جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

جهش و انتقال ژن در بهبود گیاهان زراعی

مسعود حدادی*[۱]، مجنون بابایف[۲]، معرفت قاسمی[۳]،رئوف قلی اف[۴]
۱* و۳- دانشجوی دکتری ژنتیک گیاهی
۲و ۴- استاد دانشگاه دولتی باکو

Mhaddadi2004@yahoo.com

چکیده

انتقال ژن یا جذب DNA فرایندی است که قطعه مشخصی از DNA (معمولاً یک ژن خارجی وارد شده در پلاسمید باکتریایی) را به درون سلول‌ها وارد می‌نماید. در اصلاح نباتات، تکنیک‌های مرتبط با انتقال ژن از طریق تکثیر جنسی و رویشی به خوبی رایج می‌باشند. هدف از این تکنیک‌ها ایجاد تنوع ژنتیکی در جوامع گیاهی، انتخاب گیاهان برتر از نظر ژن‌های کنترل کننده صفات مطلوب و همچنین حفظ تنوع واریته‌های گیاهی می‌باشد. با استفاده از تکنیک‌های اصلاحی مرسوم، پیشرفت‌های چشم گیری در زمینه بهبود عملکرد گیاهان زراعی حاصل شده است. معذالک این تکنیک‌ها وقت گیر هستند. در سال‌های اخیر، بیوتکنولوژی گیاهی منبعی سرشار از ابداع و خلاقیت بوده است و برای رفع مشکلات قدیمی راه‌حل‌های نوینی فراهم کرده است. بنابراین، در این مقاله سعی شده است که چشم‌انداز حال و آینده انتقال ژن را در بهبود گیاهان زراعی مورد بررسی قرار دهد.

کلمات کلیدی: جهش، انتقال ژن، گیاهان زراعی، DNA.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

جهش یا موتاسیون به تغییر توالی نوکلئوتیدهای تشکیل دهنده ژن‌ها گفته می‌شود. جهش‌ها گاهی منجر به بروز بیماری از جمله سرطان می‌شوند. جهش می‌تواند سودمند نیز باشد. از انواع جهش‌ها می‌توان خودبخودی، القایی بزرگ،کوچک، نقطه‌ای، حذف و اضافه، ساختاری، تنظیمی، در اثر پرتوها و بیماری‌های ژنتیکی را نام برد.

بیماری‌های ژنتیکی در اثر وقوع انواع مختلف جهش‌ها (جهش‌های نقطه‌ای، حذف، تعویض، مضاعف شدن، جابجایی و معکوس شدن)، در ژن‌ها ایجاد می‌شوند. این جهش‌ها ممکن است در توالی‌های ساختاری ژن و یا توالی‌های تنظیمی روی دهند. جهش در توالی‌های ساختاری ممکن است باعث بیان پروتئینی شود که فعالیت زیستی آن کاهش یافته و یا از بین رفته است. برخی جهش‌ها در توالی‌های ساختاری باعث بیان پروتئین‌هایی می‌شوند که دارای فعالیت زیستی جدیدی هستند. این نوع جهش‌ها، جهش‌های نئومورف (نوریخت) نامیده می‌شوند. برای مثال، در بیماری هانتینگتون، جهش نئومورف در ژن کد کننده پروتئین هانتینگتین، منجر به بیان پروتئینی می‌شود که دارای خواص جدیدی است. این پروتئین‌های جهش یافته با اتصال به یکدیگر، توده‌های درون سلولی ایجاد می‌کنند که باعث بیماری هانتینگتون می‌شوند. در صورتی‌که جهش در توالی‌های تنظیمی واقع شود، میزان بیان ژن تغییر کرده و در نتیجه ژن از میزان عادی بیشتر و یا کمتر بیان می‌شود. در برخی موارد تغییر در الگوی متیلاسیون توالی‌های تنظیمی، بر میزان بیان ژن تأثیر می‌گذارد. به جهشی که باعث افزایش بیان ژن می‌شود، جهش هیپرمورف و به جهشی که منجر به کاهش بیان ژن می‌شود، جهش هیپومورف، گفته می‌شود. برخی جهش‌ها در توالی‌های تنظیمی، به طور کلی مانع از بیان ژن می‌شوند. این جهش‌ها آمورف (بی‌شکل) نامیده می‌شوند.

ده‌ها سال است که انتقال ژن بین گونه‌های گیاهی نقش مهمی در بهبود گیاهان زراعی بازی کرده است. بهبود گیاه چه در نتیجه انتخاب طبیعی و یا با تلاش‌های به نژادگران، همیشه بر اساس ظهور، ارزشیابی و گزینش ترکیبات صحیح آلل‌ها بوده است. صفات مفید از قبیل مقاومت به بیماری‌ها، حشرات و آفات از گیاهان غیر زراعی به واریته‌های گیاهان زراعی منتقل شده است. از سال ۱۹۷۰، پیشرفت قابل ملاحظه‌ای در ابداع ابزارهای لازم برای تغییر اطلاعات ژنتیکی در گیاهان توسط روش‌های DNA نوترکیب رخ داده است. فرایند کلی ترانسفورماسیون ژنتیکی شامل معرفی، تلفیق و بیان ژن یا ژن‌های خارجی در گیاه پذیرنده است. گیاهانی که ژن‌های خارجی از منابع ژنتیکی دیگر را با خود حمل می‌کنند و آن‌ها را به صورت پایدار در خود جای داده و بیان می‌نمایند، گیاهان تراریخت نامیده می‌شوند. تولید گیاهان تراریخت نتیجه کاربرد تلفیقی تکنولوژی rDNA، روش‌های انتقال ژن و تکنیک‌های کشت بافت می‌باشد. با استفاده از این تکنیک‌ها تولید گیاهان تراریخت در محصولات غذایی- لیفی، سبزیجات و درختان میوه و جنگلی میسر شده است. در سال‌های اخیر، بیوتکنولوژی گیاهی منبعی سرشار از ابداع و خلاقیت بوده است و برای مشکلات قدیمی راه حل‌های نوینی فراهم کرده است. ژن‌های گیاهی کلون می‌شوند، علائم تنظیم کننده ژنتیکی رمزگشای می‌شوند و ژن‌ها از موجودات کاملاً غیر خویشاوند (خصوصا باکتری‌ها و ویروس‌ها) برای اعطاء صفات

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

زراعی مفید جدید، به گیاهان زراعی منتقل می‌شوند. ترانسفورماسیون ژنتیکی انتقال ژن‌های مطلوب ویژه را، بدون همراهی با هیچ ژن نامطلوبی از گونه‌های بخشنده به گیاه زراعی میسر ساخته است. در حالیکه در روش‌های اصلاحی مرسوم ژن های نامطلوب نیز همراه ژن‌های مطلوب منتقل می‌شوند. پتانسیل وارد کردن و بیان ژن‌های خارجی گوناگون اولین بار در گیاه توتون توسط اگروباکتریوم (۵) و روش بدون استفاده از ناقل (۲۱) توصیف شده است. لیست گونه‌های گیاهی که می‌توانند توسط ناقل آگروباکتریوم و روش بدون ناقل تراریخت شوند، به طور مداوم در حال رشد بوده و در حال حاضر توانایی تراریختی به بیش از ۱۲۰ گونه گیاهی و در حداقل ۳۵ خانواده گسترش پیدا کرده است. موفقیت‌ها اغلب شامل محصولات مهم اقتصادی سبزیجات، گیاهان زینتی، دارویی، درختان و گیاهان مرتعی می‌باشد. انتقال ژن و باززایی گیاهان تراریخت، دیگر جزو فاکتورهای محدود کننده در بهبود و کاربرد سیستم‌های ترانسفورماسیون عملی برای بسیاری از گونه‌های گیاهی نیستند. برای این گفته، کافی است اشاره شود که قبلاً گونه‌های تک لپه‌ای در خارج از حوزه میزبانی A. Tumefacims قرار می‌گرفتند و این امر منجر به ابداع انتقال مستقیم DNA یا روش بدون ناقل برای ترانسفورماسیون گردید. معذالک اخیراً ترانسفورماسیون توسط آگروباکتریوم در گونه‌های تک لپه‌ای از قبیل گیاهان غذایی مهم از جمله برنج (۱۱)، ذرت (۱۲) و گندم (۳) گزارش شده است. اولین نسل کاربرد مهندسی ژنتیک در محصولات کشاورزی به سمت تولید گیاهان تراریخت بیان کننده ژن خارجی برای مقاومت به ویروس‌ها، حشرات، علفکش‌ها یا عوامل فساد بعد از برداشت و تجمع فراورده‌های ذخیره‌ای تغییرشکل یافته مفید بوده است. این موضوعات تحت عناوین ذیل بحث شده‌اند.

مقاومت به تنش‌های زنده

ترانسفورماسیون ژنتیکی امکان ترانسفورم کردن گیاهان برای بهبود مقاومت به حشرات و پاتوژن‌ها را میسر ساخته است و به سرعت به سمت تجاری شدن پیش می‌رود. این پیشرفت‌ها اساس راهکار اقتصاد پایدار و بدون استفاده از مواد شیمیایی را برای کنترل آفات و بیماری‌ها تشکیل می‌دهد. مقاومت به تنش‌های زنده تحت عناوین زیر بحث شده‌اند.

۱- مقاومت به حشرات

۲- مقاومت به ویروس‌ها

۳- مقاومت به بیماری‌های قارچی و باکتریایی

۱-مقاومت به حشرات

پیشرفت در مهندسی گیاهان تراریخت برای مقاومت به حشره، از طریق استفاده از ژن‌های پروتئین کنترل کننده Bacillus thuringiensis حاصل شده است. مقاومت به حشره ابتدا در توتون (۳۱) و گوجه فرنگی (۶) گزارش شد. امروزه ترانسژن مقاوم به حشره از هر منبعی از جمله گیاهی، باکتریایی و یا منابع دیگر می‌تواند به منظور افزایش سطح مقاومت به حشره، به گیاهان منتقل شود. تقریباً ۴۰ ژن متفاوت اهدا کننده مقاومت به حشره، به گیاهان زراعی وارد شده است. ژن‌های اهدا کننده مقاومت گیاهان به حشره از میکروارگانیسم‌ها بدست آمده است. ژن Bt از Bacillus thuringiensis، ژن ipt ایزوپنتیل ترانسفراز از Agrobacterium tumefacines، ژن کلسترول اکسیداز از قارچ‌های استرپتومایسز و ژن pht از Photorhabdus luminescens. ژن‌های مقاوم

از گیاهان عالی می‌تواند به دو گرو تقسیم شود (۱) بازدارنده‌های پروتئیناز و آمیلاز و (۲) لکتین‌ها، لکتین گل حسرت (GNA)، لکتین نخود، لکتین برنج و غیره. ژن‌های مقاوم با منشاء حیوانی بازدارنده‌های پروتئیناز سرین از پستانداران و کرم شاخدار توتون (Manduca sexta) می‌باشد.

