اولین گزارش اصلاح ژنتیکی زیست فناورانه گیاه کاملینا (*Camelina sativa*) و کشت آن در شرایط دیم

دانیال کهریزی[۱]، حسین رستمی احمد وندی[۲]

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه رازی کرمانشاه

۲- شرکت دانش بنیان بیستون شفا، پارک علم و فناوری استان کرمانشاه

dkahrizi@yahoo.com

چکیده

کاملینا گیاهی روغنی- دارویی است و متعلق به خانواده براسیکاسه است و علاوه بر مصارف خوراکی در تهیه سوخت زیستی هم کاربرد دارد. در این تحقیق تلاقی بین دو رقم Blaine Greek و Calena انجام شد. از بساکهای گیاهان نسل F1 جهت تولید گیاهان دابل هاپلوئید استفاده شد. برای این منظور، غنچه‌های باز نشده ۳-۱ میلی متری پس از ضد عفونی بر روی محیط کشت القاء NLN حاوی ۱۲۰ گرم در لیتر ساکارز کشت داده و در شرایط ۲۵ °C و تاریکی نگهداری شدند. پس از ۴ هفته جنین‌های تولید شده به محیط کشت باززایی B5 حاوی ۱۰ گرم در لیتر ساکارز و شرایط ۱۶ ساعت نور منتقل گردیدند. گیاهچه‌ها ضمن سازگاری به گلدان منتقل شدند و پس از گلدهی از آنها بذرگیری شد. پس از تکثیر بذر در اقلیم‌های گرم، معتدل و سرد به صورت دیم کشت شدند. در بین لاین‌های بررسی شده، لاین DH1025 بهترین سازگاری و عملکرد (حدود ۱۵۰۰ کیلوگرم در هکتار عملکرد بذر و با متوسط درصد روغن حدود ۳۷ درصد) را در شرایط نشان داد که مراحل معرفی رقم را طی می‌کند. این گونه برای اولین بار در ایران اصلاح، تکثیر و کشت شده است.

کلمات کلیدی: کاملینا، روغن خوراکی، کشت دیم، دابل‌هاپلوئیدی.

مقدمه

در حال حاضر دانه‌های روغنی دربین محصولات زراعی اهمیت خاصی دارد و پس از غلات دومین ذخائر غذایی جهان را تشکیل می‌دهند این محصولات دارای ذخایرغنی از اسیدهای چرب هستند. روغن‌های نباتی تولید شده به طور عمده از دانه‌های روغنی نظیر سویا، آفتابگردان، پنبه دانه، بادام زمینی و کلزا به دست می‌آید که نیاز آبی بالایی دارند. با وجود این گیاهان روغنی رایج مانند سویا ،آفتابگردان و کانولا علی رغم مزیت‌های فراوان، خود دارای محدودیت‌های از جنبه‌های مختلف کشت و شرایط اقلیمی می‌باشند (۱).

گیاه دارویی- روغنی کاملینا گیاهی است که بخصوص در سال‌های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده است و مهمترین مزیت آن مقاومت فوق العاده آن به خشکی و سرمای بهاره است (۲-۴،۱،۵).

گیاه روغنی *Camelina sativa* جزء خانواده براسیکاسه است و در آزمایشات مختلف نشان داده شده است که احتیاجات آبی بسیار کمتر و مقاومت به سرمای بهاره بیشتری نسبت به سایر گیاهان روغنی بخصوص کانولا دارد. همچنین این گیاه مقاومت بسیار بالایی نسبت به آفات رایج در دانه‌های روغنی مانند سوسک‌های گرده خوار دارد. پتانسیل تولید عملکرد بالا در گیاه

کاملینا در شرایط ایالت مونتانای آمریکا به اثبات رسیده و امکان قرار گرفتن آن به عنوان گزینه مناسب در قرار دادن در تناوب با غلات دانه ریز، مناسب گزارش شده است (۴).

کاملینا بومی اروپا و آسیای جنوبی است و گاها به عنوان علف هرز در مزارع مختلف رشد میکند. اما سابقه کشت و کار آن به ۴۰۰۰ سال پیش می‌رسد. در زمان روم و یونان باستان کشت این گیاه به عنوان یک گیاه روغنی توسعه یافت. این محصول به صورت خالص و یا مخلوط با سایر محصولات کشت میشد. مرکز رشد عمده این گیاه از اروپای شرقی تا اسیای مرکزی گسترش دارد و در خلال و بعد از جنگ‌های جهانی کشت می‌شد. بزرگترین تولید کننده این گیاه در قرن بیستم اتحاد جماهیر شوروی بود که در سال ۱۹۵۰ حدود ۳۰۰ هزار هکتار از اراضی خود را زیر کشت کاملینا برد (۱,۶).

