مجله ایمنی زیستی
دوره ۱۰، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۶

تولید گیاهان تراریخته مقاوم به علف‌کش بستا

علی اکبر غلامی
دانش آموخته کارشناسی ارشد، رشته بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

Gholami.2359@gmail.com

چکیده

رشد علف‌های هرز یکی از مشکلات مهم کشاورزی در جهان است که اثر سوء در بازده و کیفیت بسیاری از گیاهان زراعی مهم اقتصادی دارد. روش‌های کنترل مکانیکی، زراعی، فیزیکی، بیولوژیکی، شیمیایی (علف‌کش‌ها) و ژنتیکی برای مبارزه با علف‌های هرز به‌کار می‌رود. علف‌کش‌ها یکی از موثرترین ابزارهای کشاورزان در مبارزه با علف‌های هرز است. استفاده از این مواد شیمیایی کشاورزی به‌طور قابل‌توجهی در سال‌های اخیر به‌ویژه در کشورهایی که دارای سیستم کشاورزی پیشرفته هستند، افزایش یافته است. ورود یا تکامل جمعیت‌های علفی مقاوم به علف‌کش، یک مساله جدی برای علف‌کش‌های اختصاصی است که کاربرد علف‌کش‌های عمومی را تشویق می‌نماید. اما مشکل اصلی علف‌کش‌های عمومی، عدم امکان استفاده از آن‌ها در طول کشت محصول در مزرعه می‌باشد. با توجه به این معضل و همچنین به دلیل اثرات سوء علف‌های هرز در بازده و کیفیت محصولات زراعی، انجام پروژه‌هایی با هدف توسعه گیاهان تراریخته مقاوم به علف‌کش ضروری به نظر می‌رسد. این امر باعث کاهش مصرف سموم در کشاورزی و کاهش هزینه تولید از طریق مصرف کمتر سم و عدم استخدام کارگر و وجین‌کار می‌شود. تولید گیاهان تراریخت مقاوم به علف‌کش عمومی، یکی از اولویت‌های کشاورزی و زیست‌فناوری دنیا و همچنین ایران است تا با کاربرد آن‌ها مصرف سموم کشاورزی و هزینه‌های تولید کاهش یابد.

کلمات کلیدی: علف‌کش‌ها، علف‌کش بستا، گیاهان تراریخته

مقدمه

علف‌های هرز با رقابت بر سر منابع مختلف با گیاهان زراعی در طول فصل رشد، باعث کاهش کمی و کیفی محصولات زراعی می‌شوند. با توجه به این‌که علف‌کش‌ها یکی از موثرترین ابزارهای کشاورزان در مبارزه با علف‌های هرز هستند و برنامه‌های کاربردی در جهت استفاده از علف‌کش‌ها منجر به افزایش قابل توجه در بازده محصولات زراعی می‌شود، بنابراین ایجاد گیاهان مقاوم به علف‌کش‌های عمومی به‌منظور انعطاف‌پذیری در زمان کاربرد علف‌کش‌ها و همچنین کاهش تعداد دفعات کاربرد آن‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.4.7.2]

روش مبارزه ژنتیکی با علف‌های هرز

یک تغییر بزرگ در تکنولوژی کنترل علف‌های هرز در سال‌های اخیر تولید گیاهان زراعی است که از نظر فیزیولوژیکی به علف‌کش‌های غیرانتخابی مقاوم هستند. این روش از طریق روش‌های اصلاح کلاسیک و یا مهندسی ژنتیک انجام می‌گیرد. چند رقم از گیاهان زراعی از طریق روش‌های اصلاح سنتی به علف‌کش‌های غیر انتخابی برای کنترل انتخابی علف‌های هرز در آن گیاه زراعی مقاوم شده‌اند. روش‌های اصلاح سنتی اغلب آهسته بوده و لاین‌های مقاوم به دست آمده، کم هستند (۲). در بین استراتژی‌های مختلف برای افزایش مقاومت به تنش‌ها در گیاهان، انتقال مستقیم ژن به‌وسیله مهندسی ژنتیک بسیار سودمند است. تاکنون مطالعات زیادی در راستای ایجاد انواع گیاهان زراعی مقاوم به علف-کش‌های مختلفی مثل علف‌کش کلرتولورون در سیب‌زمینی (۱۲، ۱۳) و توتون (۲۲)، علف‌کش بروموکسینیل در توتون (۲٤) ، علف‌کش فنمدیفام در اسفناج، توتون، توت‌فرنگی، گل بابونه و چغندرقند (۲۵)، علف‌کش کلروسولفورون در برنج (۱۷)، توتون و کلزا (۱۱) و چغندرقند (۱۰)، علف‌کش گلیفوسیت در گل اطلسی (۱٤) و گوجه فرنگی (٤)، انجام شده است.

انواع علف‌کش‌ها و ژن‌های عامل مقاومت به آن‌ها

علف‌کش کلرتولورون

سیتوکروم P450 مونواکسیژنازها در گیاهان عالی نقش مهمی در متابولیسم اکسیداتیو ترکیبات چربی‌دوست درون‌زا و برون‌زا دارند. به‌ویژه انواع P،450 که در متابولیسم علف‌کش‌ها نقش دارند، به‌نظر می‌رسد که برای انتخاب و مقاومت به علف‌کش‌ها مهم باشند. تاکنون ۱۱ نوع P450 در کبد انسان که در متابولیسم بیش از ۹۰ درصد از داروها نقش دارند، گزارش شده است. این ۱۱ نوع شامل CYP1A1، CYP1A2، CYP2A6، CYP2B6، CYP2C8، CYP2C9، CYP2C18، CYP2C19، CYP2D6، CYP2E1 و CYP3A4 هستند. هر کدام از آن‌ها چند ماده شیمیایی را با ساختارهای مختلف متابولیزه می‌کند، در حالی‌که یک ماده شیمیایی به‌وسیله چند نوع P450 در انواع خانواده‌ها متابولیزه می‌شود (۱۲).

