آشنایی با

بذر مصنوعی

زهرا رادمنش / کارشناس بذر مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال
حسن میوه چی / محقق بذر مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال

بذر (یا بذر زیگوت) نهاده‌ای است که در قلمرو گیاهی نسلی را به نسل بعدی متصل می کند. گیاهان از طریق تولید بذر، پروتئین‌های ژنتیکی خود را به نسل های بعدی خود انتقال می دهند و بنابراین بذر مناسب‌ترین وسیله برای تکثیر، ذخیره و توزیع می‌باشد. با استفاده از بذرهای مصنوعی می توان بذر بسیاری از گیاهان را در مقیاس زیاد و با هزینه کم تولید و تکثیر نمود. بذر مصنوعی اغلب به عنوان مشابه بذر حقیقی توصیف می شود و شامل جنین سوماتیکی است که با پوسته مصنوعی که بیشترین تعادل را با جنین زیگوتیک نابالغ در مرحله بعد از قلبی شکل یا مرحله کوتیلدونی اولیه پوشانیده شده است، دارد. بذر مصنوعی مزایای مختلفی به شرح ذیل دارد: تکثیر گیاهان مرغوب وکلونال که مشابه بذر اصلی هستند، نگهداری و حفاظت از گونه‌های گیاهی نادر و همچنین برداشت هم‌زمان و پایدار محصولات کشاورزی. سهولت حمل و نقل ، ذخیره سازی طولانی‌مدت و هزینه پایین تولید و تکثیر از دیگرمزایای آن است.

تکنیک تولید بذر مصنوعی برای اولین بار در تکثیر کلونال و به منظور تولید جنین‌های سوماتیکی در اندوسپرم مصنوعی و محدود به پوسته مصنوعی بذر مورد استفاده قرار گرفت. امروزه بذور مصنوعی به صورت کپسول با پوشش ژلاتینی عرضه می شوند که نه تنها حاوی جنین سوماتیکی هستند بلکه حاوی جوانه‌های جانبی یا انتهایی یا بخش‌هایی از ساقه و ریشه نیز می‌باشند. قطعات گیاهی مانند نوک ساقه، جوانه‌های جانبی و جنین‌های سوماتیکی در مواد محافظی مانند هیدروژل، ژل آلژینات، اتیلن گلیکول، دی متیل سولفوکسید (DMSO) و سایر مواد مشابه کپسول می شوند تا بتوانند به گیاه بالغ تبدیل شود. پوسته بذر، قطعات گیاهی را از آسیب‌های مکانیکی در هنگام جابه‌جایی محافظت می کند تا جوانه‌زنی و تولید گیاهچه به درستی اتفاق بیفتد. بذرهای مصنوعی مانند بذرهای‌های واقعی عمل کرده و تحت شرایط مناسب گیاهچه تولید می کنند.

چرا به بذر مصنوعی نیاز داریم؟

بذر اساساً جنین زیگوتی با بافت‌های مغذی است که با لایه‌های محافظتی پوشانده شده است. بذرها به دلیل داشتن پوشش محافظ اغلب در حالت سکون هستند و در نتیجه به خشکی متحمل می‌باشند. از این خاصیت بذر می‌توان در نگهداری ژرم پلاسم در بانک بذر استفاده نمود. بذرهای دارای جنین زیگوتیک نتیجه تولید مثل جنسی دو والد نر و ماده می باشند. این موضوع موجب توسعه بسیار پیچیده برنامه‌های به نژادی شده است که تولید لاین‌های اینبرد والدینی نتیجه آن می باشد. از تلاقی لاین‌های تولیدی، هیبریدهای یکنواخت تولید می شوند. مشکل اولیه در خصوص بذرهای تولیدی به این روش مانند بذر بسیاری از محصولات شامل میوه، خشکبار و برخی از گیاهان زینتی این است که تولید بذر واقعی از والدین به دلیل موانع ژنتیکی خویش‌آمیزی امکان پذیر نمی‌باشد. از سوی دیگر دستیابی به برنامه به‌نژادی اینبرد در بسیاری از محصولات، مانند درختان جنگلی، بسیار وقت‌گیر می باشد و در نتیجه تکثیر این محصولات یا به روش رویشی از طریق قلمه و یا با استفاده از بذرهای آزاد گرده‌افشان کم کیفیت انجام می پذیرد.

