



مروری بر استفاده از روش‌های بیوتکنالوژی جهت حفاظت نباتات در مقابل امراض ویروسی و حشرات پوهنیار گل خانگه لمر

دیپارتمنت بوتانی، پوهنځی بیولوژی، پوهنتون کابل، کابل، افغانستان
ایمیل: gulsangalemar@gmail.com

چکیده

ویروس‌های گیاهی باعث ایجاد بیماری در انواع مختلف محصولات زراعتی مهم می‌شوند و از این رو تهدیدی جدی برای امنیت غذایی و اقتصاد جهانی محسوب می‌شوند. ایجاد ایمنی در گیاهان زراعی در برابر ویروس‌ها یک چالش عمده بوده است. استفاده از رویکردهای بیوتکنالوژی، القای مکانیسم دفاعی در برابر ویروس‌ها در گیاهان زراعتی یکی از راهکارهای جایگزین قدرتمند محسوب می‌شود. علاوه بر این، حشرات یکی از مهمترین عوامل آسیب به تولید مواد غذایی هستند. استفاده از آفت‌کش‌ها منجر به مقاومت حشرات در برابر آفت‌کش‌ها و سایر اثرات مضر بر انسان و محیط زیست شده است. این امر باعث شده است که محققان به دنبال راه‌های مؤثر برای کنترل حشرات باشند. بیوتکنالوژی روش‌های مؤثری را ارائه داده است. این مرور، استراتژی‌های موجود برای ایجاد مقاومت در گیاهان در برابر ویروس‌ها، نقش پروتئین پوششی، روش‌های مؤثر کنترل حشرات و نقش ژن کرای را بررسی می‌کند.

اصطلاحات کلیدی: روش‌های بیوتکنالوژی؛ امراض ویروسی؛ حشرات؛ محصولات زراعتی؛ پروتئین پوش؛ جین کرای

A Review of Using Biotechnological Methods to Protect Plants from Viral Diseases and Insects

Jr. Teaching Asst. Gul Sanga Lemar

Department of Botany, Faculty of Biology, Kabul University, Kabul, Afghanistan
Email: gulsangalemar@gmail.com

Abstract

Plant viruses cause diseases in a wide variety of agronomically important crop species, posing a severe threat to food security and the global economy. Introducing crop immunity against viruses has been a major challenge. Biotechnological approaches that induce defense mechanisms against viruses in crop plants are considered powerful alternative strategies. Additionally, insects significantly damage food production. Pesticides have led to pesticide-resistant insects and other detrimental impacts on people and the environment, prompting researchers to seek effective methods for insect control. Biotechnology has provided several practical solutions. This review describes existing strategies for developing viral resistance in plants, the role of coat proteins, and effective methods for controlling insects, including Cry genes.

Keywords: Biotechnological Approaches; Plant Viruses; Insects; Crops; Coat Protein; Cry Gene

مقدمه

وظیفه چالش برانگیز کنترل عفونت ویروس‌ها دشوار است؛ زیرا آن‌ها پتوجن‌های درون سلولی محض هستند. علاوه بر این، کنترل کیمیاوی آن‌ها معمولاً در عمل برای مدت طولانی توصیه نمی‌شود؛ زیرا نه تنها بر محیط زیست تأثیر می‌گذارد، بلکه سبب کاهش کیفیت محصولات زراعی نیز می‌گردد. بر علاوه حشرات نیز از مهم‌ترین منابع آسیب برای تولید مواد غذایی بوده است که ۲۰ تا ۳۰ درصد از ضرر تولید جهانی را به خود اختصاص می‌دهند. زراعت میلیاردها دالر در سال برای کنترل حشرات در سراسر جهان هزینه می‌کند؛ ولی استفاده از آفت‌کش‌ها باعث مقاومت در برابر آفت‌کش‌ها، کاهش در جمعیت حشرات مفید و تعداد زیادی از اثرات منفی دیگر برای انسان و محیط زیست شده است. پس کدام روش‌ها جهت کنترل امراض ویروسی نباتات و حشرات مؤثر بوده می‌تواند؟ محققین روش‌های بیوتکنالوژیک برای انجیر جنتیک، شامل مکانیسم دفاعی در برابر ویروس‌ها در نباتات زراعی و نقش جین کرای در کنترل حشرات را به عنوان استراتژی‌های جای‌گزین قدرت‌مند در نظر گرفته‌اند. این روش‌ها دارای اهمیت زیادی برخوردار بوده چون که برای انسان و محیط زیست اثرات منفی بیشتر وارد نمی‌سازند.

دست‌کاری جنتیکی نباتات چیز جدیدی نیست. از تولد زراعتی تا بحال، ده‌ها قرن آن‌را برای نباتات با صفات مورد نظر انتخاب کرده‌اند، از آن زمان به بعد فن‌آوری‌ها همواره در حال تکامل بوده‌اند تا با رشد روزافزون جهان، تقاضای محصولات زراعتی را برآورده نماید. پیشرفت‌های که پتانسیل تجارتی آن قابل توجه است، نباتاتی هستند که آفت‌کش‌های خود را تولید می‌کنند، نباتاتی که به علف‌کش‌ها مقاوم هستند و حتی محصولات زیستی مانند واکسین‌های نباتی و سوخت‌های زیستی‌اند. از آن‌جایی که تولید پروتین‌های نباتی تراریخته نسبتاً آسان است و کیفیت پروتین‌ها نسبتاً خوب است، چشم‌انداز تحقیقات آینده به ویژه توسعه در این بخش درخشان به نظر می‌رسد. در هر صورت، بعید است که انقلاب در بیوتکنولوژی زراعتی متوقف شود. در هر صورت، محصولات نباتی بیوتکنالوژی نقش کلیدی در جامعه ما خواهند داشت.

