مجله ایمنی زیستی

دوره پنجم، شماره دوم، زمستان ۹۱

بررسی جنبه‌های ایمنی پروتئین *Cry1Ab*

پری بروکانلوی‌مادلو[۱*] و مسعود توحیدفر[۲]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی دانشگاه تهران.

۲. عضو هیأت‌علمی، **پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران- سازمان تحقیقات ، آموزش و ترویج کشاورزی- کرج- ایران.**

paribroukani@gmail.com

چکیده

باکتری *Bacillus thuringiensis* (Bt) به دلیل داشتن توکسین‌های کریستالی ویژه‌ای (Parasporal Crystal = Cry) دارای خواص حشره‌کشی به‌طور کامل اختصاصی است که به‌طور گسترده‌ای در تولید گیاهان تراریخته مقاوم به آفات بکار می‌رود. گیاهان Bt بیان‌کننده پروتئین *Cry1Ab* مقاوم به حشرات بوده و به‌تازگی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. با توجه به افزایش چشمگیر کشورهای تولیدکننده محصولات تراریخته حاوی *Cry1Ab*، این مقاله به بررسی جنبه‌های ایمنی زیستی این گروه از گیاهان تراریخته می‌پردازد. این نوشته حاوی مرور جامع داده‌ها و اطلاعات مربوط به برآورد ملاحظات احتمالی زیست‌محیطی پروتئین *Cry1Ab* بوده و خلاصه‌ای را در مورد ایمنی‌زیستی این پروتئین ارایه می‌دهد. در ارزیابی ایمنی زیستی گیاهان تراریخته جنبه‌های مختلفی را مورد بررسی قرار می‌دهند که در این پژوهش سه مورد مهم، ۱) تأثیر تماس پروتئین‌های *Cry1Ab* بر روی موجودات غیر هدف ۲) استقرار و ماندگاری گیاهان تولید کننده *Cry1Ab* در محیط زیست و ۳) تغییرهای ایجادشده در ترکیب‌های کلیدی گیاه، بطور جداگانه مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان می‌دهد، نه تنها گیاهان Bt اثرات مخرب روی محیط زیست ندارند، بلکه در مواردی موجب افزایش تنوع زیستی زیست-بوم نیز می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: ایمنی زیستی، پروتئین *Cry1Ab*، گیاهان تراریخته، گیاهان Bt، *Bacillus thuringiensis*

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1391.5.2.5.1]

مقدمه

با توجه به روند روبه‌رشد افزایش جمعیت، فراهم کردن نیاز غذایی آینده بشر به فناوری‌های نو در کشاورزی نیاز دارد. یکی از فناوری‌های سودمند، استفاده از گیاهان تراریخته یا دست‌ورزی ژنتیکی‌شده GMO (Genetically modified organisms) است که می‌توان با در نظر گرفتن خطرات احتمالی زیست‌محیطی از آنها بهره گرفت. این گیاهان حاوی ژن‌های جدیدی هستند که به آنها خصوصیات سودمندی از قبیل تحمل تنش‌های محیطی و مقاومت در برابر بیماری‌ها و حشرات می‌دهد. تاکنون نقل و انتقال ژن با هدف‌های اصلاحی متفاوت و مشخصی در بیش از ۴۰ گونه‌ی گیاهی از قبیل ذرت، برنج، سویا، پنبه، کلزا، سیب‌زمینی، چغندرقند بادمجان و خربزه درختی از کشورهای مختلف گزارش شده است (۸). در تولید گیاهان تراریخته از ارگانیسم‌های دهنده متفاوت استفاده می‌شود که یکی از پرکاربردترین آنها باکتری *Bacillus thurigiensis* است. گیاه Bt، یعنی گیاهان تراریخته که حاوی ژن‌های کدکننده پروتئین *Cry* هستند که این ژن از باکتری (Bt) *Bacillus thurigiensis* بدست آمده است. " *Bacillus thurigiensis* " یک باکتری میله‌ای شکل، گرم‌مثبت و قادر به تولید اندوسپورهایی با طول عمر بالا است و در اکثر مکان‌ها در محیط زیست وجود دارد. این باکتری دارای پروتئین‌های دارای اثر آفت‌کشی است و نوع و کلاس پروتئین‌ها در بین گونه‌های این باکتری دارای تنوع بالایی است. این پروتئین‌ها از نظر نوع فعالیت و هدف اختصاصی متفاوت هستند (۱و۳).

