مجله ایمنی زیستی
دوره ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸
ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

مروری بر پیشینه تولید گیاهان مقاوم به علف‌کش گلایفوسیت با تأکید بر روش‌های مولکولی

صدیقه نصررمزی*[۱]، محمد مهدی سوهانی[۲]، رضا شیرزادیان خرم آباد[۳]

۱- دکتری بیوتکنولوژی گیاهی دانشگاه گیلان، ایران
۲- دانشیار بیولوژی سلولی دانشگاه گیلان، ایران
۳- استادیار ژنتیک مولکولی دانشگاه گیلان، ایران

kiana.ramsey@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۶/۲۷، تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۳/۲۵
صفحه ۴۰-۲۱

چکیده

گیاهان مقاوم به علف‌کش یکی از رایج‌ترین گیاهان تراریخته هستند که بیشتر جمعیت کل گیاهان تراریخته را شامل می‌شوند. گلایفوسیت علف‌کشی است که طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی را کنترل می‌کند. موضع اثر این علف‌کش آنزیم ۵-انول پیرویل شیکیمات-۳-فسفات سینتاز (EPSPS) است که فقط در گیاهان و بعضی باکتری‌ها وجود دارد. به همین جهت به‌عنوان یک علف‌کش مناسب و بی‌خطر برای محیط‌زیست شناخته شده است. با این حال، توانایی آسیب‌رسانی به گیاهان زراعی را نیز دارد، بنابراین در سیستم‌های کشاورزی به‌صورت پیش از کشت استفاده می‌شود. امروزه با استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک، ژن مقاوم به این علف‌کش ساخته و با انتقال آن به گیاهان زراعی مختلف منجر به تولید گیاهان مقاوم به گلایفوسیت می‌شود، به طوری که سطح زیر کشت گیاهان زراعی مقاوم به این علف‌کش در حال افزایش است. در پژوهش حاصل مروری بر روش‌های تولید این گونه گیاهان انجام شده است.

واژه‌های کلیدی: ایمنی زیستی، گلایفوسیت، جهش‌زایی، علف‌هرز، گیاهان تراریخته.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

مقدمه

گلایفوسیت اولین بار در سال ۱۹۷۰ یعنی ۲۶ سال پیش از تولید محصولات تراریخته، سنتز و آثر آن به‌عنوان علف‌کش بررسی شد. از آنجاکه، علف‌کشی غیر انتخابی است و طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی را کنترل می‌کند، در بسیاری از کشورها به شکل غیرانتخابی، فقط به‌صورت پیش از کشت مصرف می‌شود (۱). گلایفوسیت ممانعت‌کننده مسیر بیوسنتز اسیدهای آمینه آروماتیک است که توسط مسیر شیکیمات در میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و همچنین بعضی از قارچ‌ها ساخته می‌شود (۲). آنزیم ۵-انول پیرویل شیکیمات-۳-فسفات (EPSP) سینتاز ششمین آنزیم این مسیر است. آنزیم EPSPS که یک انول پیروویل ترانسفراز است انتقال بخش انول پیروویل به شیکیمات ۳ – فسفات (S3P) را کاتالیز کرده و EPSP و فسفات غیر آلی تولید می‌کند. از آنجائیکه گلایفوسیت با وزن مولکولی ۱۶۹/۱ آنالوگ PEP با وزن مولکولی ۱۶۷ است به جایگاه اتصال PEP روی آنزیم وصل شده و به‌صورت یک مهارکننده رقابتی علیه PEP و یک مهارکننده نارقابتی علیه S3P عمل کرده و مانع فعالیت آنزیم می‌شود (۳). اتصال علف‌کش به آنزیم منجر به غیرفعال شدن آن و در نتیجه افزایش غلظت شیکیمات و عدم ساخت کوریسمات می‌شود. به این ترتیب مسیر ساخت اسیدآمینه‌های حلقوی متوقف شده و سلول در اثر فقدان این اسیدهای‌آمینه از بین می‌رود(۴).