۱-۱- ژن‌های مقاوم از میکروارگانیسم‌ها

ژن توکسین Bt : Bacillus thuringiensis (Bt)) باکتری حشره کشی است که یک ضد پروتئین تولید می‌کند. ژن‌های Bt، توکسین Bt را کد می‌کنند، که دارای طیف وسیعی از فعالیت حشره‌کشی می‌باشند. اکثر توکسین‌های Bt بر علیه لاروهای بال پولک داران فعال هستند، اما بعضی‌ها ویژه حشرات راسته دو بالان و قاب بالان هستند. عامل سمیت حشره‌های Bt یک پروتئین بزرگ می‌باشد. توکسین‌ها به صورت پروتئین‌های کریستالی سیکما توکسین (δ-endotoxins) در درون باکتری در خلال اسپورزایی تجمع می‌یابند. این پروتئین‌ها بعد از آلوده کردن حشره حساس، به فرم فعال در می‌آیند و در نتیجه با اختلال در انتقال یون باعث مرگ حشره می‌شوند. چندین ژن که توکسین‌های مؤثر بر بال پولک داران را تولید می‌نمایند، جداسازی شده‌اند. یکی از این ژن‌ها که متعلق به B. thuringinesis زیر گونه Kurstaki HD-1 می‌باشد. ژن‌های شیمری B. thuringinesis kurstaki دارای پروموتور s35 ویروس CaMV و یک توالی کد کننده برای یک پروتئین تغییر یافته کوتاهتر و فعال همانند ژن کامل، سنتز شده و در گیاهان گوجه فرنگی بیان شده‌اند (۶) مقدار پرتئین حشره‌کش در این گیاهان برای کشتن لاروهای Manduca sexta، Heliothis virescens، Heliothis zea کافی بود. بررسی نتاج گیاهان تراریخت نشان داد که ژن B. thuringinesis kurstaki به صورت یک ژن غالب مندلی تفکیک می‌یابد. ژن سمی دیگر از B. Thuringinesis، نژاد Berlkiner 1715، کلون شده است. این ژن یک پرتئین Bt2، 1155 آمینو اسیدی را تولید می‌نماید. آنالیز سطح بیان یک ژن شیمری مبتنی بر Bt2 در گیاهان توتون نشان داد که کیفیت سم و فعالیت حشره کشی آن با هم ارتباط دارند (۳۱). گیاهان توتون تراریخت در برابر تغذیه لاروهای Manduca sexta محافظت گردیدند. سم Bt برای حشرات مفید، پستانداران و انسان مضر نیست. این ژن به صورت یک ژن غالب منفرد تفرق می‌یابد.

نژادهای Bt دارای تنوع گسترده‌ای از ژن‌های کد کننده اندوتوکسین سیکما (δ-endotoxins) می‌باشند. گزارشات مربوط به کلون کردن و تعیین توالی اولین ژن کد کننده پرتئین حشره کش در سال ۱۹۸۱ منتشر گردید. تاکنون بیش از ۱۰۰ توالی ژن پرتئین کریستالی انتشار یافته است. هریک از پروتئین‌های کریستالی طیف فعالیت خاصی دارد. به عنوان مثال، پروتئین Cry1Ab در برابر کرم ساقه خوار اروپایی ذرت شدیداً فعال است و در هیبریدهای ذرت Bt کنونی مورد استفاده قرار می‌گیرد. پرتئین Cry1Ab برای لاروهای کرم گیاهچه توتون و کرم غوزه پنبه شدیداً سمی است و در واریته های پنبه Bt بیان می‌شود و این گیاهان را در برابر سوسک کلورادوی سیب زمینی حفاظت می‌نماید.

سیکما- اندوکسین‌های Bt به هر دو صورت (اندازه کامل) و (کوتاه شده) به گیاهان انتقال داده

شده‌اند و مقاومت تائید شدهای را در برابر توتون (M.sexta)، آفات گوجه فرنگی و آفات سیب زمینی (Operculella Phthorimeae) بوجود آورده‌اند. اولین گیاهانی که تولید شدند، قادر به سنتز پروتوکسین (Protoxin) کامل بودند، اما به دلیل بیان ضعیف ژن مقادیر کمی دلتا توکسین تولید می‌شد که حاصل آن عدم بروز مقاومت و یا مقاومت اندک بود. پیشرفت‌های بیشتر، سرانجام منجر به مطلوب شدن بیان ژن cry در گیاهان شد. چند سالی است که اولین نسل گیاهان حشره‌کش برای مقاصد تجاری وارد بازار شده است.

۱-۲-ژن‌های مقاوم با منشاء سایر میکروارگانیزم

پروتئین کلسترول اکسیداز (Co) موجود در کشت فیلتر شده Sterptomyces بر لارو شپشک غوزه اثر سمیت حاد دارد. این ژن به گیاهان توتون منتقل گردیده است. ژن ایزوپنتیل ترانسفراز یک آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز سیتوکینین کد می‌نماید. بیان ipt در توتون، گوجه فرنگی توسط یک پروموتور القاء شونده توسط زخم (wound inducible promoter) سبب کاهش تغذیه کرم شاخدار توتون (M. sexta) از برگ‌ها و کاهش بقای شته سبز هلو شده است.

۱-۳- ژن های مقاومت از گیاهان عالی

همچنانکه سموم Bt با موفقیت به درون گیاهان مهندسی می‌شوند، تلاش‌هایی نیز در جهت کشف ژن‌های سموم حشره کش غیر Bt صورت می‌گیرد. تعدادی از پروتئین‌های حشره‌کش غیر Bt در احتیاجات غذایی حشرات مداخله می‌نمایند. دو گروه عمده از ژن‌های با منشاء گیاهی وجود دارد که برای ایجاد مقاومت به حشرات در گیاهان زراعی از طریق به تأخیر انداختن رشد و نمو حشره مورد استفاده قرار می‌گیرند.

۱-۳-۱- بازدارنده‌های پروتئیناز (inhibitors Proteinase)

از سال ۱۹۳۸ مشخص شده است که گیاهان دارای پپتیدهایی هستند که به عنوان بازدارنده‌های پروتئیناز عمل (PIPs) می‌نمایند. پروتئینازهای مختلف عبارتنداز پروتئینازهای سرین، سیستئین، آسپارتیک و متالو. پروتئینازها آزاد شدن اسیدهای آمینه از پروتئین جیره غذایی را کاتالیز می‌نمایند، و به صورت مواد مغذی ضروری برای رشد و نمو حشرات را تأمین می‌نمایند. بازدارنده‌های پروتئیناز با مداخله در عمل آنزیم‌های هضمی حشره، آن را از مواد مغذی ضروری محروم می‌سازند. به دو نمونه از ژن بازدارنده پروتئیناز در ذیل به آن‌ها اشاره شده است:

الف) بازدارنده ترپسین لوبیا چشم بلبلی

CpTI که در لوبیا چشم بلبلی (Vigna unguiculata) یافت می‌شود، فعالترین بازدارنده‌ای است که تاکنون شناسایی شده است. این ژن بازدارنده مواد آنتی متابولیتی تولید می‌نماید که سبب محافظت در برابر سوسک (Callosobruchus maculates)که یک آفت انباری اصلی است، می‌شود. علاوه بر این، این ژن همچنین برای حشرات متعددی از خانواده بال پولکداران (Heliothis virescens)، (Manduca sexta) قاب بالان (Callosobruchus، Antonomous grandis) و راست بالان (Locusta migratoria) مضر است،

اما برای پستانداران بی ضرر می‌باشد. ژن CpTI کلون شده و ساختارهای حاوی پروموتور S35 ویروس CaMV و یک کلون cDNA با طول کامل bp550 از آن برای تراریخت نمودن دیسک‌های برگی توتون مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش سنجی برای فعالیت حشره کشی گیاهان توتون تراریخت با کرم غوزه پنبه (Heliothis zea) انجام شد. بقاء حشره و میزان خسارت وارده به گیاه، در گیاهان تراریخت در مقایسه با گیاهان شاهد، بطور واضحی کاهش یافت.

ب) بازدارنده آلفا – آمیلاز (α-amylase inhibitor)

سه ژن بازدارنده آلفا- آمیلاز در توتون بیان شده‌اند، اما تاکید اصلی بر روی انتقال ژن بازدارنده آلفا – آمیلاز جداسازی شده از لوبیا (Phaseolus vulgaris) بوده است. این ژن بر علیه Zabrotes subfaciatus و Callosobruchus chinesis عمل می‌نماید. این پروتئین بازدارنده آلفا- آمیلاز، تغذیه لاروی را در بخش میانی لوله گوارش را بلوکه می‌نماید. لوله گوارش لارو یک آنزیم آلفا-آمیلاز ترشح می‌کند که نشاسته را هضم می‌نماید. با اضافه کردن یک پروتئین، که آلفا- آمیلاز روده حشرات را متوقف نماید، شپشه دچار گرسنگی شده و می‌میرد.

۱-۳-۲- لکتین‌ها (Lectins)

لکتین‌ها خانواده بزرگ دیگری از پروتئین‌ها هستند که می‌توانند به عنوان سموم ضد حشره برای مهندسی ژنتیک مقاومت به حشرات مورد استفاده قرار گیرد. لکتین‌ها گلیکوپروتئین‌های گیاهی هستند. توجهات اخیر به طور عمده بر روی لکتین Galanthus nivalis که به GNA نیز معروف است، متمرکز شده است، زیرا که فعالیت ضد شته از خود نشان می‌دهد. ژن این پروتئین، با موفقیت در مطالعات مهندسی ژنتیک مورد استفاده قرار گرفته و در گونه‌های گیاهی مختلفی همچون سیب زمینی و گوجه فرنگی بیان شده است. آزمون‌های آزمایشگاهی با سیب زمینی تغییر یافته نشان داد که GNA، مرگ و میر را افزایش نمی‌دهد، اما سبب کاهش قابل ملاحظه‌ای در باروری می‌شود. یک ویژگی مهم این پرتئین این است که بر علیه حشرات مکننده و نفوذ کننده نیز عمل می‌نماید. با این وجود، یک عیب آن این است که این پرتئین زمانی خوب عمل می‌کند که به مقادیر فراوانی بلعیده شود، یعنی زمانی‌که حشره در معرض مقادیر میکروگرمی این پروتئین در آزمایشات زیست سنجی در جیره غذایی قرار داده می‌شود. بنابراین، اگر چه که چند ژن کد کننده لکتین (آگلوتینین جنین گندم و لکتین برنج) در گیاهان تراریخت بیان شده‌اند، ولی تأثیر حشره کشی آن‌ها بسیار کمتر از آن است که مؤثر واقع شوند.

