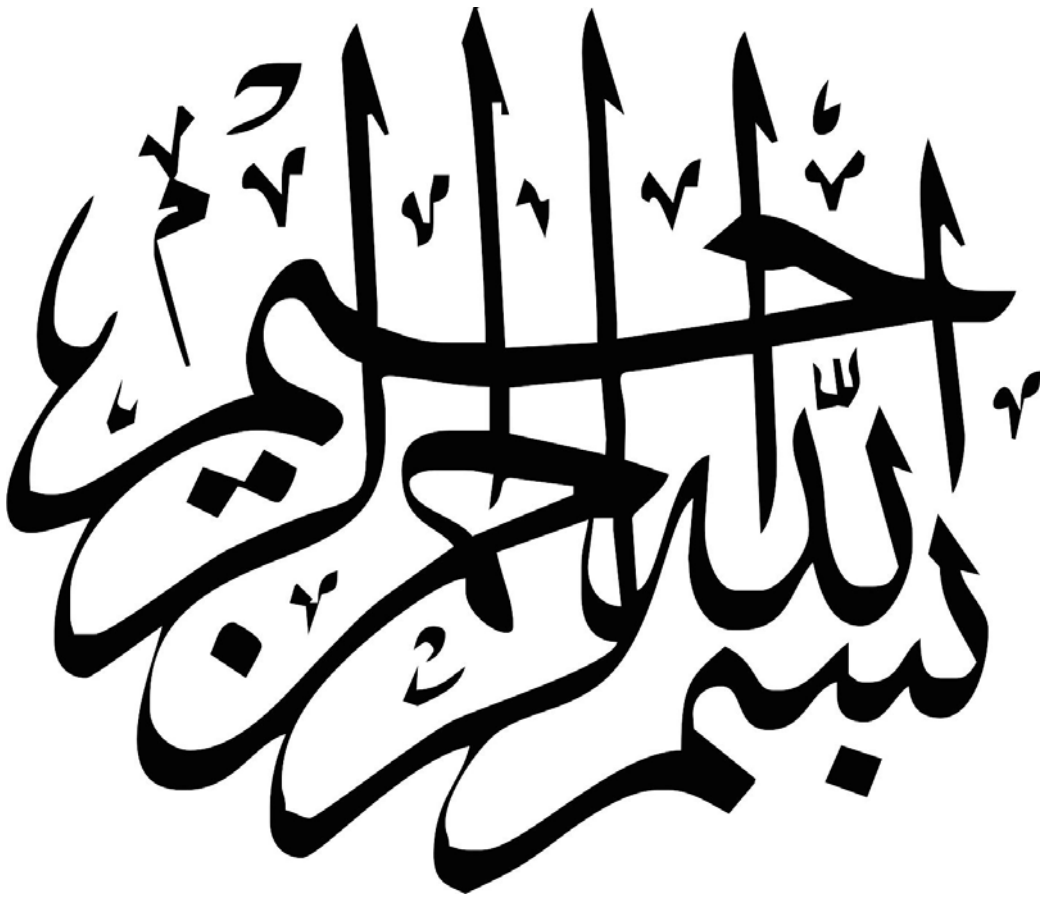
بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه تبریز

دانشکده کشاورزی

گروه علوم باغبانی

رساله برای دریافت درجه دکتری

در رشته علوم باغبانی گرایش سبزیکاری

عنوان

تولید سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) تراریخت مقاوم به بید سیب‌زمینی (*Phthorimaea operculella* Zeller) از طریق انتقال ژن *cry*1Ab

استادان راهنما

دکتر ناصر مهنا **دکتر حسن رهنما**

استادان مشاور

دکترجابر پناهنده **دکتر بهرام باغبان کهنه روز**

پژوهشگر

زیبا قسیمی حق

اردیبهشت ۱۳۸۹ **شماره پایان‌نامه:** ۱

تقدیم به همسر
مهربان و فداکارم

تقدیر و تشکر

حمد و سپاس فراوان خدایی را، که بیاراست ارواح ما را به وجود اصل و به پیراست اشباح ما را به سجود وصل، در ما کشید رقم بندگی و بر ما پوشید حله زندگی.

از اساتید راهنما، دکتر حسن رهنما و دکتر ناصر مهنا و اساتید مشاور، دکتر جابر پناهنده و دکتر بهرام باغبان کهنه روز که طی دوره ی تحصیل همواره از محضرشان کسب علم و فیض کرده و به ثمر رسیدن این پایان نامه مرهون راهنمایی های ارزنده ی ایشان می باشد، نهایت تشکر را دارم.

از هیئت داوران، دکتر زمانی، دکتر مطلبی آذر و دکتر سخندان و از نماینده ی تحصیلات تکمیلی در دانشکده ی کشاورزی دکتر زهتاب که زحمت بازخوانی رساله را بر عهده گرفته و نظرات ارزنده ای را در تکوین این مجموعه ارائه نمودند تقدیر می نمایم. از پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج (ABRII) به خاطر حمایت های مالی در جهت اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی می نمایم. از ریاست آزمایشگاه کشت بافت و انتقال ژن پژوهشکده بیوتکنولوژی، دکتر حبشی و از مسئولین آزمایشگاه مهندس دبیر اشرافی و مهندس راجی تشکر و قدردانی می نمایم. از ریاست آزمایشگاه ریزسازواره دکتر صالحی جوزجانی و مسئول آزمایشگاه، از ریاست آزمایشگاه پروتئومیکس دکتر حسینی و مسئول آزمایشگاه مهندس حسینی و از ریاست آزمایشگاه ژنومیکس دکتر مردی و مسئول آزمایشگاه مهندس غفاری به خاطر در اختیار گذاشتن امکانات مورد نیاز در اجرای رساله صمیمانه تشکر می نمایم. از دکتر قره یاضی به خاطر در اختیار گذاشتن سازه pCIB4421 حاوی ژن انتقالی و از دکتر مرتضوی، دکتر توحیدفر و مهندس پیرسیدی به خاطر کمک ها و راهنمایی های تکنیکی کمال تشکر را دارم.