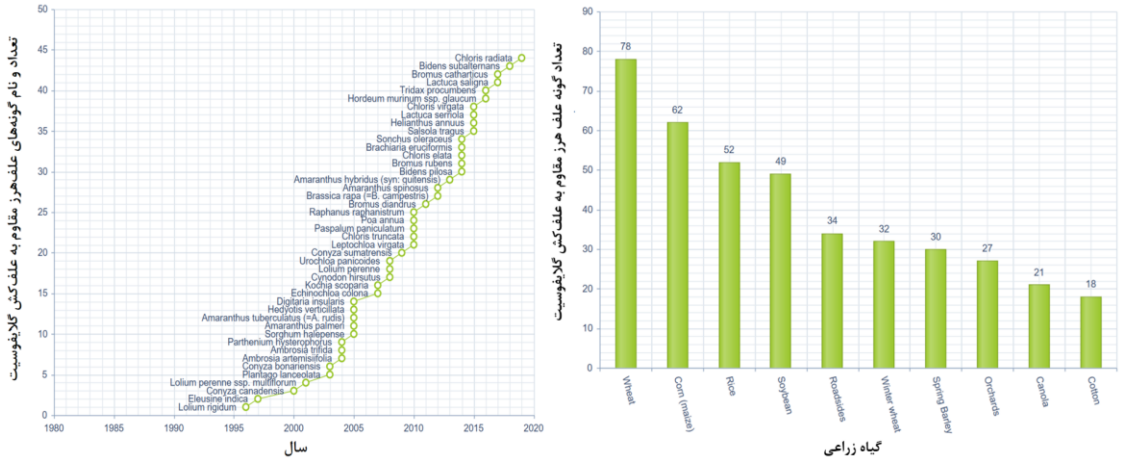
علف‌های هرز مقاوم به گلایفوسیت

بیست سال بعد از معرفی گلایفوسیت و پیش از تولید هرگونه محصول تراریخته‌ای دانشمندان اظهار داشتند که جمعیت علف‌های هرز مقاوم به آن رو به افزایش است (۵). ظهور جمعیت علف‌هرز مقاوم منجر به ظهور تفکر ایجاد گیاهان زراعی تراریخته مقاوم شد. مقاومت علف‌های هرز اولین بار (۱۹۹۶، استرالیا) در علف‌هرز چچم *Lolium rigidum* گزارش شد. این مقاومت در حال حاضر در بیش از ۵۳ گونه گیاهی مختلف گزارش شده است. تغییرات تدریجی مانند توقف انتقال علف‌کش در بافت‌های گیاه،

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

جابه‌جایی محدود و سوخت و ساز آهسته آن در جمعیت علف‌های هرز مشاهده می‌شود (۶). شکل ۱ تعداد و نام گونه‌های علف‌های هرز مقاوم به علف‌کش را تا ۱۲ سپتامبر ۲۰۱۹ گزارش می‌کند. تاکنون مقاومتی از علف‌های هرز به این علف‌کش در ایران گزارش نشده است (۷). با تولید گیاهان تراریخته مقاوم به این علف‌کش که یکی از روش‌های مدیریتی مهم در کنترل علف‌های هرز است، می‌توان از جمعیت چنین گیاهان مقاومی به علف‌کش کاست (۸).



شکل ۱: تعداد و نام گونه‌های علف‌هرز مقاوم به علف‌کش گلایفوسیت تا سال ۲۰۱۹ (۷)

مقاوم‌سازی نسبت به علف‌کش گلایفوسیت

روش‌های سنتی به‌نژادی و به‌زراعی در تولید گیاهان زراعی مقاوم چندان موفق نبوده و راه‌کارهای دیگری بر اساس انواع روش‌های ایجاد مقاومت مدنظر قرار گرفته‌اند که روش‌های اصلی آن در ادامه ذکر می‌شود.

۱-کشت سلول و انتخاب گیاهان مقاوم

یکی از مزایای این روش القاء تغییرات وراثت‌پذیر در ژنوم (تنوع سوماکلونال) است. از این تنوع جهت شناسایی صفات مطلوب استفاده می‌شود (۹). با این روش گیاهان نیشکر، اطلسی و توتون مقاوم ایجاد شده است (۱۰). رده‌های سلولی نیشکر در محیط داری ۰/۸ میلی‌مولار

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

گلایفوسیت شناسایی شدند. گیاهان باززایی شده توانایی تحمل ۵ برابر غلظت کشنده را داشتند (۱۱).

در پژوهشی مشابه سلول‌های مقاوم کاسنی انتخاب و گیاهان مقاوم به علف‌کش ایجاد شدند (۱۲). کشت سلول تحت غلظت‌های کشنده علف‌کش منجر به تکثیر ژن EPSPS در سلول‌های زنده‌مانده شد که موجب مقاومت بر اساس افزایش محصول آنزیم هدف می‌شود. یک سلول از گیاه اطلسی مقاوم با روش کشت بافت انتخاب و گیاهان باززایی شده از آن تحت سطوح کشنده گلایفوسیت زنده ماندند (۱۳).

کشت بافت *Corydalis sempervirens* در حضور ۵ میلی‌مولار گلایفوسیت منجر به تولید مقادیر زیادی از آنزیم هدف و ایجاد مقاومت چندین برابری سلول‌ها شد. فعالیت ترجمه‌ای mRNA برای EPSPS در محیط کشت حاوی گلایفوسیت ۱۰ برابر بیشتر از محیط کشت بدون آن بود (۱۴).

با اینحال محدودیت اصلی این روش، مشکل باززایی گیاهان تحت آزمون و نیز نشان ندادن مقاومت در شرایط مزرعه‌ای بود.

۲- جهش‌زایی: جهش‌زایی فیزیکی یا شیمیایی بذر، میکروسپور یا دانه گرده توسط انتخاب تحت فشار نیز منجر به مقاومت شده است. ماده جهش‌زای عمومی اتیل متان سولفونات (EMS) نام دارد (۱۵).

بذور یا دانه گرده با EMS تیمار شده و در دو شرایط *in vitro* و *in vivo* و در حضور علف‌کش رشد می‌کنند. گیاهان زنده‌مانده انتخاب و پس از طی مراحل رشدی و تولید بذر برای بررسی‌های بیشتر مورد ارزیابی قرار گیرند. با استفاده از این روش ۲۱ رقم برنج برزیلی مقاوم به گلایفوسیت تولید شد (۱۶). این روش به دلیل ملاحظات مربوط به ماده جهش‌زا و عدم مقاومت در سطوح زیاد دارای محدودیت بود.