ویروس‌های نباتی از مهم‌ترین پتوجن‌های نباتی هستند. ویروس ممکن است توسط بذر آلوده، توسط ناقلین یا در طی کشت با روش‌های معمول زراعتی منتقل گردد. به‌طور عموم، تخریب به جلوگیری‌های متشکل شده از دیواره حجروی و غشاء حجروی، به یک حجره زنده نباتی انتقال ویروس را مجاز می‌سازد که این دوران به نام تلقیح یاد می‌گردد. پس از آن فعل و انفعال بین ویروس و حجرات نباتی رخ می‌دهد. ذرات ویروس تکثیر می‌شوند و در داخل میزبان از طریق پلاسمودسماتا و بسته‌های عروقی پخش می‌شوند. یکی از گزینه‌ها جهت افزایش مقاومت در برابر این‌گونه ویروس‌ها در نباتات، استفاده از سویه‌های ویروس ضعیف شده یا هم‌واکسین است تا پاسخ‌های مقاومت را افزایش داد. اکثر نباتات تراریخته مقاوم به ویروس می‌تواند نتیجه مقاومت مشتق شده از پتوجن^{۲۷} باشد که توالی بیان ویروس را در حجرات نباتی به وجود آورده که منجر به

حفاظت از گیاه می‌شود. پیش‌نیاز استفاده از PDR این است که هیچ‌گونه تداخل با وظایف ضروری میزبان رخ ندهد. PDR را می‌توان به مقاومت با واسطه پروتین و مقاومت به واسطه نوکلئیک اسید جدا کرد. از آن جمله توالی پروتین ویروس بیشتر مورد بحث بوده است.

برعلاوه محصولات اصلاح شده جنتیکی که از بسیلوس تورینجینزیز^{۲۴۸} پروتین‌های حشره‌کش تولید می‌کنند و یک باکتری خاک است. از زمان معرفی آن‌ها در سال ۱۹۹۶ به‌طور گسترده در زراعتی در سراسر جهان استفاده شده است که در حفاظت نباتات از حشرات و افزایش حاصلات مهم پنداشته شده است. محافظت از نباتات در برابر ویروس‌ها، حشرات و در عین حال بهبود تغذیه و خواص آن‌ها هدف تولیدکنندگان تجارتنی است و بیوتکنالوژی نمونه‌های جالبی را ارائه کرده است. در این جا از استفاده پروتین پوش ویروس و جین کرای که بیشتر در مورد بالا بردن مقاومت نباتات در برابر ویروس‌ها و حفاظت نباتات از حشرات مورد توجه اند، بیان شده است.

واکسین‌ها برای نباتات

محصولات زراعتی در برابر طیف وسیع از ویروس‌های نباتی آسیب‌پذیر هستند. عفونت‌ها می‌تواند منجر به کاهش نمو، حاصلات ضعیف و کیفیت پایین محصولات گردد. خوش‌بختانه ده‌ها جین می‌تواند محصولات زراعتی شان را باتحریک نمودن دفاع طبیعی یک نبات در برابر امراض توسط واکسین‌ها، محافظت نمایند. کاملاً مانند واکسین پولیو برای انسان، واکسین‌های نباتات دارای رشته^۳ مرده یا ضعیف شده ویروس نباتی بوده که نسخه سیستم معافیتی یک نبات را فعال ساخته و آن‌را در برابر ویروس واقعی مقاوم می‌سازد. واکسین نمودن تمام مزرعه آسان نیست ولی به این کار نیاز هم نیست. به عوض تزریق نمودن واکسین، واکسین می‌تواند در DNA یک نبات کودسازی^{۲۴۹} شود. به طور مثال؛ اخیراً محققین یک جین را از ویروس تنباکو TMV^{۲۵۰} در نباتات تنباکو تزریق نمودند. این جن پروتین را تولید می‌کند که در سطح ویروس دریافت شده و مانند واکسین سیستم معافیتی نبات را فعال می‌سازد. نباتات تنباکو با داشتن این جین در برابر TMV مصون اند. ویروس موزایک رومی^{۲۵۱} کاملاً شبیه آن بوده که می‌تواند با این روش متوقف گردد. شکل ۱ این پروسه را نشان می‌دهد.

واکسین‌های جنتیکی از قبل خود را در انواع گوناگونی از محصولات زراعتی ثابت ساخته است. انکشاف نباتات مقاوم در برابر امراض صنعت یک بار ویران شده‌ی پایای در هاوایی را دوباره احیا کرد. علاوه بر این، انواع کچالوی مقاوم در برابر امراض و آفات مفاد زیادی را برای هردو تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان ارائه می‌کند (1).

²⁴⁸ Bacillus thuringiensis

²⁴⁹ Encoded

²⁵⁰ Tobacco mosaic Virus

²⁵¹ Tomato mosaic virus

مقاومت با واسطه توالی کودگذاری پروتین

پروتین پوش^{۲۵۲}: مقاومت با واسطه پروتین پوش (CPMR^{۲۵۳}) هنگامی که همراه با ساختار دارنده‌ی جین CP^{۲۵۴} ویروسی تبدیل شده باشد، به نباتات ارائه می‌شود. نباتات تبدیل شده با جین CP برای انتقال مکانیسم برای دفاع در برابر عفونت توسط ویروس‌های از عین‌گروپ فرض می‌شود. از همان اولین موفقیت اجرای مقاومت ناشی از پتوجن PDR^{۲۵۵}، دارنده‌ی بیان پروتین پوش TMV در گیاه تنباکو توسط پاول و همکارانش، (۱۹۸۶)، فن‌آوری CPMR در برابر ویروس‌ها به‌طور مؤثر در بسیاری از انواع نباتی استفاده شده است. سپس از جین پروتین پوش برای ایجاد مقاومت ویروسی در انواع مختلف نباتات تراریخته استفاده گردید. بیچی و همکارانش تداخل و جداسازی ذرات TMV در نباتات تنباکوی تراریخته که با CP تبدیل شده بود را نشان داده‌اند. یافته‌های آن‌ها امید جدیدی را برای حفاظت نباتات از ویروس‌ها باز کرد. در نتیجه ستراتیژی مبتنی بر جین تراریخته با CP ویروسی به‌طور گسترده‌یی مورد استفاده قرار گرفته است تا حفاظت گیاه در برابر ویروس‌های گروه‌های مختلف مطالعه گردد و نتایج آن درجات مختلفی از محافظت در برابر گروه‌های متعدد ویروس نباتی را ارائه کرد (2).