از ریاست موسسه تحقیقات گیاهپزشکی ایران- بخش حشره شناسی کشاورزی و دکتر عرب جعفری و مهندس جلالی از مرکز تحقیقات کشاورزی شاهرود به خاطر همکاری و در اختیار گذاشتن امکانات آزمایشات زیست سنجی تشکر و قدردانی می نمایم. از مدیر گروه محترم باغبانی دکتر حاجیلو و از تمامی سروران گروه باغبانی جهت همکاری های ارزنده در طی دوره تحصیلی دکتری تشکر و قدردانی می نمایم. از کلیه دوستان که در طول اجرای پایان نامه از هیچگونه کمک و مساعدتی دریغ نکردند تشکر و قدردانی می نمایم.

در نهایت از خانواده ی عزیزم بویژه مادر مهربان و دلسوزم و خواهرم پاینده قیمی حق که در طول دوران تحصیل و مراحل اجرای پایان نامه همواره مشوقم بوده و مشکلات فراوانی را در این راستا متحمل شده اند، از صمیم قلب تشکر و سپاسگزاری می نمایم. از همسر مهربانم، آقای حجت اله بداقی، که در طول اجرای این پژوهش با وجود مشکلات فراوان همواره مشوق و پشتیبان اینجانب بوده اند از صمیم قلب نهایت تشکر و قدردانی را دارم.

نام‌خانوادگی دانشجو: قسیمی حق **نام:** زیبا

عنوان پایان‌نامه: تولید سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) تراریخت مقاوم به بید سیب‌زمینی (*Phthorimaea operculella* Zeller) از طریق انتقال ژن *cry1Ab*

استادان راهنما: دکتر ناصر مهنا و دکتر حسن رهنما

استادان مشاور: دکتر جابر پناهنده و دکتر بهرام باغبان کهنه روز

مقطع تحصیلی: دکتری تخصصی **رشته:** علوم باغبانی **گرایش:** سبزیکاری

دانشکده: کشاورزی **دانشگاه:** تبریز

تاریخ فارغ التحصیلی:۱۵ /۱۳۸۹/۲ **تعداد صفحه:**۱۴۸برگ

واژه‌های کلیدی:

انتقال ژن، پیشبر *Phthorimaea operculella, Solanum tuberosum, cry*1Ab, C_4-PEPC

چکیده:

تظاهر ژن‌های Bt در بخش‌های خوراکی گیاهان تراریخت، از جمله غده‌های سیب‌زمینی، باعث نگرانی‌هایی برای مصرف‌کنندگان از نظر ایمنی غذایی شده است. بنابراین یک استراتژی مهم برای هدفمند کردن بیان ژن‌ها و تولید سیب‌زمینی Bt ایمن‌تر احتمالا استفاده از پیشبرهای ویژه–مکانی یا –بافتی و یا –زمانی به جای پیشبرهایی با بیان دائمی است. پیشبرPEPC (Phosphoenolpyruvate carboxylase) که از گیاه ذرت (C_4) (*Zea mays*) جدا گردیده است، سبب تظاهر ژن در بافت‌های سبز گیاه می‌گردد. در این مطالعه، برای رسیدن به این اهداف از انتقال ژن رمزکننده پروتئین Cry1Ab تحت کنترل پیشبر PEPC به رقم سیب‌زمینی مارفونا برای بدست آوردن گیاهان تراریخت مقاوم به بید سیب‌زمینی استفاده شد. برای تراریختی سیب‌زمینی از میانگره به عنوان جداکشت به کمک *Agrobacterium tumefaciens* سویه AGLo1 استفاده شد. آنالیز PCR ژن *cry*1Ab و *npt*II برای ۵۵ گیاه از ۶۰ گیاه باززاده تراریخت احتمالی با فنوتیپ نرمال مثبت بود.

بررسی سطح پلوییدی گیاهان تراریخت با فلوسایتومتر نشان داد که این گیاهان همانند گیاهان شاهد