مکانیسم عمل حشره‌کشی پروتئین *Cry1Ab*

پروتئین‌های آفت‌کش حاصل از سویه‌های باکتری Bt حاوی ترکیبات ضد قارچ، اگزوتوکسین‌های β (بنام thuringiensin نیز خوانده می‌شود.)، (Vip) یا پروتئین کشنده حشرات گیاهخوار و اندوتوکسین‌های δ ((مشتمل بر پروتئین‌های *Cry* (کریستالین) و پروتئین‌های غیرساختمانی *Cyt* (سیتولیتیک)) هستند. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که اکثر پروتئین‌ها در ایجاد مسمومیت در حشره نقش داشته و بعضی (به‌خصوص اگزوتوکسین‌های β و پروتئین‌های *Cyt*) دارای طیف وسیع از فعالیت هستند (۱و۳). به‌طور کلی پروتئین‌های *Cry* براساس سمیت‌شان بر روی حشره‌ها، به چهار گروه ابتدایی یک‌و دووسه-وچهار، طبقه‌بندی می‌شوند.

پروتئین‌های *Cry1* تنها بر Lepidopteraها، پروتئین‌های *Cry2* بر دو گروه Lepidoptera وDiptera، پروتئین‌های *Cry3* برگروه Coleoptera و گروه چهارم بر Dipteraها سمیت دارند. گروه پروتئین‌های *Cry1* بر اساس توالی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1391.5.2.5.1]

آمینواسیدی رده‌بندی می‌شوند و پروتئین‌های *Cry1A*(*Cry1Ac, Cry1Aa, Cry1Ab*) در بیش از ۸۵ درصد از توالی‌های آمینواسیدی با هم یکسان هستند. ساختمان کریستالی پروتئین *Cry1Aa* تعیین و مشخص شده است که بر خلاف وجود اختلاف در خصوصیات توالی که می‌تواند به کمتر از ۳۰ درصد برسد، این گروه شباهت ساختاری بسیار بالایی به ساختار سایر پروتئین‌های *Cry* شناخته‌شده (*Cry3A,Cry 2A,Cry4A,Cry4B*) دارد. پروتئین‌های *Cry1* به فرم پروتوکسین‌هایی با اندازه‌های 140–130 کیلودالتون (حاوی هزارو صد تا هزار و دویست آمینواسید) تولید می‌شوند. در *Cry1A*، این پروتوکسین‌ها از بخش انتهای نیتروژنی پروتئین به اجزای 70-60 کیلودالتون شکسته می‌شوند تا توکسین فعال تولید شود. تئوری‌های متعددی در مورد اینکه چگونه این سموم فعال سبب مرگ سلولی می‌شوند، وجود دارد ولی بر سر این نکته که مرحله اول، چسبیدن به گیرنده‌های مخصوص در غشاء سلولی در سلولهای اپیتلیوم دستگاه هاضمه حشره‌ها است توافق نظر وجود دارد. مشهورترین تئوری بر این باور است که توکسین با چسبیدن به گیرنده‌ها می‌تواند از طریق تشکیل منافذ غشایی اولیگومری، در غشاء پلاسمایی قرار گیرد. گمان می‌رود که این منافذ، کانال‌های یونی را می‌سازند که سبب اختلال در پتانسیل غشایی و انهدام یا تجزیه اسمزی می‌شوند (۱و۳و۱۳و۱۵).

گیاهان تراریخته حاوی ژن *Cry 1Ab*

تا به امروز دستکاری ژنتیکی گیاهان توانسته راه‌حل‌هایی برای مشکل‌های بسیاری، از قبیل تحمل شوری ، آسیب پذیری گیاهان در برابر بیماری‌ها و بسیاری از موارد دیگر بیابد. استفاده از ترکیب‌های میکروبی ساخته شده از *Bacillus thruinginesis* با هدف‌های بیان‌شده سابقه طولانی دارد. از میانه سالهای ۱۹۹۰، محصول‌های تراریخته حاوی ژن‌های Bt به طور وسیع در ایالات متحده تجاری‌سازی شدند. در حال حاضر در کشورهایی اروپایی این ترکیب‌ها استفاده می‌شوند و به‌تازگی تأییدیه لازم برای استفاده از گیاهان تراریخته علاوه بر کشورهای اروپایی در هفت کشور بزرگ دیگر (اروگوئه، آفریقای جنوبی، فیلیپین، کلمبیا، برزیل، ژاپن، آرژانتین و کانادا) نیز صادر شده است (۶). در مسیر تولید گیاهان تراریخته، تولید پروتئین *Cry1Ab* در این گیاهان یکی از روش‌های موفقیت‌آمیز بوده است. برنج تراریخته حاوی این ژن به آفات مهم گروه لپیدوپترا مقاوم است که منجر به کاهش چشمگیر

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1391.5.2.5.1]