۳- مهندسی ژنتیک: شامل شناسایی ژن‌های مقاوم از گیاهان و یا میکروارگانیسم‌ها، جداسازی و دستکاری آن‌ها برای بیان کافی و کارا در گیاهان و

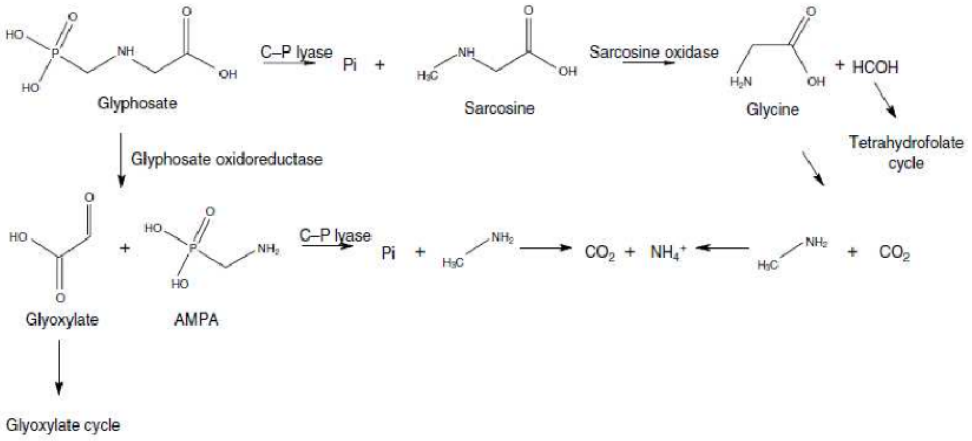
[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

انتقال، درج و بیان آن در سلول‌های گیاهی است (۹، ۱۷). این مقاومت را می‌توان از یک و یا ترکیبی از روش‌های زیر بدست آورد.

تجزیه و غیرسمی کردن علف‌کش

مقاومت با استفاده از کاهش تجمع علف‌کش در بافت‌های حساس (قسمت‌های تولید مثلی و مریستمی) ایجاد می‌شود (۱۸). آنزیم گلایفوسیت اکسیدوردوکتاز (gox) که پیوند N-C در گلایفوسیت را شکسته و موجب تولید آمینو متیل فسفونیک اسید (AMPA) و گلی اکسالات می‌شود. گیاهان گندم و ذرت این گونه مقاوم شده‌اند (۱۹) (شکل ۲). آنزیم کربن فسفروز لیاز که پیوند C-P را در این علف‌کش شکسته و موجب ایجاد سارکوزین و تبدیل آن به ترکیبات غیرسمی می‌شود نیز در این تجزیه نقش دارد (۲۰).



شکل ۲: مسیر بیوشیمیایی تجزیه گلایفوسیت (۱۹).

انتقال ژن رمزکننده آنزیم GAT به ذرت (۲۱)، سویا (۲۲) و توتون (۲۳) موجب استیله و تجزیه شدن علف‌کش شده است. ژن تولیدکننده آنزیم گلایفوسیت اکسیداز از باکتری *Bacillus subtilis* منجر به ایجاد گیاه یونجه مقاوم شد (۲۴). اخیراً هان و همکاران (۲۰۱۵) به کمک فرابیان ژن *DAAO* از باکتری *Bradyrhizobium japonicum* موجب ایجاد مقاومت در گیاه آرابیدوپسیس شده‌اند (۲۵).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

تولید بیش از حد آنزیم

در ایـن روش ژن مـورد نظـر از منـابع گیاهی یا پروکاریوتی جدا و تحت کنتـرل یـک پیشـبر قـوی وارد گیـاه مـوردنظر می‌شود. هنگـام برخـورد گیـاه زراعـی بـا غلظت مشخصی از علـف‌کـش، بخشـی از آنزیم غیرفعال و مقادیر بـاقی‌مانـده بـرای عملکرد کافی خواهد بود. در ایـن حالـت متابولیت گیاه از نظر ایـن آنـزیم و مسـیر مربوطه عادی است (۲۶). استفاده از پیشبر CaMV35S در گیاهـان تراریختـه نیشـکر منجر به ایجاد مقاومت شـده اسـت (۲۷). فرابیان آنـزیم EPSPS منجـر بـه افـزایش مقاومـت در گیاهـان رشـد یافتـه تحـت شرایط کشت بافـت شـد کـه ایـن امـر بـا افـزودن غلظـت گلایفوسـیت در مراحـل کشت بافت سلول‌های گیاه توتون بدسـت آمـده اسـت (۲۸). بـا ایـن‌حـال در گیـاه *Corydalis sempervirens* ایـن افـزایش منجر به تغییـرات رونویسـی و ترجمـه‌ای مرتبط با توالی EPSPS شـده اسـت (۲۹). همچنین مقاومت در گیاه اطلسی تراریخته حامل ژن *EPSPS* تحت کنترل پیشبر قوی CaMV35s بدست آمد (۳۰).

اما فرابیان ایـن آنـزیم در مریسـتم‌ها کـه محل تجمع گلایفوسیت اسـت در سـطوح کافی، انجام نشد و به‌طور کلی انتقـال ژن موجب کاهش رشد گیاه شد (۳۱).