علف‌کش بروموکسینیل

علف‌کش بروموکسینیل (۳ و۵-دی برومو-٤-هیدروکسی بنزونیتریل) ممانعت‌کننده فتوسنتز در گیاهان است. ژن *bxn* کدکننده یک نیتریلاز خاص که برموکسینیل را به متابولیت اولیه ۳ و۵-دی برومو-٤-هیدروکسی‌بنزوئیک تبدیل می‌کند، از باکتری خاکزی *Klebsiella ozaenae* استخراج می‌شود. انتقال این ژن و بیان نیتریلاز مخصوص بروموکسینیل در برگ‌های گیاه توتون، باعث مقاومت زیاد به فرمولاسیون شیمیایی بروموکسینیل شد (۲٤).

علف‌کش دالاپون

یک ژن از باکتری *Pseudomonas putida* کدکننده دهالوژناز (*Dehl*) که قادر به تخریب ۲ و۲-دی کلروپروپیونیک اسید (ماده فعال علف‌کش دالاپون) است، استخراج شد. انتقال این ژن به گیاهان باعث مقاومت به علف‌کش دالاپون شده و می‌تواند به عنوان عامل انتخاب‌گر استفاده شود (۵).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.4.7.2]

علف‌کش 2,4-D

فنوکسی استیک اسید، مثل 2,4-D و MCPA (Chloro methylphenoxyacetic acid) زمانی‌که روی گیاهان استفاده می‌شود، فعالیتی مشابه اکسین نشان می‌دهد. غلظت‌های بالای اکسین سنتتیک برای بسیاری از گیاهان دولپه‌ای سمی است. این ماده به عنوان علف‌کش به صورت انتخابی برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ غلات و گیاهان زراعی علفی استفاده می‌شود. یک روش مفید برای تولید گیاهان مقاوم به 2,4-D که فنوتیپ نرمالی را نشان دهند، انتقال یک ژن به داخل سلول‌های گیاهی است که بتواند 2,4-D را به ترکیبات با سمیت کم تبدیل کند. ژن *tfdA* از باکتری خاکزی *Alcaligenes eutrophus* یک 2,4–دی کلروفنوکسی استات مونواکسیژناز (DPAM) را کد می‌کند. این آنزیم اولین آنزیم درگیر در مسیر تخریب 2,4-D بوده و تنها پلی‌پپتیدی است که قادر به حذف زنجیره جانبی استات 2,4-D در یک واکنش مشابه مونواکسیژناز است.

علف‌کش فن‌مدیفام

فن‌مدیفام یکی از اعضای ترکیبات کاربامات است که به‌عنوان ممانعت کننده از فتوسنتز در گیاهان عالی عمل می‌کند. تعداد کمی از گیاهان مثل اسفناج (*Spinacia oleracea*)، توت‌فرنگی (*Fragaria sp*)، گل بابونه (*Chamaemelum nobile*) و چغندرقند (*Beta vulgaris*) به این ترکیب مقاوم شده‌اند. این علف‌کش به عنوان علف‌کش پس‌رویشی انتخابی استفاده می‌شود. فن‌مدیفام در ابتدا به هیدروکسی فن‌مدیفام، هیدروکسیله می‌شود که هنوز فعالیت علف‌کشی دارد. در یک مرحله گلیکوزیله شدن، مشتقات هیدروکسی به گلیکوزید تبدیل می‌شود که فعالیت علف‌کشی ندارد (۲۵).

علف‌کش کلرسولفورون

یکی از منابع ژن‌های مقاومت به علف‌کش، گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) است. این گیاه انتخاب مستقیم موتانت‌های نادر مقاوم به علف‌کش را تسهیل می‌کند. با استفاده از این موتانت‌ها می‌توان یک لاین موتانت آرابیدوپسیس که حداقل به دو علف‌کش سولفونیل اوره مختلف (کلروسولفورون و سولفومتورون متیل) مقاوم است را شناسایی کرد (۱۱). استولاکتات سنتاز (ALS) اولین آنزیم رایج در مسیر بیوسنتز زنجیره‌های جانبی آمینواسیدهای لوسین، ایزولوسین و والین است. علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره از عمل آنزیم ALS مثل ممانعت‌کننده رقابتی ممانعت می‌کند. یک ژن ALS جهش‌یافته (*csrl*-1) از لاین‌های جهش‌یافته آرابیدوپسیس مقاوم به سولفونیل‌اوره جداسازی شد. جهش، ناشی از جایگزینی نوکلئوتید C به T در نوکلئوتید ۷۸۰ مربوط به کدون آغاز در توالی کدکننده ALS است که منجر به جایگزینی پرولین به سرین در یک منطقه حفاظت شده از توالی آمینواسیدی ALS است. آنزیم جهش یافته، تمایل کمتری به علف‌کش سولفونیل‌اوره در آرابیدوپسیس دارد (۱۷).

علف‌کش گلایفوسیت

گلایفوسیت (N–فسفونومتیل گلیسین) یک علف‌کش عمومی قوی است که از رشد علف‌های هرز و گیاهان زراعی ممانعت می‌کند. این علف‌کش یک مهارکننده قوی آنزیم ۵- انول پیرویل شیکیمات-۳- فسفات سنتاز (EPSP سنتاز) در گیاهان عالی است. آنزیم

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.4.7.2]

EPSP سنتاز یک آنزیم مهم در بیوسنتز آمینواسیدهای آروماتیک است که قسمتی از انول پیرویل ترکیب فسفوانول پیرویل را به شیکیمات-۳-فسفات کاتالیز می‌کند. ممانعت از عمل آنزیم EPSP سنتاز بوسیله گلایفوسیت از بیوسنتز کوریسمات مشتق شده از آمینواسیدهای آروماتیکی و متابولیت‌های ثانویه جلوگیری می‌کند (۱٤).