مطالعات اخیر نشان داده است که گیاه کاملینا دارای خواص خاص و منحصر به فردی می‌باشد که مهمترین این خصوصیات توقعات کم این گیاه و حساسیت کم این گیاه به آفات و امراض است. استفاده از گیاه کاملینا بعنوان سوخت جت، انتشار کربن را از موتور جت کاهش می‌دهد و با توجه به این که تولید کاملینا در بسیاری از اقلیم‌ها هزینه تولید کمتری نسبت به سایر دانه‌های روغنی دارد بنابراین گزینه مناسبتری نسبت به سایر روغن‌های گیاهی برای استفاده شدن به عنوان سوخت زیستی یا بیوفیول می‌باشد (۸,۷).

در زمینه تولید گیاهان دابل‌هاپلوئید کاملینا چندین گزارش (۱۰,۹) وجود دارد که برای این منظور از تنظیم کننده رشد استفاده نشده است.

با توجه به بحران آب در کشور، حجم بالای واردات روغن و دانه‌های روغنی و خروج بسیار بالای ارز، ضرورت اصلاح و معرفی یک گیاه دانه روغنی با مصرف آب کم بسیار احساس می‌شود.

در این تحقیق برای اولین بار تهیه دابل‌هاپلوئید گیاه کاملینا به منظور کشت در دیمزاهای کشور بررسی شده است.

مواد وروشها

در این پژوهش تلاقی بین دو رقم Blaine Greek (به عنوان والد گرده دهنده) و Calena (به عنوان والد بذری) انجام شد. از بساکهای گیاهان نسل F1 حاصل از تلاقی جهت تولید گیاهان دابل‌هاپلوئید استفاده شد. برای این منظور، غنچه‌های باز نشده ۳-۱ میلی متری پس از ضد عفونی بر روی محیط کشت القاء NLN حاوی ۱۲۰ گرم در لیتر ساکارز کشت داده و در شرایط ۲۵ $^{\circ}C$ و تاریکی نگهداری شدند. پس از ۴ هفته جنین‌های تولید شده به محیط کشت باززایی B5 حاوی ۱۰ گرم در لیتر ساکارز و شرایط ۱۶ ساعت نور منتقل گردیدند. در طی کشت بافت از هیچ تنظیم کننده‌ای استفاده نگردید. گیاهچه‌ها ضمن سازگاری به گلدان منتقل شدند و پس از گلدهی از آنها بذرگیری شد. پس از تکثیر بذر در اقلیم‌های گرم، معتدل و سرد به صورت دیم کشت شدند.

نتایج وبحث

چهار هفته پس از کشت بساک جنین‌های آندروژنی مشاهده گردید (شکل ۱) و پس از واکشت به محیط باززایی گیاهچه حاصل شدند. با توجه به اینکه دوبل شدگی خودبخودی در این گیاه حدود ۷۰ درصد گزارش شده است(۹)، پس ضرورتی به تیمار کلشی‌سین یا هر عامل دوبل کننده دیگری نبود.

شکل ۱- تشکیل ساختارهای شبه جنین پس از ۲۸ روز از کشت بساک در کاملینا

گیاهچه‌ها ضمن سازگاری به گلدان منتقل شدند و پس از گلدهی از آنها بذرگیری شد. پس از تکثیر بذر در اقلیم‌های گرم، معتدل و سرد به صورت دیم کشت شدند. در بین لاین‌های بررسی شده، لاین DH1025 بهترین سازگاری و عملکرد را در شرایط نشان داد که مراحل معرفی رقم را طی می‌کند. این گونه برای اولین بار در ایران اصلاح، تکثیر و کشت شده است.

میانگین عملکرد لاین DH1025 حدود ۱۵۰۰ کیلوگرم در هکتار با متوسط درصد روغن ۳۷ درصد بود که با مقایسه سایر محصولات دیم مانند نخود، گندم و جو ار ارزش افزوده بسیار بالاتری برخوردار می‌باشد که بدین وسیله این گیاه روغنی با ارزش برای ورود به تناوب زراعی دیم کشور توصیه می‌گردد.

منابع

1. **Stephen, J., Streatfield, T. (2007).** "Approaches to achieve high-level heterologous protein production in plants". Plant Biotechnology Journal, 5: 2-15.