۱-٤- ژن‌های مقاومت از حیوانات

ژن‌های مقاومت مورد نظر ترجیحاً بازدارنده‌های پروتئیناز سرین از پستانداران و کرم شاخدار توتون Manduca sexta می‌باشد. بر اساس غربالگری در این ویترو بازدارندگی از پروتئولیز توسط عصاره‌های تعدادی از لاروهای بال پولک داران، بازدارنده ترپسین پانکراسی بواین (BPTI)، آلفا- آنتی ترپسین (α.AT) و بازدارنده اسپلین (SI)، به عنوان پروتئین‌های امید بخش مقاومت به حشرات شناسایی و به تعدادی از گیاهان منتقل گردیده‌اند. معذالک نتایج اولیه بر روی

بید سیب زمینی در گیاهان سیب زمینی تراریخت، چندان رضایت‌بخش نیست. اما بازدارنده‌های پروتئیناز گرفته شده از Manduca sexta یعنی آنتی کیمیو ترپسین (Anti-chymiotrypsin) و آنتی الاستاز (Anti- elastase) بیان شده در پنبه و کتیناز (Chitinase) در توتون را کاهش دادند، تعدادی از ژن‌های عامل مقاومت به حشرات که برای تولید گیاهان تراریخت مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

۲- مقاومت به ویروس

به دلیل اندازه نسبتاً کوچک ژنوم ویروس‌های گیاهی، توسعه راهکارهای مولکولی برای کنترل بیماری‌های ویروسی گیاهی به طور خاص موفق بوده است. راهکارهای مختلفی برای استفاده از تکنولوژی مولکولی به منظور تلفیق یا ایجاد فاکتورهای مقاومتی جدید در سیستم‌های ویروسی گیاهان وجود دارد. روال کار به این نحو است که آن دسته از محصولات ژن یا ژن‌های ویروسی شناسایی شوند که وقتی در زمان نامناسب یا با مقدار نادرست وجود دارند، با کارکردهای نرمال فرایند آلودگی مداخله نموده و مانع از پیشرفت بیماری شوند.

۲-۱- حفاظت متقاطع به واسطه پروتئین پوششی

مفهوم حفاظت متقاطع به توانایی یک ویروس برای جلوگیری یا بازدارندگی اثر رقابتی ویروس دیگر اطلاق می‌شود. اگر نژاد حساس از یک گیاه زراعی با نژاد ملایمی از یک ویروس تلقیح شود، نژاد حساس گیاه زراعی نسبت به نژادهای بیماری زای ویروس مقاوم می‌شود. برای اولین بار پاول آبل و همکاران(۲۲) نشان دادند که توتون تراریخت بیان کننده پروتئین پوششی ویروس موزائیک توتون (TMV) مقاومتی شبیه به مقاومتی که در حفاظت متقاطع به واسطه ویروس اتفاق می‌افتد، نشان می‌دهد. از آن زمان به بعد، تعدادی از ژن‌های پوشش پروتئینی از گروه‌های ویروسی متفاوت پیدا شده‌اند که وقتی در گیاهان تراریخت بیان می‌شوند، مقاومت ایجاد می‌کنند. مقاومت به واسطه پروتئین پوششی در صورت کاهش تعداد مناطق آلودگی روی برگ‌های تلقیح شده عمل می‌کند، بیانگر این که یک مرحله اولیه در سیکل زندگی ویروس مختل شده است.

مطالعات نشان داده است که حفاظت متقاطع TMV ممکن است از پروتئین پوششی ویروس محافظت کننده ناشی شود که مانع از حذف پوشش از RNAهای ویروس رقیب می‌شود. اکثر سیستم‌هایی که در آن‌ها مقاومت به واسطه پروتئین پوششی گزارش شده است، بر علیه ویروس‌های RNAای پلاس- سنس با یک پروتئین کپسید بوده است. این راهکار در چند محصول زراعی از قبیل توتون، گوجه فرنگی، سیب زمینی، یونجه، هندوانه، کدو، برنج، ذرت و غیره استفاده شده است.

یک ویروس رشته منفی مهم، ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه فرنگی (Nucleocapsid protein) پیوند خورده است. این پرتئین در بسته بندی RNA ویروسی و همچنین در تنظیم مراحل رونویسی تا همانندسازی در طی سیکل آلودگی، فعالیت می‌نماید. با استفاده از این روش گیاهان تراریخت در توتون و گوجه فرنگی تولید شده‌اند.

۲-۲- مقاومت به واسطه پروتئین غیر ساختمانی (Non-structural protein mediated resistance)

ویروس‌ها، پروتئین‌های غیر ساختمانی را کد می‌کنند که برای همانند سازی ضروری می‌باشند. اخیراً تعدادی از این پروتئین‌های غیرساختمانی رپلیکاز (Replicase) کشف شده است که وقتی در گیاهان تراریخت بیان می‌شوند، درجات بالایی از مقاومت به آلودگی ویروس را ایجاد می‌نمایند. گلمبوسکی و همکاران (۷) برای اولین بار این پدیده را به بیان چهارچوب قرائت باز ۵۴ کیلو دالتونی ویروس TMV در توتون تراریخت نشان دادند. توتون تراریخت مقاوم به قهوه‌ای شدن زودرس (PEBV) و سیب زمینی مقاوم به ویروس ایکس تولید شد.

۲-۳- مقاومت به واسطه حضور قطعه RNA

استراتژی دیگر الگو گرفته از پاتوژن که برای کنترل ویروس‌های گیاهی مورد بررسی قرار گرفته است، بیان ترانسژن آنتی سنس و جدیداً قطعات سنس RNAهای ویروسی می‌باشد. اساس این راهکار، اتصال RNAی ویروسی با توالی‌های RNA مکملی است که توسط گیاه بیان می‌شوند. جفت شدن نامناسب RNA-RNA، از در دسترس بودن RNA ویروسی برای همانند سازی و بیان ژن، ممانعت می‌نماید. بنابراین ساختارهای آنتی سنس و سنس می‌توانند برای بلوکه کردن مراحل اولیه مهم که در ایجاد آلودگی ویروسی مهم هستند، مورد استفاده قرار گیرند. حفاظت آنتی سنس، در توتون که RNAی مکمل پروتئین پوششی ویروس را بیان می‌کند نشان داده شده است.

۲-٤- حفاظت با RNA ی ماهواره‌ای

RNAهای ماهواره‌ای، گروهی از RNAهای تک رشته‌ای کوچک (تقریباً ۳۰۰ نوکلئوتید) هستند که برای همانندسازی و بسته‌بندی ویریونی به منظور ایجاد آلودگی در جای دیگر، به یک ویروس هم دست (Virus Helper) وابسته می‌باشند. بنابراین RNAی ماهواره‌ای برای تکثیر و انتقال به ویروس وابسته است، اگرچه وابسته به ژنوم ویروس نیست. این گونه RNA ماهواره‌ای با چندین ویروس دیگر مرتبط هستند. تعدادی از RNAی ماهواره‌ای تکثیر و علایم ویروس هم دست خود را تعدیل می‌نمایند. بسته به RNAی ماهواره‌ای مرتبط، طیف تغییر در ایجاد علایم از نکروز شدید تا کم اثر شدن کامل آن می‌باشد. بنابراین RNAهای ماهواره‌ای که علایم را تقلیل می‌دهند می‌توانند به طور بالقوه برای کاهش شدت بیماری ویروس یاریگر مورد استفاده قرار گیرند. بدین جهت، کاربرد آن در گیاهان تراریخت برای ایجاد مقاومت در گیاهان زراعی از جایگاه مهمی برخوردار گردیده است. تاین و همکاران (۲۹) و تاین و گوسوی (۳۰) نشان دادند که تلقیح عمدی یک نژاد ملایم ویروس موزائیک خیار (CMV) حاوی یک RNAی ماهواره‌ای تقلیل دهنده علائم، گیاهان توتون، فلفل، گوجه فرنگی و خیار را بطور موفقیت آمیزی در برابر یک نژاد بیماریزای CMV محافظت نمود و میزان خسارت را کاهش داد. تاین و گوسوی (۳۰) گزارش کردند که ۱۲۱ گیاه گوجه فرنگی تراریخت بیان کننده یک RNAی ماهواره‌ای تقلیل دهنده علائم CMV، در مقایسه با گیاهانی که یک نژاد قوی CMV به آن‌ها تزریق شد، ۵۰٪ عملکرد بیشتری تولید کردند. این راهکار مربوط به آن دسته از سیستم‌های ویروسی است

که دارای RNAی ماهواره‌ای تقلیل دهنده هستند. کلین و همکاران (۱۷)، فلفل‌های قرمزی (Capsicum annum) تولید کردند که RNAی ماهواره ای CMV را بیان می‌نمودند. کاهش علائم آلودگی ویروسی در نتاج این گیاهان، پس از تلقیح با نژادهای CMV-Y یا CMV-Korea، تائید گردید.

۳- مقاومت به بیماری

تاکنون تعداد زیادی از ژن‌های پاسخ دفاعی گیاهان که پروتئین‌های ضد میکروبی را کد می‌نمایند، کلون شده‌اند. اکثر این ژن‌ها در پاسخ به آلودگی و یا در مواجهه با ماکرومولکول‌های میکروبی در سطح نسخه برداری فعال می‌شوند. فراورده‌های ژن‌های پاسخ دفاعی می‌تواند شامل (۱) آنزیم‌های هیدرولیتیک نظیر کتیناز و دیگر پروتئین‌های مرتبط با بیماریزایی پروتئین‌های غیرفعال کننده ریبوزوم (RIPs، 3) پروتئین‌های ضد قارچ (AFPs، 4) آنزیم های بیوسنتزی برای تولید فیتوالکسین‌های ضد میکروبی، (۵) فنولیک‌های متصل به دیواره، اسموتین‌ها (osmotins)، تیونین‌ها (thionins) و (۶) پراکسید هیدروژن، باشد.