علف‌کش متولاکلر

این علف‌کش به صورت گسترده برای کنترل علف‌های هرز پهن برگ و علفی در گیاهان مختلفی مثل ذرت و سویا استفاده می‌شود. آلاکلر یک علف‌کش پیش رویشی از این علف‌کش‌هاست که برای گیاهان جوان استفاده می‌شود. این علف‌کش از طریق ریشه‌ها جذب شده و از طریق ریشه‌ها به بخش‌های هوایی منتقل می‌شود و از طویل شدن سیستم ریشه و توسعه اندام‌های هوایی گیاهان جوان ممانعت می‌کند. آنزیم گلوتاتیون S-ترانسفراز (GST) یک گروه چندژنه از آنزیم‌های سمیت‌زدا است که انواع مختلفی از سوبستراهای درون‌زا و برون‌زا مثل علف‌کش‌ها را تغییر می‌دهد (۱۵).

علف‌کش فسفینوتریسین

بیالافوس به عنوان متابولیت ثانویه در باکتری‌های *Streptomyces hygroscopicus* و *Streptomyces viridochromogenes* تولید می‌شود که فعالیت علف‌کشی دارد (۱٦). این ترکیب یک علف‌کش عمومی با سمیت زیاد برای گیاهان زراعی و همچنین علف‌ها است. به صورت تجاری در دسترس است و به دلیل این‌که به آسانی متابولیزه شده و تخریب می‌شود، به‌صورت گسترده استفاده می‌شود. بیالافوس از دو آمینواسید L-آلانین و یک آنالوگ گلوتامین که به عنوان فسفینوتریسین شناخته می‌شود، تشکیل شده است. بعد از حذف آمینواسیدهای آلانین توسط پپتیدازهای درون‌سلولی، فسفینوتریسین (PPT) فعال که یک ممانعت‌کننده از آنزیم گلوتامین سنتاز است، آزاد می‌شود و برای باکتری‌ها و گیاهان سمی است. مهار گلوتامین سنتاز توسط PPT (با نام تجاری بستا) باعث تجمع سریع آمونیاک درون‌سلولی می‌شود که برای سلول‌های گیاهی سمی است (۱).

علف‌کش PPT

به‌عنوان ممانعت کننده قوی آنزیم گلوتامین سنتاز عمل می‌کند. ممانعت از این آنزیم باعث تجمع آمونیاک در سلول و در نتیجه مرگ سلول می‌شود. این آنزیم انتهای NH_2 فسفینوتریسین را استیله می‌کند(۱). بنابراین یک روش برای به‌دست آوردن گیاهان مقاوم به این علف‌کش، انتقال یک آنزیم است که بتواند فسفواینوتریسین را سمیت‌زدایی کند. ژن *bar* باکتری *Streptomyces hygroscopicus* آنزیم فسفواینوتریسین استیل ترانسفراز (PAT) را کد می‌کند که این آنزیم گروه NH_2 آزاد PPT را استیله می‌کند در نتیجه از سمیت آن جلوگیری کرده و باعث مقاومت به علف‌کش بستا می‌شود (۷). مقاومت به علف‌کش PPT (بستا) در گیاهان تراریخت از طریق بیان کلروپلاستی و هسته‌ای ژن *bar* گزارش شده و نتایج حاکی از باززایی موفق اکثر گیاهان مورد مطالعه و بروز مقاومت قابل قبول آن‌ها به این علف‌کش است (۱۸). ژن مقاومت به علف‌کش بستا تاکنون به گیاهان کلزا (۱۰)، سیب‌زمینی شیرین (۳۰، ۲۹، ۷)، توتون (۱۸)، ذرت(۲۹) برنج(۲۰، ٦، ۲۷)، چغندر قند (۱۰)،

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.4.7.2]

گندم (۲۸)، گل اطلسی (۱) و سیب‌زمینی (۸، ۲۳، ۹) با موفقیت منتقل شده و ارقام مقاوم به این علف کش ایجاد شده است.

پیشینه تحقیق

به دلیل اثرات سوء علف‌های هرز در عملکرد و کیفیت محصول گیاهان زراعی و همچنین افزایش قابل توجه درعملکرد محصولات زراعی در صورت استفاده از علف‌کش‌ها، انجام پروژه‌هایی با هدف توسعه گیاهان تراریخته مقاوم به علفکش ضروری به نظر می‌رسد. فسفواینوتریسین ماده فعال چند علف‌کش تجاری مثل بستا می‌باشد که به‌عنوان عامل گزینش کلون‌های تراریخته و هم برای کنترل علف‌های هرز در مزارع گیاهان تراریخته استفاده می‌شود. با توجه به استفاده گسترده، از مزایای ارقام زراعی مقاوم به علف‌کش کاهش سمیت آن‌ها برای انسان، حیوانات و محیط و مقبولیت زیاد آن‌ها توسط کشاورزان بخاطر حذف عملیات وجین می‌باشد (۲۳). مقاومت به علف‌کش PPT در گیاهان تراریخت از طریق بیان کلروپلاستی و هسته‌ای ژن *bar* گزارش شده است (۱۸). در زیر، تحقیقات انجام شده در خصوص ایجاد گیاهان مختلف تراریخت مقاوم به علف‌کش بستا عنوان می‌شوند:

