

ارزیابی پتانسیل جهش‌زایی پرتویی با پرتوهای گاما در ایجاد ژنوتیپ‌های بهبودیافته گیاه دارویی زرشک سیاه (Berberis vulgaris)

مرتضی ملازاده^۱، محمد غفوری ساربانقلی^۲

۱- گروه فیزیک، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران، mortaza.mollazadeh@iaau.ac.ir

۲- گروه فیزیک، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران، ghafouri1355@iaau.ac.ir

چکیده

زرشک سیاه (Berberis vulgaris)، گیاه دارویی با ارزش است که به دلیل غنای ترکیبات فعال زیستی به ویژه آلکالوئید بربرین، آنتوسیانین ها، فلاونوئیدها، از اهمیت غذایی و دارویی بالایی برخوردار بوده لذا مورد توجه فراوانی قرار دارد. روش‌های متعارف بهبود ژنتیکی و افزایش محتوای بربرین این گیاه با محدودیت‌هایی از جمله رشد طولانی و تنوع ژنتیکی کم روبرو هستند. این مطالعه به بررسی کاربرد روش جهش‌زایی پرتویی به عنوان یک تکنیک کارآمد و سریع برای ایجاد تنوع ژنتیکی و انتخاب ژنوتیپ‌های برتر در زرشک سیاه می‌پردازد. در این روش، مواد گیاهی (بذر، قلمه) در معرض دوزهای کنترل شده پرتوهای گاما (از منبع کبالت-۶۰) قرار می‌گیرند. اهداف اصلی شامل بهبود صفات مورفولوژیکی (اندازه میوه، کاهش خار)، فیزیولوژیکی (افزایش محتوای بربرین، تحمل به خشکی) و زراعی (مقاومت به آفات) است. مراحل پس از پرتوتابی، شامل کشت نسل‌های M1 و M2، غربالگری فنوتیپی و مولکولی برای انتخاب موتان‌های مطلوب و تثبیت آن‌ها می‌باشد. اگرچه چالش‌هایی مانند ظهور جهش‌های نامطلوب و زمان‌بر بودن فرآیند وجود دارد، اما تلفیق این روش با بیوتکنولوژی مدرن (کشت بافت و مارکرهای مولکولی) چشم‌انداز روشی را برای معرفی ارقام تجاری نوین و با عملکرد بالای زرشک سیاه فراهم می‌کند.

کلمات کلیدی: جهش‌زایی پرتویی، زرشک سیاه، بربرین، پرتو گاما، به نژادی گیاهان، تنوع ژنتیکی.

۱- مقدمه

زرشک سیاه (Berberis vulgaris) از خانواده Berberidaceae، درختچه‌ای خاردار و بومی مناطق معتدل است. میوه، ریشه و پوست این گیاه به دلیل دارا بودن مقادیر قابل توجهی از آلکالوئیدهای ایزوکینولین، به ویژه بربرین، دارای خواص فارماکولوژیک متعددی از جمله ضد میکروبی، ضد التهابی، ضد دیابت و آنتی‌اکسیدانی هستند [۱]. با افزایش تقاضا برای داروهای گیاهی، نیاز به توسعه ارقامی از زرشک که دارای عملکرد بالا و محتوای آلکالوئید بیشتری باشند، بیش از پیش احساس می‌شود.

روش‌های سنتی به نژادی این گیاه، به دلیل دوره نونهالی طولانی و سیستم تولیدمثل خاص، اغلب کند و پرهزینه هستند. در این راستا، جهش‌زایی القایی به عنوان یک روش مکمل در برنامه‌های به نژادی، امکان ایجاد سریع تنوع ژنتیکی را فراهم می‌سازد [۲]. در میان روش‌های مختلف القای جهش، جهش‌زایی پرتویی با استفاده از پرتوهای گاما به دلیل نفوذپذیری بالا، یکنواختی و کارایی اثبات‌شده، به طور گسترده‌ای در بهبود بیش از ۳۲۰۰ رقم گیاهی در سراسر جهان مورد استفاده قرار گرفته است [۳]. این پژوهش به بررسی سیستماتیک اصول، روش‌شناسی و پتانسیل‌های کاربردی تکنیک جهش‌زایی پرتویی در ایجاد واریته‌های بهبودیافته زرشک سیاه می‌پردازد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- انتخاب و آماده‌سازی مواد گیاهی