این کارها نشان داد که سطح بیان جین CP کارایی مقاومت در برابر ویروس‌ها در خطوط تراریخته را تعریف می‌کند. گزارش شده است که این ستراتیژی طیف وسیعی از درجات محافظتی مانند تأخیر در ایجاد علائم، مقاومت کامل یا محدود در برابر بسیاری از گروپ‌های ویروس نباتی را ارائه می‌دهد. در برخی موارد جین CP محافظت بیشتری را در برابر چندین گونه از ویروس‌های یک گروه که از آن جین CP مشتق شده است یا هم برای گونه‌های نزدیک ویروسی، ارائه می‌دهد. CPMR گزارش شده است که در برابر TMV، ToMV (ویروس موزاییک بادنجان رومی)، PMMV (ویروس موزاییک مرچ ملایم)، TMGMV (ویروس موزاییک سبز تنباکوی ملایم)، PVX (ویروس کچالو X)، PVY (ویروس کچالو Y)، AIMV (ویروس موزاییک یونجه)، (ویروس موزاییک بادرنگ) CMV و همچنین TRV (ویروس

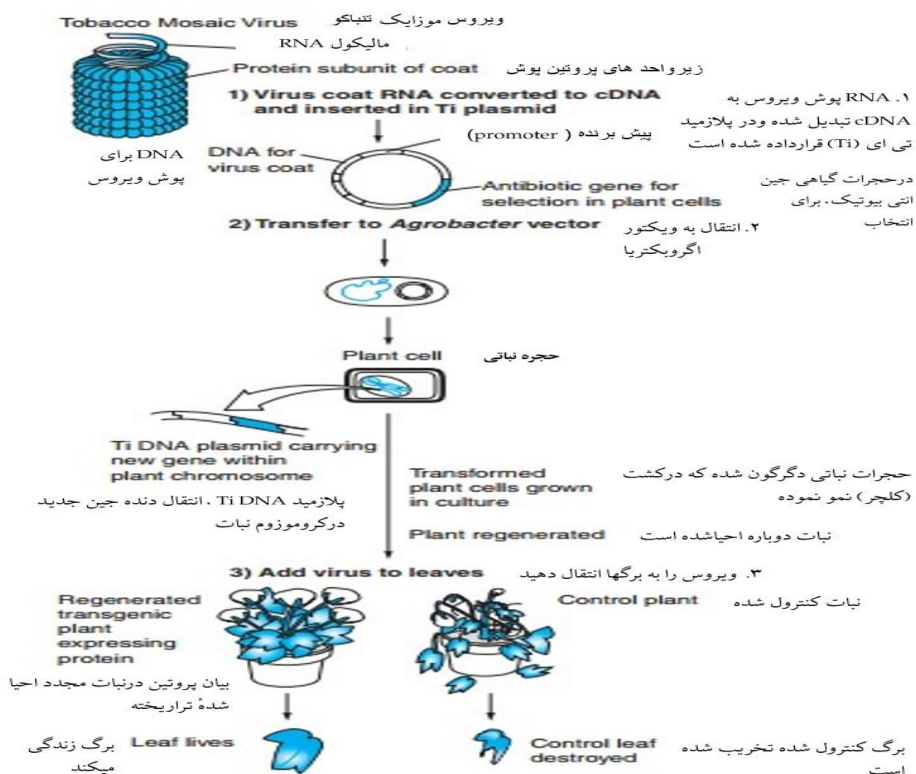
²⁵² Coat protein

²⁵³ Coat protein-mediated resistance

²⁵⁴ Coat protein

²⁵⁵ Pathogen derived resistance

جغفغه تنباکو) مقاومت را ارایه می‌کند. CPMR تا اکنون برای بیش از ۳۵- ویروس متعلق به ویروس‌های توپامو^{۲۵۶}، پوتکس^{۲۵۷}، کوکومو^{۲۵۸}، توبرا^{۲۵۹}، کارلا^{۲۶۰}، پوتی^{۲۶۱}، لوتیو^{۲۶۲} و آلفامو^{۲۶۳} شرح داده شده است. موفقیت‌ها با CPMR منجر به تولید نباتاتی می‌شود که قادر به بیان توالی CP ویروسی هستند. چنین نباتاتی مقاومت را در برابر طیف گسترده‌یی از ویروس‌های RNA تأیید می‌کنند. هم‌چنین مشخص شد که CPMR هیچ نقش مثبتی در مبارزه با ویروس‌های DNA آلوده‌کننده‌ی نبات ندارد.



شکل ۱: واکسین‌های نباتی؛ نباتات تراریخته^۱ بیان‌کننده پوش پروتین TMV که با انتقال جین به واسطه آگروباکتریا^۱ تولید شده بودند. هنگامی که نباتات تولید شده با بیان CP ویروسی در معرض TMV قرار گرفتند، آن‌ها از خود مقاومت زیادی را در برابر عفونت نشان دادند. در حالی که نباتات کنترل شده از خود علائم را در ظرف ۴ تا ۱۳ روز بروز دادند، نباتات تراریخته‌ی بیان‌کننده‌ی CP در برابر عفونت به مدت ۳۰ روز مقاومت نمودند (1).

- 256 Tobamo
 257 Potex
 258 Cucumo
 259 Tobra
 260 Carla
 261 Poty
 262 Luteo
 263 Alfamo

با این حال، حفاظت موفق با واسطه CP در تجارتی سازی و خطوط مقاومت کدو در برابر CMV، ویروس موزاییک زرد کدوی حلوائی^{۲۶۴}، ویروس موزاییک تربوز^{۲۶۵} و پاپایای مقاوم به ویروس پاپایای رینگسپوت^{۲۶۶}، ایجاد شده است.