اتلاف محصول درنتیجه صدمه‌های این آفات می‌شود. از طرفی این محصول تراریخته نیاز به سم‌پاشی‌های آفت‌کش‌هایی با دامنه اثر وسیع را بین برده است. یکی دیگر از فواید پیش‌بینی‌نشده آن نیز کاهش سطح میکوتوکسین‌های قارچ بیماریزا در نتیجه‌ی کاهش بیماری است (۱و۴و۱۱). پنبه Bt تولید کننده پروتئین *Cry1Ab* قادر است خود را در مقابل کرم ساقه‌خوار اروپایی ذرت (European, *Ostrinia nubilalis* Hubner (Lepidoptera: Pyrelidae محافظت کند. ذرت تراریخته حاوی پروتئین‌های *Cry1Ab* و *Cry1F* نیزبه طور وسیعی در برابر آفت‌های مهم این محصول، از قبیل کرم ساقه‌خوار مقاوم است. همچنین پنبه Bt حاوی *Cry1Ac* در کنترل آفات مهم پنبه از قبیل کرم جوانه‌خوار و کرم قوزه بسیار موفق بوده است. دیگر محصول‌های Bt همانند پنبه، ذرت، کانولا و سیب‌زمینی بیان‌کننده محدوده متفاوتی از ژن های *cry* به صورت وسیع در بسیاری از نقاط جهان کشت می‌شوند (۳و۵و ۱۴). این مقاله به بررسی تحقیقات انجام شده در بررسی ایمنی زیستی گیاهان تراریخته حاوی ژن *cry1Ab* با هدف ارزیابی خطرات زیست محیطی این ژن در گیاهان تراریخته می‌پردازد.

برآورد خطرات زیست محیطی

در ارزیابی ایمنی زیستی گیاهان تراریخته جنبه‌های مختلفی را مورد بررسی قرار می‌دهند که در اینجا هر یک به‌طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفته است:

۱- دستکاری ژن *cry1Ab* و پروتئین *Cry1Ab* در گیاهان تراریخته

میزان بیان پروتئین‌های باکتری Bt در گیاهان تراریخته بستگی به فاکتورهایی چون پروموتر (راه‌انداز) خاتمه‌دهنده و محل قرارگیری ژن روی کروموزوم قراردارد. بنابراین هر رخداد منجر به ایجاد پروفایل متفاوتی از تولید و حضور این پروتئین می‌شود. دو نوع دستکاری برای ژن *cry1Ab* متناسب با نوع استفاده از آن در گیاهان تراریخته وجود دارد. نوع اول شامل دستکاری توالی نوکلئوتیدی است که توالی آمینواسیدی پروتئین را تغییر نمی‌دهد ولی فراوانی کدها تغییر می‌کنند. این دستکاری‌ها به‌طور عمده برای افزایش ترجمه ژن هستند نوع دوم دستکاری، شامل تغییرهای توالی نوکلئوتیدها است که در نهایت، توالی آمینواسیدی پروتئین حاصل را تحت تأثیر قرارمی‌دهد. این به آن معنی است که پروتئین ظهور یافته در گیاهان، حاوی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1391.5.2.5.1]

زیرمجموعه‌ای از آمینواسیدهای موجود در رشته پروتئین کامل‌و بومی در باکتری*B. thuringiensis* است. با این وجود، تغییرهای دیگری برای توالی آمینواسیدی گزارش نشده است. این پروتئین‌های قطعه شده و شکسته، مانند فرم فعال شده پروتئین *Cry1Ab* عمل کرده و مانند آنها توسط آنزیم پروتئاز در مجرای هاضمه حشره هضم می‌شوند. با این حال، این پروتئین‌های شکسته شده، نیازمند اتصال به گیرنده یا گیرنده‌های خاص در مجرای هاضمه حشره بوده و ویژگی اختصاصی بودن گونه‌ها را که در رشته‌های کامل پروتئین یافت می‌شود، حفظ می‌کنند (۴و۹).