وارد کردن ژن تغییر یافتـه آنـزیم بـا میـل ترکیبی کمتر

با استفاده از روش‌های زیست مولکـولی در نقـاط حفاظـت شـده آنـزیم کـه محـل میانکنش با علف‌کش است تغییـر کـدونی ایجاد کرده و عملاً با حفظ عملکرد آنـزیم مانع از اتصال علف‌کش بـه آن مـی‌شـوند (۳۲). به‌منظور ایجاد تغییـرات کـدونی در آنزیم از روش جهش‌زایی مکـانی هـدایت شده یا به اختصار SDM استفاده می‌شـود (۳۳). اسـتفاده از PCR در روش SDM مناسب‌ترین راه برای ایجاد جهش نقطه‌ای اسـت. آمینواسـیدهای موجـود در منـاطق حفاظـت شـده آنـزیم هـدف ایـن مطالعـه هسـتند. بـا بررسـی تـوالی EPSPS در چندین بـاکتری و گیـاه ایـن آمینواسـیدها مشخص شده‌انـد. اسـتفاده از PCR بـرای جهش‌زایـی به‌صـورت SOEing و بـه دو روش انجام می‌گیرد (۳۴).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

روش SOEing دو طرفه

این روش که بسط همپوشان نیز نام دارد توسط Ho و همکاران (۱۹۸۹) ارائه شد. در این روش دو قطعه از دی.ان.ا که در یکی از این قطعات جهش در بالادست و در دیگری در پایین‌دست محل موردنظر قرار دارد با استفاده از آغازگرهایی که جهش موردنظر در آنها وارد شده است، به‌صورت همپوشان تکثیر می‌شوند. به منظور خارج کردن دی.ان.ای الگوی اولیه در مرحله بعد این محصولات خالص‌سازی می‌شوند. در PCR دوم به‌دلیل وجود بخش همپوشان در حدود ۲۰ نوکلئوتید، یکی از محصولاتی که می‌تواند تکثیر شود قطعه کامل ژن با جهش موردنظر است (۳۴).

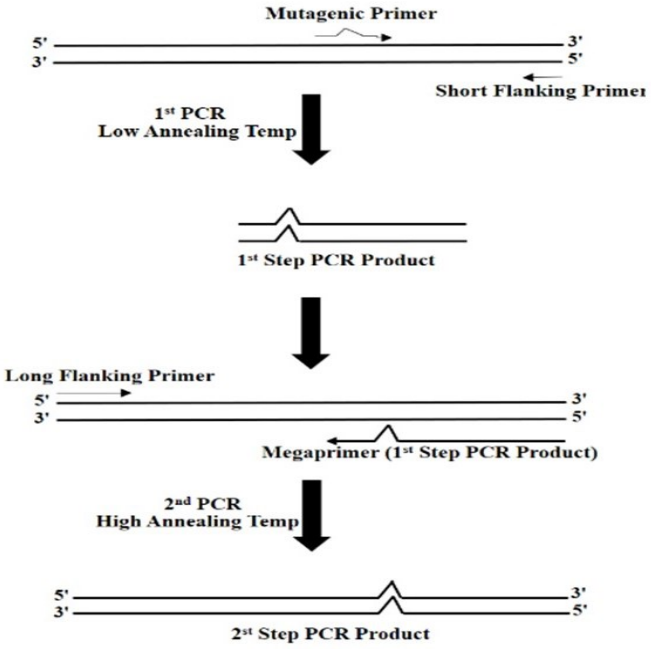
روش SOEing یک طرفه (مگاپرایمر)

در این روش از PCR اول برای تکثیر قطعه‌هایی از دی.ان.ا استفاده می‌شود که دارای جهش مورد نظر در یکی از انتهاهای خود باشند. این محصول PCR خالص شده و در چرخه دوم به‌عنوان مگاپرایمر همراه با آغازگر اختصاصی دوم جهت ایجاد طول کامل ژن جهش‌یافته مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای جلوگیری از تکثیر ژن تیپ وحشی با خالص‌سازی محصول PCR اولیگونوکلئوتیدهای اولیه حذف می‌شوند. به‌دلیل هزینه‌بر و وقت‌گیر بودن، روش تغییرشکل‌یافته‌ای ارائه شد که بر استفاده از غلظت‌های محدود آغازگر جهش‌زا و نیز طولانی بودن مدت زمان بسط نهایی در واکنش PCR اول برای تکثیر مگاپرایمر است. در چرخه دوم تنها کاری که انجام می‌شود اضافه کردن غلظت نرمال آغازگر اختصاصی دوم است (۳۳). در واقع از دیدگاه مولکولی، در روش SDM از آغازگرهای جهش‌دار استفاده شده و محصول واسط هر PCR که قطعات همپوشان هستند به‌عنوان رشته‌های الگوی واکنش‌های PCR بعدی با دو آغازگر طرفین ژن، به کار رفته و در نهایت طی یک واکنش PCR نهایی به‌منظور امتزاج دو محصول PCR دارای نقاط همپوشان، دو رشته‌ای طویل حامل جهش موردنظر، حاصل می‌شود (۳۵، ۳۶). انتقال ژن تغییر یافته به گیاهان یکی از مؤثرترین روش‌ها برای تولید گیاهان مقاوم به گلایفوسیت است (۳۲). این روش برای بررسی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

ساختار و عمل آنزیم‌ها و نیز بررسی نقش آمینواسیدهای موجود در مکان فعال آنزیم بسیار قدرتمند است (۳۳). همچنین این روش دانسته‌های ارزشمندی در خصوص جهش‌های ایجاد شده ارائه می‌دهد (۱۷).