از طریق تحقیقات بیشتر نشان داد شد که لاین های تراریخته با سطح مقاومت ویروسی بالا هیچ گونه CP ویروسی را بیان نمی کنند. در عوض، سطح CP RNA در این نباتات مقاوم پایین آمده است. در نتیجه، کارها پدیده عدم بیان جین CP را در نباتات تراریخته توضیح داده است که به دلیل بیان CP mRNA، مقاومت ایجاد شده است که خاموشی جین پس از رونویسی (PTGS^{۲۶۷}) را فعال می کند و مقاومت با واسطه RNA را برای ویروس ها توسط مسیر siRNA ایجاد می کند. با وجودی که میکانیزم واقعی CPMR به طور کامل فهمیده نشده است، انواع مختلف نباتی با جین CP ویروس تغییر شکل داده شده است و سطح مقاومت بالا در نباتات تراریخته نسبت به نباتات غیر تراریخته مشاهده شده است (3).

آفت کش های جنتیکی

در ۵۰ سال اخیر تعداد زیادی از دهاقین جهت جلوگیری از خسارات حشرات در محصولات زراعتی به آفت کش های باکتریایی تکیه نموده اند. بسیلوس تورینجنسیس^{۲۶۸} یا Bt یک پروتین کرسنال شده را تولید می کند که حشرات مضره و لارواهای شان را از بین می برد. پروتین کرسنالین (از جین Cry^{۲۶۹}) ماده پیوست دهنده که حجرات صف شده می جهاز حاضمه را در یک عده از حشرات معین آمیخته می نمایند را تجزیه می کند. حشرات که هدف این گونه پروتین قرار می گیرند، در زمان کوتاه از اثر هضم خودکار از بین می روند. جین کرای که باعث این رویداد می گردد، مبحث از بازار در حال گسترش از نباتات طراحی شده ی جنتیکی مقاوم در برابر حشرات می باشد. با پخش نمودن سپورهای باکتریایی در مزرعه، دهاقین می تواند محصولات شان را بدون استفاده از مواد کیمیاوی مضره حفاظت نمایند. در حال حاضر به عوض پخش نمودن مستقیم باکتريا در مزرعه، دهاقین می تواند که نباتات حاوی جین های بی تی (Bt) راکشت نمایند. نباتات که حاوی جین زهری Bt اند، دارای دفاع درونی می باشند.

²⁶⁴ ZYMV

²⁶⁵ WMV

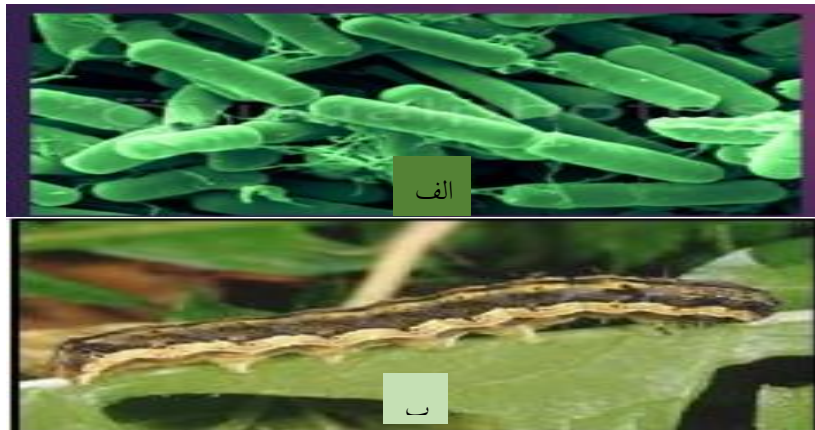
²⁶⁶ Ringspot

²⁶⁷ posttranscriptional gene silencing

²⁶⁸ *Bacillus thuringiensis*

²⁶⁹ خانواده جین کرای که در اواخر مرحله نمایی رشد در *Bacillus Thuringiensis* تولید می شود، یک خانواده بزرگ و هنوز در حال رشد از جین های هومولوگ است که در آن هر جین پروتین را با فعالیت ویژه قوی علیه تنها یک یا چندگونه حشره رمزگذاری می کند.

این آفت‌کش‌های تقویت شده‌ی بیوتکنالوژیکی به‌طور موفقانه در طیف وسیعی از نباتات به‌شمول تنباکو، بادنجان رومی، جواری و پنبه معرفی شده است. در حقیقت بسیاری از دانه‌های سویابین که امروزه کشت می‌گردد، حاوی جین برای زهر Bt اند که می‌تواند حشرات هجوم آور پنبه را به‌گونه مؤثرانه از بین ببرد. Bt و پروتین حشره‌کش آن در شکل (۲) نشان داده شده است (1). موارد استعمال گسترده از جین Bt یکی از افسانه‌های قابل توجه بیوتکنالوژی است و یکی از منابع بزرگ مباحثه نیز می‌باشد. محققین کرنل یک تجربه لابراتواری را در سال ۱۹۹۹ انجام دادند، پیشنهاد کردند که گرده که توسط جواری طراحی شده‌ی زیستی^{۳۰} تولید شده، می‌تواند به پروانه‌های سلطنت کشنده باشد. نتایج به‌گونه حدسی بوده است، محققین برای سال‌های سال قسمی می‌دانستند که در یک دوز (مقدار) وسیع، زهر که به نحو طبیعی توسط بسیلوس تورینجینزیز تولید شده است می‌تواند به پروانه‌ها مضر باشد (4). با این حال؛ این گزارش، طوفانی از جنجال را به راه انداخت. این اولین شواهد ملموس بود که از نظر جنتیکی غذایی تغییر یافته، می‌تواند به محیط زیست آسیب برساند و پروانه‌های سلطنت به سرعت تبدیل به شگونه (طلسم) غیر رسمی برای مخالفان انجیری جنتیکی گردد (5). هنگامی که محققین تجارب شان را بیرون از لابراتوار به مزرعه بردند، نگرانی‌های بیشترشان به سرعت کم‌رنگ گردید. چندین مطالعه نشان داد که تعداد کمی از پروانه‌ها در دنیای واقعی به اندازه کافی در معرض گرده قرار می‌گیرند تا آسیبی ایجاد کنند.



