را تشدید کرده است. اشعه گاما یا اشعه ایکس جهت تسهیل انتقال ژن‌های خاص (مهندسی کروموزوم) از گونه‌های وحشی که الزاماً خویشاوندی نزدیکی با ارقام زراعی ندارند، نیز کاربرد دارد. استفاده از روش‌های هیبریداسیون فلورسنت[۱] و تکنیک‌های سیتوژنتیک مولکولی دیگر باعث سرعت دادن به این فرآیندها و انتقال بیشتر به ارقام زراعی شده است.

القا جهش و ایجاد موتانت‌های جدید با استفاده از ارقام بومی و درنهایت معرفی ارقام جدید سازگار روش مؤثر در جهت مقابله با تغییرات اقلیمی است. از آنجایکه روش موتاسیون قادر است طول دوره اصلاح را کاهش دهد و همچنین هرمی

[۱] Fluorescent in situ hybridization (FISH)

کردن ژن‌های مطلوب به‌آسانی امکان‌پذیر است نیاز بهنژادگران و کشاورزان را در جهت تأمین مواد ژنتیکی جدید و سازگار تأمین می‌کند.

منابع

1. Mba, C., *Induced Mutations Unleash the Potentials of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture.* Agronomy, 2013. **3**(1): p. 200-231.
2. Mohan, J., S., *Mutagenesis in crop improvement under the climate change.* Romanian Biotechnological Letters,(2010).15(2): 88-106.

۳. موسوی، الف.، اهری مصطفوی، ح. ناصریان خیابانی ب.، حیدریه، م، و مجد آبادی، ع. ، کشاورزی هسته‌ای از علم تا عمل، انتشارات پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای(۱۳۸۸).

4. Ahloowalia, B.S., M. Maluszynski, and K. Nichterlein, *Global impact of mutation-derived varieties.* Euphytica,, (2004). **135**: p. 187-204.
5. Pathirana, R., *Plant mutation breeding in agriculture.* CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, (2011). **6**(32): p. 1-20.
6. Bowen, H.J.M. *The use of mutations in plant Breeding*. in *Mutation in horticultural chrysanthemums*. (1965). Rep FAO/IAEA Tech Meeting Rome.
7. Mohan, J., S., *Major mutation-assisted plant breeding programs supported by FAO/ IAEA.*. Plant Cell Tiss.Org. Cult., (2005). **82**: p. 113-123.

۸. ناصریان خیابانی، ب.، اهری مصطفوی، ح.، فتح الهی، ه.، ودادی، س.و موسوی، الف.۱۳۸۶. تعیین دز مناسب پرتوگاما به‌منظور ایجاد تنوع ژنتیکی در نخود سفید. مجله علوم و فنون هسته‌ای، شماره ۴۲، ۴۲-۲۵.

۹. ناصریان خیابانی، ب.،اردکانی، م.، رسایی،س.، قربانی،س.، توکلی،الف. و توکلی، ش. تعیین دز مناسب پرتوگاما جهت ایجاد تغییرات ژنتیکی در کلزا. دومین کنگره بیولوژی کاربردی (با دامنه بین‌المللی)(۱۳۸۳) دانشگاه آزاد اسلامی مشهد.