۳-۱- پروتئین‌های مرتبط با پاتوژن

این پروتئین‌ها دارای وزن مولکولی کم بوده و به مقادیر قابل توجهی در بافت‌های گیاهی آلوده تجمع می‌یابند. برای ایجاد مقاومت به پاتوژن‌ها در گیاهان زراعی از توانایی آنزیم‌های هیدرولیزکننده در شکستن کیتین و گلوکان دیواره سلولی قارچ‌های پاتوژن استفاده شده است. ژن‌های کیتیناز متعددی از گیاهان جداسازی شده و توصیف گردیده‌اند. اولین گزارش در توتون بود که یک ژن کیتیناز باکتریایی بدست آمده از باکتری خاکزی Serratina marcescens، بطور پایدار تلفیق و در برگ‌های توتون بیان گردید (۱۴). یک ژن کیتیناز اصلی از Phaseolus vulgaris تحت کنترل پروموتور ساختمانی قوی s35 ویروس CaMV، به طور ساختمانی و به مقدار زیاد در گیاهان تراریخت توتون و Brassica napus بیان شد (۱). این بیان، منجر به حفاظت قابل ملاحظه گیاهان از قارچ پاتوژن Rhizoctonia solani گردید که باعث مرگ گیاهچه پس از جوانه زنی می‌شود. در مورد B.napus، اگر چه حفاظت مدنظر به صورت تاخیری بود تا ممانعت کامل از بروز علائم، با این حال نتایج بدست آمده نشان داد که سطح حفاظت به اندازه‌ای هست که از اهمیت اقتصادی در شرایط مزرعه برخوردار باشد. هیچ گزارشی در مورد افزایش مقاومت ناشی از بیان ژن β-D-glucanase-3-1 به تنهایی در گیاهان تراریخت وجود ندارد، اما ژن گلوکاناز وقتیکه با کیتیناز همراه می‌شود، مقاومت به قارچ را در توتون، گوجه فرنگی و هویج نشان می‌دهد.

۳-۲- پروتئین‌های ضد میکروبی (Anti-microbial proteins)

گیاهان و دیگر موجودات ممکن است دارای پروتئین‌های ضدمیکروبی باشند که ضرورتاً در ارتباط با پاسخ دفاعی القا شده نیستند، اما وجود این پروتئین‌ها سبب بروز مقاومت به پاتوژن‌ها می‌شود. این پروتئین‌ها شامل پروتئین‌های غیرفعال کننده ریبوزوم (RIPs)، پروتئین‌های غنی از سیستئین مانند لکتین‌ها، دفنسین‌ها، تیونین‌ها، لیزوزایم، بازدارنده‌های پلی گالاکتوروناز و

غیره می‌باشد. گیاهان تراریخت مقاوم به پاتوژن‌ها در گونه‌های متعددی تولید شده‌اند.

۳-۳- فیتوالکسین‌ها

فیتوالکسن‌ها، متابولیت‌های ثانویه‌ای با وزن مولکولی کم و با فعالیت ضد میکروبی هستند که توسط گیاهان در پاسخ به یک آلودگی سنتز می‌شوند و در مقاومت گیاهان به بیماری سهیم می‌باشند. در طی آلودگی، فیتوالکسین‌ها ذخیره شده (معمولاً در سلول یا اندامک‌های خاص ولی به فرم کانژوگه غیرفعال وجود دارند) به جنبش در آمده و همزمان ژن‌های مسیرهای بیوسنتزی آن‌ها فعال می‌شوند و سنتز فیتوالکسین‌های بیشتری شروع می‌گردد. رسوراتزول(Resveratoral) یکی از معمول‌ترین استیلبن‌ها (Stilbene) (فیتوالکسین‌ها) است که در بعضی از گونه‌ها سنتز می‌شود. آنزیم اصلی در سنتز رسوراتزول، آنزیم رسوراترول سنتاز (Resveratrol synthase) است که غالباً به استیلبن سنتاز (synthase Stilbene) معروف می‌باشد.

هین و همکاران (۹) نشان دادند که انتقال یک ژن استیلبن سنتاز (STS) از بادام زمینی به توتون سبب تولید مقادیر قابل اندازه‌گیری از رسوراترول استیلبنی بادام زمینی در توتون می‌شود و اثر سمیت ضدقارچی رسوراترول در گیاهان را اثبات نمودند. ژن STS به برنج و Brassica napus نیز منتقل شده است.

۳-٤- دستورزی ژن‌های مقاومت به بیماری

تلاش‌ها در زمینه جداسازی ژن‌های مقاومت به بیماری، به لطف توسعه روش‌های کلونینگ مبتنی بر نقشه وعلامتگذاری ژن در چند سال گذشته به پیشرفت قابل توجهی نائل گردیده است. ژن HM1 ذرت، که مقاومت به Cochliobulus carbonum اعطا می‌کند با استفاده از علامت‌گذاری ترانسپوزون (transposon tagging) کلون شده است (۱۵). این ژن آنزیم HC- توکسین رودکتاز (HC-toxin reductase) وابسته به NADPH را کد می‌نماید که سم قارچی HC را غیرفعال می‌سازد. ژن‌های مقاومت نظیر RPs2 و RPM1 از آرابیدوپسیس، Pto،Cf9، Cf4 و Cf2 از گوجه فرنگی، ژنN توتون، L16 کتان و Xa21 برنج کلون شده‌اند. تعدادی از ژن‌های غیربیماریزا شامل Avr9، Avr4 و غیره نیز کلون گردیده‌اند.

انتقال ژن مقاومت (R) از یک واریته گیاهی مقاوم به یک پاتوژن خاص به واریته حساس، یک راهکار اصلاحی است. مارتین و همکاران (۲۰)، گیاهان گوجه فرنگی با ژن مقاومت Pto تولید نمودند که به seudomonas syringae pv. Tomato مقاومت ایجاد می‌نماید. گیاهان توتون تراریخت برای Pto، به Pseudomonas syringae pv. Tabaci بیان کننده avrPto مقاوم شدند. ژن Xa21 برنج به بیش از ۳۰ نژاد مختلف باکتری Xanthomonas oryzae عامل بادزدگی برگ برنج مقاومت ایجاد می‌نماید. سانگ و همکاران (۲۰) گیاهان تراریخت برنج مقاوم به Xanthomonas بیان کنده avrX21 را تولید نمودند.

مقاومت به تنش‌های غیرزنده

تقریباً تمام تنش‌های غیرزنده نظیر خشکی، سرما و شرایط قلیایی اثر منفی بر رشد داشته و سبب القاء پیری،

مرگ سلولی و یا کاهش عملکرد گیاه می‌شوند. تعدادی از تنش‌های غیرزنده همچون خشکی، شوری و دمای خیلی بالا و یا خیلی پائین درای پیامد مشترکی یعنی کمبود آب سلولی و یا تنش اسمزی می‌باشد. از این رو، پاسخ گیاهان به کمبود آب، سنتز و تجمع ترکیباتی با وزن مولکولی کم بنام حفاظت کننده‌های اسمزی (Osmoprotectants) است. این حفاظت کننده‌های اسمزی، پتانسیل اسمزی درون سلول‌ها را کاهش داده و به حفظ تورژسانس سلولی کمک می‌نمایند. محلول‌های سازگار شامل گروه متنوعی از ترکیبات متعددی از قبیل یون‌های غیرآلی، یون‌های آلی، کربوهیدرات‌های محلول شامل پلی‌ئول‌ها (Polyols) (قندها، الکل‌ها)، اسیدهای آمینه (پرولین) و ترکیبات آمونیوم چهارگانه نظیر گلایسین بتائین را در بر می‌گیرند. چندین ژن گیاهی که آنزیم‌های کلیدی مسیرهای بیوسنتزی اسمولیت‌هایی همچون الکل‌ها، قندها، گلایسین بتائین و پرولین را کد می‌نمایند کلون شده‌اند.

همبستگی شدیدی بین تجمع پرولین با تحمل به شرایط تنش خشکی و شوری گزارش شده است. گاما- پیرولین- ۵- کربوکسیلات سنتتاز آنزیم محدود کننده سنتز پرولین است. گیاهان توتون تراریخت با آنزیم P5CS تولید شدند که بیان بالایی از این آنزیم و ۱۸- ۱۰ برابر پرولین بیشتر را نشان دادند. افزایش غلظت پرولین با افزایش رشد در شرایط خشکی و شوری همبستگی داشت (۱۶). توانایی سنتز و تجمع گلایسین بتائین یکی از قابلیت‌های گسترده بازدانگان است که در تحمل به خشکی و شوری نقش دارد. سنتز گلایسین بتائین در گیاهان توسط اکسیداسیون دو مرحله‌ای کولین (Choline) از طریق بتائین آلدئید (ماده واسط) صورت می‌گیرد. این واکنش توسط کولین مونواکسیژناز (Choline monooxygenase) (CMO) و بتائین آلدئید دهیدروژناز (BADH) کاتالیز می‌شود. گیاهان تراریخت توتون، آرابیدوپسیس و برنج با BADH، افزایش مقاومت به شوری را نشان دادند. یک ژن باکتریایی E.coli بنام mt1D که در بیوسنتز مانیتول سهیم است به توتون انتقال داده شد و گیاهان تراریخت تولید کننده مانیتول، ارتفاع ساقه بیشتر و انشعابات ریشه‌ای جدید و طویل‌تری داشتند، در حالیکه ریشه‌های گیاهان شاهد قهوه‌ای شده و طویل شدن یا منشعب شدن در آن‌ها رخ نداد. اگرچه بهبود مقاومت در حدی نبود که قابل کاربرد در کشاورزی باشد، ولی این اولین مثال از یک گیاه تراریخت با ژن میکروبی بود که مقاومت بیشتری را به تنش‌های اسمزی نشان داد (۲۷). گیاهان تراریخت ذخیره کننده فروکتان، وقتی که با تنش خشکی با استفاده ار ۱۰٪ PEG در کشت هیدروپونیک مواجه گردیدند، سرعت رشد سریعتری را نشان دادند. تنش اسمزی، تجمع مجموعه‌ای از پروتئین‌های با وزن مولکولی کم بنام پروتئین‌های محافظ (Dress proteins) نظیر LEAها را در بافت‌های گیاهی تحریک می‌نماید. یک ژن lea از جو بنام HVAI حفاظت از تنش را در برنج تراریخت نشان داد (۳۳).

