مجله بیوتکنولوژی کشاورزی
علمی-پژوهشی و ISC

چالش‌های پیش‌روی رهاسازی محصولات تراریخته Bt

مسعود توحیدفر*[1]، سولماز خسروی[2]

[1]دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده فناوری نوین و مهندسی انرژی، گروه بیوتکنولوژی
[2]پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۰۹، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۲

خلاصه

با توجه به اینکه نیاز غذایی مردم در حال افزایش است، تامین امنیت غذایی برای این نیاز رو به رشد، مستلزم راهکارهای ویژه است. استفاده از محصولات تراریخته علی رقم چالش‌های موجود به عنوان یکی از این راهکارها در حال توسعه است، بطوریکه سطح زیر کشت این محصولات در حال افزایش است و از ۲۸ کشور تولیدکننده در سال ۲۰۱۲ به بیش از ۳۰ کشور با سطح زیر کشت ۱۸۰ میلیون هکتار در سال ۲۰۱٤ رسیده است. در این بین محصولات *Bacillus thuringiensis* (Bt) با بیش از ۲۵ میلیون هکتار از رشد و پذیرش چشمگیری برخوردار بوده اند. علیرغم اینکه استفاده از محصولات Bt منفعت‌های قطعی را به دنبال دارد، اما نگرانی‌هایی در خصوص ایمنی زیستی آنها نیز وجود دارد. اگرچه هیچگونه گزارشی در خصوص آثار سوء اینگونه محصولات تاکنون گزارش نشده است، اما ارزیابی دقیق و کامل اینگونه محصولات قبل از آزاد سازی ضروری است. نگرانی‌ها در خصوص محصولات Bt شامل اثر بر موجودات غیر هدف، پایداری بقایای Bt در خاک، شار ژنی محصولات تراریخته Bt، احتمال علف هرز شدن، زراعت تک محصولی و کاهش تنوع زیستی و اثرات ناخواسته انتقال ژن بر متابولیسم گیاه هستند. مقاله حاضر ضمن مروری اجمالی بر نگرانی‌های عنوان شده، بر ارزیابی و مدیریت این نگرانی‌ها در محصولات تراریخته Bt اشاره دارد که می‌تواند برای مسئولین، کارشناسان و متخصصین اهل فن مفید باشد

کلمات کلیدی: محصولات تراریخته Bt، ارزیابی مخاطرات احتمالی، مدیریت احتمال خطر

*نویسنده مسئول: مسعود توحید فر تلفن: ۰۲۱۲۲٤۱۱۵۹۲ Email: gtohidfar@yahoo.com

مقدمه

پیش بینی شده است که جمعیت کره زمین تا چند دهه آینده به نه میلیارد نفر برسد. در حال حاضر ده کودک در هر دقیقه به علت گرسنگی از بین می روند (Pinstrup-Andersen 2010). جهت تامین غذای این جمعیت رو به رشد در طول چهل سال آینده، میزان تولید محصولات باید افزایش یابد درحالیکه زمین های قابل کشت و منابع آبی، سوختهای زیستی و شرایط محیطی مناسب و کافی نیستند. بدین منظور، استفاده از محصولات تراریخته علی رقم چالش‌های موجود به عنوان یکی از این راهکارها در حال توسعه است. گیاهان تراریخته حاوی ژن‌های جدیدی هستند که به آنها خصوصیات سودمندی از قبیل تحمل تنش‌های محیطی و مقاومت در برابر بیماریها و حشرات می دهد.. در تولید گیاهان تراریخته از ارگانیسم های دهنده متفاوتی استفاده می شود یکی از پرکاربرد ترین آنها باکتری *Bacillus thurigiensis* است. آفات حدود ۱٤٪ تا ۲۵٪ محصولات کشاورزی را تخریب می کنند (DeVilliers and Hoisington, 2011). آفت-کش‌های زیستی بخش مهمی از مدیریت تلفیقی آفات را شامل می‌شوند که علاوه بر تقلیل خسارات ناشی از آفت باعث کاهش اثر تخریبی آفت‌کش‌های شیمیایی بر محیط زیست نیز می شوند. باسیلوس تورینژینسیس (Bt) یک باکتری گرم مثبت، هوازی، اسپورزا و میله ای شکل است که پروتئین کریستالی شکلی تحت عنوان Cry را در خلال مرحله اسپورزائی تولید می کند که پس از بلعیدن در نهایت باعث مرگ حشره می گردد (Saleh *et al*., 1970). باکتری Bt به صورت یک حشره کش زیستی میکروبی در ۵ دهه گذشته استفاده شده است زیرا سمیت آن به صورت انتخابی برای دسته خاصی از حشرات است و برای حشرات غیر هدف خطرناک نیست. همچنین، فاقد بقایای آلوده کننده محیط زیست است. از یک درصد سهم آفت کش های زیستی در بازار، ۹۵٪ به سم Bt اختصاص دارد (Flexner and Belnavis, 1999). با این وجود، استفاده از آفت کش Bt به علت مشکلاتی مانند محدود بودن تعداد حشرات هدف، پایداری پایین در گیاه و عدم امکان استفاده آن در اندام‌های گیاهی بطوریکه حشرات موجود در داخل بافت گیاه را از بین ببرد؛ پایین است (Kaur, 2012). مشکلات مربوط به استفاده از آفت کش‌های Bt با تولید محصولات تراریخته Bt حاوی ژن *cry1Ac* کاهش یافت. محصولات تراریخته Bt مانند ذرت، پنبه، گوجه‌فرنگی، بادمجان، برنج، سویا، کدو حلوایی، بادمجان، خربزه درختی و سیب زمینی ایجاد شده‌اند (Kaur 2012, Tohidfar *et al*., 2008, Tohidfar and Mohsenpour, 2010). یونجه تراریخته که ژن *cry3A* را تولید می‌کند و مقاوم به سرخرطومی یونجه است برای اولین بار در سال ۲۰۱۳ توسط توحیدفر و همکاران نیز ایجاد شد (Tohidfar *et*

al., 2013). سطح زیر کشت محصولات تراریخته به طور پیوسته در حال افزایش است و به بیش از ۳۰ کشور با سطح زیر کشت ۱۸۰ میلیون هکتار در سال ۲۰۱٤ رسیده است (James, 2014). بیشترین محصول Bt مربوط به پنبه است که از ۳٤ میلیون هکتار پنبه در دنیا ۲۳ میلیون به پنبه Bt اختصاص دارد. ذرت Bt نیز سهمی معادل ۲۹٪ را به خود اختصاص داده است (James, 2014). استفاده از محصولات Bt باعث افزایش عملکرد و کاهش مصرف سموم می‌شود که به دنبال آن فواید اقتصادی و زیست محیطی نیز حاصل می شوند (Carpenter, 2010). به هر حال تاکنون هیچ مدرکی دال بر مضر بودن گیاهان تراریخته برای انسان، موجودات دیگر و محیط زیست ارائه نشده است. در عین حال و برای ایجاد اطمینان کافی در مصرف‌کنندگان، آزمایش‌های اکولوژیکی ـ زراعی جامع و در سطح وسیع، برای ارزیابی اثرات آنها قابل توصیه است.

نگرانی‌های مربوط به محصولات Bt

احتمال خطر به مفهوم احتمال پیامدهای مضر ناشی از یک فعالیت گفته می‌شود. مخاطرات احتمالی اکولوژیکی ادعا شده برای محصولات تراریخته Bt شامل ایمنی تراژن (بیگانه) برای موجودات غیر هدف، اثرات ژن معرفی شده بر صفات فنوتیپی مرتبط، احتمال علف هرزی شدن، سلامت زیست محیطی محصول و اثرات ناخواسته مانند تغییرات در سطح متابولیت‌های ثانویه است (Carpenter, 2011).