شکل۳: روش SOEing یک طرفه (مگاپرایمر) (۳۳).

تاریخچه جهش‌زایی در آنزیم EPSPS

روش‌های دی.ان.ای نوترکیب برای ایجاد مقاومت به گلایفوسیت در تعدادی از گونه‌های گیاهان زراعی مورد استفاده قرار گرفته است. مشخص شده که گلایفوسیت مستقیماً EPSPS را مورد هدف قرار داده و بدین ترتیب، مهم‌ترین آنزیم در ساخت اسیدهای آمینه حلقوی، غیرفعال می‌شود (۳۷، ۳۸). در سال ۱۹۸۰ نخستین آنزیم EPSPS غیرحساس که جهش Gly96Ala بر روی آن اعمال شده بود تولید شد. طی این تحقیقات نشان داده شد که آنزیم‌های نوترکیب ضمن حفظ فعالیت‌های کاتالیتیکی خود، تمایل کمتری به گلایفوسیت نشان می‌دهند. مکان‌های انتخابی در جهش‌های فوق در دو ناحیه حفاظت شده، بیشتر در ناحیه اول (بین موقعیت اسیدآمینه ۸۰ الی ۱۲۰) جایگزینی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

گلایسین با آلانین و در ناحیه دوم (بین موقعیت ۱۷۰ تا ۲۱۰) جایگزینی آلانین با ترئونین در نظر گرفته شده است (۳۹). دو ناحیه گلایسین ۹۶ و پرولین ۱۰۱ بیشترین اهمیت را در این خصوص دارا هستند (۳۷). در سال ۱۹۸۵ گزارش مقاومت به گلایفوسیت توسط کومای و همکاران ارائه شد، بدین ترتیب که ژن جهش‌یافته رمزکننده EPSPS با نام *aroA* از باکتری *Salmonella typhimurium* را به درون سلول‌های توتون وارد و ایجاد مقاومت کردند. نتایج مشابهی از کاربرد این ژن در گیاه سیب‌زمینی نیز گزارش شده است (۴۰). در سال ۱۹۸۸ کیشوری و شاه با ایجاد جهش نقطه‌ای خاص در ژن EPSPS، آنزیم‌های جهش‌یافته‌ای را تولید کردند. برخی از این ژن‌ها مقاومت چهار برابری نسبت به گلایفوسیت را در توتون نشان دادند. در سال ۱۹۹۰ سوست و آمرهین Gly96 از ژن *aroA* باکتری *Klebsiella pneumonia* را به Ala تغییر و تأثیر فزاینده‌ای را در کاهش تمایل اتصال به آنزیم مشاهده کردند (۳۸). تغییر گلایسین ۹۶ به آلانین در ژن EPSPS از باکتری *E.coli* به روش جهش‌زایی تک نوکلئوتیدی موجب ایجاد مقاومت در گیاه اطلسی شد (۴۱). Schonbrunn و همکاران (۲۰۰۲) جهش Gly96Ala روی ژن رمزکننده EPSPS باکتریایی و به‌منظور بررسی‌های کینتیکی و مطالعه ساختار آنزیم ایجاد شد (Schonbrunn et al,2002). Majumder و همکاران (۱۹۹۵) در هند به‌وسیله روش SDM در *B. subtilis* جهش‌های His385Lys وPro105Ser و Arg24Asp را به‌منظور مطالعه آنزیم آلوستریک EPSPS ایجاد کردند (Majumder et al, 1995). در همین سال گروه دیگری در کشور هند جهش Arg104Lys را در ناحیه حفاظت‌شده آنزیم EPSPS ایجاد کردند. در مطالعه‌ای که بر روی EPSPS نوع دوم باکتری احیاکننده نیتروژن *Pseudomonas stutzeri* سویه A1501 انجام شد در اثر جهش سرین به آسپارژین ۱۳۰، مقاومت ایجاد شد (۴۲). با ایجاد جهش ترئونین ۲۴ به اسید گلوتامیک در EPSPS باکتری *E.coli* مشخص شد که جهش در ناحیه‌ای به غیر از جایگاه فعال و دور از آن نیز