چمن تراریخت مقاوم به علف‌کش بستا: کالوس‌های جنینی از بذرهای دو گیاه چمن *Agrostis palustris* و *Agrostis tenuis* با آگروباکتریوم سویه LBA4404 حاوی پلاسمید دارای ژن *bar* هم‌کشت شدند. بعد از سه روز هم‌کشتی کالوس‌ها شسته شده و به محیط MS حاوی ۲mg/L،2,4-D ۱۵-۱۲mg/L PPT و ۲۵۰mg/L سفوتاکسیم منتقل شدند. بعد از ۳-۲ ماه گزینش، کالوس‌هایی که رشد خوبی داشتند به محیط MS حاوی ۱۵-۱۲mg/L PPT و ۲۵۰mg/L سفوتاکسیم برای باززایی منتقل شدند. گیاهان تراریخت در محیط MS با ۳mg/L PPT برای مدت طولانی نگهداری شدند، در حالی‌که گیاهان شاهد در عرض یک ماه از بین رفتند. در شرایط گلخانه نیز گیاهان تراریخت به علف‌کش بستا مقاوم بودند، درحالی‌که گیاهان شاهد بعد از ۲ هفته از بین رفتند (۱۹).

کلزا و کلم تراریخت مقاوم به علف‌کش: جنس *Brassica* شامل چند گیاه زراعی مهم است. از این میان کلزا یکی از گیاهان روغنی مهم و کلم یکی از سبزیجات مهم می‌باشد. یک روش انتقال ژن کارآمد و تا حدی مستقل از ژنوتیپ برای کلزا و کلم وحشی براساس ژن‌های *neo* یا *bar* به عنوان ژن‌های انتخاب‌گر انجام شد. ریزنمونه‌های کوتیلدون این دو گیاه با آگروباکتریوم سویه C58C1Rif حاوی ژن‌های *neo* و *bar* تلقیح شدند. استفاده از AgNO3 یک پیش‌نیاز برای باززایی موثر ساقه‌ها تحت شرایط انتخابی بود. گزینش در ۵۰mg/L کانامایسین و ۲۰mg/L PPT انجام شد. ساقه‌های تراریخت ریشه‌دار بعد از ۱۲-۹ هفته به دست آمدند. ساترن بلات و آنالیز مولکولی نشان داد که گیاهان تراریخت حاوی ۳-۱ کپی از ژن‌های انتقال یافته هستند. گیاهان تراریخت با غلظت ۸L/ha علف‌کش بستا اسپری شدند و مقاومت زیادی نشان دادند، در حالی‌که گیاهان شاهد با غلظت ۲L/ha بستا از بین رفتند (۳).

چغندرقند تراریخت مقاوم به علف‌کش: چغندرقند برای مقاومت به علف‌کش گلوفوسینات به‌وسیله

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.4.7.2]

انتقال ژن مقاومت به بیالافوس (*bar*) مهندسی شد. گیاهان چغندرقند تراریخت که ژن *bar* را بیان کردند، در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای نسبت به این علف‌کش مقاومت نشان دادند (۱۰).

سیب‌زمینی شیرین تراریخت مقاوم به علف‌کش: سیب‌زمینی شیرین (*Ipomoea batatas*) هفتمین محصول زراعی مهم از نظر تولید در جهان بوده و به عنوان یک محصول کم نهاده با عملکرد پایدار تحت شرایط کمتر از حد مطلوب است و به‌دلیل مقاومت به خشکی و خاک‌های ضعیف، قادر به رشد در اراضی حاشیه‌ای که برای رشد غلات مناسب نیستند، می‌باشد. با این‌حال تولید این گیاه در بسیاری از مناطق جهان بوسیله آفات، بیماری‌ها و به‌ویژه عدم کنترل موثر علف‌های هرز محدود می‌شود. Choi و همکاران، گیاه سیب‌زمینی شیرین تراریخت که مقاوم به علف‌کش بود را از طریق انتقال ژن بوسیله آگروباکتریوم بوجود آوردند (۷). کالوس‌های جنینی که از مریستم انتهایی ساقه گرفته شده بودند، با آگروباکتریوم سویه EHA105 دارای وکتور pCAM-BIA3301 که حاوی ژن *bar* بود، تلقیح شدند. کالوس‌ها و گیاهان مقاوم به PPT به ترتیب با ۵mg/L و ۲/۵mg/L PPT گزینش شدند. گیاهان رشد یافته در خاک، ۳۶–۲۸ هفته بعد از تلقیح با اگروباکتریوم به دست آمدند. انتقال ژنتیکی گیاهان باززا شده که تحت شرایط گزینشی رشد کردند، بوسیله PCR نشان داده شد و آنالیز ساترن بلات نشان داد که ۳–۱ کپی از ژن داخل ژنوم هر کدام از گیاهان تراریخت وارد شده است. بیان ژن *bar* بوسیله RT-PCR و کاربرد علف‌کش تایید شد. گیاهان تراریختی که با علف‌کش بستا (۹۰۰mg/L گلیفوسینات آمونیوم) اسپری شدند سبز و سالم باقی ماندند (۷).

همچنین تولید کارآمد سیب‌زمینی شیرین تراریخت با استفاده از ژن *bar* برای مقاومت به علف‌کش از طریق کشت سوسپانسیون سلولی و انتقال ژن توسط آگروباکتریوم به دست آمد. سوسپانسیون سلول‌های گیاهی با آگروباکتریوم سویه EHA 105 حاوی وکتور pCAMBIA3300 با ژن *bar* هم کشت شدند. گزینش با استفاده از ۵mg/L PPT انجام شد. ۱۴۳۱ گیاه از تلقیح ۸۷۰ سلول از طریق جنین‌زایی سوماتیکی تولید شد. آنالیز PCR گیاهان باززا شده که به صورت تصادفی نمونه‌برداری شدند نشان داد که ۸۶/۵ درصد از گیاهان، تراریخت بودند. ورود موفق ژن *bar* به داخل ژنوم گیاهان تراریخت بوسیله ساترن بلات و بیان ژن بوسیله نورترن بلات تایید شد. این گیاهان تراریخت با ژن *bar* در شرایط طبیعی نیز مقاومت به علف‌کش نشان دادند (۳۰).