۱-۱.نگرانی های مرتبط با موجودات غیر هدف

به طور کلی تاثیرات گیاهان تراریخته بر موجودات غیر هدف (آفاتی که از شیره گیاهی تغذیه می‌کنند، شکارگرها، پارازیتوئیدها، حشرات گرده‌افشان) به دو گروه، تاثیرات مستقیم (اثرات کشندگی) و غیرمستقیم طبقه‌بندی می‌شود. تغییر در طول دوره زندگی، میزان زادآوری و تغییرات وزنی در حشرات غیر هدف به علت تاثیرات غیر مستقیم گزارش شده است که ناشی از تغییر کیفیت غذایی گیاهان تراریخته است. بطورکلی سه راه برای در معرض قرارگیری با پروتئین Bt وجود دارد: ۱. گرده ۲. بقایای گیاهان در خاک ۳. گیاهخوارانی که از محصولات تراریخته Bt تغذیه می‌کنند. ساده‌ترین راه، مصرف مستقیم برگ، ساقه، ریشه، دانه یا گرده گیاه تراریخته است. بررسی‌های انجام شده در مورد برهمکنش گیاهان تراریخته با دشمنان طبیعی شامل ۱- اثر بر دشمنان طبیعی آفات هدف ۲- اثر بر روی دشمنان طبیعی آفات غیر هدف یا ثانویه است. محققان بیشتر تاکید بر اثرات غیر مستقیم گیاهان تراریخته بر این حشرات دارند. این اثرات به صورت: کاهش یا افزایش کیفیت غذایی گیاه برای آفت یا اینکه عدم ترجیح یا گرایش آفت برای تغذیه از گیاه است، چون تغییرات ژنتیکی در گیاه ممکن است موجب تغییر در ترکیبات ثانویه گیاه شود که باعث حالت دورکنندگی و یا

گرایش بـه تغذیـه در آفـت شـود. بـا توجـه بـه توضیحات فوق و تـاثیرات گیاهـان تراریختـه بـر شکارگرها ممکن است که دشمنان طبیعـی نیـز از طریق تغییر کیفیت غـذایی میزبـان بـه طـور غیـر مستقیم از گیاهـان تراریختـه متـاثر شـوند. حتـی برخی ویژگی‌های فیزیکی گیاهان (وجود کرک و خار در سطح بـرگ و سـاقه)، ترکیبـات ثانویـه و مـواد فـرار گیاهـان، دشـمنان طبیعـی مخصوصـا پارازیتوئیدها را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Clark *et al*., 2005). شکارگرها و پارازیتوئیـدهای غیـر هدف از ارکان مهم برنامه‌هـای مـدیریت تلفیقـی آفات به شمار مـی‌رونـد. مطالعـات آزمایشـگاهی نشان داده است که محصولات Bt اثر سوء بر این دو دسته ندارنـد. طـی مطالعـات انجـام شـده در خصوص اثر پروتئین Cry بر کفشدوزک‌ها کـه از لحاظ اکولوژیکی از مهمترین شکارگرها به شـمار می‌روند هیچ گونه اثر سویی گزارش نشده اسـت (Clark *et al*., 2005). همچنین تحقیقـات نشـان داده است که پروتئین Cry3A درسیب زمینـی Bt هیچ گونه اثر نامطلوبی بر زنـده مـانی، بیومـاس، باروری و زنده مانی تخـم حشـرات *Harmonia axyridis* و *Nebria brevicollis* نداشت (Ferry *et al*., 2007). اثر Bt بـر موجـودات غیـر هـدف لپیدوپترا آزمایش شده است. زنبورهای عسل کـه جزو رایجترین گرده‌افشـان‌هـا هسـتند بـه عنـوان حشرات تغذیه کننـده از گـرده گیاهـان Bt مـورد آزمـایش قـرار گرفتنـد و نتیجـه‌ای مبنـی بـر اثـر نامطلوب گیاهـان Bt بـر زنبورهـا گـزارش نشـد (Han *et al*., 2010). همچنین، هیچ تفاوت معنی داری در درصـد مـرگ و میـر و وزن کـرم هـای خاکی پس از ٤٠ روز در خاکهایی که ذرت Bt و غیر Bt کاشته شده بود مشاهده نشد.هیچ تفـاوت معنی داری در جمعیت نماتدها و پروتـوزوآ هـا، باکتری ها و قارچ ها در خاک ذرت Bt و غیر Bt نیز مشاهده نشد. نتایج نشان داد که پـروتئین آزاد شده در ریشه ذرت Bt یا بیوماس ذرت Bt بـرای ارگانیسم های موجود در خاک اثر سـوئی نـدارد (Saxena and Stotzky, 2000).

۱-۲. پایداری بقایای Bt در خاک

ذرات سطح فعال خاک در پایداری مولکول‌های آلی مهم هستند، در غیاب چنین ذراتی پروتئین Bt سریعا توسط جمعیت میکروبی تجزیه می شوند. این ذرات سطح فعال معمولا رس های معدنی و مواد هیومیکی هستند. شن و ذرات سیلتی از آنجایی که فاقد سطح فعال هستند ظاهرا به نظر نمی رسد که در پایداری چنین مولکول هایی دخیل باشند. اتصال پروتئین های Bt به رس ها میزان دسترسی آنها را به میکروب ها کاهش می دهد که احتمالا همین امر باعث پایداری آنها در خاک می گردد. پروتئین-های آزاد به آسانی به عنوان منبع کربن و یا نیتروژن توسط ارگانیزم های خاک مورد استفاده قرار می گیرد. به طور واضح پروتئین‌های Bt متصل به خاک به عنوان منبع کربن نمی توانند مورد استفاده قرار بگیرند ولی اندکی به عنوان منبع نیتروژن می توانند استفاده شوند (Saxena

and Stotzky, 2000). نگرانی‌های موجود در رابطه با پایداری بقایای Bt در خاک به دو عامل سرعت تجزیه سم Bt در خاک و اثرات آن بر ماکرو و میکروارگانیسم‌های خاک مربوط می‌شود. متفاوت بودن میزان تجزیه Bt در خاک گزارش شده است. این تفاوت می‌تواند به علت تفاوت در مواد گیاهی مورد استفاده در آزمایش و پیچیدگی اکوسیستم خاک باشد. تفاوت در میزان تجزیه پروتئین Bt مشاهده شده در مطالعات مختلف به تفاوت در میزان فعالیت میکروبی نسبت داده شده است. فعالیت میکروبی نیز خود تحت عوامل مختلفی مانند نوع خاک، فصل رشد، عملیات زراعی و سایر فاکتورهای محیطی مثل شرایط آب هوایی و موقعیت جغرافیایی است. تجزیه سریع پروتئین Cry1Ab در خاک پس از برداشت ذرت Bt مزارع آلمان گزارش شده است (Gruber *et al*., 2011).

۱-۳.شار ژنی از محصولات تراریخته Bt

با کاربرد محصولات تراریخته، نگرانی در خصوص شار ژنی از آنها رواج یافته است. مسیرهایی که طی آنها امکان دارد شار ژنی رخ دهد شامل : تکثیر غیر جنسی، پراکنش بذر و شار ژنی وابسته به دانه گرده است. کشت گیاهان هزاران سال است که رایج بوده و دانش ما از میزان شار ژنی در کشاورزی سنتی به تخمین میزان شار ژنی در گیاهان تراریخته کمک می کند. در ارزیابی تاثیرات احتمالی گیاه تراریخته بر محیط زیست، تاریخچه کشت گیاه والد تراریخته و اینکه آن محصول به شکل علف هرز یا گیاه مهاجم در خارج از محیط کشت تبدیل می شود بسیار مهم است. شار ژنی می‌تواند بین دو محصول یا یک محصول و گونه های وحشی اتفاق افتد (Chandler *et al*., 2008). احتمال شار ژنی از محصولات تراریخته به سایر موجودات دور مثل باکتری‌های خاکزی بسیار پایین است. ژن‌های *Bt* به طور گسترده‌ای در سویه‌های مختلف باسیلوس تورنژینسیس که در خاک زندگی می‌کنند، وجود دارند. بنابراین، انتقال این ژن‌ها از سویه‌های باسیلوس به سایر باکتری‌ها نسبت به انتقال آن از محصولات تراریخته محتمل‌تر است. انتقال افقی ژن‌ها از گیاهان تراریخته به جلبک، قارچ و پروتوزوا نیز بسیار ناچیز است (Keese, 2008; Mohammadabadi *et al*., 2008). از دیگر نگرانی‌های مطرح شده احتمال فرار تراژن از یک گیاه تراریخته به گونه غیرتراریخته یا خویشاوندان وحشی آن است. لازم به ذکر است که گیاهان در ظرفیت دگرگشنی با یکدیگر متفاوت هستند. ظرفیت یک گیاه در آمیزش با یک علف هرز به شدت به سازگاری و خویشاوندی والدین با یکدیگر وابسته است. هیبریدهای بین گونه‌ای معمولا عقیم بوده و کمتر زنده باقی می مانند. بنابراین، احتمال اینکه گیاهان تراریخته قادر به انتقال تراژن یا ژن‌های دیگر به گونه‌هایی غیر از کولتیوارهای زراعی باشند بسیار ناچیز است (Conner *et al*., 2003). با فرض بر اینکه شار ژنی از گیاهان Bt به خویشاوندان

وحشی انجام شود، تنها اتفاقی که رخ خواهد داد این است که باعث مقاوم شدن آنها به آفات می شود که این یک مزیت برای اینگونه گیاهان محسوب می‌شود زیراکه از انقراض آنها جلوگیری می‌شود و دوباره به محیط بازگردانده می‌شوند.