شکل ۲: Bt همراه با کرسنال از پروتین حشره‌کش. شکل (الف) پروتین کرسنالین را به حیث یک کرسنال در باکتریای بسیلوس تورینجینزیز نشان می‌دهد. نباتات انجیری شده جنتیکی که جین cry را بیان می‌کنند (در برابر حشرات مقاوم اند)، مدیون تولید مقدار کمی از این پروتین باکتریایی اند. لاروای حشره‌کش (ب) که می‌توانند انساج نباتی را به‌گونه نارمل به مصرف برسانند، اگر پروتین کرسنالین (محصول جین cry) را به مصرف برسانند از بین خواهند رفت (1).

در حقیقت بعید است که پروانه‌ها مقدار زهر از گرده را بلعیده باشد حتی اگر آن‌ها از نباتات علف شیر^{۲۷۱} تغذیه کنند که در فاصله کم‌تر از یک متری از مزرعه معمولی جواری تغییر یافته شده‌ی جنتیکی هم باشد (6,7).

هنوز هم ساینس دانان گمان دارند که یک فیصدی اندک از پروانه‌ها به‌گونه اجتناب‌ناپذیر با یک مقدار کشته شده از گرده گرد گرفته باشند. بعضی از سلطنتی‌ها (پروانه‌های سلطنت) که در معرض قرار گرفتن را سپری می‌کنند، می‌تواند بعداً برای مهاجرت طولانی مناسب نباشند. در کل، قسمی معلوم می‌گردد که نگرانی‌های که گویا جواری تغییر یافته جنتیکی ممکن پروانه‌های سلطنت را تاراج نماید، رد شده باشد: بعد از دو سال از مطالعه خدمات تحقیق زراعتی (بخش از USDA) در سال ۲۰۰۲ اعلان نمودند که زهر Bt در حالت‌های جهان حقیقی به پروانه‌های سلطنت به مقدار کم خطر داشته است (1).

جین کرای

جین‌های کرای^{۲۷۲} از سیلس تورینجینزیس^{۲۷۳}، یک باکتری گرام مثبت خاک است که بیان‌کننده‌ی پروتین‌های کریستالی حشره‌کش (ICPs)^{۲۷۴} بوده که به‌طور استثنایی برای طبقه‌های خاص آفات‌های سمی هستند (8). فعالیت حشره‌کشی در محصولات Bt مقاوم به حشرات، توسط جین‌های کودکننده برای پروتوکسین‌های کریستال پاراسپورال بیان می‌شود (9). ICP‌های تولید شده توسط نباتات تراریخته تأثیر قابل توجهی بر تکامل موفقیت‌آمیز مقاومت حشرات داشته‌اند. کریستال شامل یک پروتین پروتوکسین است که به دلیل PH قلوی در روده وسطی لاروا حل می‌شوند و متعاقباً به صورت انزیمی به یک زهر فعال تبدیل می‌شوند. این زهر از طریق غشای پیری تروفیک^{۲۷۵} که روده را پوشانده است، منتشر می‌شود و به گیرنده‌های موجود در اپیتلیوم روده‌ی میانی متصل می‌شود و منافذی را در اپیتلیوم روده‌ی میانی ایجاد می‌کند (10). روده فلج می‌شود و سپس آفت تغذیه را متوقف می‌کند و در حدود ۲ تا ۳ روز می‌میرند (11)، شکل ۳.

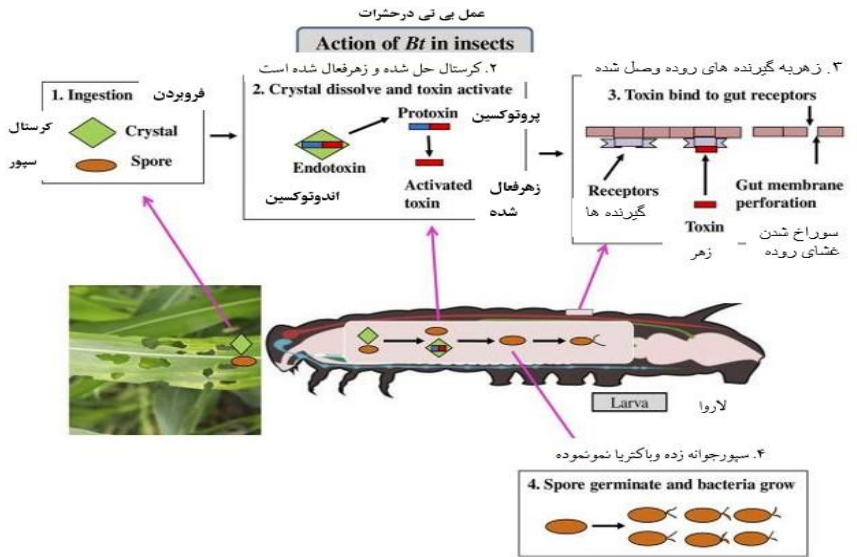
²⁷¹ Milkweed

²⁷² Cry Genes

²⁷³ *Bacillus thuringiensis* (Bt)

²⁷⁴ Insecticidal Crystalline Proteins

²⁷⁵ Peritrophic Membrane



شکل ۳: میکانیسم عمل زهر بی تی کرای (Bt Cry) در حشرات (12)

اولین نسل پنبه Bt بولگارد یک^{۲۷۶} که cry1Ac را بیان می کند، در سال ۲۰۰۲ برای کنترل کرم های غوزه‌ی غالب از جمله پیکتینوفوراگوسپیا^{۲۷۷}، اباریاز ویتلا^{۲۷۸} و هلیکوپیریا ارمیجیرا^{۲۷۹} در مناطق کشت پنبه در هند تجارتي شده و منتشر شد. پس از آن بولگارد دو^{۲۸۰} بود که در سال ۲۰۰۶ به عنوان یک پنبه Bt نسل دوم با ویژگی های هر می که بیان گر cry1Ac و cry2Ab^{۲۸۱} (رویداد مونسانتو MON15985^{۲۸۲})، است و اکنون در ۹۵٪ از کل منطقه کشت پنبه هند کشت می شود، راه اندازی شد.