۲- تاثیرتماس پروتئین‌های *Cry1Ab* بر روی موجودات غیر هدف

هدف از انتقال ژن *Cry1Ab* در یک محصول گیاهی، جلوگیری از صدمه‌های ناشی از تغذیه لیپیدوپتراها از گیاه است. سایر جانداران موجود در سیستم کشاورزی که حشره نیستند نیز ممکن است در معرض پروتئین *Cry1Ab* قرار گیرند که در این موجودات "جانداران غیرهدف" نامیده می‌شوند NTOs (NonTarget Organisms). چنین تماس‌هایی می‌تواند به دو صورت باشد. تماس مستقیم که از طریق تغذیه عمده یا تصادفی از بافت‌های گیاهی محصول مانند برگ، خوشه، گرده یا مواد برگی در حال تجزیه بوجود می‌آید؛ و تماس غیرمستقیم که از طریق مصرف گیاه‌خوارهایی که از این محصول‌ها تغذیه کرده‌اند. یکی از مسیرهای تماس احتمالی با گیاه تراریخته تماس با گرده حاوی *Cry1Ab* است. تماس با گرده می‌تواند در گیاه ذرت یا برگ‌های احاطه کننده آن، رخ دهد. ولی غلظت کم *Cry1Ab* موجود در دانه گرده و همینطور کم شدن سریع مقدار گرده تجمع یافته با فاصله گرفتن از گیاه منبع، باعث می‌شود این نوع تماس، کم و محدود باشد. با توجه به اینکه *Cry1Ab* برای لپیدوپتراها سمی است، سمیت این پروتئین روی موجودات هدف، غیر"لپیدوپترا" که احتمال تماس با این ترکیب برای آنها وجود دارد، بررسی شده است. این موجودات زنده شامل حشره بالغ و لارو "*Apis mellifera*" (زنبور عسل)، نوعی قاب بال شکارگر "*Hippodamia conver*" (کفشدوزک)، یک نوع رگبال " *Chrysoperla carnea*" (green lacewing)، پرده‌بالان انگلی "*Brachymeria intermedia*"، گونه‌های "کلمبولا" ساکن در خاک " *Folsomia candida*"، "*Daphnia magna* " آبزی و کرم‌های خاکی هستند. هیچ کدام از این موجودات زنده واکنش معنی‌داری به *Cry1Ab* در غلظت‌های آزمایشی نشان ندادند که این امر منجر به مشاهده سطح NOEL (No Observed Effects Level) یا " سطح عدم ملاحظه اثرات" با دامنه غلظت (۲۰۰-۲۰) ppm شد. این میزان

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1391.5.2.5.1]

می‌تواند با بدترین حالت تماس با بالاترین غلظت‌های *Cry1Ab* در گیاهان تراریخته با دامنه سه تا ده پی پی ام مقایسه شود. علاوه بر آن، آزمایش سم‌شناسی حساس و دقیق مربوط به پستانداران بر روی موش (*Mus musculus*) انجام گرفته است که نشان‌دهنده عدم تأثیر مخرب آن روی موجودات مورد آزمایش است. پروتئین‌های *Cry* برای پستانداران از جمله انسان‌ها و حیوان‌ها به دلیل نبود گیرنده‌های ویژه این پروتئین در بدن آنها بی‌ضرر و غیرسمی تلقی می‌شوند. پژوهش-های متعددی نشان می‌دهد هیچ‌گونه گزارشی مبنی بر بیماری‌زایی آن‌ها روی پستانداران وجود ندارد (۲و ۱۰و۱۲و۱۵).

تحقیقات بسیار دیگری با استفاده از*Cry1Ab* و آنالیزهای گوناگون برای تشخیص تأثیرات بالقوه بر تعداد گسترده‌ای از موجودات زنده آزمایشی صورت گرفته است که نتایج جامع آنها نشان دهنده عدم تأثیر یا تأثیر ناچیز این گروه از محصولات تراریخته روی موجودات غیر هدف است (۱۱). پژوهش‌ها در مورد موجودات زنده غیرهدف متوجه اثراتی بر روی لپیدوپتراهای غیرآفت شده است که ممکن است به طور تصادفی با پروتئین‌های *Cry* تماس بیابند. بررسی‌های زیادی در مورد پروانه مونارک (*Danaus plexippus*) صورت گرفته است. یک تحقیق آزمایشگاهی گزارش کرده است گرده‌های گیاه (ذرت Bt) تولیدکننده پروتئین *Cry1* میتواند مانع رشد و عامل مرگ و میر در لاروهای مونارک شود. بنابراین از زمانی که مشخص شد لاروهای مونارک به *Cry1Ab* حساس هستند، نکات مهمی از قبیل غلظت *Cry1Ab* در دانه گرده حاصل از رخدادهای مختلف و میزان تماس با گرده در مزرعه بررسی شده است. به عنوان مثال گیاهان Bt 11 و MON 810 در غلظت‌های ۱۰۰۰ دانه گرده در سانتی‌متر مربع و بیشتر اثرات ناچیزی نشان دادند. پژوهشی در مورد تجمع گرده روی گیاه استبرق (Milkweed) در داخل و اطراف مزرعه مشخص کرد که انتظار می‌رود ۱درصد برگهای این گیاه در مزارع ذرت در مدت دو هفته گل‌دهی، حاوی بیش از ۹۰۰ دانه گرده در سانتی‌متر مربع باشند آزمایش‌ها نشان داد که به دلیل تماس‌های کم لپیدوپتراهای غیر هدف با گرده یا سایر بافتهای گیاهی حاوی *Cry1Ab* اثرات این ماده بر این موجودات، ناچیز است. در پژوهشی آنالیز گروه‌های اصلی در ذرت (از نوع تولید کننده *Cry1Ab*) در مقایسه با گیاهان شاهد بدون تیمار حشره‌کش، کاهش سراسری در فراوانی آرتروپادها را نشان می‌دهد. این به دلیل کاهش در "انگل‌سانان" که آنهم به‌خاطر کاهش در فراوانی یک شکارگر تخصصی "پرده بالان"