ادامه چکیده

تتراپلوییید می‌باشند. بررسی از طریق دورگ‌سازی سادرن سه لاین گیاه سیب‌زمینی تراریخت، درج یک نسخه سالم و کامل از ژن *cry*1Ab در ژنوم گیاهان تراریخت را تایید کرد. آنالیز RT-PCR ژن *cry*1Ab بیان این ژن را در سطح RNA در برگ‌های گیاه ثابت کرد. انجام تست نواری پروتئین Cry1Ab روی عصاره‌های حاصل از برگ‌ها و غده‌های سیب‌زمینی تراریخت در دو سطح غده‌های نور دیده سبزرنگ و نورندیده درون خاکی، بیان پروتئین Cry1Ab را در بخش‌های سبز گیاه شامل برگ‌ها و غده‌های سبز رنگ و عدم بیان را در غده‌های نورندیده درون خاکی تایید کرد. زیست‌سنجی برگی نه لاین تراریخت، مقاومت کامل به بیدسیب‌زمینی را در هشت لاین نشان داد. انجام زیست‌سنجی گلخانه‌ای در ۶ لاین نشان داد که لاین‌های انتخاب شده هیچ خسارتی از آفت ندیدند. زیست‌سنجی غده‌های سبز رنگ نشان داد که غده‌های سبز رنگ لاین‌های تراریخت خسارتی از آفت ندیدند و حشره در همان لایه بیرونی سبز رنگ با تغذیه از این بافت مرده و غده‌ها سالم ماندند. زیست سنجی غده‌های درون خاکی که تحت نور قرار نگرفته بودند نشان داد که این غده‌ها به اندازه گیاه شاهد خسارت دیدند. بنابراین این امر حاکی از عدم بیان ژن *cry*1Ab در بافت خوراکی لاین‌های تراریخت سیب‌زمینی می‌باشد. از طرفی این امر بیانگر آن است که پروتئین کریستالی در غده‌هایی که بیرون از خاک قرار می‌گیرد و بیشتر در معرض حمله و تخم‌ریزی حشره قرار دارد بیان می‌شود. بر اساس این نتایج، بیان مکانی ژن *cry*1Ab با استفاده از پیشبر نوری PEPC می‌تواند بید سیب‌زمینی را در مزرعه کنترل، به طور معنی‌داری انتقال این آفت را به انبار کاهش دهد. از طرفی عدم بیان ژن یا به حداقل رسیدن بیان آن در غده‌ها می‌تواند تاحدودی نگرانی‌های ایمنی غذایی مصرف‌کنندگان سیب‌زمینی Bt را کاهش دهد.

مقدمه ۱

فصل اول: بررسی منابع

۱-۱- تاثیر سیب‌زمینی بر تغذیه و اقتصاد جهان..... ۳

۱-۲- زیست فن‌آوری راهکاری جدید در توسعه کشاورزی..... ۴

۱-۳- وضعیت جهانی محصولات تراریخت تا سال ۲۰۰۹..... ۷

۱-۳-۱- توسعه کشت محصولات تراریخت در جهان..... ۷

۱-۳-۲- دیدگاه‌ها و وضعیت اقتصادی گیاهان تراریخت در دنیا..... ۹

۱-۴- اهمیت اصلاح ملکولی در سیب‌زمینی..... ۱۲

۱-۵- *Bacillus thuringiensis*..... ۱۳

۱-۵-۱- باکتری Bt و مشخصات ژن‌ها و پروتئین‌های Cry..... ۱۳

۱-۵-۲- استفاده از سموم بیولوژیکی..... ۱۶

۱-۵-۳- ساختار پروتئین‌های Cry..... ۱۷

۱-۵-۴- مکانیسم عمل پروتئین‌های Cry به ویژه Cry1Ab..... ۲۱

۱-۶- تاریخچه مهندسی ژنتیک ژن *cry* و انتقال به گیاهان زراعی..... ۲۶

۱-۷- مقبولیت و مزایای گیاهان تراریخت Bt..... ۲۸

۱-۸- ایمنی زیستی محصولات تراریخت Bt..... ۳۴

۱-۹- گیاهان تراریخت Bt در ایران..... ۳۹

۱-۱۰- تاریخچه انتقال ژن *cry*1A به گیاهان..... ۴۰

۱-۱۱- پیشبرها و تخصصی کردن بیان ژن‌ها..... ۴۲

۱-۱۲- پیشبر PEPC و بیان ژن در بافت‌های سبز..... ۴۴

۱-۱۳- ایجاد بافت سبزرنگ در غده‌های سیب‌زمینی..... ۴۶

۱-۱۴- میزان و نحوه خسارت بید سیب‌زمینی بر سیب‌زمینی..... ۴۷

۱-۱۵- بررسی روند مقابله با بیدسیب‌زمینی در دنیا..... ۴۹

۱-۱۶- اهداف پژوهش..... ۵۳

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- محل و مراحل اجرای آزمایش‌ها ۵۴