۱-٤.احتمال علف‌هرز شدن

نگرانی در خصوص احتمال تبدیل گیاهان تراریخته به علف هرز به خاطر وجود تراژن همانند ژن Bt در ساختار ژنتیکی آنها مطرح است. اعطای خصوصیات علف هرزی به گیاه تراریخته مانند دوره خواب، انعطاف فنوتیپی، رشد نامحدود، گلدهی پیوسته و تولید بذر و توزیع و رقابت آن؛ باعث پایداری گیاه و تبدیل گیاه به علف هرز می‌شود. با این وجود، ورود تراژن Bt به یک گیاه نمی‌تواند باعث تبدیل گیاه به علف هرز شود زیرا ویژگی علف هرز بودن توسط بیش از یک ژن کنترل می‌شود. بنابراین نگرانی تبدیل محصولات تراریخته Bt به علف هرز از طریق انتقال یک تا تعداد کمی ژن غیر ممکن است (Conner *et al*., 2003).

۱-۵.زراعت تک محصولی و کاهش تنوع زیستی

یکی از نگرانی‌ها درباره گیاهان تراریختهBt این است که استفاده از آن‌ها می‌تواند منجر به تک کشتی شود و تک کشتی هم تنوع زیستی را به طرق مختلفی کاهش می‌دهد. بالطبع کاهش تنوع زیستی ممکن است منجر به از بین رفتن موجودات زنده‌ای شود که از این گیاهان تغذیه می‌کنند. یا اینکه تک کشتی ممکن است به شیوع یا اپیدمی یک بیماری خاص کمک کند. در اینجا سوال مهم تری که مطرح می شود آن است که آیا کاهش تنوع زیستی که امروزه به عنوان یکی از بهانه های مخالفین محصولات تراریخته است در ارتباط با گیاهان اصلاح شده به صورت سنتی وجود ندارد؟ به خصوص در گیاهانی که با استفاده از ایجاد جهش‌های مصنوعی اصلاح شده و در اختیار مصرف کنندگان قرار گرفتند و منجر به کشت مداوم آنها می شود با عث کاهش تنوع زیستی نمی شود؟ البته کشاورزی در هر شکل آن تاثیر مهمی بر محیط زیست دارد زیراکه یک گیاه زراعی جایگزین گیاه بومی می شود. ضمن اینکه در کشاورزی سنتی نیز با از دست دادن تنوع زیستی روبرو هستیم، بخصوص جایی که یک نوع گیاه زراعی در یک منطقه وسیع کشت شود. برعکس، فناوری گیاه تراریخته ممکن است حتی منجر به استفاده بیشتر از منابع ژنتیکی شود. برای مثال با استفاده از این فناوری می‌توان ژن‌های مقاوم به آفات مثل Bt را وارد انواع زراعی نمود و آنها را از انقراض نجات داد.

۱-٦.اثرات ناخواسته انتقال ژن بر متابولیسم گیاه

از سایر نگرانی های مطرح شده در خصوص ورود تراژن به یک گیاه گیرنده مربوط به برخی اثرات ناخواسته بر متابولیسم گیاه است. چنین اثرات پلیوتروپیکی ممکن است شامل تغییر

بیان یک ژن غیر مرتبط در محل القای ژن یا محلی دور از آن باشد. با این وجود، اثرات ناخواسته ممکن است در سایر گیاهان غیر تراریخته نیز از طریق نوترکیبی کروموزمی یا تحت شرایط محیطی خاص پدید آیند (Conner *et al.*, 2003). تجربیات موجود در خصوص گیاهان تراریخته نشان می‌دهد که احتمال ایجاد اثرات غیر قابل انتظار در طی مراحل انتخاب که قابل تشخیص نباشند بسیار پایین است (Bradford *et al.*, 2005). ضمن اینکه قبل از آزاد سازی اینگونه محصولات آزمایش‌هایی برای ارزیابی اثرات ناخواسته متابولیکی جهت مقایسه محصولات تراریخته با والدهای غیر تراریخته صورت می‌گیرد. هرگونه تفاوت معنی‌دار در غلظت ترکیبات تغذیه‌ای مهم محصول تراریخته در مقایسه با نوع غیر تراریخته آن بوسیله آنالیز ترکیبات گیاه قابل شناسایی است (Tohidfar *et al.*, 2007).

۱- ۷.ایمنی غذایی محصولات تراریخته Bt

ایمنی غذایی محصولات تراریخته Bt شامل نگرانی های مرتبط با این موضوع است که آیا گیاهان تراریخته Bt در مقایسه با نوع غیر تراریخته احتمال خطر بیشتری دارند. ایمنی غذایی در مورد گیاهان تراریخته Bt مربوط به احتمال سمیت و یا آلرژی زایی پروتئین Bt و همچنین ایمنی پروتئین‌های کد شده توسط مارکرهای مقاومت به آنتی بیوتیک است. شواهد معتبر در خصوص سمیت یا آلرژی زایی محصولات Bt برای سلامت انسان وجود ندارد. غلظت پروتئین های Bt در گیاهان تراریخته معمولا زیر ۰/۱٪ پروتئین کل گیاه است و تا کنون خاصیت سمی برای انسان از خود نشان نداده‌اند. به علاوه اینکه پروتئین‌های Bt فاقد توالی‌های مشابه اپی‌توپ‌های آلرژن هستند (Chassy, 2002). مطالعه تعیین سمیت خوراکی بسیاری از پروتئین های Bt انجام شده است که طی آن سطحی از پروتئین که فاقد اثرات نامطلوب می باشد مشخص شده است (Cockburn and Hammond, 2007). البته این مطالعه تنها برای تعیین سطحی از پروتئین که فاقد اثرات نامطلوب است انجام شده و برای پاسخگویی به مسایل ایمنی این پروتئین ها تهیه نشده است (جدول ۱). هرچند مطالعاتی جهت تعیین ایمنی غذایی محصولات Bt انجام شده است. به عنوان مثال طی ارزیابی ۹۰ روزه از تغذیه موش ها با برنج تراریخته Bt (KMD1) حاوی پروتئین Cry1AC هیچ تغییری در رفتار حیوان و وزن آن مشاهده نشد. برنج تراریخته حاوی ۱۵ میلی گرم در کیلوگرم سم Bt بود و موش ها به طور روزانه ۰/٥٤ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن خود از سم Bt دریافت می کردند. طبق نتایج بدست آمده برنج KMD1 هیچ تاثیر سوء یا سمی در بر نداشت (Schroder *et al.*, 2007). در ارزیابی آلرزی زایی پروتئین ها از سه روش اساسی که شامل مقایسه توالی و هضم آنزیمی در شرایط In silico و همچنین بررسی

پتانسیل اپی تاپی استفاده می‌شود. در مقایسه توالی از سه روش به شرح زیر استفاده می شود. مقایسه توالی کامل پروتئین جدید با توالی پروتئین‌های‌آلرژی‌زا موجود در بانک های اطلاعاتی آلرژن، مقایسه توالی‌های کوتاه به هم پیوسته ۸-٦ اسیدآمینه‌ای پروتئین جدید با آلرژن-ها، مقایسه پنجره های ۸۰ اسید آمینه ای جهت بررسی وجود تشابه> ۳۵٪ (Tohidfar *et al.*, 2007). در روش هضم آنزیمی از نرم افزار Peptide Cutter در شرایط In silico استفاده می‌شود. درروش پتانسیل اپی تاپی ازنرم افزار پیش گویی اپی تاپ های ایمنو گلوبولین E جهت بررسی پتا نسیل اپی تاپی قطعات حاصل از هضم، استفاده می‌شود (Tohidfar *et al.*, 2007). معمولا در ارزیابی ایمنی غذایی محصولات Bt نیاز به آزمایش‌های پیچیده نیست زیراکه پروتئین Bt به صورت یک حشره کش زیستی از گذشته‌های دور تا به امروز استفاده شده است و تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر مضر بودن آن ارائه نشده است.

جدول ۱- تعیین سطوح فاقد اثرات نامطلوب پروتئین‌های مختلف در بالاترین غلظتهای استفاده شده.