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

می‌توانـد در خصوصـیات کاتـالیتیکی آن تأثیر گذاشته و موجب ایجاد مقاومت شود (۳۵). تغییـر اسـیدآمینه پـرولین ۱۰۶ بـه سرین در گیاه *goosegrass* مقاومـت پـنج برابری را در مقایسـه بـا گیاهـان حسـاس ایجاد کرد (۴۳). کمپـانی مونسـانتو آنـزیم EPSPS با منشاء *اگروباکتریوم CP4* را به گونه‌ای دست‌ورزی کرد که تحمل بالاتری را نسبت بـه EPSPS گیـاهی نشـان دهـد. آنـزیم نوترکیـب Km کمتـری را بـرای فسـفوانول پیـروات نسـبت بـه دیگـر واریتـه‌های آنـزیم EPSPS نشـان داد. جایگاه اتصال سوبسترا و گلایفوسـیت در EPSPS CP4 و EPSPS حسـاس بـه گلایفوسـیت در بیشـتر گونـه‌های گیـاهی یکسـان اسـت (۴۴). جهش‌زایـی نقطـه‌ای اسـیدآمینه ترئـونین ۴۲ بـه گلوتامـات در بـاکتری *E.coli* موجـب کـاهش ۲۵-۹ برابری Km آنزیم به فسفوانول پیـروات و افـزایش ۲۶-۲۱ برابـری نسـبت بـه گلایفوسیت در مقایسه با آنزیم طبیعی شد (۳۵). طـی پژوهشـی P25A، P153A، P242A، P322A و P434A از *Agrobacterium* sp. سـویه CP4 تغییـر یافت و مقاومت در دو جهش‌یافته P242A و P434A بدسـت آمـد (۴۵). بـا تغییـر پرولین ۱۰۶ بـه لوسـین در EPSPS گیـاه برنج و انتقـال آن بـه توتـون گیـاه مقـاوم بدسـت آمـد (۴۶). موتاسـیون جفتـی T102I/P106S به‌صـورت تـوأم در گیـاه برنج موجب ایجـاد مقاومـت شـده اسـت (۴۷). ارقام برنج G2-6 و G2-7 حامل ژن G2-EPSPS از بـاکتری *Pseudomonas fluorescens* با مقاومت چنـد برابـری بـه گلایفوسیت ایجاد شده‌اند (۴۸). ژن *G6* از باکتری *Pseudomonas putida* رمزکننـده آنـزیم 5--3-enolpyruvylshikimate phosphate synthase، توسـط اگروباکتریوم به گیاه برنج انتقـال یافـت و مقاومت در غلظت ۸ گرم بر لیتر ایجاد شد (۴۹). دو جهش با استفاده از روش DNA shuffling در آمینواسـیدهای T101A و A187T ژن *MdEPSPS* از درخـت سـیب (*Malus domestica*) موجـب ایجـاد مقاومت شد (۵۰). ژن *OsEPSPS* از گیـاه برنج جدا و برای فرابیـان بـه همـان گیـاه منتقل شد. در ایـن پـژوهش غربـال اولیـه گیاهـان بـه واسـطه بررسـی مقاومـت بـه

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

آنتی‌بیوتیک هایگرومایسین انجام شد. در نهایت این انتقال موجب ایجاد گیاهان برنج مقاوم به غلظت ۴ میلی‌مولار شد (۵۱). ژن *CP4-EPSPS* به‌صورت فرابیان وارد گیاه برنج شد و مقاومت ۱٪ ایجاد کرد (۵۲). انتقال همزمان ژن *igrA* از باکتری *Pseudomonas* برای غیرفعال کردن گلایفوسیت و ژن *epsps* جهش‌دار به‌صورت P173S از گیاه برنج تحت کنترل پیشبر قوی CaMV35s منجر به ایجاد مقاومت (۲mL/L) شد (۵۳). جهش‌های Gly96Ala و Ala183Thr در آنزیم EPSPS باکتری *E.coli* انجام و ژن نوترکیب وارد کلزا شد. چند نسل از کلزای تراریخته از نظر بیان این آنزیم مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان‌دهنده بیان ژن انتقال یافته در گیاه و همچنین مقاوم شدن آن بود. همچنین جهش در سویه K12 باکتری *E.coli* به‌صورت گلایسین ۹۶ به آلانین و آلانین ۱۸۳ به ترئونین ایجاد شد. سپس این ژن با کمک PCR به زیر واحد روبیسکو متصل شد. بدین منظور دو PCR جداگانه از ژن جهش‌دار و زیر واحد روبیسکو انجام و بر اساس مناطق همپوشان اتصال انجام شد. گیاهان تراریخته حاصل به غلظت ۵ میلی‌مولار علف‌کش مقاوم بودند (۵۴). هامل و همکاران به کمک روش Crispr-Cas9 آلل‌های ژن EPSPS را در گیاه کاساوا تغییر دادند. در واقع از آنزیمCrispr-Cas9 اندونوکلئاز برای هدف قرار دادن پیشبر ژن EPSPS در این گیاه و ترمیم آن استفاده کردند. گیاهان تغییر یافته دارای فنوتیپ نرمال همراه با مقاومت به مقدار ۵۰ میلی‌گرم بودند (۵۵).

موسوی و همکاران همزمان دو ژن *epsps* (حاوی دو جهش G96A و A183T) و ژن *gox* جهت تجزیه گلایفوسیت را به گیاه کلزا انتقال داده و مقاومت گیاه را در غلظت‌های مختلف بررسی کردند. در نهایت مقاومت این گیاهان را به ۰/۴mM علف‌کش گزارش کردند (۵۶). مقاومت به گلایفوسیت با ایجاد جهش G96A به روش SDM در مقایسه با انتقال ژن وحشی EPSPS از *E.coli* بررسی شد (۵۷). بر اساس نتایج پژوهشگران، انتقال ژن‌های فوق به روش *in planta* و به‌واسطه *Agrobacterium*

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

tumefaciens به جنین بالغ برنج رقم هاشمی (۵۸، ۵۹) انجام شد. بررسی نتایج مقاومت و تجزیه و تحلیل‌های بیوشیمیایی در چندین نسل مورد تأیید بود. پژوهشگران کارآمد بودن مسیر شیکیمات و متابولیت‌های ثانویه مرتبط با این مسیر از جمله آلکالوئیدها، شیکیمات، پرولین، فلاونوئیدها و ... را در بررسی‌های آنزیمی و مولکولی تأیید کردند (۶۰، ۵۷).