در مقایسه با BG I که تنها حاوی cry1Ac است، BG II دارای سموم متعدد، cry1Ac و cry2Ab است، توانایی بیشتری برای مدیریت آفات دارند (13). یک پنبه تراریخته دیگر یعنی پنبه پهن با بیان cry1Ac + cry1F در سال ۲۰۰۴ توسط علوم زراعتی داو^{۲۸۳} در ایالات متحده تأیید شد که هم عملکرد محصول و هم درآمد دهاقین را بهبود بخشید. مشاهده می شود که هم BG II و هم صفات هر می بیان گر پنبه پهن

²⁷⁶ Bollgard I (Bg I)

²⁷⁷ Pectinophora Gossypiella

²⁷⁸ Earias Vittella

²⁷⁹ Helicoverpa Armigera

²⁸⁰ Bollgard Ii (Bg Ii)

²⁸¹ جین های Cry1ac و Cry2ab توسط ارگانیزمی به نام *Bacillus Thuringiensis* کودگذاری می شوند. این جین ها یک پروتین سمی را کد می کنند که باعث تجزیه در روده کرم های غوزه می شود. این پروتین زمانی که توسط آفات بلعیده می شود به عنوان یک سم عمل می کند. پروتین پس از رسیدن به روده آفات فعال می شود.

²⁸² این اختراع مربوط به یک رویداد گیاهی پنبه مقاوم در برابر لپیدوپتران است که قبلاً تجارتي شده بود.

پتانسیل بیشتری برای سرکوب طیف وسیعی از حشرات لپیدوپتران، کلئوپتران و دوبالان نسبت به BGI دارند. یکی دیگر از حشرات تراریخته پنبه حاوی cry10Aa مقاومت قوی در برابر سرخرطومی غوزه پنبه‌یی^{۲۸۴} از خود نشان داد البته با ۱۰۰٪ مرگ و میر که از طریق آزمایش زیست‌سنجی، زمانی که لاروهای نسل تی یک (T1) برگ‌های پنبه تراریخته را مصرف کردند، مشاهده شده است (14). برای تولید پنبه تراریخته با بیان صفات هرمی cry1Ac و cry2Ab، تبدیلی با واسطه آگروباکتریوم مورد استفاده قرار گرفت که در T-DNA شبیه‌سازی شد و گیاه حاصل با ۹۳ درصد مرگ و میر لاروایی به سپودپتیرا لیتورا^{۲۸۵} مقاومت نشان داد (15). خطوط تراریخته برنج ساخته شده از طریق بیان جین cry2AX1 به پوشه برگ برنج^{۲۸۶} و کرم ساقه‌خوار زرد برنج^{۲۸۷} مقاومت نشان داد (16).

ارقام تراریخته پنبه و برنجال که دارای مقاومت در برابر سوراخ‌کن‌ها اند برای استفاده تجارتي در بنگلادش و در آمریکای لاتین مجاز بودند، سویای Bt مقاوم به حشرات با بیان cry1Ac + cry1Ab در سال ۲۰۱۴ برای تولید مجاز شدند (17). مطالعه دیگری نشان داد که یک جین مصنوعی cry1Ab وارد شده به بادنجان رومی در عرض ۴ تا ۵ روز با ۱۰۰ درصد مرگ و میر حشرات در نسل T0 به معدنچی برگ بادنجان رومی^{۲۸۸} مقاومت نشان داد (18). برنج خطوط (var. Bg94-1) تولید شده با انتقال پروتین حشره‌کش cry2A باعث ۸۰ درصد موارد مرگ و میر پوشه‌های برگ در برنج می‌شود (19).

به‌طور مشابه، خطوط نخود پیگیون تراریخته و ساخته شده با استفاده از ترکیبی از cry2Aa و cry1Ac در برابر هلیکو ویریا ارمیجیرا^{۲۸۹} مقاومت نشان دادند که منجر به ۸۰٪-۱۰۰٪ مرگ و میر لاروا شده است (20). بیان جین Cry1Aa در کچالوی شیرین به حشره لپیدوپتیران^{۲۹۰} یعنی سپودپتیرا لیتورا مقاومت نشان داد (21). بیان جین cry2AX در رویداد پنبه تراریخته CH12 مرگ و میر ۸۸ درصدی را در هلیکو ویریا ارمیجیرا در نسل T0 نشان داد (22). یک کرچک غیرخوراکی مهم صنعتی که با انتقال جین cry1Aa با استفاده از تکنیک تبدیل آگروباکتیرا ایجاد شد، مقاومت قوی در برابر دوآفت لپیدوپتران، یعنی اکایا جنتا^{۲۹۱} (نیمه حلقه) و سپودپتیرا لیتورا نشان داد (23). سویای تراریخته، بیان‌کننده جین cry8 مانند از بسیلوس تورینجینزوس به هولوتراچیا پارا لیلیا^{۲۹۲}، که یک آفت کلئوپتراست، مقاومت