مقاومت به علفکش

کاربرد علفکش‌ها برای کنترل علف‌های هرز در کشاورزی مدرن نقش بسزایی دارد. تلاش‌های زیادی در چندین آزمایشگاه برای مهندسی گیاهان مقاوم به علفکش صورت گرفته است. در مقاومتی که توسط یک ژن کنترل می‌شود پیشرفت حاصل شده است. برای

ایجاد گیاهان مقاوم به علفکش سه راهکار مورد استفاده قرار گرفته است: (۱) تولید بیش از حد هدف بیوشیمیایی حساس به علفکش، (۲) تغییر ساختمانی هدف بیوشیمایی بطوری که منجر به کاهش اثر گذاری علفکش شود و (۳) سمیت زدایی و تجزیه علفکش قبل از رسیدن آن به هدف بیوشیمیایی درون سلول گیاهی. مقاومت به علفکش‌های گلیفوسیت و سولفونیل اوره، با استفاده از ژن‌های کد کننده آنزیم‌های هدف جهش یافته، به ترتیب برای ۵- انول پیروویل شیکیمات- ۳ – فسفات سنتتاز (EPSPS) و استولاکتات سنتاز (ALS) بدست آمده است. این دو آنزیم در مسیرهای بیوسنتز اسیدهای آمینه فعالیت می نمایند. مقاومت به گلیفوسیت با استفاده از ژن gox که علفکش را خنثی می‌نماید، ایجاد شده است. این ژن از یک نژاد باکتریایی آکروموباکتر جداسازی گردیده است. گیاهان مقاوم به گلیفوسینات آمونیوم با استفاده از ژن‌های باکتریایی کد کننده فسفینوتریسین استیل ترانسفراز (PAT) که فسفینوتریسین را به فرم استیله تبدیل می‌نماید، تولید شده‌اند.

گیاهان تراریخت مقاوم به علفکش‌های متعددی نظیر فسفینوتریسین (بیالوفوس)، گلیفوسیت، سولفونیل اوره، ایمیدازولینون‌ها، بروموکسنیل، آترازین، توفوردی، ستوکسیدیم و غیره در گونه‌های مختلفی از گیاهان زراعی، سبزیجات و گیاهان زینتی و باغی تولید گردیده است. گیاهان تراریخت مقاوم به علفکش در گیاهان زراعی متعددی گزارش شده‌اند، اما در پنبه، کتان، کلزا، ذرت و سویا، این گیاهان تا به حال برای کشت وکار در سطح تجاری تولید شده‌اند و این فهرست به سرعت در حال گسترش است. گیاهان زراعی تراریخت مقاوم به علفکش، ۵۵٪ از سطح جهانی در حدود ۱۲/۸ میلیون هکتار، تحت پوشش گیاهان تراریخت را در سال ۱۹۹۷ به خود اختصاص داده بودند. بخش عمده این سطح ۵۵ درصدی به سویای مقاوم به علفکش (۴۰٪) و کلزا (۱۰٪) اختصاص داشت و سهم پنبه و ذرت به ترتیب ۳٪ و ۲٪ بود (۱۳).

تولید گیاهان تراریخت برای بهبود کیفیت

۱) گیاهان تراریخت برای بهبود کیفیت انباری

اولین موفقیت فروش تجاری یک فراورده غذایی، برای گوجه فرنگی تراریخت فلاور ساور با تاخیر در رسیدگی میوه بود که توسط شرکت کالژن ایالات متحده آمریکا در سال ۱۹۹۴ تولید شد. بهبود کیفیت ذخیره سازی یا عمر قفسه‌ای طولانی‌تر گوجه فرنگی که یک ویژگی مطلوب در فن آوری غذایی است با استفاده از دو راهکار امکان‌پذیر است: (۱) تکنولوژی RNA آنتی سنس و (۲) استفاده از ژن آمینو سیکلوپروپان- ۱- کربوکسیلیک اسید (ACC) دآمیناز را به اتیلن تجزیه می‌نماید. کالژن از RNAی آنتی سنس مکمل ژن کد کننده آنزیم پلی گالاکتوروناز (PG) استفاده کرد. بر اساس توالی ژن PG، یک ژن PG آنتی سنس ساخته شد و گیاهان گوجه فرنگی توسط آن تراریخت شدند. این گیاهان گوجه فرنگی تراریخت، هر دو نوع RNA سنس و آنتی سنس را برای ژن PG تولید نمودند که منجر به جفت شدن RNA-RNA شد. این امر منجر به عدم تولید فراورده ژن PG شد. بدین ترتیب از حمله ژن PG به پکتین دیواره سلول‌های میوه در حال رسیدن و در نتیجه از نرم شدن میوه ممانعت به عمل آمد. کالژن، گوجه فرنگی تراریخت خود را رقم مک گریگور نامید و بر اساس

اظهارات شرکت، این گوجه فرنگی بدون نرم شدن قادر است دو هفته بیشتر در قفسه فروشگاه دوام بیاورد.

هورمون گیاهی اتیلن، نقش عمده‌ای در فرایند رسیدن میوه‌ها و پیری گل‌ها بر عهده دارد. در بیوسنتز اتیلن، دو آنزیم ACC سینتاز (ACS) و ACC اکسیداز (ACO) به ترتیب تبدیل اس- آدنوزین متیونین (SAM) به ۱- آمینو سیکلوپروپان- ۱- کربوکسیلیک اسید (ACC) و تبدیل (ACC) به اتیلن را کاتالیز می‌نمایند. ژن‌های کد کننده ACS و ACO (aco, acs) از گونه‌های زیادی کلون شده‌اند. شرکت مونسانتو، مشکل کنترل اتیلن را با تولید گوجه فرنگی‌های مهندسی شده ژنتیکی برای بیان یک ژن از باکتری‌های Pseudomonas مرتفع ساخت. آنزیمی که این ژن کد می‌نماید قادر است ACC را به متابولیت‌های غیر از اتیلن تبدیل نماید (۱۸) که در نتیجه مثل RNAی آنتی سنس منجر به تأخیر در رسیدن میوه می‌شود. به طور مشابه، تولید اتیلن در گوجه فرنگی توسط بیان بیش از حد ژن کد کننده SAM هیدرولاز که از باکتریوفاژ T3 جداسازی گردیده است، کاهش داده شد. شرکت‌های متعددی همچون ذنکا، تکنولوژی DNA گیاهی امریکا، مونسانتو، پیونر- برد و لیماگریانزویلمورین در حال تولید گوجه‌های فرنگی تراریخت و غیر تراریخت به منظور افزایش طول عمر قفسه‌ای می‌باشند.

۲) گل‌های تراریخت با عمر بیشتر

عمر پس از برداشت بسیاری از گل‌ها، با شروع پیرشدن گلبرگ‌ها مشخص می‌گردد. مشخصه پیرشدن گلبرگ‌ها در میخک پیچ خوردن آن‌ها است. پیچ خوردگی برگ‌ها در پاسخ به منابع اتیلن خارجی نیز مشاهده می‌شود (۴). سامیناتان (۲۶)، با استفاده از یک کلون cDNA برای ACC اکسیداز (aco)، میخک‌های تراریختی تولید کردند که از بیان ACC اکسیداز آنتی سنس برخوردار بوده و گل‌هایی با اتلین بسیار اندک تولید نمودند. این عمل، عمر گلدانی گل‌ها را تا ۲۰۰ درصد افزایش داد. تنها گل بریده‌ای که تا سال ۱۹۹۷، تائیدیه آزادسازی در سطح تجاری دریافت نمود، میخک طویل العمر برای آزمایشات مزرعه‌ای در هلند و آزمایشات گلخانه‌ای در ایالات متحده آمریکا صادر گردیده است. گیاهان میخک طویل العمر تراریخت با ژن سنس acs نیز در استرالیا تائیدیه کشت دریافت نموده اند.

۳) گیاهان تراریخت برای رنگ گل

از آنجا که مصرف کنندگان گل‌ها جذب محصولات جدید می‌شوند، رنگ گل مد نظر بیوتکنولوژی قرار گرفته است. آنتوسیانین‌ها رنگدانه‌های اصلی گل در گیاهان عالی می‌باشند. تولید گل‌های آبی رنگ در گونه‌های نظیر رز و میخک که این رنگ‌ها بطور طبیعی در آن‌ها پدید نمی‌آیند، یکی از اهداف اصلی بوده است. دلفینیدین یک رنگیزه آنتوسیانینی است که معمولاً منجر به ایجاد رنگ آبی می‌شود. یک گروه تحقیقاتی از فلوریژن در استرالیا، ژنی را از hybrida Petunia شناسایی و کلون نمودند که یک فلاونوئید ´۳ و '۵ هیدروکسیلاز را کد می‌نماید که برای بیوسنتز دلفینیدین ضروری است (۲۵). این تغییر، اطلاعات مهم و ضروری را برای تولید گیاهان تراریخت با گل‌های حاوی رنگیزه‌های آبی فراهم می‌آورد.گستره‌ای از میخک‌های بنفش مهندسی شده ژنتیکی در مرحله آزاد سازی تجاری قرار دارند.