گیاهان تجاری مقاوم به گلایفوسیت:

تلاش‌های فراوانی در تولید گیاهان مقاوم به گلایفوسیت انجام گرفته است. در حال حاضر بیش از نیمی از گیاهان زراعی تراریخته نسبت به گلایفوسیت مقاوم هستند (۶۱). تولید گیاهان مقاوم به‌عنوان یکی از سریع‌ترین فناوری‌ها در علم کشاورزی تبدیل شده است (۶۲). اما محصولات زراعی مقاوم اولیه به طور کامل بی‌نقص نبودند. در این خصوص باید زمان، سرعت و تعداد دفعات استفاده از علف‌کش محدود شود تا بتوان از مقاومت محصولات تولیدی اطمینان یافت. همچنین گاهی کاهش عملکرد نیز گزارش شده است. در حال حاضر نسل جدیدی از محصولات زراعی مقاوم در حال توسعه است به طوری که همراه با بهبود تکنولوژی، انقلابی را در مدیریت علف‌های هرز در زمین زراعی ایجاد کرده است (۶۳). راه‌اندازی مسیر تجاری سویای مقاوم در سال ۱۹۹۶ یک عصر جدید در مدیریت علف‌های هرز را نوید داد (۴۴). از آن زمان بسیاری از محصولات مهم زراعی، تراریخته شدند که کاربرد گروه وسیعی از علف‌کش‌های شیمیایی را برای آنها میسر ساخت. در این مورد می‌توان به رقم مقاوم GTS-40-3-2 سویا اشاره کرد که EPSPS-CP4 با روش بمباران ذره‌ای (بیولستیک) به همراه پپتید نشانه کلروپلاستی *Petunia hybrid* به درون کلروپلاست منتقل و پایداری صفت تا شش نسل بررسی شده است. پژوهش‌ها حاکی از آن بود که این گیاه از نظر مورفولوژیکی و خصوصیات زراعی مهم مانند زمان گلدهی و تولید دانه تفاوت چندانی نداشت (۶۴). همچنین رقم MON89788 سویا حامل ژن *cp4 epsps* در سال ۲۰۰۹ به‌صورت وسیع مورد کشت

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

قرار گرفت (۶۳). در سال ۲۰۰۸ بیش از ۸۰ درصد کشت سویا در آمریکا مقاوم به گلایفوسیت بوده است (۶۲). سطح زیر کشت سویای مقاوم همچنان در آمریکا رو به افزایش است به طوری که طی شش سال مقدار کشت آن نسبت به سایر گیاهان زراعی به ۵۰٪ رسید (۶۵). از جمله گیاهان مقاوم به گلایفوسیت که به‌صورت تجاری مورد کشت قرار گرفته‌اند، می‌توان به کلزا و ذرت اشاره کرد. گیاه GT73 اولین کلزای مقاوم به گلایفوسیت تجاری شده در سال ۱۹۹۶در کانادا است که انتقال ژن *EPSPS* از اگروباکتریوم CP4 و ژن *GOX* تغییریافته، کلزای مقاوم‌تری را بوجود آورده است. این گیاهان تجاری شده در سال ۲۰۰۰ در کانادا و آمریکا در سطحی برابر با ۲/۲ میلیون هکتار کشت شدند و گزارش‌های مناسبی در مورد کنترل علف‌های هرز کلزا وجود دارد (۶۴). رقم تجاری ذرت GA21 که در سال ۱۹۹۸ معرفی شد، با دو جهش در آنزیم EPSPS آن شامل جانشینی ترئونین ۱۰۲ با ایزولوسین و پرولین ۱۰۶ با سرین مقاوم شده است (۶۶). همچنین برای تولید ذرت NK603 دو نسخه از ژن رمزکننده آنزیم EPSPS CP4 را که یک نسخه آن تحت کنترل پیشبر اکتین برنج و نسخه دیگر تحت کنترل پیشبر CaMV35s بود، به این گیاه انتقال دادند (۱۹). گیاه GT200 کلزا مقاوم توسط شرکت مونسانتو تجاری شده است. این گیاه حامل دو ژن *EPSPS* مهندسی شده از اگروباکتریوم CP4 به‌منظور تمایل کمتر به گلایفوسیت و *GOX* از باکتری *Ochrobacterum anthropi* سویه LBAA به همراه ترادف نشانه کلروپلاستی است (۶۷). ارقام مختلف گیاه کتان شامل MON1445 حامل ژن *cp4 epsps* در سال ۱۹۹۶، MON88913 حامل ژن *two cp4 epsps* در سال ۲۰۰۶ و GHB614 حامل ژن *zm-2mepsps* در سال ۲۰۰۹ به‌صورت وسیع کشت شد (۶۳). همچنین گیاه یونجه مقاوم با نام تجاری J101 و J163 توسط شرکت مونسانتو در سال ۲۰۰۵ تولید شد. این گیاهان حامل *cp4 epsps* و پیشبر CaMV35s بودند (۶۴). گیاهان زراعی مقاوم به علف‌کش گلایفوسیت که

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

به‌صورت تجاری به‌ویژه در آمریکای شمالی عرضه شده‌اند شامل سویا (*Glycine max*) در سال ۱۹۹۶، شلغم روغنی (*Brassica rapa* L.)، کلزا (*Brassica napus* L.) در سال ۱۹۹۶، چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) در سال ۲۰۰۵،گندم (*Triticum aestivum* L.)، یونجه (*Medicago sativa* L.) در سال ۲۰۰۵،پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) ، ذرت (*Zea mays* L.) در سال ۱۹۹۸ و نیشکر است (۶۲ ,۶۸).