در تحقیق دیگری که توسط Yi و همکاران انجام شد، سیب‌زمینی شیرین مقاوم به علف‌کش از طریق بمباران کالوس‌های جنین‌زای مشتق شده از مریستم انتهایی ساقه به دست آمدند. مواد گیاهی با وکتور حاوی ژن *gusA* (β-glucuronidases) ژن *bar* بمباران شدند. گزینش، با استفاده از PPT انجام شد. آزمایش‌های PCR و ساترن‌بلات، وجود ژن *bar* را در DNA ژنومی گیاهان تراریخت نشان داد. زمانی‌که با علف‌کش اسپری شدند، گیاهان تراریخت نسبت به علف‌کش مقاومت نشان دادند (۲۹).

توتون تراریخت مقاوم به علف‌کش: Lutz و همکاران، ژن *bar* باکتریایی را به پلاستید گیاه توتون (*N. tabacum* cv. Petit Havana) انتقال دادند که باعث

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.4.7.2]

مقاومت در سطح مزرعه به لیبرتی Liberty که علف‌کش حاوی PPT است، شد. آن‌ها همچنین انتقال یک ژن *bar* سنتتیک با سطح بیان بالا (۷ درصد از کل پروتئین محلول سلول) در گیاهان را گزارش دادند. از آن‌جایی‌که انتقال ژن‌های پلاستید از طریق گرده انجام نمی‌شود، قرار دادن ژن *bar* در ژنوم پلاستید، گزینه خوبی نسبت به ادغام آن در ژنوم هسته‌ای می‌باشد (۱۸).

برنج تراریخت مقاوم به علف‌کش: برنج (*Oryza sativa*) یکی از گیاهان زراعی بسیار مهم در جهان و منبع اصلی غذایی به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه است. در حال حاضر برای مهندسی ژنتیک برنج، انتقال سلول‌های برنج و باززایی گیاهان تراریخت با استفاده از روش‌های مختلف امکان‌پذیر است. ژن *bar* برای گزینش پروتوپلاست گیاه برنج تراریخت برای تولید برنج مقاوم به علف‌کش استفاده شد. پروتوپلاست‌های به دست‌آمده از کشت‌های سوسپانسیون سلولی مربوط به کالوس‌های جنین نابالغ با استفاده از جذب DNA از طریق PEG (Polyethylene glycol) تراریخت شدند. کالوس‌های تراریخت ٤-۲ هفته بعد از قرارگیری کالوس‌های مشتق شده از پروتوپلاست روی محیط حاوی PPT گزینش شدند. کالوس‌های مقاوم به PPT قادر به باززایی گیاه بودند. آزمایش‌های آنزیم PAT، بیان ژن *bar* را در گیاهان به دست آمده از کالوس‌های مقاوم به PPT تایید کرد. وضعیت تراریختی گیاهان بوسیله آنالیز ساترن بلات مشخص شد. کارآیی انتقال همزمان با یک ژن گزارشگر، *gusA*، ۳۰ درصد بود. آنالیز ساترن بلات تایید کرد که هر دو ژن *bar* و *gusA* به فرزندان منتقل شدند. هر دو ژن در نسل‌های T_1 و T_2 بیان شدند و نسبت به علف‌کش بستا مقاوم بودند (۲۰).

در تحقیق دیگر گیاهان برنج تراریخت مقاوم به بستا بیان کننده ژن *bar* تحت کنترل پروموتور یوبی‌کوئیتین ذرت با میسلیوم پاتوژن بیماری سوختگی غلاف (*Rhizoctonia solani*) تلقیح شدند و بعد از استفاده از علف‌کش به‌طور کامل از علایم بیماری محافظت شدند. بنابراین این روش می‌تواند طراحی استراتژی‌های جدید زراعی را برای کنترل علف‌های هرز و پاتوژن‌های قارچی در مزارع گیاهان تراریخت بیان‌کننده ژن *bar* امکان‌پذیر سازد. این علف‌کش علاوه بر سمیت روی علف‌های هرز، برای پاتوژن‌های قارچی مثل قارچ *R. solani* عامل بیماری سوختگی غلاف برنج و *Pyricularia oryzae* عامل بلاست برنج سمی می‌باشد. این علف‌کش در گیاه برنج تراریخت مقاوم به علف‌کش به عنوان وسیله‌ای برای حفاظت در برابر بیماری‌های قارچی نیز استفاده شد. گیاهان تراریختی که تیمار نشدند، علایم بیماری را نشان دادند (۲۷).

در تحقیقی دیگر سوسپانسیون سلولی گیاه برنج (*O. sativa*) از طریق بمباران ذره‌ای با پلاسمید حاوی ژن *bar* تحت کنترل هم ناحیه '5 ژن اکتین برنج (Act1) و هم پروموتور S۳۵ بمباران شدند. گیاهان باززا شده فعالیت قابل تشخیصی از پروتئین PAT نشان داده و به علف‌کش بستا مقاوم بودند. تجزیه و تحلیل ساترن‌بلات گیاهان مقاوم به علف‌کش، حاکی از وجود یک کپی از ژن بود. این گزارش نشان داد که بیان ژن *bar* در گیاهان برنج تراریخته باعث مقاومت به علف‌کش PPT از طریق ممانعت از افزایش

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.4.7.2]

آمونیاک در گیاه بعد از اسپری با علف‌کش می‌شود (٦).