پس از کشف روش‌های جنین زایی در سال ۱۹۵۰، جایگزین کردن بذرهای زیگوتیک ممکن شد. جنین‌های زیگوتیک از سلول های سوماتیکی حاصل از یک والد به وجود می آیند. بذرهای تولیدی به این روش با جنین های سوماتیکی متفاوت هستند. بذرهای سوماتیکی در محیط کشت درون شیشه ای بدون مواد مغذی و لایه های محافظ پوششی تولید می شوند و اغلب در حالت سکون نمی‌باشند. جنین‌های سوماتیکی به لحاظ ساختاری مشابه جنین‌های زیگوتی هستند با این تفاوت که کلون‌های حقیقی هستند که از سلول‌های سوماتیکی حاصل از یک والد به وجود آمده‌اند.

پیچیدگی‌های ساختاری بذر مصنوعی وابسته به شرایط محصول مورد نظر می باشد. در نتیجه بذرهای مصنوعی با توجه به نوع کاربردشان می توانند پوشش یکپارچه بذری داشته باشند یا نداشته باشند، هیدراته یا پسابیده باشند، ساکن یا فعال باشند.

انواع بذرهای مصنوعی

انواع مختلفی از بذرهای مصنوعی وجود دارد. دو دسته اول جنین‌های سوماتیکی بدون پوشش هستند: ۱- جنین‌های سوماتیکی که درحالت رکود نیستند و از آنها در تولید گیاهانی ریز ازدیاد از طریق کشت بافت استفاده می گردد. ۲- جنین‌های سوماتیکی در حال سکون که از آنها برای ذخیره ژرم پلاسم استفاده می گردد زیرا که می توان آنها را در بانک‌های بذر ذخیره کرد. ۳- جنین‌های سوماتیکی بدون خواب درون کپسول هیدراته که استفاده از آنها برای تولید محصولات مزرعه ای که از گلخانه منتقل می‌شوند مانند هویج، کلم، هندوانه بدون بذر و سایر سبزیجات مقرون به صرفه می‌باشد. ۴- جنین های سوماتیکی دارای خواب پسابیده (بدون آب) که در پوشش‌های مصنوعی کپسوله

می‌شوند و انبار کردن و جابه جایی (دسترسی) آنها بیشترین شباهت را به بذرهای حقیقی دارد. این گروه شامل جنین‌های سوماتیکی هستند که در مواد مصنوعی پوشش بذر قرار دارند و بعد خشک می‌شوند. تحت این شرایط جنین‌های سوماتیکی وارد مرحله سکون می‌شوند و پوشش بذر سخت می‌شود. به لحاظ تئوری، بذر مصنوعی تولید شده به این روش را می‌توان مانند بذر حقیقی انبار و جابه‌جا نمود. در جریان آبنوشی مجدد، پوشش بذر نرم می‌شود و جنین سوماتیکی می تواند به رشد ادامه داده و نهایتاً از کپسول خارج شود.

مزایای استفاده از بذر مصنوعی

مزایای مختلفی برای بذرهای مصنوعی وجود دارد. یکی از مزایای اصلی آن، امکان تکثیر زیاد و کشت ژنوتیپ‌های مخلوط می‌باشد. مزیت بزرگ دیگر آن حفاظت از ژرم پلاسم برتر و گونه های در معرض انقراض یا منقرض شده است. از دیگر مزایای آن می توان به ذخیره کردن آسان آن اشاره نمود. دلیل حمل و نقل و کاشت آسان و حمل و نقل ارزان قیمت بذرهای مصنوعی، اندازه کوچک آنها می باشد. به‌علاوه قابلیت انبارمانی آنها مانند بذرهای واقعی است.

روند تولید بذر مصنوعی

برای تولید بذر مصنوعی روش‌های مختلفی وجود دارد که با توجه به نوع بذر مصنوعی تولید شده، نیاز به بذر مصنوعی و صرفه اقتصادی در بین گونه‌های مختلف متغییر می باشد. تولید بذر مصنوعی ایده آل که خواب باشد و با هزینه معقول تولید شود شامل ۱۰ مرحله است. مرحله اول انتخاب بر اساس پتانسیل تجاری و تکنولوژیکی محصول است و به دنبال آن ایجاد یک سیستم جنینی سوماتیکی بر اساس گونه خاص می باشد. مرحله بعد بهینه سازی سیستم تولید کلونال است. (بهینه سازی پروتکل های همگام سازی و به حداکثر رساندن توسعه جنین های بالغ طبیعی که قادر باشند به گیاهان طبیعی تبدیل شوند). پس از آن، دوره پس-تیمار که جنین بالغ وارد مرحله سکون می شود و در ادامه مراحل کپسوله کردن و سیستم پوشش دهی بذر می باشد. مراحل نهایی شامل شناسایی و کنترل مشکلات مربوط به آفات و بیماری‌های منحصر به بذر های مصنوعی و تعیین توجیه اقتصادی سیستم توزیع بذر مصنوعی برای یک محصول خاص در مقایسه با سایر روش‌های تکثیر (تجزیه و تحلیل هزینه وسود کپسوله کردن در مقایسه با سایر گزینه ها) می‌باشد.