۴) گیاهان تراریخت برای نرعقیمی

نرعقیمی در گیاهان هم به صورت ژنتیکی هم به صورت سیتوپلاسمی توارث می‌یابد. نرعقیمی سیتوپلاسمی (cms) بدلیل نقص در ژنوم میتوکندریایی می‌باشد. معمولاً cms با نقص در عملکرد بافت مغذی بساک مرتبط است که مواد مغذی را به دانه‌های گرده در حال نمو می‌رساند. بخش‌های ماده این گیاهان، باروری خود را حفظ می‌نمایند. گیاهان تراریخت با نرعقیمی و تجدید باروری در Brassica napus تولید شده‌اند. در توتون نیز، با استفاده از یک ژن جهش یافته میتوکندریایی نرعقیمی وارد شده است. این عمل با انتقال یک ژن ریبونوکلئاز صورت گرفت. یک ژن هیبرید با یک توالی کدکننده ریبونوکلئاز و یک پروموتور اختصاصی بافت تغذیه کننده ساخته شد که که دارای یک پروموتور اختصاصی بساک از ژن TA29 توتون و یک توالی باکتریایی کد کننده ریبونوکلئاز از ژن Barnase باکتری Bacillus amylolique facines بود. فراورده ژن Barnase یک آنزیم نوکلئاز است که سمیت سلولی ایجاد نموده و فقط سلول‌های بافت تغذیه کننده را از بین می‌برد. بدین ترتیب از نمو دانه گرده ممانعت نموده و سرانجام منجر به نرعقیمی می‌شود. با استفاده از این ساختار ژنی (TA-29-Rnase)، در توتون، کاهو، گلکلم، پنبه، گوجه فرنگی و ذرت گیاهان تراریخت نرعقیم تولید شده است. معذالک محدودیتی که برای این این روش وجود دارد این است که گیاهان تراریخت از نرعقیمی دائمی برخوردارند و تلاقی با یک لاین تجدید کننده باروری، نرباروری را در آن‌ها تجدید نمی‌نماید. بعدها گزارش شد که تلاقی این گیاهان تراریخت با یک گروه دیگر از گیاهان تراریخت که یک ژن شیمری بازدارنده ریبونوکلئاز تحت کنترل یک پروموتور اختصاصی بافت تغذیه کننده درآن‌ها بیان می‌شد، می‌تواند نرباروری را در آن‌ها تجدید نماید. ساختار ژنی Barstar را از Bacillus amyloligui-facienes با پروموتور TA-29 برای تولید گیاهان تراریخت نربارور در B.napus نیز مطالعه شده است. فرآورده ژن Barstar، یک بازدارنده ریبونوکلئاز است که با آنزیم ریبونوکلئاز تشکیل کمپلکس می‌دهد و اثر سمیت سلولی آن را خنثی می‌نماید. وقتی که گیاهان نرعقیم (ژن Barnase) با گیاهان نربارور (ژن Barstar) تلاقی داده شدند، گیاهان F1 بدلیل تجدید باروری حاصل از توقف فعالیت سمیت سلولی ریبونوکلئاز در بساک‌ها در اثر تشکیل کمپلکس Rnase/ بازدارنده Rnase بارور شدند. این سیستم برای تولید بذر هیبرید مورد استفاده قرار گرفت.

گیاهان تراریخت برای بذر خاتمه دهنده

به آن تکنولوژی که قابلیت حیات یا باروری بذور را پس از یک مدت معین خاتمه می‌دهد، به آن تکنولوژی خاتمه دهنده و به ژن دخیل در این پدیده ژن خاتمه دهنده می‌گویند. تکنولوژی خاتمه دهنده، به دلیل حق انحصار (شماره ۵۷۲۳۷۶۵) بر" کنترل بیان ژن گیاهی" که توسط اداره ثبت انحصارات ایالات متحده در سوم مارس ۱۹۹۸ برای سازمان کشاورزی ایالات متحده آمریکا و شرکت آمریکایی دلتا و پین لند صادر گردید، توجه زیادی را به خود جلب نموده است. این حق انحصار برای هر ژن جدیدی نبود، بلکه برای ژن‌های معینی صادر و برای کنترل مکانیزم‌هایی جهت خاتمه دادن به بیان صفات مورد نظر در نسل اول یا نسل‌های بعدی گیاهان اعطا شد. تکنولوژی خاتمه

دهنده، مبتنی بر استفاده از یک ژن کشنده مناسب است که بذور نسل دوم را نابارور می‌نماید. شرکت تولید کننده، بذور نسل اول را می‌فروشد که از رشد و نمو و باروری طبیعی بطور کامل برخوردار بوده و گیاهانی سالم با قابلیت تولید بذر و یا میوه تولید می‌نمایند، اما بذور و یا میوه‌های حاصل از این گیاهان فقط به عنوان غذا قابل استفاده هستند و اگر کشت شوند جوانه نخواهند زد. این پدیده، کشاورزان را مجبور به خریداری بذور تازه از کمپانی بذر برای فصل زراعی بعدی می‌نماید، زیرا که آن‌ها قادر به استفاده از بذور برداشت شده برای کشت در فصل زراعی بعدی نیستند.

تکنولوژی خاتمه دهنده از سه قطعه DNA یا ژن که اطلاعات ژنتیکی ضروری راحمل می‌کند، برای انتقال به گیاهان استفاده می‌کند.

۱- ژن خاتمه دهنده (ژن کشنده)

هر ژنی که بتواند یک پروتئین سمی ممانعت کننده از جوانه زنی بذر را در گیاهان تولید نماید می‌تواند به عنوان ژن خاتمه دهنده مورد استفاده قرار گیرد. یک ژن کشنده، پروتئین بازدارنده ریبوزوم (RIP) را کد می‌نماید. ژن کشنده کد کننده RIP، در فرایند سنتز پروتئین‌ها در سلول گیاهی اختلال ایجاد می‌کند، بدون آنکه برای دیگر موجودات سمی باشد. بنابراین بیان ژن RIP در سلول‌های جنین، از جوانه زنی بذر ممانعت خواهد کرد. این ژن به یک نوع خاص از پروموتور که در مراحل پایانی نمو بذر فعال می‌شود، متصل می‌گردد. وقتی که هدف، بیان صفت مذبور در نسل دوم بذور باشد، پروموتور LEA ایده ال است. چنین پروموتوری فقط پس از کامل شدن رشد رویشی گیاهان نسل اول فعال می‌شود. برای ممانعت از بیان ژن RIP کشنده در بذر نسل اول، یک توالی بلوکه کننده نیز توسط توالی برشی خاصی (مکان های LOX) ساقدوشی می‌شود. وقتی که با ایجاد برش‌های مکان اختصاصی در مکان‌های LOX مجاور، توالی بلوکه کننده از جایگاه خود خارج می‌شود، ژن کشنده مستقیماً با پروموتور تماس می‌یابد و بدین ترتیب در تمام نسل‌های بعدی در طی مراحل پایانی جنین زایی بروز می‌نماید.

۲- ژن رکومبیناز

ساختار ژنی دوم، شامل یک ژن که آنزیمی بنام رکومبیناز را کد می‌نماید. این آنزیم قادر به شناسایی توالی‌های برشی LOX و حذف این توالی‌ها همراه با توالی بلوکه کننده از ساختار ژنی اول از طریق فرایند نوترکیبی است. یک سیستم توالی برشی رکومبیناز ترجیحی سیستم LOX/ CRE باکتریوفاژ است که در آن، پروتئین CRE (رکومبیناز) نوترکیبی مکان اختصاصی DNA را در مکان‌های LOX انجام می‌دهد. این ژن رکومبیناز پشت یک پروموتور متوقف شونده مخصوص یک بازدارنده که توسط ژن سوم کد می‌گردد، قرار داده می‌شود. این پروموتور می‌تواند متوقف شود و بدین ترتیب اگر یک پروتئین خاص در محیط وجود داشته باشد، آنزیم رکومبیناز تولید نمی‌شود.

۳- ژن متوقف کننده

یک ژن سوم، پرتئینی به نام پرتئین بازدارنده را کد می‌نماید که پروموتور ژن رکومبیناز را در ساختار ژنی دوم متوقف می‌نماید. خود پروتئین بازدارنده به یک ماده شیمیایی خاص (تتراسایکلن) متصل شود، غیر فعال می‌گردد. بازدارنده غیرفعال (یعنی کمپلکس بازدارنده

– تتراسایکلن) قادر به متوقف ساختن پروموتور متصل شده به ژن رکومبیناز نبوده و بدبن ترتیب امکان سنتز آنزیم رکومبیناز فراهم می‌شود.

گیاهان تراریخت به عنوان بیوراکتور

به واسطه تکنیک مهندسی ژنتیک، ترکیباتی با ارزش تجاری که قبلاً فقط از منابع گیاهی وحشی و یا منابع حیوانی و میکروبی تأمین می‌گردند، امروزه از طریق تکنیک مهندسی ژنتیک در گیاهان اهلی تولید می‌شوند. گیاهان تراریخت می‌توانند به عنوان بیوراکتورهای زنده برای تولید ارزان موادشیمیایی و دارویی عمل نمایند که این پدیده به زراعت مولکولی معروف می‌باشد. با استفاده از روش زراعت مولکولی می‌توان کربوهیدرات‌ها، اسیدهای چرب، پلی پپتیدها، واکسن‌ها، آنزیم‌های صنعتی و پلاستیک‌های قابل تجزیه زیستی را در سیستم‌های گیاهی تولید نمود.

کربوهیدرات‌ها

نشاسته یکی از اجزای سلول‌های گیاهی است. نشاسته‌های مهندسی شده با مقدار آمیلوز کاهش یافته یا مقدار نشاسته افزایش یافته در سیب زمینی تائید شده‌اند. همچنین پیش سازه‌های نشاسته‌ای نیز مجدداً در جریان مسیرهای بیوسنتزی کربوهیدرات‌های ذخیره‌ای دیگر قرار داده شده‌اند. گیاهان توتون و سیب زمینی که توانایی ذخیره فروکتان را نداشتند، برای تجمع فروکتان، با ژن فروکتوزیل ترانسفراز از Bacillus subtilis تراریخت شده‌اند. تلاش‌هایی نیز برای تولید ترکیبات جدید از طریق مهندسی ژنتیک صورت گرفته است. گیاهان توتون، با ژن مانیتول -۱ – فسفات دهیدروژناز (mt1D) از E.coli تراریخت شده‌اند. این تراریخت ها مقدار مانیتول بیشتری تولید نموده و به سطوح بالای شوری تحمل نشان داده‌اند (۲۷). به طور مشابه، ژن میو اینوزیتول- متیل ترانسفراز از Mesembryanthemum crystallinum (گیاه یخ) به توتون انتقال داده شده است، دراین گیاه موجب تولید پینیتول که یک الکل قندی حلقوی مشتق شده از میواینوزیتول است، در این گیاه شود. ترهالوز، یک افزودنی خوراکی می‌باشد که کیفیت غذاهای خشک و فراوری شده را با خوشمزه‌تر نمودن آن‌ها بهبود می‌بخشد. شرکت‌های بیوتکنولوژی گیاهی، موگن (در لیدن هلند) و کالژن (در دیویس ایالات متحده) سنتز مقدار اندکی ترهالوز را در گیاهان توتون تراریخت گزارش نموده‌اند.