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1391.5.2.5.1]

برای "انتروپاد" مورد هدف است، رخ می‌دهد. در بررسی‌های بیشتر در این آزمایش، نتایج نشان می‌دهند که این کاهش مربوط به تأثیرات ناشی از پروتئین *Cry1Ab* نیست و می‌تواند بیشتر به دلیل غیبت طعمه (شکار) باشد. این نکته به‌واسطه تحقیقات آزمایشگاهی که نشان دهنده عدم وجود تأثیر مستقیم یا غیرمستقیم بر "پرده‌بالان" هستند، تأیید می‌شود (۳). به‌علاوه صرفنظر از اثرات شکارگر تخصصی، هیچ تفاوت معنی‌داری بین جمعیت آرتروپادها در دو گروه ذرت Bt و شاهد وجود ندارد (تراریخته). به‌تازگی، یک آنالیز از پژوهش‌های مزرعه‌ای در مورد عنکبوت ضمن درنظرگرفتن تمایزاتی که بین کلاس‌های طبقه بندی مختلف عنکبوت‌ها بود، هیچ اختلاف معنی‌داری بین گیاهان *Cry1Ab* و گیاهان شاهد هم از نظر فراوانی نسبی طبقات و هم جمعیت کل گونه‌های عنکبوت مشاهده نشد. در بررسی تماس با *Cry1Ab* موجود در خاک بواسطه تجزیه مواد گیاهی بر اساس گزارش‌های متعدد، پروتئین‌های *Cry* موجود در گیاهان تراریخته می‌توانند با عناصر لایه‌های رسی در خاک اتصال یافته و از تجزیه میکروبی در امان بمانند، در حین اینکه همچنان خاصیت حشره‌کشی خود را حفظ می‌کنند. پژوهش‌های انجام شده در زمینه اثر ذرت تراریخته و پروتئین *Cry1Ab* روی نماتدهای خاک نیز نشان می‌دهد، تراوش‌ها یا تجزیه این گیاهان هیچ‌گونه اثر مخرب مستقیم روی این گروه از موجودات خاک ندارد (۶و۷و۱۱و۱۴).

۳- استقرار و ماندگاری گیاهان تولید کننده *Cry1Ab* در محیط زیست

آشنایی با بیولوژی گونه گیاه میزبان در محیط پذیرنده، شروع ارزیابی احتمال خطر گیاهان تراریخته است. اطلاعات حاصل از این داده‌ها را می‌توان برای شناخت مشخصات خاص گونه‌ای استفاده کرد. مشخصاتی مانند تولید دانه گرده و انتشار آن، میزان رشد و تولید مثل و سایر صفات، ممکن است تحت تأثیر صفت جدید انتقال داده شده قرار گیرد، به‌طوریکه گیاه تراریخته را برای محیط زیست زیانبار کند. همچنین این آشنایی می‌تواند جزییاتی در مورد اثرهای متقابل بین گیاه و سایر موجودات زنده روشن کند که ممکن است از نظر آسیب‌های بالقوه، مهم باشند. یک ارزیابی احتمال خطر، با در نظر گرفتن بیولوژی گیاهان میزبان یا بومی منطقه، می‌تواند خطرات بالقوه‌ای را که شاید به‌دلیل تولید و ظهور پروتئین‌های جدید (مانند *Cry1Ab*) پیش خواهد آمد، شناسایی کند و بنابراین می‌تواند احتمال شناسایی این خطرات را برآورد کند. برای نمونه، اگر یک گیاه بسیار اهلی باشد و برای رشد یا تولید مثل به طور قطعی به دخالت انسان نیاز داشته باشد، ارزیابی احتمال خطر می‌تواند این

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1391.5.2.5.1]

نکته را برای برآورد احتمال استقرار این گیاه در خارج از سیستم کشت لحاظ نماید (۳و۸).