284 *Anthonomus grandis*

285 *S. litura*

286 *C. medinalis*

287 *S. incertulas*

288 *T. absoluta*

289 *H. armigera*

290 Lepidopteran

291 *Achaea janata*

292 *Holotrichia parallela*

ایجاد کرد (24). پنبه تراریخته رویداد MNH93^{۲۹۳} حامل cry1Ab ۴۰ تا ۶۰ درصد مرگ و میر لاروا را در برابر هلیکو و یرپا ارمیجیرا با نمایش فرکانس تبدیلی ۰,۲۶ درصد را نشان داد (25). در هلیکو و یرپا ارمیجیرا، بیان جین cry2AXI در نسل T3 رویداد پنبه CH12^{۲۹۴} منجر به مرگ ۹۰ درصد شد (26). سایر سموم یا پروتین‌ها، مانند cyt2Aa که مقاومت شته‌ها را ایجاد می‌کند (27) و cry51Aa2 که باعث افزایش مرگ و میر گونه‌های لایگوس^{۲۹۵} در پنبه شده است (28). بیان جین کرای در گونه‌های مختلف زراعتی بررسی شده است. با وجود گسترش موفقیت‌آمیز فناوری‌های جین کرای در محصولات برای دست‌یابی به مقاومت در برابر چندین آفات حشره، برخی از آفات زراعتی اغلب در برابر سموم حشره‌کش مقاومت می‌کنند و تولید محصول را ویران می‌کنند. مشکلات دیگری که سودمندی محصولات تراریخته را برای کنترل حشرات محدود می‌کند، شامل شیوع ثانویه آفات، تکامل بیوتایپ‌های جدید، اثرات بر موجودات غیرهدف، تأثیرات محیطی بر بیان جین، مصونیت حیاتی^{۲۹۶} مواد غذایی از محصولات تراریخته و مسائل اجتماعی، اقتصادی و اخلاقی می‌باشد. همچنین گروه‌های تحقیقاتی باید چالش‌های درک تعاملات حشرات نباتی را برای درک مکانیسم توسعه مقاومت در حشرات در برابر جین‌های کرای بدانند (12).

مناقشه

ستراتژی‌هایی که تاکنون تکامل یافته‌اند برای محافظت از نباتات در برابر ویروس‌ها و سایر ناقل‌ها به طور کامل یا هم‌جزئی کارآمد هستند. با این حال، بیشتر از ستراتیژی‌ها به بررسی‌های بیشتر نیاز دارند تا بتوانند برای نباتات مهم اقتصادی فابل اجرا گردند. تحقیقات بیشتر برای توضیح مسیرهای مرتبط مالیکولی که منجر به تعامل میزبان و ویروس می‌گردد نیاز است. تعدادی از سوالات مربوط به ویروس‌های نباتی و تعامل آن‌ها در حشرات میزبان هنوز هم موجود است که باید پاسخ داده شوند. علاوه بر این، دانش در مورد جین‌های ویروس و عملکرد پروتین و هم‌چنین سیستم ایمنی موضعی که از نباتات در برابر ویروس‌ها محافظت می‌کند، به ما این امکان را می‌دهد که ابزارهای بی‌نظیر را گسترش داده و ظرفیت حاضر خویش را در مناطق اپیدمی ویروس توسعه دهیم تا تولید محصول را تثبیت نماییم.

^{۲۹۳} یک نوع پنبه محلی با محصول خوب؛ اما حساس به آفات حشرات لپیدوپتران است.

^{۲۹۴} رویداد پنبه تراریخته، CH12 برای بیان پایدار پروتین Cry2AX1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است.

²⁹⁵ Lygus

²⁹⁶ Biosafety

نتیجه‌گیری

بیماری‌های ناشی از ویروس‌ها یکی از محدودکننده‌ترین عوامل تولید محصولات زراعتی محسوب می‌شود. این یک مشکل مواجهه طولانی‌مدت گیاه و ویروس‌ها، مشخص شده است. ضروری است تا در مورد القای مقاومت پایدار بیماری در برابر عوامل بیماری‌زای ویروسی در نباتات برای مقابله با چالش‌های افزایش تقاضای جهانی برای محصولات زراعتی در سناریوی حاضر صحبت نمود. استراتژی‌هایی مبتنی بر تراریخته‌های مشتق شده از پتوجین وجود دارد که از آن جمله استراتژی پروتین پوش ویروس‌ها بیشتر مورد بحث قرار گرفته است. بر علاوه، حشرات نگرانی اصلی کاهش تولیدات زراعتی هستند. برای کنار آمدن با مشکل از آفات حشرات، ده‌ها تمایل بیشتری به استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی دارند؛ زیرا این مواد یک راه حل سریع مشکل را ارائه می‌کند. افزایش سریع آگاهی از مسائل سلامت انسان و حیوانات و همچنین اثرات زیست‌محیطی، استفاده بی‌رویه از آفت‌کش‌ها انگیزه جدیدی را برای روش‌های جای‌گزین بالقوه کنترل آفات ارائه کرده است. از این لحاظ، مقاومت گیاه میزبان یک روش کنترل سازگار با محیط زیست است که بخش مهمی از برنامه‌های IPM^{۲۹۷} (مدیریت یک‌پارچه آفات) است. توسعه تنوع مقاومت به حشرات اثر پایدار و تجمعی بر جمعیت آفات دارد و اثر مضر بر محیط زیست ندارد. شناسایی منابع مقاوم به آفات در محصولات مختلف پیشرفت قابل توجهی داشته است. رویکردهای بیوتکنالوژیکی در حال حاضر برای توسعه ویژگی‌های جدید مقاومت نباتی مورد استفاده قرار می‌گیرند که حفاظت عالی در برابر آفات مهاجم و مخرب محصولات زراعتی در انواع محصولات با استفاده از مالیکول‌های جدید، بهره‌برداری از جین‌های حشره‌کش و تغییر سطح و الگوی بیان جین‌ها صورت می‌گیرد.