Table 1- The no-observed-adverse-effect levels (NOAELs) in a cute High-Dose Studies with Different Proteins

پروتئین **Protein**	عملکرد **Performance**	سطح فاقد اثر نامطلوب **The no-observed-adverse-effect levels**
Cry1Ab	کنترل آفت Pest control	4000 mg/kg
Cry1A.105	کنترل آفت Pest control	2072 mg/kg
Cry1Ac	کنترل آفت Pest control	4200 mg/kg
Cry2Aa	کنترل آفت Pest control	4011 mg/kg
Cry2Ab	کنترل آفت Pest control	1450 mg/kg
Cry3A	کنترل آفت Pest control	5220 mg/kg
Cry3Bb	کنترل آفت Pest control	3780 mg/kg
Cry1F	کنترل آفت Pest control	576 mg/kg
Cry34Ab1	کنترل آفت Pest control	2700 mg/kg 25
Cry35Ab1	کنترل آفت Pest control	1850 mg/kg 25
Vip3a	کنترل آفت Pest control	3675 mg/kg 26

۱-۸.توسعه آفات مقاوم

با وجود اینکه گیاهان زراعی تراریخته Bt در کشورهای توسعه یافته از لحاظ کنترل آفات، بسیار موفقیت آمیز بوده اند ولی با افزایش سطح کشت آنها نگرانی‌های اساسی مبنی برتکامل جمعیت حشرات مقاوم وجود دارد IPCS, (2000). اگر چه با آفت‌کش‌های زیستیBt حشرات مقاوم به عنوان نمونه در جمعیت پروانه پشت الماسی(diamondback moth) در نقاط بسیاری از جهان مشاهده شده است ولی نژاد مقاومی از حشرات آفت در مزارع گیاهان تراریخته Bt تجاری گزارش نشده است (Hammond *et al*, 2004). البته گزارشی مبنی بر شکستن مقاومت در گیاهان پنبه Bt فقط در درصد بسیار کمی از کشت چندین میلیون هکتاری آن وجود دارد که عواملی چون غیر کافی بودن میزان پروتئین بیان شده درگیاه، وجود جمعیت بومی حشره مقاوم، مدیریت ناکافی مقاومت و فشار گزینشی محیط را دلیل آن ذکر شده است (Huesing and English, 2004).

۲. ارزیابی احتمال خطر محصولات تراریخته Bt

ارزیابی احتمال خطر، اولین مرحله در ارزیابی مخاطرات احتمالی به شمار می‌رود و شامل شناسایی و تخمین احتمال خطر است. شناسایی خطر نیز بررسی عواملی مانند جمعیت، گونه‌ها و خصوصیات اکوسیستم، شرایط کشت محصولات تراریخته مانند محل و زمان آزاد سازی را در بر می‌گیرد. تخمین خطر شامل اندازه گیری خصوصیات خطر، احتمال و میزان تاثیر آن است (Wilkinson *et al*., 2003).

۲-۱.خصوصیات احتمال خطر

خصوصیات احتمال خطر شامل حصول اطمینان از وقوع خطر و نتایج حاصل از اتفاق افتادن خطر است. مطالعات زیست محیطی در این خصوص باید شامل فرضیه مناسب، طرح آزمایش و روش های اندازه گیری صحیح باشند. طراحی آزمایش‌ها و روش‌های اندازه‌گیری برای احتمال خطر باید طوری باشد که از تعبیر نادرست نتایج بدست آمده جلوگیری شود. فرضیه برای تعیین خصوصیات خطر باید به گونه ای منطقی تعریف شود که در برگیرنده مسیرهای پیش بینی شده برای مواجه با خطر و همچنین ادعاهای قابل آزمایش باشد (Shelton *et al*., 2009).

۲-۲.روش‌های ارزیابی احتمال خطر برای محصولات تراریخته Bt

ارزیابی احتمال خطر یک روش مرحله به مرحله است که شامل آزمون‌های آزمایشگاهی، آزمایش‌های مزرعه در مقیاس کوچک و سپس در مقیاس بزرگ است تا ایمنی محصول تراریخته قبل از رهاسازی تایید شود. در این روش مرحله به مرحله، ارزیابی گیاهان تراریخته در چهار

قسمت انجام می شود: ۱. تحقیقات در آزمایشگاه یا گلخانه ۲. آزمون‌های در مقیاس کوچک ۳. آزمون‌های در مقیاس بزرگ ٤. آزمون های رهاسازی تجاری که بیشتر به عملکرد زراعی و سازگاری حین کشت مربوط می‌شود (Kjellsson, 1997).

ارزیابی احتمال خطر برای هر گیاه به صورت موردی انجام می‌شود و نتایج حاصله از ارزیابی‌های یک محصول تراریخته به سایر موارد تعمیم داده نمی‌شود زیرا بیولوژی و اکولوژی هر گیاهی اختصاصی است. حتی در داخل یک گیاه ارزیابی احتمال خطر هر رخداد بصورت جداگانه انجام می شود.

مرحله اول ارزیابی احتمال خطر شامل تحقیقات آزمایشگاهی است که طی آنها موجودات غیر هدف در معرض بالاترین غلظت سم Bt قرار میگیرند تا بدترین سطح ممکن شناسایی شود. هرچند، غلظت سم موجود در مزرعه به مراتب کمتر از حالت آزمایشگاهی است. مرحله دوم که شامل آزمایش در مقیاس کوچک است، موجودات غیر هدف در معرض غلظت‌های واقعی سم که در مزرعه با آن مواجه می شوند قرار می‌گیرند. اما این مرحله نیز مانند مرحله قبل در آزمایشگاه انجام می‌شود. مرحله سوم مطالعات ارزیابی خطرات احتمالی در مزرعه و در سطوح واقعی آن است (Romeis *et al.*, 2008).

مهمترین قسمت در ارزیابی محصولات تراریختهBt، مقایسه آنها با مشابه سنتی است. بنابراین، روش‌های ارزیابی احتمال خطر بر پایه آنالیز مقایسه‌ای تفاوت‌ها و تشابه های موجود بین محصولات تراریخته و گیاهان مشابه سنتی آنها بنا شده است تا بیان پروتئین های طبیعی و جدید به همراه اثرات ناخواسته احتمالی آنها بررسی شود (Talas-Ogˇras, 2011).

۲-۳. مدیریت احتمال خطر

هدف از تولید محصولات تراریخته Bt، تولید پایدار است بنابراین استراتژی‌های مناسب برای مدیریت احتمال خطر این دسته از محصولات باید در نظر گرفته شود. فرآیند مدیریت احتمال خطر بر اساس ارزیابی خطر طراحی می‌شوند که طی آن تمهیدات لازم برای حفاظت مردم و محیط زیست تعیین می‌شوند. مدیریت احتمال خطر شامل ارزیابی خطرهای شناسایی شده جهت تعیین روش‌های خاص برای کاهش ضررهای احتمالی به سلامت انسان و محیط زیست است. تمهیدات تعیین شده در مدیریت احتمال خطر برای تصمیم‌گیری در خصوص تایید محصولات تراریخته مهم هستند. بنابراین، مدیریت احتمال خطر شامل ارزیابی احتمال خطر، فواید اقتصادی، نگرانی‌های عمومی، نظارت، کاهش خطر و تصمیم‌گیری در خصوص اثرات ناخواسته یک اثر است (Kaur, 2012; Salehi Jouzani and Tohidfar, 2013).

۲-۳-۱.مدیریت احتمال خطر برای موجودات غیر هدف

به منظور مدیریت نگرانی‌های موجود دررابطه با موجودات غیرهدف برخی از تمهیدات زیر در نظر گرفته می‌شود:

ارزیابی‌های آزمایشگاهی

در اولین مرحله آزمایش‌ها، موجودات غیر هدف شامل شکارگر، پارازیتوئید و بی مهرگان آبزی و خاکزی در معرض غلظت‌های بالای پروتئین Bt قرار می‌گیرند. در این مرحله، بهتر است آن دسته از موجوداتی مورد آزمایش قرار گیرند که فراوانی آنها بالا است و برای محیط زیست بسیار ارزشمند بوده و امکان آزمایش بر روی آنها هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در مطالعات مزرعه‌ای وجود داشته باشد. البته، ارزیابی احتمال خطر برای تمامی گونه‌های یک موجود غیرهدف در تمامی مراحل سنی آن موجود لازم الاجرا نیست، بلکه تنها گونه‌هایی که در شرایط سنی خاص در معرض خطر قرار می گیرند مورد آزمایش واقع می‌شوند (Romeis and Meissle, 2011).