اجزای تشکیل دهنده ماتریکس بذر مصنوعی

اندوسپرم مصنوعی یا ماتریکس مصنوعی از مواد معدنی و ویتامین‌های محیط کشت MS شامل ۰/۵ میلی گرم L-۱ از ایندول استیک اسید (IAA)، ۰/۵ میلی گرم L-۱ از نفتالین استیک اسید (NAA)، ۲ میلی گرم L-۱ از ۶-بنزیل آمینو پورین (BA)، ۲ میلی گرم L-۱ از EDTA-Fe و ۳۰ گرم L-۱ سوکروز تشکیل شده است. با توجه به تیمار کپسوله سازی اعمال شده، آگار با سدیم آلژینات در نسبت های ۴٪، ۳٪ و ۲٪ جایگزین می‌شود. عامل مخلوط کننده کپسول ها از طریق غوطه ورسازی در کلرید کلسیم ($CaCl_2$) در غلظت های مختلف و بازه‌های زمانی مشخص اعمال می گردد. در نهایت، در آب استریل به مدت ۴۰ دقیقه شسته می‌شوند.

کپسوله کردن جنین‌های سوماتیکی

با توجه به روش کپسوله کردن، جنین های سوماتیکی جدا شده در محلول آلژینات سدیم غرقاب می شوند و پس از آن برای تهیه کپسول محافظ با میکروپیپت مکیده می شوند. به منظور مهرو موم کردن کپسول ها، آنها را برای مدت زمانی مشخص در محلول $CaCl_2$ غوطه‌ور کرده و سپس در آب استریل به مدت ۴۰ دقیقه شستشو می دهند. تمامی این فرایندها تحت شرایط سترون در لامینارفلو انجام می‌شود، لامینارفلو، تجهیزات و وسایل مورد استفاده بایستی از قبل استریلیزه شوند. در پایان، بذرهای مصنوعی در ظروف پتری با مواد مغذی ماکرو و میکرو محیط کشت MS که حاوی ۳۰ گرم/ لیتر ساکارز و ۷ گرم/ لیتر آگار _ آگار است کشت شده و در اتاق رشد با دمای ۲۵ درجه سلسیوس در تاریکی کامل قرار می گیرند.

موارد استفاده از بذر مصنوعی

از بذر مصنوعی می‌توان در زمینه‌های مختلف بیوتکنولوژی گیاهی با هدف کشت انواع گونه‌های گیاهی مانند تکثیر گیاهان هتروزیگوت ژنتیکی یا گیاهانی که ترکیبی از ژن‌های برجسته دارند و به‌دلیل بازسازی ژنتیکی در هر نسل بذری نمی‌توان آنها را با روش‌های معمول تولید بذر حفاظت کرد، استفاده نمود. بسیاری از گونه‌ها عقیم هستند و بذری تولید نمی کنند. جنین زایی سوماتیکی در کنار قلمه گیری می تواند راهی برای تکثیر گونه های فوق الذکر باشد. گونه های دیگر، از جمله برخی از گیاهان مناطق گرمسیری بذرهای ریکال سیترانت تولید می کنند که قابلیت خشک‌شدن ندارند. در نتیجه، عملاً ذخیره سازی طولانی مدت بذر این گونه ها در بانک ژن امکان پذیر نیست. در این خصوص نیز بذر مصنوعی می تواند یک جایگزین باشد. در گونه های خودگشن که تولید بذر هیبرید آنها بسیار دشوار و پر هزینه است، تکنولوژی تولید بذر مصنوعی مزایا و فرصت های بسیاری را ارائه می‌دهد.