ارزیابی فنوتیپ گیاه تراریخته

داده‌ها در مورد فنوتیپ گیاهان تراریخته تولید کننده *Cry1Ab* در بررسی‌های آزمایشگاهی، گلخانه‌ای و مزرعه‌ای جمع‌آوری شده است و در بررسی موضوع‌های زیر بکار رفته است: ۱- تشخیص هر نوع تغییرهای عمده در شکل گیاه که ممکن است برای محیط زیست خطرناک باشد؛ ۲- تشخیص هر نوع تغییرهای ناخواسته در بیولوژی گیاه که امکان تأثیر بر امنیت زیست محیطی دارد. پژوهش‌های بسیاری در مورد ویژگی‌هایی که ممکن است به بقا و ماندگاری آن گروه از گیاهان کمک کند (مانندخاصیت بالقوه علف هرز و ناخواسته بودن) و یا اثر منفی بر عملکرد کشاورزی بگذارد (مانند حساسیت به بیماری و داده‌های مربوط به محصول) صورت گرفته است (۳و۱۳).

- هرز و ناخواسته بودن در محیط کشاورزی

در بررسی‌های علف هرز بودن بودن ذرت‌های Bt در محیط‌های کشاورزی هیچ داده‌ای مبنی بر ارتباط تولید و ظهور پروتئین *Cry1Ab* با هرگونه افزایش در توان بقا در زمستان که باعث تغییر رفتار رشدی گیاه و شیوع ذرت "خودرو" در فصول رشد بعدی باشد، مشاهده نشد. انتظار نمی‌رود که این گیاهان "خودرو" تولیدکننده پروتئین *Cry1Ab* در فصل بعدی، مشکلی در مدیریت ایجاد کنند (۴و۱۱).

- هرز و ناخواسته بودن در محیط غیرکشاورزی

سازوکار اصلی ورود *Cry1Ab* به یک محیط غیرکشاورزی از طریق حرکت و استقرار گیاه تراریخته در خارج از منطقه کشت است و ژن از یک گیاه تراریخته به یک جمعیت بومی (یا اهلی) شده و یا به سایر خویشاوندان سازگار (از نظر جنسی) حرکت می‌کند. در خارج از سیستم کشاورزی، ذرت را به‌عنوان یک علف هرز مهاجم نمی‌شناسند. چرا که ذرت گیاهی به شدت ناتوان در استقرار بدون مداخله انسان است. نتایج پژوهش‌های موجود در این زمینه نشان می‌دهد که *Cry1Ab* اثرات معنی‌داری بر مشخصه‌های وابسته به "هرز و ناخواسته بودن" در محیط‌های غیرکشاورزی ندارد. اگرچه عنوان شده که دلیل موفقیت گونه‌های مهاجم رهایی از فاکتورهای کنترل بیولوژیک (شامل گیاه خواران حشره) است، ولی امکان ندارد خاصیت مقاومت به آفات لپیدوپترا در ذرت تولید کننده *Cry1Ab*، این گیاه را در محیط غیرکشاورزی مهاجم کند (۳و ۴و۹).

- حرکت و انتقال تراژن (ژن انتقال یافته) به خویشاوندان سازگار(از نظر جنسی)

حرکت تراژن از یک گیاه تراریخته به خویشاوندان وحشی آن از طریق گرده است.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1391.5.2.5.1]

تولید هیبریدهای زایا، وابسته به نزدیکی زمانی و فیزیکی گیاه با یک گونه سازگار از نظر جنسی است. ذرت، خویشاوند مهاجم یا گستردگی زیاد ندارد و انواع وحشی آن که از نظر کشاورزی و هیبریداسیون (برای تولید هیبرید) مورد نیاز هستند، مهم و مورد توجه هستند. ذرت به طور طبیعی با گیاه "Teosintes" وحشی تولید هیبرید می‌کند، اما گمان می‌رود ورود ژن به آن محدود است. گسترش جمعیت این گیاه وحشی محدود به مکزیک، گواتمالا و یک جامعه منفرد در نیکاراگوا است. درحالی‌که در مکزیک این گیاه به‌عنوان یک علف هرز بد و مشکل‌زا شناخته شده، در جاهای دیگر یک سودمندی محسوب می‌شود (۸و۱۴). پژوهشی که به‌تازگی روی برنج تراریخته حاوی این پروتئین صورت گرفته نشان می‌دهد که مقدار قابل ملاحظه‌ای از این پروتئین از طریق تراوشات برنج وارد خاک و آب موجود در مزرعه می‌شوند اما این پروتئین در طول مزرعه هیچ‌گونه حرکتی ندارد و بعد از دو ماه به کلی تجزیه شده و از بین می‌رود (۱۶).