منبع مواد گیاهی: بذرهای بالغ و سالم از ژنوتیپ‌های برتر زرشک سیاه جمع‌آوری می‌شوند. به موازات آن، قلمه‌های چوب نیمه‌سخت نیز می‌توانند به عنوان ماده اولیه مورد استفاده قرار گیرند.

آماده‌سازی: بذرهای تیمارهای پیش‌بذر (مانند: scarification یا سرمادهی مرطوب) برای شکستن خواب و افزایش قابلیت جوانه‌زنی قرار می‌گیرند. قلمه‌ها نیز به طول یکنواخت (۱۵-۲۰ سانتی‌متر) تهیه می‌شوند.

۲-۲- تیمار پرتوتابی

منبع پرتو: از منبع پرتوهای گامای کبالت-۶۰ در یک گاماسل استفاده می‌شود.

تعیین دوز بهینه: یک آزمایش مقدماتی با دوزهای مختلف (۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ گرمی) برای تعیین دوز LD₅₀ (دوز کشندگی ۵۰٪) و دوز RD₅₀ (دوزی که ۵۰٪ رشد را کاهش می‌دهد) انجام می‌پذیرد. نرخ دوز پرتو ثابت (مثلاً ۱۰ گرمی در دقیقه) نگه داشته می‌شود.

۲-۳- کشت و ارزیابی پس از پرتوتابی

کشت نسل M₁: بذرها یا قلمه‌های پرتودیده شده در خزانه تحت شرایط کنترل شده کشت می‌شوند. از هر تیمار، حداقل ۱۰۰۰ واحد گیاهی نگهداری می‌شود. داده‌های مربوط به درصد جوانه‌زنی، سرعت رشد و شاخص‌های رویشی در این نسل ثبت می‌گردد. در این نسل، به دلیل هتروزیگوسیتی یا ناخالصی، جهش‌ها بروز نمی‌کنند و انتخابی صورت نمی‌گیرد.

کشت نسل M₂: بذرهایی حاصل از خودگشتی گیاهان M₁ جمع‌آوری و کشت می‌شوند. در این نسل، جهش‌های مغلوب خود را نشان می‌دهند و تنوع ژنتیکی گسترده‌ای می‌شود.

غربالگری و انتخاب: در نسل M₂ و نسل‌های بعدی (M₃ و M₄)، گیاهان از نظر صفات هدف زیر به دقت ارزیابی می‌شوند:

صفات مورفولوژیکی: اندازه، وزن و تراکم میوه؛ اندازه و تراکم خار؛ ارتفاع و فرم بوته.

صفات کیفی: اندازه‌گیری محتوای آلکالوئید بربرین در ریشه و پوست با استفاده از HPLC؛ اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین کل در میوه.

صفات فیزیولوژیکی: ارزیابی تحمل به خشکی تحت شرایط تنش کنترل شده؛ ارزیابی مقاومت به بیماری‌های شایع (مانند سفیدک پودری).

۳- نتایج مورد انتظار و بحث

۳-۱- ایجاد طیف وسیعی از موتان‌ها

انتظار می‌رود تیمار پرتوتابی منجر به ایجاد یک بانک جهش با تنوع فنوتیپی بالا شود. این تنوع می‌تواند شامل موارد زیر باشد: موتان‌های مطلوب: گیاهان با میوه‌های درشت‌تر، خارهای کوتاه‌تر یا تعداد کمتر، محتوای بربرین بالاتر، و تحمل بیشتر به تنش‌های محیطی. موتان‌های نامطلوب: گیاهان با رشد کوتوله شدید، ناباروری، یا بدشکلی‌های برگ و میوه. این موارد در فرآیند غربالگری حذف خواهند شد.