References

1. Thieman W, Palladino M. Introduction to Biotechnology. British Library Cataloguing-in-Publication Data. 2014. 1–399 p.
2. Ara H, Khan JA. Biotechnological approaches forengineering resistance against viruses in plants. *Plant Arch.* 2018;18(2):1191–208.
3. Rodrigues SP, Lindsey GG, Bueno Fernandes PM. Biotechnological approaches for plant viruses resistance: From general to the modern RNA silencing pathway. *Brazilian Arch Biol Technol.* 2009;52(4):795–808.
4. Khan FA. Biotechnology fundamentals, second edition. *Biotechnology Fundamentals, Second Edition.* 2015. 1–649 p.
5. Sadek H, Ebadah IM, Mahmoud YA. Importance of Biotechnology in Controlling Insect Pests. *J Mod Agric Biotechnol.* 2023;2(1):1–19.
6. Yount L. Biotechnology and genetic engineering third edition Library in a book. 2008. 1–369 p.
7. Gupta V, Sengupta M, Prakash J, Charan B. Basic and Applied Aspects of Biotechnology. 2017. 1–521 p.
8. Panwar BS, Ram C, Narula RK, Kaur S. Pool deconvolution approach for high-throughput gene mining from *Bacillus thuringiensis*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2018;102(3):1467–82.
9. Palma L, Muñoz D, Berry C, Murillo J, Caballero P. *Bacillus thuringiensis* toxins: An overview of their biocidal activity. *Toxins (Basel).* 2014;6(12):3296–325.
10. Paul S, Das S. Natural insecticidal proteins, the promising bio-control compounds for future crop protection. *Nucl [Internet].* 2021;64(1):7–20. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13237-020-00316-1>
11. Kaur J. Genetically modified organisms and biosafety issues. *Indian J Adv Res Soc.* 2020;1(1):103–10.
12. Kumari P, Jasrotia P, Kumar D, Kashyap PL, Kumar S, Mishra CN, et al. Biotechnological Approaches for Host Plant Resistance to Insect Pests. *Front Genet.* 2022;13:1–43.
13. Carrière Y, Crickmore N, Tabashnik BE. Optimizing pyramided transgenic Bt crops for sustainable pest management. *Nat Biotechnol.* 2015;33(2):161–8.
14. Palareti G, Legnani C, Cosmi B, Antonucci E, Erba N, Poli D, et al. Transgenic cotton expressing Cry10Aa toxin confers high resistance to the cotton boll weevil. *Int J Lab Hematol.* 2016;38(1):42–9.
15. Siddiqui HA, Asif M, Asad S, Naqvi RZ, Ajaz S, Umer N, et al. Development and evaluation of double gene transgenic cotton lines expressing Cry toxins for protection against chewing insect pests. *Sci Rep [Internet].* 2019;9(1):1–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-48188-z>
16. Rajadurai G, Kalaivani A, Varanavasiyappan S, Balakrishnan N, Udayasuriyan V, Sudhakar D, et al. Generation of insect resistant marker-free transgenic rice with a novel cry2AX1 gene. *Electron J Plant Breed.* 2018;9(2):723–32.
17. Koch MS, Ward JM, Levine SL, Baum JA, Vicini JL, Hammond BG. The food and environmental safety of Bt crops. *Front Plant Sci.* 2015;6(APR):1–22.
18. Soliman HIA, Abo-El-Hasan FM, El-seedy AS, Mabrouk YM. Agrobacterium-mediated transformation of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) using a synthetic cry1ab gene for enhanced resistance against *Tuta absoluta* (Meyrick). *J Microbiol Biotechnol Food Sci.* 2017;7(1):67–74.
19. Gunasekara JMA, Jayasekera GAU, Perera KLNS, Wickramasuriya AM. Development of a sri Lankan rice variety Bg 94-1 harbouring cry2A gene of *Bacillus*

- thuringiensis resistant to rice leaffolder [*Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée)]. *J NatnSciFoundation Sri Lanka*. 2017;2(45):143–57.
20. Ghosh G, Ganguly S, Purohit A, Chaudhuri RK, Das S, Chakraborti D. Transgenic pigeonpea events expressing Cry1Ac and Cry2Aa exhibit resistance to *Helicoverpa armigera*. *Plant Cell Rep*. 2017;36(7):1037–51.
 21. Zhong Y, Ahmed S, Deng G, Fan W, Zhang P, Wang H. Improved insect resistance against *Spodoptera litura* in transgenic sweetpotato by overexpressing Cry1Aa toxin. *Plant Cell Rep* [Internet]. 2019;38(11):1439–48. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02460-8>.
 22. Sakthi AR, Naveenkumar A, Deepikha PS, Balakrishnan N, Kumar KK, Devi EK, et al. Expression and inheritance of chimeric cry2AX1 gene in transgenic cotton plants generated through somatic embryogenesis. *Vitr Cell Dev Biol - Plant*. 2015;51(4):379–89.
 23. Muddanuru T, Polumetla AK, Maddukuri L, Mulpuri S. Development and evaluation of transgenic castor (*Ricinus communis* L.) expressing the insecticidal protein Cry1Aa of *Bacillus thuringiensis* against lepidopteran insect pests. *Crop Prot* [Internet]. 2019;119(19):113–25. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.01.016>
 24. Qin D, Liu XY, Miceli C, Zhang Q, Wang PW. Soybean plants expressing the *Bacillus thuringiensis* cry8-like gene show resistance to *Holotrichia parallela*. *BMC Biotechnol*. 2019;19(1):1–12.
 25. Khan GA, Bakhsh A, Riazuddin S, Husnain T. Introduction of cry1Ab gene into cotton (*Gossypium hirsutum*) enhances resistance against Lepidopteran pest (*Helicoverpa armigera*). *Spanish J Agric Res*. 2011;9(1):296.
 26. Jadhav MS, Rathnasamy SA, Natarajan B, Duraialagaraja S, Varatharajalu U. Study of expression of indigenous bt cry2ax1 gene in t3 progeny of cotton and its efficacy against *helicoverpa armigera* (Hubner). *Brazilian Arch Biol Technol*. 2020;63(4765):1–11.
 27. Chougule NP, Li H, Liu S, Linz LB, Narva KE, Meade T, et al. Retargeting of the *Bacillus thuringiensis* toxin Cyt2Aa against hemipteran insect pests. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(21):8465–70.
 28. Gowda A, Rydel TJ, Wollacott AM, Brown RS, Akbar W, Clark TL, et al. A transgenic approach for controlling *Lygus* in cotton. *Nat Commun*. 2016;7(12213).