۲-۲- ماده گیاهی ۵۴

۲-۳- سویه‌های باکتری و پلاسمیدهای ساخت سازه ۵۵

۲-۴- استخراج DNA پلاسمیدی ۵۷

۲-۵- هضم آنزیمی DNA پلاسمیدی ۵۸

۲-۶- روش الحاق قطعات DNA در حامل‌های پلاسمیدی ۵۹

۲-۷- ساخت ناقل بیانی حاوی ژن *cry*1Ab تحت پیشبر PEPC ۵۹

۲-۸- تراریختی باکتری اشریشیاکلی ۶۰

۲-۸-۱- تهیه سلول‌های مستعد تراریختی ۶۰

۲-۸-۲- تراریختی سلول‌های باکتری اشریشیاکلی مستعد ۶۱

۲-۸-۳- تراریختی سلول‌های باکتری *Agrobacterium tumefaciens* ۶۲

۲-۹- از تراریختی سیب‌زمینی تا انتقال به گلدان ۶۴

۲-۹-۱- کشت باکتری و تلقیح ریزنمونه‌ها ۶۴

۲-۹-۲- گزینش و باززایی گیاهچه‌های تراریخت احتمالی ۶۵

۲-۹-۳- انتقال گیاهان تراریخت احتمالی به گلخانه ۶۵

۲-۱۰- آنالیزهای ملکولی گیاهان باززا شده ۶۶

۲-۱۰-۱- استخراج DNA از برگ‌های گیاهی ۶۶

۲-۱۰-۲- بررسی وجود ژن *cry*1Ab و ژن *npt*II با PCR ۶۸

۲-۱۰-۳- آنالیز دورگ‌سازی (سادرن) ۶۹

۲-۱۰-۳-۱- کاوشگر نشاندار اختصاصی ژن *cry*1Ab ۶۹
. ۲-۱۰-۳-۲- دورگ‌سازی نقطه‌ای گیاهان تراریخت احتمالی ۷۱
۲-۱۰-۳-۳- آنالیز دورگ سازی سادرن ۷۴
۲-۱۰-۳-۳-۱- برش آنزیمی DNA ژنومی ۷۴
۲-۱۰-۳-۳-۲- انتقال DNA برش یافته روی غشا ۷۴
۲-۱۰-۶- شناسایی پروتئین Cry1Ab ۷۵
۲-۱۰-۷- استخراج RNA ۷۶
۲-۱۰-۸- آزمون RT-PCR ۷۷
۲-۱۱- زیست سنجی گیاهان تراریخت با بید سیب‌زمینی ۷۸
۲-۱۱-۱- پرورش آفت بید سیب زمینی ۷۹
۲-۱۱-۲- زیست سنجی برگی در اتاقک رشد ۸۰
۲-۱۱-۳- زیست سنجی گیاهان کامل در گلخانه ۸۱
۲-۱۱-۴- زیست سنجی غده‌های نور ندیده (درون خاکی) ۸۲
۲-۱۱-۵- زیست سنجی غده‌های سبز رنگ نور دیده (بیرون خاک) ۸۲
۲-۱۲- فلوسایتومتری گیاهان سیب‌زمینی تراریخت ۸۳
۲-۱۳- آنالیزهای آماری ۸۳

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- ساخت سازه نوترکیب حاوی ژن *cry*1Ab وآنالیزهای مربوطه ۸۵
۳-۱-۱- ساخت سازه نوترکیب ۸۵
۳-۱-۲- تایید کولونی‌های باکتریایی E.coli حاوی سازه نوترکیب به روش کولونی PCR ۸۶
۳-۱-۳- آنالیز سازه نوترکیب با هضم آنزیمی ۸۷
۳-۲- باززایی و گزینش شاخسارهای تراریختی سیب زمینی ۸۸

۳-۳- آنالیز ملکولی گیاهان تراریخت ۹۳
۳-۳-۱- استخراج DNA گیاهچه‌های باززاده مقاوم به کانامایسین ۹۳
۳-۳-۲- غربال گیاهچه‌های مقاوم به کانامایسین با استفاده از PCR ۹۴
۳-۳-۳- آنالیز دورگ‌سازی با کاوشگر اختصاصی ژن *cry*1Ab ۹۶
۳-۳-۳-۱- تهیه کاوشگر و بررسی آن ۹۶
۳-۳-۳-۲- دورگ‌سازی نقطه‌ای گیاهان PCR مثبت ۹۷
۳-۳-۳-۳- آنالیز دورگ‌سازی سادرن گیاهان تراریخت ۹۹
۳-۳-۴- استخراج RNA گیاهچه‌های باززاده مقاوم به کانامایسین ۱۰۱
۳-۳-۵- آنالیز RT–PCR گیاهان تراریخت ۱۰۲
۳-۳-۶- تست نواری شناسایی پروتئین Cry1Ab در گیاهان تراریخت ۱۰۳
۳-۴- آنالیز عملکردی گیاهان تراریخت سیب زمینی ۱۰۵
۳-۴-۱- زیست سنجی برگی گیاهان تراریخت سیب زمینی ۱۰۵
۳-۴-۲- زیست سنجی گلخانه‌ای با گیاهان کامل تراریخت ۱۰۸
۳-۴-۳- زیست سنجی با غده‌های نوردیده سبز رنگ و نورندیده درون خاکی گیاهان تراریخت .. ۱۱۰
۳-۵- آنالیز مورفولوژیکی گیاهان تراریخت ۱۱۳
۳-۶- آنالیز فلوسایتومتری گیاهان تراریخت ۱۱۵
۳-۷- نتیجه‌گیری کلی ۱۲۱
۳-۸- پیشنهادات ۱۲۴
منابع ۱۲۷
ضمیمه ۱۴۴