ارزیابی های مزرعه‌ای

مطالعات مزرعه ای زمانی انجام می شوند که نتایج آزمایشات مرحله اول حاکی از شناسایی احتمال خطر برای موجودات غیرهدف باشد (Romeis *et al*., 2011). میانگین تراکم و تنوع حشراتی که در آزمایشات مزرعه‌ای تست می‌شوند مهم است. چنانچه تنوع آنها یا متوسط تراکمشان پایین باشد باید تعداد تکرارها را افزایش داد. همچنین، اثر گیاهان غیر تراریخته یا کنترل بر حشرات غیر هدف نیز باید در نظر گرفته شود. هدف از انجام آزمایشات مزرعه‌ای این است که آیا احتمال خطر شناسایی شده در ارزیابی‌های آزمایشگاهی مجددا در شرایط مزرعه‌ای رخ می‌هد؟.

بطورکلی، اثرات احتمالی محصولات تراریختهBt بر موجودات غیر هدف قابل مدیریت است. همچنین، به منظور جلوگیری از باقی ماندن بقایای سم Bt در زنجیره غذایی، بهتر است بیان مختصِ بافت تراژن تنها در بافت‌هایی که مورد استفاده آفت قرار می‌گیرند مانند ساقه و برگ‌ها رعایت شود (Wraight *et al*., 2000).

۲-۳-۲.مدیریت احتمال خطر برای اثرات بقای Bt در خاک

فرآیند تجزیه پروتئین‌های Bt تولید شده توسط گیاه از پروتئین‌های Bt خالص شده متفاوت است، چراکه پروتئین‌های موجود در گیاه قبل از اینکه مستقیم وارد خاک شوند در معرض فعالیت‌های میکروبی و جانوری قرار می‌گیرند. در حال حاضر تکنیک های وجود دارد که بررسی پروتئین‌های Bt تولید شده توسط گیاه در خاک را ممکن می‌سازد (Raubuch *et al*., 2010).

۲-۳-۳.مدیریت احتمال خطر برای شار ژنی محصولات تراریخته Bt

بطورکلی عواملی متعددی مانند فاصله ایزولاسیون، شرایط جغرافیایی، سرعت و جهت

باد، شرایط آب و هوایی و بیولوژی محصول بر تلاقی بین گونه تراریخته با سایر گونه‌های مرتبط موثر است. از سایر عوامل موثر می توان به قدرت و مدت زنده مانی دانه گرده، باوررری گرده و همزمانی گرده افشانی اشاره داشت (Sanvido *et al*., 2008; Tohidfar *et al*., 2008). کلیه این عوامل در مدیریت شار ژنی از محصولات Bt به سایر محصولاتی که در بخش نگرانی های احتمالی به آنها اشاره شد در نظر گرفته می شوند.

۲-۳-٤.مدیریت احتمال خطر برای علف هرزی شدن گیاهان تراریخته Bt

ارزیابی احتمال خطر تبدیل گیاهان تراریخته به علف هرز در زمان رهاسازی گیاه تراریخته ضروری است. جهت تعیین قابلیت تبدیل یک گیاه به علف هرز بعد از تراریخته شدن باید بیولوژی گیاه میزبان بخوبی مشخص شده باشد و هرگونه خصوصیات مخصوص به گونه در آن تعیین شده باشد. از لحاظ آماری تفاوت‌های معنی‌داری در داده‌های کمی فنوتیپی مانند ارتفاع گیاه و درصد جوانه‌زنی بذر و همچنین در داده‌های کیفی فنوتیپی مانند حساسیت به بیماری بین گیاه تراریخته Bt و گیاه شاهد وجود دارد اما این تفاوت‌ها در محدوده گونه‌های زارعی قرار می‌گیرد (Tohidfar and Kaviani, 2008).

۲-۳-۵.مدیریت احتمال خطر برای زراعت تک محصولی و از دست رفتن تنوع زیستی

ارزیابی احتمال خطر تبدیل گیاهان تراریخته به علف‌هرز در زمان رهاسازی گیاه تراریخته ضروری است. جهت تعیین قابلیت تبدیل یک گیاه به علف هرز بعد از تراریخته شدن باید بیولوژی گیاه میزبان بخوبی مشخص شده باشد و هرگونه خصوصیات مخصوص به گونه در آن تعیین شده باشد. از لحاظ آماری ممکن است تفاوت‌های معنی‌داری در داده‌های کمی فنوتیپی مانند ارتفاع گیاه و درصد جوانه‌زنی بذر و همچنین در داده‌های کیفی فنوتیپی مانند حساسیت به بیماری بین گیاه تراریخته Bt و گیاه شاهد وجود داشته باشد، اما این تفاوت‌ها باید با محدوده گونه‌های زارعی مقایسه شود (Tohidfar and Kaviani, 2008).

اثر محصولات تراریخته در اکوسیستم‌های طبیعی و زراعی باید بطور کامل ارزیابی شود. تمام اطلاعات مرتبط با محصولات مهم که برای تراریخته شدن انتخاب می‌شوند لازم است جمع آوری شود تا به درستی پیش بینی شود که تراژن، قابلیت اعطای توان بقا به گیاه تراریخته خارج از محدوده رشد طبیعی خود را دارد یا خیر (Alavi *et al*., 2007).

۲-۳-۷.ارزیابی احتمال خطر ناشی از اثرات ناخواسته انتقال ژن بر متابولیسم گیاه

آزمایش‌های زیادی در ارزیابی اثرات ناخواسته متابولیکی جهت مقایسه محصولات تراریخته با والدهای غیر تراریخته آنها صورت می‌گیرد.هرچند پس از آنالیز، این مسئله باید در

نظر گرفته شود که عدم وجود تفاوت بین گیاه تراریخته و غیر تراریخته دلالت بر عدم وجود اثرات مضر ناشی از ترارژن دارد، وجود تفاوت معنی دار بین گیاه تراریخته و غیر ترایخته به منزله وجود اثرات مخرب ناشی از ترارییزش نیست (Raybould *et al*., 2010). آنالیز دقیق ترکیبات پنبه تراریخته رخداد Bolgard II در خصوص الیاف، اسید آمینه، اسید چرب، رنگدانه، محتویات معدنی در ١٤ مزرعه در امریکا طی دو سال نشان داد که پنبه تراریخته از لحاظ ترکیبات مواد تغذیه‌ای مشابه نوع غیر تراریخته آن است (Hamilton *et al*., 2004). علاوه بر مقایسه الگوی پروتئین‌ها از طریق کروماتوگرافی، روش‌های جدید شامل ژنومیکس به منظور آنالیز توالی DNA، ترانسکریپتومیکس برای مطالعه پروفایل بیان ژن، پروتئومیکس برای مطالعه پروتئین‌های جدید و متابولومیکس برای بررسی تغییرات مسیرهای متابولیکی ایجاد شده‌اند تا هرگونه تغییر ناخواسته در محصولات تراریخته در مقایسه با نوع غیر تراریخته آنها بررسی شود (Baker *et al*., 2006; Heidarian *et al*., 2012).

۲-۳-۸.مدیریت توسعه مقاومت

اطلاعات دقیق در خصوص مکانیسم‌های مقاومت و بیولوژی آفات و ایجاد راهکارهای مدیریت مقاومت برای اطمینان از پایداری محصولات تراریخته Bt لازم است. آنالیز داده های پنبه Bt در طول بیش از یک دهه نشانگر این است که وجود پناهگاه‌ها منجر به تعویق مقاومت در آفات شده است (Tabashnik *et al*. 2008).