۴- تغییرات ایجاد شده در ترکیبات کلیدی گیاه Bt

تجزیه و تحلیل ترکیب‌های کلیدی، یک ضرورت در کنترل و نظارت در زمینه مصوبه‌های ایمنی غذاهای تراریخته و تغذیه از آن‌ها است. انتخاب تجزیه و تحلیل‌ها وابسته به ماهیت محصول و هدف استفاده از آن دارد. به‌طور معمول، محصول‌های تراریخته مقاوم به آفات و تولید کننده *Cry1Ab* از نظر پروتئین و چربی خام، الیاف، رطوبت و خاکستر، اسید چرب ، آمینواسید، و همین‌طور متابولیت‌های ثانویه مهم که دارای خواص سمی یا ضد تغذیه‌ای هستند، تجزیه و تحلیل می‌شوند.داده‌های جمع‌آوری‌شده بسیاری نشان دهنده عدم تغییر ترکیب‌ها در این گروه از گیاهان است (۶و۴و ۱۴). اگر چه در برخی موارد ترکیب‌های گیاهان تراریخته و نرمال با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارد، اما از آنجائیکه این تغییرها در محدوده طبیعی هستند از نظر زیست‌محیطی مخاطره محسوب نمی‌شوند. بر اساس داده‌های موجود و تأیید آنها توسط EPA (Environmental Protection Authority) ، تا به حال هیچ‌گونه تغییر پیوسته در ترکیب‌های گیاهان تراریخته تولیدکننده پروتئین *Cry1Ab* مشاهده نشده است (۶و۱۴و۴).

نتیجه‌گیری

پروتئین *Cry1Ab* بیان شده در گیاهان تراریخته مقاوم به آفات که از باکتری " *Bacillus thuringiensis*" مشتق می‌شود مدت‌هاست که بی‌خطری آن برای مهره‌داران مشخص شده و تنها زیرمجموعه‌ای از لپیدوپتراها تحت تأثیر اختصاصی آن قرار می‌گیرند. آزمایش سمیت بر روی دامنه‌ای از نمونه موجودهای غیرهدف

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1391.5.2.5.1]

(NTOs) مقادیر سطح عدم ملاحظه اثرات قابل‌توجه (NOEL) را در غلظت‌هایی معادل ده برابر یا بیشتر از غلظت‌های مورد انتظار *Cry1Ab* در طبیعت نشان داده است. تجزیه و تحلیل‌های جامع در تحقیق‌های مزرعه‌ای بیان می‌کنند که کشت گیاهان Bt بر فراوانی جمعیت "انتروپاد"های غیر هدف، به استثناء حالتی که عامل شکارگران تخصصی حشره هدف تأثیر گذار است، تأثیر ندارد. ارزیابی‌های احتمال خطر مربوط به کنترل و نظارت بر محصول‌های تأیید شده، عنوان می‌دارد که احتمال کم تماس و در معرض قرارگیری، موجب خطر اضافی ناچیز در مقایسه با سایر اعمال کشاورزی می‌شود. بر اساس بسیاری از شواهد حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به فنوتیپ و ترکیب‌ها در تراریخته‌های تجاری شده گیاهان تراریخته، پروتئین Bt فیزیولوژی کل گیاه را تغییر نداده و امکان آنکه این گیاهان در مقایسه با همتای سنتی خود، مهاجم و هرز و ناخواسته شوند وجود ندارد. به طور کلی، در مرور جامعی که روی آخرین پژوهش‌ها و تحقیقات انجام شده صورت گرفت، نتایج نشان می‌دهند که پروتئین‌های گروه Bt Cry در گیاهان تراریخته هیچ گونه اثرسوء قابل ملاحظه‌ای روی موجودات غیر هدف یا موجودات سودمند برای محیط زیست از قبیل کرم‌های خاکی، شکارگرها، پارازیت‌ها و میکروفلور و بی‌مهرهای موجود در خاک ندارد. پژوهش‌های مزرعه‌ای منتشر شده و داده‌های ارائه شده به نهاد حفاظت از محیط زیست امریکا Environmental Protection Authority) EPA) نشان دهنده اثر قابل چشم‌پوشی آنها روی حشرات غیرهدف موجود در مزرعه است. آفت‌کش‌های Bt به عنوان آفتکش میکروبی مدت زیادی است که استفاده می‌شوند و از نظر دارا بودن ملاحظات احتمالی زیست محیطی به‌طور کامل ایمن معرفی شده‌اند. به‌هر حال EPA بطور دائم پژوهش‌های موجود در مؤسسه‌های ارزیابی خطرات زیست محیطی محصول‌های Bt را بررسی و پیگیری می‌کند تا وجود هر گونه خطر گزارش شده را سریع منتشر کند. نتایج نهاد حفاظت از محیط زیست امریکا (EPA) نشان می‌دهد که تأثیر استفاده بیش از حد سموم و کودهای شیمایی به مراتب، مخرب‌تر از تغییرهای جزئی مزارع گیاهان تراریخته (زیست‌بوم‌های تحت کنترل) است. با توجه به اینکه در حالت عادی گیاهان Bt به سمپاشی کمتری نیاز دارند، نتیجه جامع استفاده از گیاهان بیان‌کننده پروتئین‌های Bt Cry این است که تعداد آفت‌کش‌های بسیار کمتری در مورد محصولاتی که مورد حمله چندین آفت قرار می‌گیرند، استفاده می‌شود. بعلاوه در موارد بسیاری گزارش