مقدمه

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) به علت دارا بودن نشاسته، محتوای ویتامینی و پروتئینی و نیز عملکرد بالا بعد از گندم و برنج به عنوان سومین منبع مهم غذایی در دنیا است (ویزر و همکاران، ۲۰۰۹؛ فائو، ۲۰۰۸). علاوه براین با توسعه زیست فن‌آوری، سیب‌زمینی به عنوان یک بیورآکتور سبز برای تولید واکسن‌ها، آنتی بادی‌ها، داروهای زیستی و پروتئین‌های صنعتی مورد توجه زیادی قرار گرفته است (والکر، ۲۰۰۳). با وجود اهمیت بالای سیب‌زمینی در نظام غذایی و صنعتی، متاسفانه این محصول نظیر دیگر محصولات و حتی بیشتر در معرض حمله آفات و آلودگی با عوامل بیماری‌زای گیاهی و علف‌های هرز می‌باشد. میزان خسارت ناشی از این عوامل ۴۱٪ (۱۶٪ آفات، ۱۶٪ بیماری‌ها و ۹٪ علف‌های هرز) برآورد گردیده است (حبیبی و همکاران، ۱۳۸۳). در بین آفات خسارت‌زای سیب‌زمینی، بید سیب‌زمینی با نام علمی(Zeller) *Phthorimaea operculella* سالانه در دنیا در حدود ۳,۳۲۴,۰۰۰ هکتار از اراضی سیب‌زمینی کاری را از بین می‌برد که پتانسیل برداشت سالانه از این اراضی در حدود ۵۰,۸۳۳,۲۰۰ تن سیب‌زمینی می‌باشد (www.cipotato.org).

در مدیریت تلفیقی بید سیب‌زمینی از راهکارهای مختلفی نظیر روش‌های زراعی، تله‌های نوری و فرمونی، روش‌های بیولوژیک و روش‌های شیمیایی استفاده می‌شود که به دلیل بیولوژی خاص این حشره کاربرد عوامل یاد شده تاثیر زیادی در پیشگیری از خسارت این آفت ندارد. مهمترین هدف و روش اساسی در مدیریت تلفیقی آفات، ایجاد ارقام مقاوم به آفت می‌باشد. تولید سیب‌زمینی مقاوم به بید سیب‌زمینی با اصلاح سنتی به دلیل محدودیت‌های اصلاح سنتی و نیز عمدتا به دلیل عدم وجود ژرم‌پلاسم مقاوم به آفت در سیب‌زمینی و گونه‌های خویشاوند موفقیت‌آمیز نبوده است. بنابراین یک راهکار مناسب برای غلبه بر تمام این محدودیت‌ها و بهبود مدیریت تلفیقی آفات، توسعه ارقام مقاوم به

بید سیب‌زمینی با تکیه بر مهندسی ژنتیک است (آرنون و همکاران، ۱۹۹۸؛ اورتیز و همکاران، ۱۹۸۹؛ چاوز و همکاران، ۱۹۸۹؛ میلگان و همکاران، ۲۰۰۵ ؛ حبیبی و همکاران، ۱۳۸۳ ؛ هنفی، ۱۹۹۹؛ روندون و همکاران، ۲۰۰۷). امروزه انتقال ژنهای *cry* از باکتری *Bacillus thuringiensis* به گیاهان مختلف با هدف تولید گیاهان مقاوم به آفات از برنامه‌های اصلی مدیریت تلفیقی آفات می‌باشد (بابو و همکاران، ۲۰۰۳). در مهندسی ژنتیک نیز یکی از اهداف در حال گسترش، محدود کردن بیان مکانی و یا زمانی تراژن‌ها در جهت افزایش ایمنی محصولات تراریخت می‌باشد که البته در حال حاضر بهترین گزینه برای کنترل بیان ژن‌ها، استفاده از پیشبرهای اختصاصی می‌باشد (پوتنزا و همکاران، ۲۰۰۴). در کل با توجه به اهمیت تغذیه‌ای و اقتصادی سیب‌زمینی و خسارت بالای ناشی از این آفت در دنیا و علی الخصوص در کشور، تولید ارقام مقاوم به آفات با بیان اختصاصی مکانی و زمانی در مدیریت تلفیقی آفات به عنوان راهکاری مناسب و مکمل روش‌های اصلاح کلاسیک لازم و ضروری است.

بررسی منابع

۱-۱- تاثیر سیب‌زمینی بر تغذیه و اقتصاد جهان

سازمان ملل سال ۲۰۰۸ را به نام سال بین‌المللی سیب‌زمینی نامگذاری کرد چرا که سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) به علت دارا بودن نشاسته، ویتامین و پروتئین و نیز عملکرد بالا بعد از گندم و برنج به عنوان سومین منبع مهم غذایی محسوب می‌شود (ویزر و همکاران، ۲۰۰۹؛ فائو، ۲۰۰۸). علاوه براین امروزه سیب‌زمینی به عنوان یک بیورآکتور سبز[1] برای تولید واکسن‌ها، آنتی بادی‌ها، داروهای زیستی و پروتئین‌های صنعتی مورد توجه زیادی است (والکر، ۲۰۰۳).

نرخ رشد تولید سیب‌زمینی به طور متوسط ۴/۵ میلیون تن در سال است که در حال پیشی‌گرفتن از نرخ رشد گندم و برنج بوده و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۲۰ بیش از ۲ میلیارد نفر در آسیا، آفریقا و آمریکای لاتین جهت تامین غذا، تغذیه و درآمد زندگی‌شان به محصول سیب‌زمینی وابسته باشند (کوآنگ و همکاران، ۲۰۰۵). همواره رقابت در بازارهای بین‌المللی، می‌تواند کاهش ذخایر غلات و دیگر محصولات زراعی را به دنبال داشته و در نتیجه باعث تورم قیمت غذا در جهان شود که پیامد آن خطر قحطی و آشوب‌های اجتماعی در کشورهای کم درآمد می‌باشد. در چنین موقعیتی، مهمترین استراتژی برای کاهش این خطرات، تولید غذای متنوع با محصولات پایدار و ارزش غذایی بالا است که کمتر از طرف بازارهای بین المللی سودجو تهدید می‌شوند. در این راستا، سیب‌زمینی یک کاندیدای مهم محسوب می شود، چرا که بررسی‌های آماری سازمان فائو در بیش از ۷۰ کشور نشان داده است که تورم قیمت سیب‌زمینی کمتر از غلات است (فائو، ۲۰۰۸).