چربی‌ها

افزایش مقدار اسید چرب اشباع نشده تک ظرفیتی در گیاهان به دلیل افزایش کیفیت غذایی روغن‌ها یک صفت مطلوب می‌باشد. وقتی که یک ژن دساتوراز از موش صحرایی به توتون منتقل شد، در گیاهان تراریخت مقدار اسید پالمیتولئیک و اسید اولئیک به ترتیب به نسبت ۱۶:۱ و ۱۸:۱ افزایش یافت (۸). برای استفاده در ساخت دترژنت‌ها و همچنین کاربردهای غذایی خاص، ژن تیواستراز از درخت بای کالیفرنیا به آرابیدوپسیس منتقل گردید تا سبب تجمع یک اسید چرب با زنجیره متوسط ۱۲ کربنه به عنوان چربی ذخیره‌ای در این گیاه شود (۳۲). اولین فراورده غیر خوراکی حاصل از مهندسی زیستی گیاهی که در سطح تجاری تولید گردید، یک واریته کلزای مهندسی شده ژنتیکی که برای تولید اسید لوریک، یک اسید چرب ۱۲ کربنه مورد استفاده در ساخت صابون‌ها و دترژنت‌ها

تغییر داده شد. بدین منظور محققین فقط به انتقال یک ژن از درخت بای کالیفرنیا نیاز داشتند. این ژن، فرایند سنتز اسید چرب را در مرحله ۱۲ کربنه متوقف نموده و اجازه رشد زنجیره تا مرحله ۱۸ کربنی را که وضعیت عادی برای گیاه است نمی‌دهد و در عین حال، تاثیر چندانی بر عملکرد ندارد.

پلاستیک قابل تجزیه زیستی

گیاهان تولید کننده پلاستیک تجاری نیز چند سالی بیشتر با ما فاصله ندارند، اگرچه محققان در این زمینه در حال پیشرفت می‌باشند. پلی هیدروکسی بوتیرات (PHB) که یک پلی استر آلفاتیک با خصوصیات ترموپلاستیک می‌باشد، در ابتدا با انتقال ژن‌های مرتبط با استواستیل- کوآنزیم A ردوکتاز و PHA سنتاز از باکتری Alcaligenes euthophus به Arabidopsis thaliana در گیاهان تولید شد. اگرچه گیاهان تراریخت حاصله ناسالم بوده و مقدار کمی PHB تولید نمودند، اما انتقال اولیه ژن، مؤثر واقع شد. این مشکل با اضافه کردن یک توالی به ژن که سبب می‌شود آنزیم‌های تولیدی، وزیکول‌های ذخیره‌ای یعنی پلاستیدها را مورد هدف قرار دهند، مرتفع گردید. با انجام این کار، هم مقادیر فراوانی از یک ترکیب پیش ساز اصلی برای سنتز PHB در اختیار آنزیم‌ها قرار می‌گرفت و هم سلول گیاهی از اثرات مضر احتمالی تجمع PHB در امان می‌ماند. در نتیجه، سنتز PHB، بدون اثرا ناخوشایند بارزی بر رشد گیاه یا عملکرد بذر، به میزان ۱۰ برابر افزایش یافت (۲۳).

پروتئین‌ها، پپتیدها و واکسن‌ها

امروزه پیشرفت‌های جدید در بیوتکنولوژی گیاهی این تصورات را در اذهان منعکس می‌نماید که احتمالاً می‌توان از گیاهان مهندسی شده ژنتیکی و ویروس‌های گیاهی برای تولید واکسن بر علیه بیماری‌های انسانی، از پوسیدگی دندان گرفته تا عفونت‌های تهدید کننده زندگی از قبیل اسهال باکتریایی، وبا و ایدز، استفاده نمود. یکی از اولین موارد برتی تولید پپتیدهای دارویی در گیاهان، از بیان فراوان پروتئین ذخیره‌ای بذر در حالت طبیعی استفاده نمود. پپتید عصبی انکفالین، به عنوان بخشی از آلبومین s2 پروتئین ذخیره‌ای بذر در B.napus تولید می‌شد (۱۹). ناقلین ویروسی برای تولید پروتئین‌های پوششی شیمری در گیاهان تراریخت مورد استفاده قرار گرفته‌اند. آنها روشی را برای مهندسی پرتئین کپسید ویروس TMV بصورت تلفیق‌های درونی یا تلفیق در انتهای C، با پپتیدهای حامل اپیتوپ مشتق شده از اسپوروزیت‌های مالاریا شرح دادند. هر دو نوع ساختار تلفیق درونی و تلفیق در انتهای C، مقادیر فراوانی از ویروس‌های نوترکیب با ثبات ژنتیکی تولید نمودند که در توتون آلوده آنتی بادی‌های مونوکلونال ضد مالاریایی مناسب تولید کردند. پروتئین زونا پلوسیدا ZP3 با پروتئین کپسیدی ویروس TMV ترکیب شده‌اند. پروتئین ZP3 اووسیت پستانداران به عنوان هدف برای ایمنی از باروری و یک اپیتوپ ۱۳ اسید آمینه‌ای از ZP3 موشی، به صورت ترکیب با پروتئین کپسید ویروس TMV در گیاهان بیان شده‌اند. موش‌های ایمن شده با ذرات TMV نوترکیب، آنتی بادی‌های ضد ZP3 را تولید نمودند. از نظر تئوری، واکسیناسیون با پروتئین پوششی ویروسی تغییر یافته می‌تواند به عنوان یک

روش کنترل تولید مثل عمل نماید، زیرا آنتی بادی‌های زونا پلوسیدا قادر به ممانعت از باروری تخم می‌باشد. چنین مطلبی نیز برای اپیتوپ های مشتق شده از ویروس‌های نقص ایمنی انسان که به صورت محصولات تلفیق پروتئین‌های پوششی ویروس موزائیک یونجه بیان می‌شوند، صحیح است. ویروس موزائیک لوبیای چشم بلبلی نیز به عنوان یک سیستم بیان برای تولید پپتیدهای خارجی نظیر اپیتوپ مشتق شده از رینوویروس ۱۴ انسان و ویروس نقص ایمنی انسان (HIV) مهندسی شده است. ویروس‌های گیاهی تغییر یافته، تولید آنتی بادیی را در موش تحریک نمودند که ویروس را در آزمایشات درون لوله آزمایش خنثی نمودند. این نتیجه، احتمال تولید واکسن ممانعت کننده از HIV را نشان می‌دهد. پروتئین‌های پوششی تلفیقی می‌توانند به عنوان یک روش مقرون بصرفه برای تولید واکسن‌ها مد نظر قرار گیرند.

تولید واکسن‌های خوراکی

گیاهان تراریخت نقاط امیدی از سیستم‌های تولید واکسن کم هزینه را نشان می‌دهند. محققین روش‌های مختلفی را برای تولید واکسن های گیاهی اعمال می‌نمایند، اما واکسن‌های خوراکی که در حال حاضر توسط یک گروه تحقیقاتی به رهبری چارلز آرنتزن از دانشگاه M&A تگزاس در ایالات متحده در حال تولید هستند، احتمالاً ارزانترین نوع می‌باشند که به راحت‌ترین شکل قابل توزیع هستند. ایده حامی واکسن‌های خوراکی این است که افراد، به عنوان بخشی از جیره غذایی خود، با خوردن گیاهانی که واکسن را تولید می‌کنند، دز مورد نیاز خورد را دریافت نمایند. گروه آرنتزن، کار خورد را با هدف تولید واکسن‌های خوراکی برای پیشگیری از بیماری‌های رودهای همچون وبا و اسهال که توسط باکتری‌هایی از قبیل E.coli، Shigella و Samonella ایجاد می‌شوند، شروع کرد. اسهال باکتریایی مهمترین عامل مرگ و میر کودکان در کشورهای در حال توسعه است. اولین گزارش از اصل بکارگیری یک سیستم بیان گیاهی برای تولید یک واکسن خوراکی در یک نشریه تحت معاهده همکاری حق انحصار بین الملل انتشار یافت که روشی را برای بیان یک پروتئین سطحی (spa) از Streptomyces mutans در توتون تا ۲٪ از کل پروتئین برگ شرح داد. آنتی ژن سطحی هپاتیت B (HbsAg) در توتون بیان گردیدهاست. هرچند که میزان بیان آن اندک بوده است (۰/۰۱ درصد از پروتئین محلول). ایمنی به HbsAg در موش آزمایشگاهی تائید شده است.

گیاهان توتون و سیب زمینی تراریخت بیان کننده زیر واحد B انتروتوکسین حساس به گرما از E.coli با یک توالی نگهدارنده میکروزومی نیز تولید شده‌اند (۱۰). گیاهان تراریخت، پپتید خارجی را بیان نمودند و وقتی که موش‌ها از غده‌های سیب زمینی تراریخت تغذیه شدند، ایمنی خوراکی در آن‌ها پدیدار گشت. این آزمایش سهولت استفاده از گیاهان تراریخت به عنوان سیستم‌هایی برای بیان و توزیع واکسن‌های خوراکی را ترسیم می‌نماید. واکسن خوراکی گیاهی ضد اسهال که در سیب زمینی بیان می‌شوند، مدتی است که در مرحله آزمایشات انسانی قرار دارد (۲۸). یکی از مشکلاتی که در مورد سیب زمینی وجود دارد این است که بایستس قبل از مصرف، پخته شود. درجه حرارت طبخ ممکن است سبب دناتوره شدن پرتئین واکسن یا کاهش یا حذف توانایی آن در ایجاد ایمنی گردد.

معذالک مشکل سیب زمینی با متوسل شدن به موز که بصورت خام خورده می شود، ممکن است به زودی حل شود. آرنتزن و همکارانش، یک ژن بیگانه را به درختان موز منتقل نموده و بیان آن را نیز به اثبات رسانده‌اند. آن‌ها در این آزمایش از ژن مولد پروتئین واکسن استفاده نکردند، اما قصد انتقال ژن انتروتوکسین E.coli را به موز دارن که اگر با موفقیت همراه شود می‌خواهند ژن‌هایی را برای پروتئین‌های واکسنی دیگر به موز منتقل نمایند.

بنابراین گیاهان تراریخت این نوید را داده‌اند که به عنوان سیستم‌های کم هزینه برای تولید واکسن بکار روند. تلاش‌های قابل توجهی در جهت بیان تعداد زیادی از پروتئین‌های مورد استفاده در واکسن درمانی به مقادیر زیاد در گیاهان و استفاده از گیاهان به عنوان بیوراکتورهای عصر مدرن در حال انجام است.