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1391.5.2.5.1]

شده که گیاهان تراریخته به دلیل کاهش قابل توجه استفاده از سموم کشاورزی موجب افزایش تنوع زیست‌محیطی و در نتیجه آن، کشاورزی پایدارمی‌شوند.

منابع مورد استفاده: **Reference**

1. **Alejandra B, Supaporn L, Sarjeet S.G. and Soberón M. (2011).** Bacillus thuringiensis: A story of a successful bioinsecticide. Insect Biochemistry and molecular Biology. 47(7):423-431.
2. **Altosaar I. and Knudsen I. (2007).** A 90-day safety study of genetically modified rice expressing Cry1Ab protein (*Bacillus thuringiensis* toxin) in Wistar rats. Food and Chemical Toxicoogy. 45: 339–349.
3. **Baumgarte S. and Tebbe C. (2005).** Field studies on the environmental fate of the Cry1Ab Bt toxin produced by transgenic maize (MON810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere. Molecular Ecology. 14: 2539–2551.
4. **Center for Environmental Risk Assessment, ILSI Research Foundation. (2011).** A Review of the Environmental Safety of the Cry1Ab Protein. Environmental Biosafety Research. 10: 51–71.
5. **Erickson L.R. and Atnaseo C. (2011).**Transgenic Crops with Producer-Oriented Traits: Development, Application, and Impact. Comprehensive Biotechnology (Second Edition). Volume 4:121-131
6. **EUDG SANCO. (2010).** EU Pesticides Database [Search for Bacillus thuringiensis]. European Union Directorate General, Health and Consumers (EU DG SANCO) Brussels, Belgium.
   http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm?event=activesubstance.selection.
7. **Griffiths B.S, Caul S., Thompson J, Birch A.N.E, Scrimgeour C, Andersen M.N, Cortet J, Messean A, Sausse C, Lacroix B. and Krogh P.H. (2005).** A comparison of soil microbial community structure, protozoa and nematodes in field plots of conventional and genetically modified maize expressing the Bacillus thuringiensis Cry1Ab toxin. Plant Soil 275:135–146.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1391.5.2.5.1]

8. **Griffiths B.S, Heckmann L.H, Caul S., ThompsonJ, Scrimgeour C. and Krogh P.H. (2007).** Varietal effects of eight paired lines of transgenic Bt maize and near-isogenic non-Bt maize on soil microbial and nematode community structure. Plant Biotechnology. Journal 5: 60–68.

9. **Heckmann L.H, Griffiths B.S, Caul S., Thompson J, Pusztai-Carey M.N, Moar W.J, Andersen M.N. and Krogh P.H. (2006).** Consequences for rotaphorura armata (Collembola: Onychiuridae) following exposure to genetically modified Bacillus thuringiensis (Bt) maize and non-Bt maize. Environmental Pollution. 142: 212–216.

10. **Icoz I. and Stotzky G. (2008).** Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems. Soil Biology and Biochemistry. 40: 559–586.

11. **Mendelsohn M, Kough J, Vaituzis Z. and Matthews K. (2003).** Are Bt crops safe? Nature Biotechnology. 21 (9): 1003–1009.

12. **O'Callaghan M, Glare T.R, Burgess P.J. and Malone L. A. (2005).** Effects of plants genetically modified for insect resistance on nontarget organisms .Annual Review of Entomology. 50: 271-292

13. **Shimad N, Kim Y.S, Miyamoto K, Yoshioka M. and Murata H. (2003).** Effects of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin on mammalian cells. Journal of Veterinary Science 65 (2): 187–191.

14. **USDA, Agricultural Research Service. (2004).** USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 16-1. Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>.

15. **Walker K. and Frederick R. (2011).** Entomological Risks of Genetically Engineered Crops. Encyclopedia of Environmental Health. Pages 306–314

16. **Yongmo W.g, Huawei H., Jiacheng H., Jianhong L., Biao L. and Guoan Z. (2013).** Determination of the movement and persistence of Cry1Ab/1Ac protein released from Bt transgenic rice under field and hydroponic conditions. Soil Biology and Biochemistry .58: p.107–114

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-29]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1391.5.2.5.1]