در بیشتر کشورهای درحال توسعه، سیب‌زمینی به عنوان اولین یا دومین منبع غذایی کشاورزان بسیار فقیر با سوء تغذیه شدید محسوب می‌شود که آن هم به دلیل کالری بالای غذایی و پایداری نسبی

[1]- Green bioreactor

عملکرد آن در شرایط نامناسب زراعی است. در سال ۲۰۰۵ برای اولین بار تولید جهانی سیب‌زمینی در کشورهای درحال توسعه از کشورهای توسعه یافته پیشی‌گرفت به‌طوری که ۵۲ درصد تولید در این کشورها صورت گرفت (فائو، ۲۰۰۸). کل تولید جهانی این محصول بیش از ۳۰۰ میلیون تن در سال ۲۰۰۷ بوده و در دهه گذشته تولید آن بیش از ۱۵۳ درصد افزایش یافته است. در این میان، ایران نیز با سطح زیر کشت ۱۸۹ هزار هکتار و تولید ۴/۸۳ میلیون تن در سال ۲۰۰۵، از نظر تولید این محصول دارای مقام سیزدهم در دنیا می‌باشد (فائو، ۲۰۰۹).

۱-۲- زیست فن‌آوری راهکاری جدید در توسعه کشاورزی

جمعیت جهان در ۲۰ ژانویه سال ۲۰۱۰، ۶/۸ میلیارد نفر بوده (اداره سرشماری آمریکا، ۲۰۱۰) و انتظار می‌رود که در سال ۲۰۵۰ به بیش از ۱۰ میلیارد نفر برسد. حیات این جمعیت در حال رشد، وابسته به کشاورزی است تا غذای مورد نیاز را در کیفیت مناسب و کمیت مورد نیاز دریافت کنند. اما در نگاهی دیگر می‌توان دید که نه تنها نرخ رشد تولیدات کشاورزی با یک روند کند ۱/۸ درصدی در سال در حال افزایش است (آلتمن، ۱۹۹۹؛ بابو و همکاران، ۲۰۰۳) بلکه برای کشت محصولات تنها ۱۲ درصد سطح زمین استفاده می‌شود و به نظر می‌رسد سطح سرانه زمین کشاورزی از ۰/۴۴ هکتار برای هر فرد در سال ۱۹۶۱ به ۰/۱۵ هکتار برای هر فرد در سال ۲۰۵۰ کاهش یابد. بنابراین، مسائلی از قبیل محدودیت مناطق کشاورزی، تولید دو برابر غذا تا سال ۲۰۲۵، سرانه کمتر زمین، کمبود آب و شرایط نامساعد محیطی که در طی چند دهه آینده نامساعدتر خواهد شد، تولیدات کشاورزی را تهدید می‌کند. همچنین علی‌رغم استفاده گسترده از مواد شیمیایی، در کشاورزی مدرن تقریبا ۴۲ درصد تولیدات در رقابت با علف‌های هرز، آفات و پاتوژن‌ها از دست می‌رود و علاوه برآن ۱۰الی ۳۰ درصد محصولات در دروه پس از برداشت بویژه در کشورهای در حال توسعه از دسترس خارج می گردد. در چنین وضعیتی که نرخ رشد

جمعیت جهان در حال پیشی گرفتن از نرخ تامین غذا است، بکارگیری سریع زیست فن‌آوری گیاهی در زندگی انسان ضروری است (آلتمن، ۱۹۹۹). بنابراین، نیاز به ایجاد ارقام پرمحصول و پایدار بیش از گذشته احساس می‌شود. این امر در طی قرن بیستم با اصلاح سنتی گیاهان به علت زمان‌بر بودن هیبریداسیون‌ها، محدودیت منابع ژنی و وجود موانع طبیعی برای تلاقی به اندازه کافی تحقق نپذیرفته است. هم اکنون بسیاری از مردم جهان به علت قحطی و بیماری‌های ناشی از سوء تغذیه با خطر مرگ مواجه هستند (آلتمن، ۱۹۹۹) به‌طوری که گزارش کرده اند، در سال ۲۰۰۹، ۱/۰۲ میلیارد نفر از مردم جهان در گرسنگی بسر می‌برند (فائو، ۲۰۰۹). در تحقیقات جامعه شناسی مدرن در مدیریت حوادث غیرمترقبه[1]، غذا و کمبود تولید غذا موضوع اصلی است ولی برخلاف بلایای طبیعی، می‌توان جلوی این فاجعه را گرفت. امروزه کشاورزی سنتی با چند محدودیت جدی مواجه است:

۱) محدودیت‌های بازار و قوانین تجارت جهانی توسعه کشاورزی را که هنوز هم بزرگترین تجارت جهانی محسوب می شود، در آینده تحت تاثیر قرار خواهد داد.