بازار گیاهان زینتی هر ساله رشد می کند. این در حالی است که، هزینه تولید این گونه ها به دلیل انجام مراحل حساس و پیچیده ریز ازدیادی و استفاده از نیروی انسانی (کارگری) در مراحل پایانی تولید و تکثیر بسیار بالاست. استفاده از جنین‌زایی سوماتیکی در این

مـوارد تـا حـد زیـادی هزینه‌هـای کارگـری را کاهش مـی‌دهد.

گونـه‌هـای جنگلـی مخروطیـان را مـی‌تـوان از طریـق تولید بـذر و با صـرف هزینـه کمتـر تکثیـر نمـود. برنامه‌هـای معمول بـه‌نـژادی در این گونـه‌ها بـه دلیل چرخـه طولانی حیات مخروطیان بسـیار زمان‌بر اسـت. جنـگل مخروطیـان بسـیار ناهمگـون بـوده و بذرهـای تولیـد شـده الزامًا منتـج بـه تولیـد نسـلی دیگـر نمـی‌شـوند. بـذر مصنوعـی، کلـون کردن مخروطیـان را بـا هزینـه‌های معقـول و در حداقل زمان ممکن می‌سـازد.

در بخـش تجـاری، تولیـد کـم هزینـه بـذر هیبریـد برخـی گونـه هـا ماننـد پنبـه (*Gossypium hirsitum* L.) و سـویا (*Glycine max* Merril) بسـیار دشـوار اسـت زیرا بـاروری گلها در اینگونـه گونه‌ها از نوع کلیسـتوگامی (تلقیـح قبـل از بازشـدن گلها) بـوده و مشـکلات ریزش نیز وجـود دارد. بـا ایـن حـال، بذرهـای هیبرید در مقـدار کم و بـا روش های بسـیار دشـوار به روش گرده افشـانی دسـتی تولید می شـوند. این در حالی اسـت کـه حجـم کم بذرهـای هیبریـد تولید شـده را مـی تـوان از طریق تکنولـوژی بـذر مصنوعـی به مقدار بسـیار زیـادی افزایـش داد.

در برخـی از گونـه‌هـای گیاهی، بذر هیبرید مورد اسـتفاده بسـیار گران اسـت و در نتیجـه ارزش گیـاه نیـز بسـیار بالاسـت. بـه عنوان مثـال، بذر هیبریـد گوجـه فرنگـی و هندوانـه بـدون دانه قیمت بسـیار بالایـی دارند. علـت هزینـه بـالای بذرهایـی از ایـن دسـت این اسـت که گرده افشـانی آن‌هـا بـه صـورت دسـتی انجـام می‌شـود و این موضـوع نیاز بـه نیروی کارگـری زیـادی دارد. اسـتفاده از تکنولـوژی بـذر مصنوعـی مـی‌توانـد هزینـه نیـروی کار، زمـان و فضـای مـورد نیاز را بـه میزان قابـل توجهی کاهـش دهد.

کاشـت بـذر ارقـام سـینتتیک در گونـه‌هـای علوفـه‌ای ماننـد یونجـه (*Medicago sativa* L.) و ارچارگـراس (*Dactylis glomerata* L.) بسـیار معمـول اسـت. گونـه‌هـای فـوق الذکـر بـه دلیـل اینکـه از طریق انتخـاب و تلاقـی لاین‌هـا تولید شـده انـد به لحـاظ فنوتیپـی یکنواخت مـی‌باشنـــد، هرچـــند از ژنوتیـپ‌هـای مختلف هسـتند. ایـن لاین‌ها هـر سـاله آزادانـه با هـم تلاقی داده می‌شـوند و تولیـد بذر مـی‌کنند و در نتیجـه جمعیـت‌هـای هتروزیگـوس و هتروژنوس بـه وجود مـی‌آورند. در ایـن زمینـه بـا اسـتفاده از بـذر مصنوعی مـی‌توان ژنوتیـپ‌هایـی را تولید کـرد کـه بـه لحـاظ ژنتیکی همگون هسـتند زیـرا در ایـن روش نیازی به تلاقـی هر سـاله بـرای تولیـد گیاهان نیسـت.