۲-۳-۸-۱.درک مکانیسم توسعه مقاومت

پیشرفت در راهکارهای مدیریت مقاومت، نیازمند درک صحیح مکانیسم‌های بیوشمیایی و ژنتیکی توسعه مقاومت است (Ferre and Van Rie, 2002). کادهرین، به عنوان گیرنده پروتئین Cry1Ac شناخته شده است (Fabrick and Tabashnik, 2007). در برخی مطالعات، توسعه مقاومت؛ به لوکوس کادهرین ارتباط داده شده است. مقاومت به Cry1Ac در برخی از آفات مهم پنبه به علت جهش در پروتئین کادهرین دیده شده است (Gahan *et al*., 2001). این مقاومت به تخریب یکی از ژنهای متعلق به خانواد بزرگ ژنی کادهرین توسط رتروترانسپوزون‌ها نسبت داده شده است که تعدادی از پروتئین‌های مورد نیاز برای رشد لارو را تولید می‌کند. اگرچه در دو نژاد *P. xylostela* جدا شده از مزرعه، رابطه‌ای بین مقاومت به Cry1Ac و ارتولوگ‌های ژن کادهرین وجود نداشت که نشان‌دهنده اساس ژنتیکی متفاوت برای مقاومت در نژادهایی است که در مزرعه تکامل یافته‌اند (Baxter *et al*., 2005). مقاومت به Cry1Ac به از دست رفتن قدرت چسبندگی و اتصال غیر قابل برگشت به غشای پیش روده آفت نسبت داده شده است. ولی کاهش قدرت اتصال تنها مکانیسم توسعه مقاومت نیست. همچنین، جهش در دومین ۱۲

پروتئین کادهرین باعث ایجاد مقاومت به Cry1Ac شد البته بطور کامل مانع از اتصال سم در ارزیابی‌های آزمایشگاهی نشد (Gahan *et al.*, 2010). از روش های دیگر ایجاد مقاومت، جهش در ناقلین پروتئین های ABC است. پروتئین های ABC، پروتئین های غشای داخلی هستند که فعالیت های زیادی را شامل انتقال مولکول های سمی از سلول به عهده دارند. طی یک تحقیق، جهش غیر فعال کننده‌ای در یکی از پروتئین های ABC به نام ABCC2 ایجاد شد که منجر به کاهش میزان اتصال سم Bt به وزیکول‌های غشایی شد. کاهش میزان اتصال سم Bt به غشای سلول به دنبال جهش در این پروتئین سبب شد ABCC2 به عنوان یکی از پروتئین‌هایی که در تلفیق پروتئین Bt با غشا نقش دارند معرفی شود. (Gahan *et al.*, 2010).

۲-۳-۸-۲.راهکارهایی برای مدیریت مقاومت

مدیریت مقاومت یک نیاز ضروری برای گیاهان Bt محسوب می‌شود. هر رخداد تراریخته Bt به مدیریت مقاومت خاصی نیاز دارد چرا که هر منطقه، آفات مرتبط به خود داشته و بیولوژی حشرات با یکدیگر متفاوت هستند (Zhao *et al.*, 2002). توصیه‌های مدیریتی که از مطالعات اکولوژیکی برگرفته شده‌اند؛ استفاده از بالاترین غلظت توکسین تا حدی که شانس زنده‌مانی حشرات هتروزیگوت مقاوم را به حداقل برساند، کاشت گیاهان غیر تراریخته پناهگاه برای پایداری جمعیت‌های حشره هموزیگوس و حساس و انتقال ژن‌های چندگانه Bt که به گیرنده‌های مختلفی در رودهٔ حشره متصل شوند از جمله راهکاری‌های مدیریت مقاومت است (Kaur 2006; Azimi *et al.*, 2012). تجاری‌سازی موفق محصولات تراریخته Bt به موفقیت روش‌های توصیه شده برای مدیریت مقاومت بستگی دارد. گیاهان ترایخته Bt تنها باید در روش مدیریت تلفیقی آفات گسترش یابند. نظارت بر تراکم آفات و ارزیابی سطح خسارت اقتصادی لازم است تا اینکه حشره‌کش‌ها تنها زمانی که مورد نیاز هستند استفاده شوند.

۲-۳-۸-۳.راهکارهای مولکولی برای تاخیر در ایجاد مقاومت

راهکارهای مولکولی برای تاخیر در شروع مقاومت شامل بیان مختص به بافت یا بیان القایی با مواد شیمیایی مانند سالیسیک اسید، بیان بیش از حد ژن *cry* در کلروپلاست‌ها، هیبریدهای جدید از ژن *cry* یا تغییر هیبریدهای ژن *cry* به منظور فعالیت حشره‌کشی بیشتر است (De Cosa *et al.*, 2001).

تغییر توالی ژن‌های *cry* و ساخت هیبریدهای جدید از این ژن که بتوانند به چندین گیرنده در پیش روده حشره متصل شوند باعث به تاخیر انداختن مقاومت حشرات می‌شود. ساخت پروتئین‌های جدید Cry از طریق مهندسی پروتئین نیازمند اطلاعات دقیق از ساختار و عملکرد این پروتئین‌ها است.

.استفاده همزمان از چند ژن مقاومت نه تنها کارایی مقاومت را افزایش می‌دهد بلکه باعث تاخیر در ایجاد مقاومت به آفات می‌شود. نسل دوم محصولات تراریخته Bt شامل محصولات دارای دو نوع ژن مقاومت به منظور بهبود سطح کنترل و افزایش میزان حفاظت حشره کش‌ها ایجاد شده اند (Kaur, 2006).

۳.اطلاع رسانی احتمال خطر

اطلاع رسانی احتمال خطر به ارتباط و مشورت بین کارشناسان احتمال خطر، مدیران احتمال خطر و سایر ذینفعان که ممکن است تحت تاثیر خطر احتمالی قرار گیرند گفته می‌شود. اطلاع رسانی احتمال خطر از اجزای مهم در ارزیابی احتمال خطر جهت تجاری سازی موفق محصولات تراریخته Bt محسوب می‌شود. رهاسازی محصولات تراریخته در برخی از کشورها حساسیت عمومی را برانگیخته اگرچه شدت این حساسیت در همه کشورها یکسان نیست. تحقیقات در زمینه مهندسی ژنتیک با سرعت زیادی رو به پیشرفت است که می‌تواند باعث ایجاد نگرانی‌های عمومی بی اساس در خصوص امنیت این تکنولوژی شود. انجام ارزیابی‌های محتاطانه اثرات مفید این محصولات در مقابل اثرات ناخواسته و تصادفی آنها ضروری است. اذهان عمومی باید در مورد فواید و خطرهای احتمالی محصولات تراریخته Bt مطلع شوند (Miller, 2010).

نتیجه گیری

محصولات Bt برای مصرف تجاری در تعداد زیادی از کشورها از جمله کشورهای در حال توسعه پذیرفته شده‌اند. راهکارهای بین المللی ارزیابی خطرات احتمالی قبل از مصرف تجاری محصولات Bt در کشورهای مختلف پیاده می‌شود. ارزیابی خطرات احتمالی زیست محیطی برای تایید قانونی موجودات تراریخته در کشورهایی که متعهد به پروتکل ایمنی زیستی کارتاهنا هستند لازم است. این پروتکل در تعداد زیادی از کشورها به تصویب رسیده است، بسیاری از کشورها زیربنای علمی مناسب را نداشته و موانع اقتصادی دارند. دسترسی به محصولات تراریخته در این کشورها بیشتر به علت مخالفت‌های شفاهی با این تکنولوژی و فقدان مکانیسم‌های قانونمند امکان‌پذیر نیست. بخش دولتی در کشورهای در حال توسعه نقش مهمی را در توسعه محصولات Bt به عهده دارد. در نتیجه رسیدگی به مشکلات در حوزه سیاست‌های دولتی قرار می‌گیرد. بنابراین، کشورهای در حال توسعه نیازمند قوانین علمی‌تری برای ارزیابی احتمال خطر هستند که در آن تمامی مسایل ایمنی زیستی با محیط زیست آن کشور مطابقت داشته باشد.

از آنجا که اطمینان از ایمنی زیستی محصولات تراریخته دشوار است، بهتر است راهکارهای ارزیابی احتمال خطر بر خطرات محتمل متمرکز شوند تا بر فرضیه‌های غیر محتمل. اگرچه برخی از اثرات اکولوژیکی گیاهان

تراریخته شناخته شده است اما امکان تخمین کلیه نتایج این اثرات وجود ندارد. بنابراین، درک یک نگرانی احتمالی توسط دانشمندان این رشته از درک عمومی متفاوت است. به عنوان مثال درک عمومی از اثر مخرب ذرت Bt بر پروانه‌های مونارک ناشی از نتایج تحقیقات ناقص هنوز به قوت خود باقی است اگرچه تحقیقات بعدی نتیجه این تحقیق را نقض کردند (Chapotin and Wolt, 2007).