۲) محدودیت منابع طبیعی که ناشی از تغییرات آب و هوای جهانی (کویرزایی و نمک زایی)، گسترش شهرنشینی و صنعتی شدن است. تخمین زده شده است که افزایش نمک زایی در مناطق زراعی اثرات مخرب جهانی خواهد داشت، به طوری که بیش از ۵۰ درصد زمین‌ها تا سال ۲۰۵۰ از بین خواهد رفت.

۳) محدودیت‌های توارث زیستی که ناشی از محدود بودن ژن‌های مطلوب در رژم پلاسم برای انتقال از طریق تلاقی‌های ژنتیکی کلاسیک بوده و به همراه مشکل زمان بر بودن اصلاح کلاسیک باعث عدم توانایی تولید فعلی در پاسخگویی به نیازهای فعلی و آینده می‌گردد.

[1]- Disaster management

با ظهور زیست فن‌آوری در اوایل دهه ۱۹۸۰، موانع انتقال ژن از میان برداشته شد و برای اصلاح و بهبود ژنتیکی گیاهان راهکاری جدید و سریع فراهم شد (آلتمن، ۱۹۹۹؛ بابو و همکاران، ۲۰۰۳). در طی دو دهه اخیر، ورود زیست فن‌آوری جدید در عملیات زراعی، چشم اندازهای نوینی را برای ارتقای عملکرد کشاورزی با روش‌های مناسب فراهم کرده است که پیش بینی می‌شود در طی دهه بعد ادامه و افزایش خواهد یافت. زیست فن‌آوری گیاهی خصوصا باززایی و بیولوژی سلولی درون شیشه‌ای، دست ورزی DNA و تغییر ژنتیکی مسیرهای بیوشیمیایی چشم اندازی را برای گیاهان از سه جنبه مختلف ترسیم می‌کند که شامل:

۱) کنترل رشد و نمو (رشد رویشی، تولید مثل، باززایی (ازدیاد))

۲) حفاظت گیاهان در برابر تهدیدهای در حال افزایش تنش‌های زیستی و غیرزیستی

۳) گسترش افق‌ها به واسطه تولید غذاهای ویژه، مواد شیمیایی زیستی و حتی مواد دارویی زیستی.

از طرفی تحقق کامل انقلاب زیست فن‌آوری کشاورزی به دو عامل وابسته است: الف) ادامه موفقیت آمیز و نوآورانه تحقیق و توسعه و ب) شرایط جوی مساعد و پذیرش عمومی.

بنابراین برای بکارگیری بهترزیست فن‌آوری باید آن را با اصلاح و فیزیولوژی کلاسیک در جهات زیر کاملا پیوند داد: ۱) به عنوان همیار اصلاح کلاسیک ۲) تکثیر موجودات مهندسی شده ۳) مداخله میکروارگانیسم‌ها در سیستم‌های تولید کشاورزی.

صرف نظر از کاربرد گیاهان تراریخت تولید شده، تلاش برای دستیابی به اهداف زیر در گیاهان تراریخت دنبال می‌شود:

۱) بهبود بیان ژن‌های هدف در گیاهان، بویژه کنترل مکانی و زمانی آنها

۲) استفاده از طیف گسترده و متفاوت از ژن‌های هدف در جهت غلبه بر مقاوت آفات

۳) تقویت کنترل بیولوژیکی از طریق استفاده از میکروارگانیسم‌های منتخب و مهندسی شده بر اساس کنترل بیولوژیکی. کاربرد ژنتیک ملکولی و تراریختی گیاهی جهت تشخیص و کنترل آفات یکی از عمده‌ترین موفقیت‌های کاربردی در زیست فن‌آوری گیاهی طی دهه قبل می‌باشد (آلتمن،۱۹۹۹).

۱-۳- وضعیت جهانی محصولات تراریخت تا سال ۲۰۰۹

۱-۳-۱- توسعه کشت محصولات تراریخت در جهان

در سال ۲۰۰۸ به عنوان سیزده سالگی اول بعد از تجاری سازی محصولات تراریخت، مهمترین برنامه‌های پیشرفتی در محصولات تراریخت شامل: ۱) افزایش معنی‌دار در سطح زیر کشت گیاهان تراریخت، ۲) افزایش تعداد کشورها و کشاورزان کشت کننده محصولات تراریخت در جهان، ۳) پیشرفت قابل توجه در آفریقا جایی که بیشترین مشکلات تامین غذا وجود دارد، ۴) افزایش مقبولیت گیاهان تراریخت با مجموعه ای از صفات، ۵) معرفی یک گیاه تراریخت جدید (SmartStax™) می‌باشد. توسعه استفاده از گیاهان تراریخت یک راهکار اساسی در تضمین امنیت غذایی، کاهش قیمت غذا، پایداری، کاهش فقر و گرسنگی و کاهش مسائل مربوط به تغییرات آب و هوایی است (جیمز، ۲۰۰۹).