چشم انداز آینده

در حالیکه کمتر شکی در مورد مدرن بودن بیوتکنولوژی وجود دارد، بدون شک این فن آوری یک مد زودگذر نیست. انتظارات ایجاد شده برای توسعه تجاری مقاومت به علفکش‌ها و حشرات، آینده درخشانی را برای بیوتکنولوژی کشاورزی خاطر نشان می‌نماید. با توجه به شواهد اولیه‌ای که در مورد استفاده از انتقال ژن‌های جدید به منظور ایجاد لاین‌های گیاهی سودمند برای تولید مواد شیمیایی از مواد دارویی گرفته تا پلاستیک‌های قابل تجزیه زیستی وجود دارد، چشم‌انداز آینده این تکنولوژی نیز امیدوار کننده است. بیوتکنولوژی کشاورزی در مسیر خود از شروع بکار بیوتکنولوژی تا تولید مزرع‌های محصولات تجاری، با موانع متعددی از محدودیت‌های علمی و تکنولوژیکی، تا مشکلات قانونی و مدیریتی، عوامل اقتصادی و نگرانی‌های اجتماعی روبرو می‌باشد. فرضیه محافظه کارانه قوانین در اکثر کشورها این است که تمام گیاهان تراریخت بطور بالقوه خطرناک هستند. خطرات احتمالی، مرتبط با ژن منتقل شده و یا فنوتیپ ایجاده شده است نه روش‌های مورد استفاده برای انتقال ژن. تا کنون گزارشی در مورد اثرات مضر محیطی و یا دیگر خطرات پیش بینی نشده گیاهان تراریخت در هزاران آزمایش مزرعه‌ای صورت گرفته در عرصه بین المللی ارائه نگردیده است. با این حال، نگرانی‌های متعددی در رابطه مستقیم با سیستم‌های کشاورزی ایجاد شده است. به عنوان مثال، استفاده از ژن‌های مقاومت منشاء گرفته از ویروس‌ها نگرانی‌هایی را در مورد احتمال نوترکیبی ویروسی و ایجاد ویروس‌های جدیدی با دامنه میزبانی و شدت علائم تغییر یافته بوجود آورده است. استفاده از مقاومت به حشرات ناشی ار Bt مهندسی شده، نگرانی‌هایی را در مورد تکامل سریع مقاومت در حشرات ایجاد نموده است. دیگران نیز امکان ایجاد مشکلات جدید یا سخت تر در مواجهه با علف هزر را خاطر نشان نموده‌اند. در کشورهای در حال توسعه، بکارگیری تکنولوژی بذر خاتمه دهنده به یک موضوع مهم تبدیل شده است، اما نقاط مورد اختلاف مطرح نگردیده‌اند. اکنون عکس العمل مصرف کننده به محصولات گیاهی تراریخت با آزادسازی تجاری واریته‌های پیشرفته در سطح تجاری سنجیده شده است. این آزادسازی با افزایش انتشار اطلاعات در مورد گیاهان تراریخت به شکل قابل دسترسی برای عموم، همزمان گردیده است. با این حال همچنان که محدودیت‌های تکنیکی برداشته می‌شوند، این احتمال وجود دارد که محدودیت‌های تجاری به اصلی‌ترین

موانع تبدیل گردند. تکنولوژی جدید که در این عرصه خلق می‌گردند کاملاً اختراعی بوده و واجد شرایط احراز حق انحصاری و ملاحظه حقوق مالکین معنوی می‌باشد.

سپاسگزاری

در این‌جا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نموده‌اند سپاسگزاری نماییم.

منابع

1. Broglie, K.; Chet, I.; Holliday, M.; Crossman, R.; Biddle, P.; Knowlton, S.; Manian, I.J. and Broglie, R., 1991. Transgenic plants with enhanced resistance to fungal pathogen Rizoctonia solani. Science 254: 1194-1197.
2. Chawla, H.S., 2002. Introduction to Plant Biotechnology, Published by Science Publishers, Inc., Enfield, NH, USA,
3. Cheng, M.; Fry, J.E.; Pang, S.; Zhou, H.; Hironaka, C.M.; Duncan, D.R.; Conner, T.W. and Wan, Y., 1997. Genetic transformation of wheat mediated by Agrobacterium tumefaciens. Plant physiol, 115: 971-980.
4. Cornish, E.C., 1995. Antisense ACC oxidase RNA delays carnation petal senescence. Hort. Sci., 30:970-972.
5. De Block, M.; Herrera-Estrella, L.; Van Montagu, M.; Schell, J. and Zambryski, P., 1984. Expression of foreign genes in regenerated plants and their progeny. EMBO. J. 3: 1681-1689.
6. Fischhoff, D.A.; Bowdish, K.S.; Perlak, F.J.; Marrone, P.G., McCornick, S.M.; Niedermayer, E.J.; Rochester, E.J.; Rogers, S.G. and Fray, R.T., 1987. Insect tolerant transgenic tomato plants, Biotechnology, 5: 807-813.
7. Golemboski, D.B.; Lomonossoff, G.P.; and Zaitlin, M., 1990. Plants transformed with a tobacco mosaic virus non-structural gene sequence are resistant to the virus. Proc. Natl. Acid. Sci. USA, 87:6311.
8. Grayburn, W.S.; Collins, G.B. and Hildebrand, D.F., 1992. Biotechnology, 10: 675-678.
9. Hain, R.; Biessler, B.; Kindl, H.; Schroeder, G. and Stocker, R., 1990. Expression of a stilbene synthase gene in Nicotonia tabacum results in synthesis of phytoalexin resveratrol. Plant Mol.Bio, 15:325.
10. Haq, T.A.; Mason, H.S.; Clements, J.D. and Arntzen, C.J., 1995. Science, 91:1293-1300.
11. Hiei, Y.; Ohta, S.; Komari, T. and Kumashiro, T., 1994. Efficient transformation of rice (O. sativa L.) mediated by Agrobacterium and sequence analysis of the boundaries of the T-DNA. The Pant. J. 6:271-282.
12. Ishida, Y.; Satio, H.; Ohta, S.; Hiei, Y.; Komari, T. and Kumashiro, T., 1996. High efficency transformation of maize (Zea mays L.) mediated by Agrobacteruim tumefaciencs .Nature Biotech, 14: 745-750.
13. James, C., 1997. Global status of transgenic crops in 1997. ISAAA Briefs No.5.ISAAA: Ithaca, N.Y.PP.31.
14. Jones, J.D.G.; Dean, C.; Gidoni, D.; Bond-Nutter, D.; Lee, R.; Bedrock, J. and Dunsmuir, P., 1988. Expression of bacterial chitinase protein in tobacco leaves using pro photosynthetic promoters. Mol. Gen. Genet., 212:536-542.
15. Johal, G.S. and Briggs, S.P., 1992. Reductase activity encoded by HM1 disease resistance gene in maize. Science, 258:985.
16. Kishore, P.B.K.; Hong, Z.; Miao, G.H.; Hu, C.A.A. and Verma, D.P.S., 1995. Overexpansion of D1-pyrroline -5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. Plant physiol. 108:1387-1394.
17. Klein, T.M.; Wolf, E.D.; Wu, R. and Sanford, J.C., 1987. High velocity micro projectiles for delivering nucleic acids into living cells. Nature, 327:70-73.

18. Klee, H.J., 1993. Ripening physiology of fruit from transgenic tomato (Lycopersicum esculentum) plants with reduced ethylene synthesis. Plant Physiol. 102:911-916.
19. Krebbers, E. and Van de Kerckhove, J., 1990. Trends Biotechnol. 8:1-13.
20. Martin, G.B.; Brommonschenkel, S.H.; Chunwongsee, J.; Frary, A.; Ganal, M.W.; Spivey, I.; Wu, T.; Earle, E.D. and Tanksley, S.D., 1993. Map based cloning of a protein kina gene conferring disease resistance in tomato. Science, 262: 1432-1436.
21. Paszhowski, J.; Shillito, R.D.; Saul, M.; Mandak, V. and Hohan, T., 1984. Direct gene transfer of plants. EMBO. J. 3:2712-2722.
22. Powell-Abel, P.A.; Nelson, R.S.; De, B.; Hoffman, N.; Rogers, S.G.; Fraley, R.T.; and Beachy, R.N., 1986. Delay of disease development in transgenic plants that express tobacco mosaic virus coat protein gene. Science, 232: 738-743.
23. Poirier, Y.; Nawarth, C. and Somerville, C., 1995. Biotechnology, 13:142-150.
24. Song, W.Y.; Wang, G.I.; Chen, I.I.; Kim, H.S. and Pi, I.Y., 1995. A receptor kinase like protein encoded by the rice disease resistance systems and their enzymes. J.Mol.Biol. 81:419-423.
25. Stevenson, T.W. and Cornish, E.C., 1993. Cloning and expression of cytochroma p450 genes controlling flower color. Nature, 366: 276-279.
26. Swaminathan, M.S., 1994. Draft Plant Varieties Recognition and Protection Act: Rationale and Structure in: GATT Accord: India's Strategic Response (Ramachandria, V.,ed). Common wealth publishers, New Delhi, PP 189-243.
27. Tarczynski, M.C.; Jensen, R.G. and Bohnert, M.J., 1993. Stress protection of transgenic tobacco by production of the osmolyte mannitol. Science, 259:508-510.
28. Tacket, C.O.; Mason, H.S.; Losonsky, G.; Clements, J.D.; Levine, M.M. and Arntzen, C.J., 1998. Nature Med., 4:607-609.
29. Tien, P.; Zhang, X.; Qiu, B. and Wu, G., 1987. Satellite RNA for the control of plant diseases caused by cucumber mosaic virus. Ann. App. Bio., 111:143.
30. Tien, P. and Gussui, N., 1991. Satellite RNA for the biocontrol of plant diseases. Adv. Virus. Res., 39:321.
31. Vaeck, N.; Reynaerts, A.; Hofte, H.; Jansens, S.; Beukeleer, M.D.; Dean, C.; Zabeau, M.; Montagu, M.C. and Leemans, J., 1987. Transgenic plants protected from insect attack. Nature, 328:33-37.
32. Voelker, T.A.; Worrell, A.C.; Anderson, L.; Bleibaum, J., Fans, C.; Hawkins, D.J.; Radke, S.E. and Davis, H.M., 1992. Fatty acid biosynthesis redirected to medium chains in transgenic oil seed plants. Science, 257:872-874.
33. Xu, D.; Duan, X.; Wang, B.; Ho, T.D. and Wu, R., 1996. Expression of a late embryogenesis abundant protein gene HVA1 from barley confers tolerance to water deficit and salt in transgenic rice. Plant Physiol 110: 249-257.