محصولات تراریخته Bt فواید بی‌شماری را برای تولید کشاورزی، سلامت انسان، غذا و تغذیه به همراه دارد اما درصورتیکه به درستی نظارت و مدیریت کشت آنها صورت نگیرد ممکن است نگرانی‌هایی را نیز برای محیط زیست به دنبال داشته باشند. موفقیت تکنولوژی مهندسی ژنتیک به ارزیابی علمی و مدیریت پایدار نیاز دارد. ارزیابی و نظارت موثر شامل مشارکت تلفیقی و چند رشته‌ای گروهی از دانشمندان است که به یک نتیجه مشترک برسند. مطالعات بیشتر در خصوص اثر پروتئین‌های Bt بر موجودات غیرهدف بر اساس روش‌های استاندارد، آزمون‌های زیست سنجی طولانی و روش های بیوشیمیایی پیشرفته در این راه موثر است.

روش‌های جدید ژنومیکس، پروتئومیکس و متابولومیکس می‌توانند برای ارزیابی احتمال خطر مفید باشند. راهکارهای مدیریتی برای تاخیر ایجاد مقاومت به پروتئین Bt در آفات برای بقای کارآیی محصولات Bt یک ضرورت محسوب می‌شود. فهم مکانیسم بیوشیمیایی و ژنتیک توسعه مقاومت به ایجاد راهکارهای مناسب برای نظارت و مدیریت این مساله کمک می‌کند. هم چنین، سایر راه حل‌های ممکن برای کنترل آفات بوسیله کنترل بیولوژیکی، تغییر در مدیریت مزرعه می‌تواند بر اساس کارآیی آنها بکار گرفته شود. مدیریت و ارزیابی دقیق و کافی احتمال خطر منجر به ایجاد قوانینی می‌شود که جهت هدایت راهکارهای لازم برای توسعه و گسترش محصولات تراریخته Bt (جدول ۲) در آینده نیاز هستند.

جدول ۲- گیاهان تراریخته Bt مقاوم به آفات حشره ای.

Table 2- Bt transgenic crops resistant to insect pests

مرجع References	روش انتقال ژن Transformation method	ژن Gene	گیاه Crop
Hutchison, 2010	آگروباکتریوم Agrobacterium	*cry1ab*	ذرت Maize
Sanahuja *et al*., 2011	آگروباکتریوم Agrobacterium	*cry2ab*	پنبه Cotton
Winterer and Bergelson, 2001	آگروباکتریوم Agrobacterium	*cry1ac*	سیب زمینی Potato
Ghareyazie *et al*., 1997	تفنگ ژنی Biolistic	*cry1ab*	برنج Rice
Girijashankar *et al*., 2005	آگروباکتریوم Agrobacterium	*cry1ac*	سورگوم Sorghum
Macrae *et al*., 2005	آگروباکتریوم Agrobacterium	*cry1A*	سویا Soybean
Mandaokar *et al*., 2000	آگروباکتریوم Agrobacterium	*cry1Ac*	گوجه فرنگی Tomato
Tohidfar *et al*., 2013	آگروباکتریوم Agrobacterium	*cry3A*	یونجه Alfalfa

منابع

Alavi S, Tohidfar M, Ghasemzadeh S (2007). A review on risk assessment of Gm crops Biosafety Journal 2: 59-80.

Azimi S, Ashouri A, Tohidfar M, Talaei Hasanlouei R (2012). Effect of Iranian Bt cotton on Encarsia formosa, parasitoid of Bemisia tabaci. International Research Journal of Applied and Basic Sciences © 2012 Available online at www.irjabs.com ISSN 2251-838X / Vol 3: 2248-2251 Science Explorer Publications.

Baxter SW, Zhao J-Z, Gahan LJ, Shelton AM, Tabashnik BE, Heckel DG (2005). Novel genetic basis of field-evolved resistance to Bt toxins in *Plutella xylostella*. Insect Molcular Biology 14: 327-334.

Bradford KJ, Deynze A van, Gutterson N, Parrot W, Strauss SH (2005). Regulating transgenic crops sensibly: lessons from plant breeding, biotechnology and genomics. Nature Biotechnology 23: 439-444.

Carpenter JE (2010). Peer-reviewed surveys indicate positive impact of commercialized GM crops. Nature Biotechnology 28: 319-321.

Carpenter JE (2011). Impacts of GM crops on biodiversity. GM Crops 2:1-17.

Chandler S, Dunwell JM, (2008). Gene Flow, Risk Assessment and the Environmental release of Transgenic Plants. Critical Reviews in Plant Sciences 27: 25-49.

Chapotin S, Wolt J (2007). Genetically modified crops for the bioeconomy: meeting public and regulatory expectations. Transgenic Research 16: 675-688.

Chassy B (2002). Food safety evaluation of crops produced through biotechnology. The journal of American Collage of Nutrition 21:166S-173S.

Clark BW, Phillips TA, Coats JR (2005). Environmental fate and effects of *Bacillus thuringiensis* (Bt) proteins from transgenic crops: a review. Journal of Agriculture and Food Chemistry 53:4643-4653

Cockburn A, Hammond B (2007). Food Safety of Proteins in Agricultural Biotechnology CRC Press pp, 259-288.

Conner AJ, Glare TR, Nap JP (2003). The release of genetically modified crops into the environment. Part II. Overview of ecological risk assessment. Plant Journal 33:19-46.

De Cosa B, Moar W, Lee SB, Miller M, Daniell H (2001). Overexpression of the Bt cry2Aa2 operon in chloroplasts leads to formation of insecticidal crystals. Nature Biotechnolgy 19: 71-74.

DeVilliers SM, Hoisington DA (2011). The trends and future of biotechnology crops for insect pest control. African Journal of Biotechnolgy 10: 4677- 4681.

Fabrick JA, Tabashnik BE (2007). Binding of *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac to multiple sites of cadherin in pink bollworm. Insect Biochemistry and Molecular Biology 37: 97-106.

Ferre J, Van Rie J (2002). Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. Annual Review of Entomology 47: 501-533.

Ferry N, Mulligan EA, Majerus MEN, Gatehouse AMR (2007). Bitrophic and tritrophic effects of Bt Cry3A transgenic potato on beneficial, non-target, beetles. Transgenic Research 16: 795-812.

Flexner JL, Belnavis DL (1999). Microbial insecticides. In: Rechcigl JE, Rechcigl NA (eds) Biological and biotechnological control of insect pests. Lewis Publishers, Boca Raton, pp 35–62.ISBN 1-56670-479-0.

Fujimoto H, Itoh K, Yamamoto M, Kyozuka J, Shimamoto K (1993). Insect resistant rice generated by introduction of a modified delta-endotoxin gene of *Bacillus thuringiensis*. Biotechnology 11: 1151-1155.

Gahan LJ, Pauchet Y, Vogel H, Heckel DG (2010). An ABC Transporter Mutation Is Correlated with Insect Resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac Toxin. Plos Genetics 6(12), e1001248.

Gahan LJ, Gould F, Heckel DG (2001). Identification of a gene associated with Bt resistance in *Heliothis virescens*. Science 293: 857-860.

Ghareyazie B, Alinia F, Menguito CA, Rubia1 LG, de Palma JM, Liwanag EA, Cohen MB, Khush GS, Benett J (1997). Enhanced resistance to two stem borers in an aromatic rice containing a synthetic cryIA(b) gene. Molecular Breeding 3: 401-414.

Girijashankar V, Sharma HC, Sharma KK, SwathisreeV, Prasad LS, Bhat BV, Royer M, Secundo BS, Narasu ML, Altosaar I, Seetharama N (2005). Development of transgenic sorghum for insect resistance against the spotted stem borer (*Chilo partellus*). Plant Cell Reports 24: 513-522.

Gruber H, Paul V, Meyer HH, Müller M (2011). Determination of insecticidal Cry1Ab protein in soil collected in the final growing seasons of a nine-year field trial of Bt-maize MON810. Transgenic Research 21: 77-78.

Hammond B, Cambell k, Pilcher K, Clinton D, Degooyer T, Robinson A (2004). Lower fumonisin mycotoxin level in the grain of Bt corn grown in the United State in 2000-2002. Journal of Agriculture and food Chemistry 52: 1390-1397.

Han P, Niu CY, Lei CL, Cui JJ, Desneux N (2010). Use of an innovative T-tube maze assay and the proboscis extension response assay to assess sublethal effects of GM products and pesticides on learning capacity of the honey bee *Apis mellifera L*. Ecotoxicology 19: 1612-1619.

Huesing J, English L (2004). The impact of Bt crops on the developing world. The Journal of Agrobiotechnology Management and Economics 7: 84-95.

Hutchison WD (2010). Areawide suppression of European corn borer with Bt maize reaps savings to non-Bt maize growers. Science 330: 222-225.

IPCS (2000). International programme on chemical safety-environmental health eriteria. 217. *Bacillus thuringiensis*. WHO. http://www-who. Int/ pcs/docs/ ehc-217. html.