2. **Makhzoum, A., Benyammi, R., Moustafa, Kh., Tre´mouillaux-Guiller, J. (2013).** "Recent advances on host plants and expression cassettes' structure and function in plant molecular pharming". BioDrugs :1-15

3. **Ghasimi Hagh, Z., Rahnama, H., Panahandeh, J., Baghban Kohneh Rouz, B., Arab Jafari, Kh., Mahna, N. (2009).** "Green-tissue-specific, C4-PEPC-promoter-driven expression of Cry1Ab makes transgenic potato plants resistant to tuber moth (Phthorimaea operculella, Zeller)". Plant Cell Rep, 28;1-11.

4. **A. RUSSELL, D., E. FROMM, M.(1996).** "Tissue-specific expression in transgenic maize of four endosperm promoters from maize and rice". Transgenic Research, 6: 1-12.

5. **Beslin Joshi, J., Geetha, S., Singh, B., Kumar, K., Kokiladevi, E., Arul, L., Balasubramanian, P., Sudhakar, D. (2014).** "Amaize α-zein promoter drives an endosperm-specific expression of transgene in rice". Physiol Mol Biol Plants, 21(1): 1-8.

First report of camelina (*Camelina sativa*) biotechnologically breeding and cultivation in Iran

Danial Kahrizi[1], Hossein Rostami-Ahmadvandi[2]
1. Agronomy and Plant Breeding Department, Razi University, Kermanshah, Iran, dkahrizi@yahoo.com
2. Chief Manager Cultivation of Medicinal Plants Development Company Biseton Shfa- Registry No. 17992

Abstract
Camelina [*Camelina sativa* (L.) Crantz], a member of the Brassicaceae family, has a unique oil profile that has potential both for biofuels and as a food crop. In this research Blaine Greek and Calena cultivars have been crossed. The F1 generation anthers were cultured for doubled haploid lines production. Inflorescences were removed from the plant. Buds 1–3 mm in length were selected for culture. The anthers were isolated and cultured in NLN medium with 120 g/l sucrose. Then cultured anthers were incubated in 25°C and dark conditions. After 4 weeks in order to regeneration, the embryos were sub-cultured to B5 medium supplemented with 10 g/l sucrose. The incubation conditions were 25°C and 16h photoperiod. The regenerated plants were selfed and seed was produced. Then multiply the seed and tested in warm, temperate and cold climates in dryland farming conditions. Among the studied lines, the DH1025 shoed the best compatibility and performance (1500 kg/ha average seed yield and oil content of about 37%). This line is in introduction stage. This species has been breeded, reproduce and cultivated for the first time in Iran.

Keywords: Camelina, edible oils, dry cultivation, double haploid.

1. **Francki M, Ghamkhar K, Croser J, Aryamanesh N, Campbell M, Kon'kova N, Francis C (2010)** Camelina (*Camelina sativa* (L.) Crantz) as an alternative oilseed: molecular and ecogeographic analyses. *Genome* **53** (7):558-567
2. **Putnam D, Budin J, Field L, Breene W (1993)** Camelina: a promising low-input oilseed. New crops Wiley, New York 314
3. **Robinson RG (1987)** Camelina: a useful research crop and a potential oilseed crop.
4. **Imbrea F, Jurcoane S, Halmajan H, Duda M, Botos L (2011)** Camelina sativa: A new source of vegetal oils. *Romanian Biotechnological Letters* **16** (3)**:**6263-6270
5. **Shonnard DR, Williams L, Kalnes TN (2010)** Camelina derived jet fuel and diesel: Sustainable advanced biofuels. *Environmental Progress & Sustainable Energy* **29** (3):382-392
6. **Fröhlich A, Rice B (2005)** Evaluation of Camelina sativa oil as a feedstock for biodiesel production. *Industrial Crops and Products* **21** (1):25-31
7. **Zubr J (1997)** Oil-seed crop: Camelina sativa. *Industrial crops and products* **6** (2):113-119
8. **Shukla V, Dutta P, Artz W (2002)** Camelina oil and its unusual cholesterol content. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **79** (10):965-969
9. **Ferrie A, Bethune T (2011)** A microspore embryogenesis protocol for Camelina sativa, a multi-use crop. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (PCTOC) **106** (3):495-501
10. **Ferrie AM, Bethune T (2011)** Erratum to: A microspore embryogenesis protocol for Camelina sativa, a multi-use crop. *Plant cell, tissue and organ culture* **107** (2):371-371