گیاه کاساوای مقاوم به علف‌کش: گیاهان تراریخت کاساوا (*Manihot esculent*) مقاوم به علف‌کش بستا از طریق انتقال ژن توسط آگروباکتریوم به دست آمدند. کوتیلدون‌های مشتق شده از جنین سوماتیکی به‌عنوان ریزنمونه استفاده شدند. یک سویه خلع سلاح نشده آگروباکتریوم (CIAT 1182) برای انتقال ژن مورد نظر به رقم MPer183 کاساوا (مانیوک) استفاده شد. آزمایش‌های گلخانه‌ای مقاومت به علف‌کش بستا، سه لاین گیاهی با سطوح مختلف مقاومت را نشان دادند (۲۱).

اطلسی تراریخت مقاوم به علف‌کش: آزمایشی برای تولید گل اطلسی (*P. bybrid*) تراریخت مقاوم به علف‌کش انجام شد. باززایی بهینه ساقه در محیط MS حاوی ۰/۱mg/L NAA (Naphthaleneacetic acid) و ۱mg/L BAP (Benzylaminopurine) به‌دست آمد. در این شرایط، قطعات برگ گل اطلسی با آگروباکترم LBA4404 حاوی ژن *nptII* و *bar* به‌ترتیب برای مقاومت به کانامایسین و فسفینوتریسین هم‌کشت شدند. ساقه‌های اطلسی مقاوم به ۱۰۰mg/L کانامایسین و ۱۰mg/L بیالافوس در محیط کشت از طریق یک فرآیند دو مرحله‌ای گزینش و باززایی به دست آمدند. وجود ۱۰۰mg/L کانامایسین در محیط ریشه‌زایی، به شدت از تولید ریشه جلوگیری کرد، ولی بیالافوس به توانایی گیاهچه‌ها برای تولید ریشه تاثیری نداشت. آنالیز PCR و ساترن بلات نشان داد که این دو ژن در ژنوم اطلسی وارد شده است (۱).

گندم تراریخت مقاوم به علف‌کش: گیاه گندم تراریخت مقاوم به علف‌کش بستا از طریق بمباران ذره‌ای به دست آمد. پلاسمید pBARGUS برای انتقال ژن گزینش‌گر*bar* به داخل سلول‌های کالوس‌های جنین‌زا استفاده شد. فعالیت آنزیم PAT که از طریق ژن *bar* تولید می‌شود، در چهار لاین کالوس تراریخت مستقل و مقاوم به علف‌کش بستا مشاهده شد. تجزیه و تحلیل ساترن بلات وجود ژن *bar* را در همه لاین‌ها تایید کرد. گیاهان تراریخت نسل‌های R_0، R_1 و R_2 به علف‌کش بستا مقاومت نشان دادند (۲۸).

ذرت تراریخت مقاوم به علف‌کش: در مطالعه‌ای، انتقال ژن به ذرت (*Zea mays*) با استفاده از سیستم بیناری وکتور آگروباکتریوم انجام شد. جنین‌های نابالغ لاین هیبرید Hi II با آگروباکتریوم EHA101 حاوی بیناری وکتور استاندارد دارای ژن گزینش‌گر *bar* و ژن گزارشگر *gus* تحت کنترل پروموتور ۳۵S تلقیح شده و در حضور ٤۰۰mg/L L–سیستئین هم کشت شدند. وجود L–سیستئین در محیط هم‌کشتی، منجر به بهبود بیان موقت بتا–گلوکورونیداز و افزایش کارآیی انتقال ژن می‌شود، اما باعث کاهش پاسخ جنین بعد از هم‌کشتی می‌گردد. متوسط کارآیی انتقال پایدار ۵/۵ درصد بود. ساترن بلات و تجزیه و تحلیل این گیاهان ورود و بیان ژن‌های *bar* و *gus* را در نسل‌های R_0، R_1 و R_2 تایید کرد (۲۹).

سیب‌زمینی تراریخت مقاوم به علف‌کش: بعضی از ویژگی‌های ژنتیکی سیب‌زمینی شامل پلی‌پلوئیدی، خودناسازگاری و هتروزیگوتی بالا، کاربرد روش‌های اصلاح کلاسیکی را در این گیاه دشوار کرده است. روش‌های مهندسی ژنتیک بوسیله انتقال ژن از طریق

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.4.7.2]

اگروباکتریوم روش‌های مناسبی را ارائه می‌دهند که برخی از ویژگی‌های مفید می‌تواند مستقیما به ارقام سیب‌زمینی که از لحاظ اقتصادی مهم هستند، انتقال داده شود. کشت مریستم سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای، تقریبا از اواسط دهه ۱۹۷۰ آغاز شد. انتقال ژن از طریق اگروباکتریوم برای انتقال ژن‌های خارجی به ارقام مختلف سیب‌زمینی در سراسر جهان استفاده شده است (۲٦).

ریزنمونه‌های میان‌گره سیب‌زمینی به دلیل دستکاری آسان در محیط کشت و پتانسیل بالای باززایی آن‌ها هدف مناسبی برای افزایش کارایی انتقال ژن هستند. در مطالعه‌ای که توسط Soto و همکاران انجام شد، توسعه سریع و کارآمدی برای انتقال ژن به ساقه سیب‌زمینی از طریق آگروباکتریوم با استفاده از PPT به عنوان یک عامل انتخابی توصیف شد. این روش با کارآیی انتقال ٦٨ درصد، ساقه‌های تراریخت بعد از ٤-٥ هفته در حضور ۲mg/L فسفوانیوتریسین را نتیجه داد. وجود ژن *bar* در ژنوم گیاهان مقاوم از طریق PCR تایید شد. این گیاهان تراریخت به گلخانه منتقل شده و بعد از محلول‌پاشی با علف‌کش بستا با غلظت ۲/٥L/ha سالم و سبز باقی ماندند، در حالی‌که گیاهان شاهد بعد از ۷ روز از بین رفتند (۲۳).