اکـــثریت قریـب بـه‌اتفاق گونه‌های میـوه‌ای به‌دلیـــل ویژگـــی خـودناسـازگاری و دوره‌هـای بـه‌نژادی طولانـی به روش رویشـی تکثیر مـی‌شـوند، ایـن در حالـی اسـت کـه اسـتفاده از بـذرمصنوعـی تکثیرآنها را تسـهیل مـی کنـد. بـا ایـن حـال، بیشـترین اسـتفاده از بـذر مصنوعی در ایـن گونـه‌هـا بـه‌منظور حفاظـت از ژرم‌پلاسـم اسـت. در حـال حاضر بانـک هـای بـذر به صـورت گیاهـان زنـده در مزرعـه نگهداری می شـوند. ایـن نـوع روش حفاظـت بـه دلیـل اینکه گیاهـان دائمـاً در معـرض بلایای طبیعـی قـرار دارند بسـیار گـران قیمـت و خطرناک اسـت. در حالی کـه، با اسـتفاده از بـذر مصنوعـی مـی توان کلـون هـا درا در فضای بسـیار کوچک تـر و تحـت شـرایط کنترل شـده بدون وجـود خطر بلایـای طبیعی حفاظت نمـود. به علاوه این نوع سیسـتم حفاظت ژرم پلاسـم مـی تواند در خصوص گونـه های گرمسـیری که بـرای نگهداری ژرم پلاسـم آن هـا به تجهیزات بسـیاری نیاز اسـت، بسـیار مثمره ثمر باشـد.

در گونـه‌هـای دگرگشـن، مانند ذرت، تولیـد بذر هیبرید بسـیار معمول اسـت. تولیـد هیبریـد از طریـق برنامـه‌هـای به‌نـژادی معمول بـه منظور دسـت یافتـن بـه لایـن هـای والدینـی مناسـب، بسـیار زمـان بـر و هزینه بـردار اسـت. در ایـن زمینه نیز اسـتفاده از بذر مصنوعـی به منظور تکثیر ژنوتیپ هـای برجسـته بـدون نیـاز به تولیـد لاین‌هـای والدینی بسـیار مقـرون‌به صرفـه اسـت. همچنیـن اسـتفاده از بذور مصنوعـی تجاری‌سـازی هیبرید هـای جدید را تسـهیل و تشـکیل شـرکت‌هـای جدیـد تولیدکننـده‌بذر را ممکـن مـی‌سـازد زیرا بـرای تولید بذر مصنوعی، دسترسـی بـه لاین‌های والدینـی ضروری نیسـت.

در گونـه‌هـای گیاهی خودگشـن مانند گندم، جو و یـولاف که تولید بذر هیبریـد در سـطح تجـاری بـه دلیل هزینـه‌های بـالای تولید انجـام نمی شـود، اسـتفاده از بـذر مصنوعـی می‌توانـد تولید بـذر هیبرید را گسـترش دهـد. در ایـن خصـوص بذر هیبرید در حجم کم تولید می‌شـود و سـپس با اسـتفاده از تکنولـوژی تولیـد بذر مصنوعـی در حجم بالا تکثیر می‌شـوند.

امـروزه بسـیاری از گونـه‌هـا گیاهی در حال انقراض هسـتند. برداشـت بـی‌رویـه از جنـگل‌هـا، افزایـش بیابـان‌زایـی، ناپدیـد شـدن جنـگل‌ها و غیـره، انقـراض گونـه‌ها را افزایـش می‌دهد. بسـیاری از گونـه‌های بومی بـذر بسـیار کمـی تولیـد می‌کننـد و از طرفـی نمی‌تـوان آنهـا را به روش رویشـی تکثیـر کـرد. بـه همیـن دلیل بـذر مصنوعـی جایگزین مناسـبی بـرای بذر ایـن گونه‌هاسـت.

اسـتفاده از محصـولات حاصل از گیاهان اصلاح شـده ژنتیکی در سـال‌های اخیـر رونـق گرفتـه اسـت. هنوز اطلاعـات کمـی در مـورد این کـه در روند تولیـد مثـل جنسـی محصـولات GMO چـه اتفاقی مـی‌افتد وجـود دارد. ایـن احتمـال وجـود دارد که طـی تکثیر جنسـی، ژن‌های معرفی شـده از گونـه‌هـای دیگر به طـور مؤثری ناپایدار باشـند و از بین بروند. با اسـتفاده از فـن‌آوری بـذر مصنوعـی مـی‌تـوان از چنیـن خطراتی اجتنـاب نمود. به همیـن ترتیـب، ایـن فنـاوری می‌توانـد در تکثیـر هیبریدهای سـوماتیکی و سیتوپلاسـمیک (به دست آمده از تلفیق پروتوپلاسـت) و در تولید ژنوتیپ‌های اسـتریل و ناپایـدار نیز مورد اسـتفاده قـرار گیرد.