تا به امروز بخش اعظم کشت و کار محصولات تراریخته مربوط به گیاهان مقاوم به علف کش‌ها[1] می‌باشد. در سال ۲۰۰۸، ۶۳ درصد از سطح زیر کشت محصولات تراریخت به گیاهان تراریخت مقاوم به علف کش‌ها، ۱۵ درصد به کشت گیاهان مقاوم به آفات و ۲۲ درصد به کشت گیاهان تراریخت دارای هر دو صفت (یا چند صفت) اختصاص یافته بود. کشت و کار محصولات تراریخت با ۲ یا ۳ صفت در

[1]- Herbicide-tolerant

طی سال‌های ۲۰۰۷ و ۲۰۰۸ نسبت به گیاهان دارای یک صفت که رشد تک رقمی‌داشته‌اند، رشد دو رقمی معادل با ۲۳ درصد داشت. پیش‌بینی می‌شود در آینده گیاهان تراریخته‌ای با چند صفت انتقال یافته کشت وکار شوند. این صفات گرد آمده در یک گیاه شامل هردو گروه صفات درون گذاشت[1] از قبیل مقاومت به آفات، علف‌کش‌ها، خشکی و همچنین صفات برون داد[2] از قبیل امگاتری، پیش ماده‌های غذایی، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها و غیره باشد؛ یعنی در مجموع گیاهان نسل اول (گیاهان با صفات درون گذاشت) با گیاهان نسل دوم (گیاهان با صفات برون داد) به شکل یک گیاه جدید عرضه خواهد شد و در روند تولید چنین گیاهانی انتظار می‌رود در سال ۲۰۱۰ گیاه ذرتی به نام SmartStax™ در آمریکا روانه بازار شود که دارای هشت ژن مختلف برای مقاومت به چندین آفت و علف‌کش باشد (جیمز، ۲۰۰۹).

افزایش بی‌سابقه کشورهای کشت کننده محصولات تراریخت از ۶ کشور در سال ۱۹۹۶ به ۲۵ کشور در سال ۲۰۰۸، یک موج تازه‌ای از مقبولیت محصولات تراریخت و رشد رو به افزایش سطح زیر کشت جهانی آن‌ها را به وجود آورد. کشت گیاهان تراریخت از سال ۲۰۰۵ تا سال ۲۰۰۸ طی سه سال به اندازه دهه اول محصولات تراریخت (۲۰۰۶- ۱۹۹۶) توسعه یافته است و به ۱۲۵ میلیون هکتار رسیده است که کشور امریکا با ۶۲/۵ میلیون هکتار و مصر با کمتر از ۵/۱ میلیون هکتار به ترتیب کمترین و بیشترین سطح کشت را به خود اختصاص دادند. پیش بینی می‌شود تا سال ۲۰۱۵ که آخرین سال دومین دهه محصولات تراریخت است تعداد کشورهای تولید کننده محصولات تراریخت به بیش از ۴۰ کشور افزایش یابد و به‌طور کلی میزان کشت این گیاهان از زمان تجاری شدن تا کنون، ۷۴ برابر افزایش یافته است (جیمز، ۲۰۰۹). تا سال ۲۰۰۶ ایران با کشت برنج Bt جزء کشورهای تولید کننده محصولات

[1]- Input traits
[2]- Output traits

تراریخت بود ولی با ممانعت از کشت و کار آن از طرف سازمان حفاظت محیط زیست از لیست این کشورها حذف شده‌است (جیمز، ۲۰۰۶).

سویای تراریخت در سال ۲۰۰۸ با سطح زیر کشت ۶۵/۸ میلیون هکتار یا ۵۳ درصد مناطق کشت محصولات تراریخت، بیشترین سطح زیر کشت را به خود اختصاص داده بود و بعد از آن ذرت، پنبه و کلزا در مقام‌های بعدی تولید بودند. در سال ۲۰۰۸، تعداد کشاورزانی که از مزایای کشت محصولات تراریخت بهرمند شده‌اند، به ۱۳/۳ میلیون نفر رسیده است. افزایش درآمد حاصل از محصولات تراریخت نقش اساسی در کاهش فقر کشاورزان کم درآمد به ویژه در کشورهای در حال توسعه داشته است و انتظار براین است که طی دهه دوم تجاری سازی از سال ۲۰۰۶ تا ۲۰۱۵ این محصولات سهم عظیمی‌در اهداف توسعه‌ای هزاره سوم[1] داشته باشد، به‌طوری که تا آخر این دهه سبب کاهش ۵۰ درصدی فقر و گرسنگی گردند. سود خالص جهانی برای کشاورزان محصولات تراریخت در سال ۲۰۰۷، ۱۰ میلیارد دلار (۶ میلیارد دلار در کشورهای در حال توسعه و ۴ میلیارد دلار در جوامع صنعتی) بود و در کل از سال ۱۹۹۶ تا سال ۲۰۰۷ این میزان ۴۴ میلیارد دلار بوده است (جیمز، ۲۰۰۷).

۱-۳-۲- دیدگاه‌ها و وضعیت اقتصادی گیاهان تراریخت در دنیا

بیماری سفیدک داخلی[2] سیب‌زمینی در اروپا جزء بیماری‌های بسیار مخرب سیب‌زمینی است به‌طوری که در سال ۱۸۴۶ این بیماری با ایجاد قحطی سبب مرگ ۱/۵ میلیون ایرلندی و مهاجرت همان تعداد ایرلندی به امریکا شد. کشاورزان جهت پیش‌گیری از این بیماری سالانه ۳۲۲ یورو در هکتار با ۸ الی ۱۴ بار سم‌پاشی هزینه می‌کنند ولی با معرفی یک رقم تراریخت مقاوم به این بیماری در کل اروپا، از

[1]- Millennium Development Goals
[2]- Late blight potato