در مطالعه‌ای دیگر، برای انتقال ژن به ارقام سیب‌زمینی با آگروباکتریوم حاوی پلاسمید pGV1040 و قطعات برگ سه رقم Aracy، Baronesa و Mantiqueira گیاه سیب‌زمینی استفاده شد. این پلاسمید حاوی ژن گزینش‌گر برای مقاومت به کانامایسین و فسفوانیوتریسین و ژن گزارش‌گر آنزیم بتا-گلوکورونیدار بود. با دو مرحله باززایی و گزینش، ساقه‌های رقم Mantiqueira با مقاومت به کانامایسین و فسفوانیوتریسین تولید شدند. بعد از انتقال به گلخانه، گیاهان تراریخت با علف‌کش فاینال اسپری شدند که در مقایسه با گیاهان شاهد که بلافاصله بعد از اسپری از بین رفتند، سبز باقی ماندند. گیاهان تراریخت برای دو رقم دیگر به دست نیامد (۸). در حال‌حاضر هیچ رقم تراریخته مقاوم به علف‌کش سیب‌زمینی به صورت تجاری در ایران در دسترس نیست و بنابراین ایجاد ارقام مقاوم سیب‌زمینی به علف‌کش حائز اهمیت است.

نتیجه‌گیری کلی

از فواید ایجاد و کاربرد گیاهان مقاوم به علف‌کش عمومی، کاهش دفعات سمپاشی در طول فصل زراعی با علف‌کش‌های گران قیمت انتخابی است. چون در ابتدای فصل با کاربرد یک بار سمپاشی با علف‌کش عمومی، علف‌های هرز نابود شده و گیاه زراعی پس از رشد و تقویت، قدرت رقابت و مبارزه کافی با علف‌های هرزی را خواهد داشت که در اواسط فصل دوباره رشد می‌کنند. از سوی دیگر کاربرد علف‌کش عمومی روی گیاه زراعی، باعث نابودی برخی از قارچ‌ها و باکتری‌های بیماری‌زای آن خواهد شد. بنابراین علاوه بر عدم خسارت علف‌های هرز و بیماری‌های دیگر، شاهد افزایش عملکرد گیاه زراعی بوده و درآمد نهایی افزایش می‌یابد. از سوی دیگر کاهش دفعات سمپاشی و عدم کاربرد سموم انتخابی گران‌قیمت و عدم نیاز به وجین، هزینه تولید محصول را کاهش می‌دهد و سلامت محصول را از حیث آلودگی به سموم مختلف در پی خواهد داشت. تاکنون مطالعات زیادی در راستای ایجاد انواع گیاهان زراعی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.4.7.2]

مقاوم به علف‌کش‌های مختلف انجام شده است.

فهرست منابع References

1. **Aeom SI, Park SK, Lim YP, lee CH, Kim HJ, Kim HR, Lee HY. 1996.** Development of Bialaphos-Resistant *Petunia hybrida* by Introduction of the *bar* Gene Using *Agrobacterium tumefaciens*. Korean J. Plant Tissue Culture 3: 177-181.

2. **Appleby AP. 2005.** A history of weed control in the United States and Canada-a sequel. Weed Science 53: 762-768.

3. **Block MD, Brouwer DD, Tenning P. 1989.** Transformation of *Brassica napus* and *Brassica oleracea* Using *Agrobacterium tumefaciens* and the Expression of the *bar* and *neo* Genes in the Transgenic Plants. Plant Physiol. 91: 694-701.

4. **Block MD, Botterman B, andewiele M, Dockx J, Thoen C, Gossele V, Movva NR, Thompson C, Montagu MV, Leemans J. 1987.** Engineering herbicide resistance in plants by expression of a detoxifying enzyme. The EMBO Journal 6: 2513-2518.

5. **Buchanan-Wollaston V, Snape A, Cannon F. 1992.** A plant selectable marker gene based on the detoxification of the herbicide dalapon Plant. Cell Reports 11: 627-631.

6. **Cao J, Duan X, McElroy D, Wu R. 1992.** Regeneration of herbicide resistant transgenic rice plants following microprojectile-mediated transformation of suspension culture cells. Plant Cell Reports 11: 585-591.

7. **Choi HJ, Chandrasekhar T, Lee HY, Kim KM. 2007**. Production of herbicide-resistant transgenic sweet potato plants through *Agrobacterium tumefaciens* method. Plant Cell Tiss Organ Cult 91: 235-242.

8. **Filho ESF, Figueiredo LFA, Monte-Neshich DC. 1994.** Transformation of potato (*Solanum tuberosum*) cv. Mantiqueira using *Agrobacterium tumefaciens* and evaluation of herbicide resistance. Plant Cell Reports 13: 666-670.

9. **Greef WD, Delon R, Block MD, Leemans J, Botterman J. 1989.** Evaluation of herbicide resistance in transgenic crops under field conditions. Biotechnology 7: 61-64

10. **Halluin KD, Bossut M, Bonne E, Mazur B, Leemans J, Botterman J. 1992.** Transformation of sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) AND evaluation of herbicide resistance in transgenic plants. Biotechnology 10: 309-314.

11. **Haughn GW, Smith J, Mazur B, Somerville C. 1988.** Transformation with a mutant *Arabidopsis* acetolactate synthase gene renders tobacco resistant to sulfonylurea herbicides. Mol Gen Genet 211: 266-271.

12. **Inui H, Kodama T, Ohkawa Y, Ohkawa H. 2000.** Herbicide Metabolism and Cross-Tolerance in Transgenic Potato Plants Co-Expressing Human CYP1A1, CYP2B6, and CYP2C19. Pesticide Biochemistry and Physiology 66: 116-129.