James C (2014). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops. The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA). Brief No.45. ISAAA: Ithaca, NY.

Kaur S (2006). Molecular approaches for identification and construction of novel insecticidal genes for crop protection. World Journal of Microbiology and Biotechnology 22: 233-253.

Kaur S (2012). Risk Assessment of Bt Transgenic Crops. E. Sansinenea (ed.), *Bacillus thuringiensis* Biotechnology. pringer Science+Business Media B.V 41-85 pp.

Keese P (2008). Risks from GMOs due to horizontal gene transfer. Environmental Biosafety Research 7: 123-149.

Kjellsson G (1997). Principles and procedures for ecological risk assessment of transgenic plants. In: Kjellsson G, Simonsen V, Ammann K (eds) Methods for risk assessment of transgenic plants. II. Pollination, gene transfer and population impacts. Birkhauser, Basel, pp 221–236. ISBN 3-7643-5696-0.

Macrae TC, Baur, ME, Boethel DJ, Fitzpatrick BJ, Gao AG, Gamundi JC, Harrison LA, Kabuye VT, McPherson RM, Miklos JA, Paradise MS, Toedebusch AS, Viegas A (2005). Laboratory and field evaluations of transgenic soybean exhibiting high-dose expression of a synthetic *Bacillus thuringiensis cry1A* gene for control of Lepidoptera. Journal of Economic Entomology 98: 577-87.

Mandaokar AD, Goyal RK, Shukla A, Bisaria S, Bhalla R, Reddy VS, Chaurasia A, Sharma RP, Altosaar, I, Kumar PA (2000)., Transgenic tomato plants resistant to fruit borer (*Helicoverpa armigera Hubner*). Crop Protection 19: 307-312.

Miller HI (2010). The tarnished gold standard for GM risk assessment. GM Crops 1: 59-61.

Mohammadabadi MR, Baghizadeh A, Hosseini FS, Esmailizadeh AK (2008). Techniques for Molecular Biology. Author Publication (ISSN:9789640429778), Kerman, Iran. Pp.403.

Pinstrup-Andersen P (2010). The advantages of genetic engineering in agriculture include increased food production and reduced hunger —benefits for hungry and malnourished in developing countries outweigh disadvantages. http://www.monsanto.com/biotech-GM/ asp/experts.asp?id=PinstrupAndersen#mid.

Raubuch M, Behr K, Roose K, Joergensen RG (2010). Specific respiration rates, adenylates, and energy budgets of soil microorganisms after addition of transgenic Bt-maize straw. Pedobiologia 53: 191-196.

Romeis J, Bartsch D, Bigler F, Candolfi MP, Gielkens MMC, Hartley SE, Hellmich RL, Huesing JE, Jepson PC, Layton R, Quemada H, Raybould A, Rose RI, Schiemann J, Sear MK, Shelton AM, Sweet J, Vaituzis Z, Wolt JD (2008). Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to non-target arthropods. Nature Biotechnology 26: 203-208.

Romeis J, Hellmich RL, Candolfi MP, Carstens K, De Schrijver A, Gatehouse AMR, Herman RA, Huesing JE, McLean MA, Raybould A, Shelton AM, Waggoner A (2011). Recommendations for the design of laboratory studies on non-target arthropods for risk assessment of genetically engineered plants. Transgenic Research 20: 1-22.

Romeis J, Meissle M (2011). Non-target risk assessment of Bt crops-Cry protein uptake by phids. Journal of Applied Entomology 135: 16.

Saleh S, Harris M, Allen RF (1970). Recovery of *Bacillus thuringiensis* from field soils. Journal of Invertebrate Pathology 15: 55-59.

Salehi Jouzani, Gh and Tohidfar, M (2013). Plant Molecular Farming: Future Prospects and biosafety Challenges. Biosafety 2e136: doi:10.4172/2167-0331.1000e136.

Sanahuja G, Banakar R, Twyman R, Capell T, Christou P (2011). *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. Plant Biotechnology Journal. 9: 283-300.

Sanvido O, Widmer F, Winzeler M, Streit B, Szerencsits E, Bigler F (2008). Definition and feasibility of isolation distances for transgenic maize cultivation. Transgenic Research 17: 317-335.

Saxena, D, and Stotzky G (2000). Insecticidal toxin from Bacillus thuringiensis is released from roots of transgenic Bt corn in vitro and in situ. FEMS Microbiology Ecology 33: 35-39.

Schroder M, Poulsen M, Wilcks A, Kroghsbo S, Miller A, Frenzel T, Danier J, Rychlik M, Emami K, Gatehouse A, Shu Q, Engel K , Altosaar I , Knudsen I (2007). A 90-day safety study of genetically modified rice expressing Cry1Ab protein (*Bacillus thuringiensis* toxin) in Wistar rats. Food and Chemical Toxicology 45: 339-349.

Shelton A, Naranjo S, Romeis J, Hellmich R, Wolt J, Federici B *et al* (2009). Setting the record straight: a rebuttal to an erroneous analysis on transgenic insecticidal crops and natural enemies. Transgenic Research 18: 317-322.

Tabashnik BE, Gassmann AJ, Crowder DW, Carrière Y (2008). Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. Nature Biotechnology 26: 199-202.

Talas-Og˘ras T (2011). Risk assessment strategies for transgenic plants. Acta Physiolgy Plant 33: 647-657.

Tohidfar M, Kaviani M (2008). Cotton biotechnology and its Biosafety Modirfallah press, Iran.

Tohidfar M, Nakhoda B, Abedini R (2008). Potential environmental risks of GM crops. Biosafety Journal 2: 57-67.

Tohidfar M, Mohsenpour M (2010). Effective factors in Cotton (*Gossipium spp*) Transformation Using *Agrobacterium*. Journal of Agricultural Biotechnology 1: 1-24.

Tohidfar M, Zare N, Salhi G, Eftghari M (2013). Agrobacterium-mediated transformation of alfalfa (Medicago sativa) using a synthetic cry3a gene to enhance resistance against alfalfa weevil. Plant Cell Tissue and Organ Culture 113: 227-235.

Tohidfar T, Ghareyazie B, Rahnama H, Mokhtari F (2007). Risk assessment of Foods derived from GM crops. Andisheye Nozohur press.

VT, Mcpherson RM, Miklos JA, Paradise MS, Toedebusch AS, Viegas A (2005). Laboratory and field evaluations of transgenic soybean exhibiting highdose expression of a synthetic *Bacillus thuringiensis cry1A*gene for control of *Lepidoptera*. Journal of Economic Entomology 98: 577-587.

Wilkinson MJ, Sweet J, Poppy GM (2003). Risk assessment of GM plants: avoiding gridlock. Trends in Plant Science 8: 208-213.

Winterer J, Bergelson J (2001). Diamondback moth compensatory consumption of protease inhibitor-transformed plants. Molecular Ecology 10: 1069-1074.

Wraight CL, Zangerl AR, Carroll MJ, Berenbaum MR (2000). Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions. Proceedings of natural Academy of Sciences 97: 7700-7703.

Zhao JZ, Li YX, Collins HL, Shelton AM (2002). Examination of the F2 screen for rare resistance alleles to *Bacillus thuringiensis* toxins in the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of Economic Entomology 95: 14-21.

Challenges for releasing Bt transgenic plants

Tohidfar M.[*1], Khosravi S [2].
[1]Associate Professor of New Technology Engineering of Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
[2]Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran

Abstract

To meet the growing demand of world's current population for food, devising specific strategies are required. Production of genetically modified crops has been considered as a suitable strategy so that the number of countries producing GM crops rose from 29 countries in 2012 to 29 in 2013 with 175.2 million hectare cultivation area. Among the developed GM crops, Bt crops with more than 24 million ha cultivation area have been accepted greatly. Although they offer too many advantages, concerns regarding biosafety issues exist. However, no report against the of undesirable effects of GM crops exists, risk assessment of certain concerns relating to biosafety of Bt crops is necessary. Some of these concerns include risk to non-target organisms, persistence of Bt residue in Soil, acquisition of weediness potential, monoculture and eventual loss of biodiversity, unintended effects of gene transfer on plant metabolism and gene flow from Bt transgenic crops. The present reviews emphasis the considered concerns in relation to Bt transgenic crops, their assessment and management that can be used by policy maker or experts.

Key words: *Bt crops, concern, risk assessment, risk management*.

[*] Corresponding Author: Tohidfar M. Tel: 02632703536 Email: gtohidgfar@yahoo.com