۳-۲- بهبود صفات کمی و کیفی

مطالعات مشابه بر روی گیاهان دارویی دیگر نشان داده است که جهش‌زایی پرتویی می‌تواند به طور معنی‌داری محتوای متابولیت‌های ثانویه را افزایش دهد [۴]. انتظار می‌رود از بین هزاران گیاه M₂، ژنوتیپ‌هایی با افزایش ۲۰ تا ۵۰ درصدی محتوای بربرین در مقایسه با والد اولیه شناسایی شوند.

۳-۳- کارایی روش

در مقایسه با روش‌های سنتی که ممکن است بیش از ۱۵ سال به طول بینجامد، جهش‌زایی پرتویی می‌تواند دوره معرفی رقم جدید را به ۸ تا ۱۲ سال کاهش دهد. این شتاب، پاسخگویی به نیازهای بازار را تسریع می‌بخشد.

۴- بحث و چالش‌ها

اگرچه جهش‌زایی پرتویی یک ابزار قدرتمند است، اما با چالش‌هایی همراه است:

تصادفی بودن جهش‌ها: بخش عمده‌ای از جهش‌ها خنثی یا مضر هستند و شناسایی ژنوتیپ‌های مفید نیازمند غربالگری در مقیاس بزرگ است. پلی پلوئیدی پنهان: برخی از گونه‌های زرشک ممکن است پلی پلوئید باشند که پاسخ آن‌ها به پرتوتابی می‌تواند پیچیده‌تر باشد.

ملاحظات ایمنی: کار با منابع پرتویی نیازمند رعایت دقیق پروتکل‌های ایمنی و دفع پسماندهای مناسب است.

برای غلبه بر این چالش‌ها، تلفیق با بیوتکنولوژی ضروری است. استفاده از کشت بافت برای تکثیر سریع و یکنواخت ژنوتیپ‌های برتر و به کارگیری مارکرهای مولکولی مانند AFLP یا ISSR برای غربالگری سریع و زود هنگام موتان‌ها در سطح DNA، می‌تواند کارایی و دقت برنامه را به شدت افزایش دهد [۵].

۵- نتیجه‌گیری

جهش‌زایی پرتویی با پرتوهای گاما، یک استراتژی عملی و امیدوارکننده برای دستیابی به ارقام تجاری نوین زرشک سیاه است. این فناوری با ایجاد تنوع ژنتیکی گسترده، امکان انتخاب ژنوتیپ‌های برتر با صفات مطلوب زراعی و دارویی را فراهم می‌سازد. با در نظرگیری چالش‌ها و به کارگیری رویکردهای تلفیقی مدرن، می‌توان گامی بلند در جهت توسعه پایدار کشت زرشک و تأمین خوراک صنایع داروسازی برداشت.

۶- مراجع

- [۱]Imenshahidi, M., & Hosseinzadeh, H. (۲۰۱۶). *Berberis vulgaris* and berberine: an update review. *Phytotherapy Research*, ۳۰(۱۱), ۱۷۴۵-۱۷۶۴.
- [۲]Ahloowalia, B. S., Maluszynski, M., & Nichterlein, K. (۲۰۰۴). Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica*, ۱۳۵(۲), ۱۸۷-۲۰۴.
- [۳]IAEA. (۲۰۲۱). Mutant Variety Database. <https://mvd.iaea.org>
- [۴]Goyal, S., & Ramawat, K. G. (۲۰۰۸). Increased berberine content in *Arisaema* spp. in vitro cultures by gamma irradiation. *Indian Journal of Biotechnology*, ۷, ۳۸۳-۳۸۷.
- [۵]Jain, S. M. (۲۰۱۰). Mutagenesis in crop improvement under the climate change. *Romanian Biotechnological Letters*, ۱۵(۲), ۸۸-۱۰۶.