13. **Inui H, Shiota N, Ishige** T, Ohkawa Y, Ohkawa H. 1998. Herbicide metabolism and resistance of transgenic potato plants expressing Rat cytochrome P4501A1. Breeding science 48: 135-143.

14. **Klee HJ, Muskopf YM, Gasser CS. 1987.** Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants Mol Gen Genet 210: 437-442.

15. **Karavangeli M, Labrou NE, Clonis YD, Tsaftaris A. 2005.** Development of transgenic tobacco plants overexpressing maize glutathione S-transferase I for chloroacetanilide herbicides phytoremediation. Biomolecular Engineering 22: 121-128.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.4.7.2]

16. Kumada Y, Anzai H, Takano E, Murakami T, Hara O, Itoh R, Imai S, Satoh A, Nagaoka K. 1988. The bialaphos resistance gene (*bar*) plays a role in both self-defense and bialaphos biosynthesis in Streptomyces hygroscopicus. The journal of antibiotics 12: 1838-1845.

17. Li Z, Hayashimoto A, Murai N. 1992. A Sulfonylurea Herbicide Resistance Gene from *Arabidopsis thaliana* as a New Selectable Marker for Production of Fertile Transgenic Rice Plants. Plant Physiol 100: 662-668.

18. Lutz KA, Kannap JE, Maliga P. 2001. Expression of *bar* in the Plastid Genome Confers Herbicide Resistance. Plant Physiology 125: 1585-1590.

19. Ming-liang C, Bing-liang W, Jae-yeoul K, Jong-min L, Doo-hwan K. 2003. *Agrobacterium*-mediated transformation of herbicide resistance in creeping bentgrass and colonial bentgrass. Science 4: 346-351.

20. Rathore KS, Chowdhury VK, Hodges TK. 1993. Use of *bar* as a selectable marker gene and for the production of herbicide-resistant rice plants from protoplasts. Plant Molecular Biology 21: 871-884.

21. Sarria R, Torres E, Angel F, Chavarriaga O. 2000. Transgenic plants of cassava (*Manihot esculenta*) with resistance to Basta obtained by *Agrobacterium*-mediated transformation. Plant Cell Reports 19: 339-344.

22. Shiota N, Nagasawa A, Sakaki T, Yabusaki Y, Ohkawa H. 1994. Herbicide-Resistant Tobacco Plants Expressing the Fused Enzyme between Rat Cytochrome P4501A1 (CYP1 Al) and Yeast NADPH-Cytochrome P450 Oxidoreductase. Plant Physiol 106: 17-23.

23. Soto N, Enriquez GA, Ferreira A, Corrada M, Fuentes A, Tiel K, Pujol M. 2007. Efficient transformation of potato stems segments from cultivar Desiree, using phosphinothricin as selection marker. Biotecnología Aplicada 24: 139-144.

24. Stalker DM, Mcbride KE, Malyj LD. 1988. Herbicide Resistance in Transgenic Plants Expressing a Bacterial Detoxification Gene. Science 242: 419-422.

25. Streber RW, Kutschka U, Thomas F, Pohlenz HD. 1994. Expression of a bacterial gene in transgenic plants confers resistance to the herbicide phenmedipham. Plant Molecular Biology 25: 977-987.

26. Trujillo C, Rodriguez-Arango E, Jaramillo S, Hoyos R, Orduz S, Arango R. 2001. One-step transformation of two Andean potato cultivars (*Solanum tuberosum* L. subsp. andigena). Plant Cell Rep 20: 637-641.

27. Uchimiya H, Iwata M, Nojiri C, Samarajeewa Pk, Takamatsu S, Ooba S, anzai H, christensen AH, Quail PH, Toki S. 1993. Bialaphos treatment of transgenic rice plants expressing a *bar* gene prevent infection by the sheath blight pathogen (*Rhizoctonia solani*). Biotechnology 11: 835-836.

28. Vasil V, Castillo AM, Fromm ME, Vasil IK. 1992. Herbicide resistant fertile transgenic wheat plants obtained by microprojectile bombardment of regenerable embryogenic callus. Biotechnology 10: 667-674.

29. Yi G, Shin YM, Choe G, Shin B, Kim YS, Kim KM. 2007. Production of herbicide-resistant sweet potato plants transformed with the *bar* gene. Biotechnol Lett 29: 669-675.

30. Zang N, Zhai H, Gao S, Chen W, He S, Liu Q. 2009. Efficient production of transgenic plants using the *bar* gene for herbicide resistance in sweetpotato. Scientia Horticulturae 122: 649-653.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.4.7.2]

Production of herbicide-resistant transgenic plants

Ali Akbar Gholami
M.S.c of Agricultural Engineering biotechnology, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

Gholami.2359@gmail.com

Abstract
Growth of weeds is one of the most important agricultural problems in the world, which has an adverse effect on the efficiency and quality of many important crops. Mechanical, agronomic, physical, biological, chemical (herbicides) and genetic control methods are used for combating weeds. Herbicides are one of the most effective tools for farmers to fight against weeds. The use of these agricultural chemicals has increased significantly in recent years, especially in countries with advanced agricultural systems. The introduction or evolution of herbicide-resistant herbaceous populations is a serious issue for specific herbicides that encourage the use of common herbicides. But the main problem with general herbicides is the inability to use them during field crop cultivation. Due to this dilemma, as well as the adverse effects of weeds on yield and quality of crops, projects aimed at the development of herbicide-resistant transgenic plants are necessary. This reduces the consumption of pesticides in agriculture and reduces production costs through lower consumption of poison and the lack of employment of workers and weeding. The production of transgenic herbicide resistant plants is one of the priorities of agriculture and biotechnology in the world as well as in Iran to reduce their consumption of agricultural pesticides and production costs.

Keywords: Herbicides, Herbicides, Transgenic herbs

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.4.7.2]