امروزه گیاهان تراریخته حامل ژن‌های مقاومت به‌صورت ترکیبی ایجاد شده‌اند. به‌طور مثال گیاه ذرت رقم MON87427 x MON89034 x NK603 که علاوه‌بر داشتن ژن‌های مقاومت به گلایفوسیت (*cp4 epsps* (aroA:CP4)) حاوی ژن اختصاصی مقاومت در برابر حمله حشرات راسته بالپولکداران (cry2Ab2 و cry1A.105) نیز است توسط کمپانی مونسانتو تولید شده است. این گیاه در سال ۲۰۱۳ در کشورهای مکزیک و ژاپن، در ۲۰۱۴ در تایوان و کره جنوبی و در سال ۲۰۱۸ در کشورهای اتحادیه اروپا به‌صورت وسیع کشت شد. گیاه پنبه رقم BCS-GH811-4 حامل ژن‌های مقاومت به علف‌کش‌های گلایفوسیت (حاوی دو ژن جهش‌یافته از گیاه ذرت) و Isoxaflutole (ژن تغییریافته W336 *hppdPF* از باکتری *Pseudomonas fluorescens* strain A32) نیز تولید شده است. این گیاه در سال ۲۰۱۸ در استرالیا، ژاپن، زلاندنو و آمریکا کشت شد (۶۹).

نتیجه‌گیری

در مجموع، از سال ۱۹۹۶ گیاهان زراعی مقاوم به علف‌کش گلایفوسیت تولید و تجاری شده‌اند. از جمله این گیاهان سویا، ذرت، پنبه، یونجه، گندم و کلزا را می‌توان نام برد. تولید و سطح زیر کشت گیاهان زراعی مقاوم به این علف‌کش در حال افزایش است. مزیت‌های تجاری این سیستم کنترل‌کننده علف‌های هرز افزایش پیدا خواهد کرد تا مقاومت به گلایفوسیت به‌صورت کنترل‌شده یکی از پایه‌های اساسی و اصلی مدیریت علف‌های هرز در بیشتر گیاهان به‌ویژه گیاهان زراعی شود.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

که تولید این گیاهان دلیلی بر مصرف غیرکنترل شده علف‌کش نیست. در نهایت همانند تمام پدیده‌های علمی قبل از مصرف چنین گیاهانی باید به تجزیه و تحلیل دقیق آزمایشگاهی و مزرعه‌ای در سطح وسیع پرداخته شود. علف‌کش گلایفوسیت کم‌زیان‌ترین علف‌کش معرفی‌شده تا امروز است.

فهرست منابع

References

1. Duke S.O. and Powles S.B. (2008). Mini-review Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. Pest Management Science. 64: 319-325.

2. Bentley R. (1990). The shikimate pathway-a metabolic tree with many branches. Reviews in Biochemistry and Molecular Biology. 25: 307-383.

3. Kang K. and Kim M. (2006). Single amino acid changes in the 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from Agrobacterium sp. strain CP4 and Synechocystis sp. PCC6803 alter enzyme activity and glyphosate sensitivity. Agriculture and Chemistry and Biotechnology. 49 (2): 65-68.

4. Hermann K.M. (1995). The shikimate pathway: early steps in the biosynthesis of aromatic compound. Plant Cell 7: 907-919.

5. Bradshow L.B., Padgette S.R., Kimbell S.L. and Wells B.H. (1997). Perspective on glyphosate resistance. Weed Technology. 11:189-198.

6. Johnson W.G., Davis V.M., Kruger G.R. and Weller S.C. (2009). Influence of glyphosate-resistant cropping systems on weed species shifts and glyphosate-resistant weed populations. European Journal of Agronomy. 31(3):162-72.

7. Weed Science. (2019). http://www.weedscience.org/. The Global Herbicide Resistance Action Committee and Crop Life International.

8. Heap I. (2016). The International Survey of Herbicide Resistant Plants. Accessed October 4th. http://www.weedscience.org/.

9. Mulwa R.M.S. and Mwanza L.M. (2006). Biotechnology approaches to developing herbicide tolerance/ selectivity in crops. African Journal of Biotechnology. 5 (5): 396-404.

10. Perez-Jones A., Park K.W., Polge N., Colquhoun J. and Mallory-Smith. C.A. (2007). Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in Lolium multiflorum. Planta Journal. 226:395–404.

11. Zambrano A.Y., Demey J.R. and Gonzalez V. (2003). In vitro selection of a glyphosate tolerant sugarcane cellular line. Plant Molecular Biology Reporter. 21: 365-373.

12. Sellin C., Forlani G., Dubois J., Nielsen E. and Vasseur J. (1992). Glyphosate tolerance in *Chicorium intybus* L. var. Magdebourg. Plant Science. 85: 223-231.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

13. Steinrucken H.C., Schulz A., Amerhein N., Porter C.A. and Fraley R. (1986). Overproduction of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase in a glyphosate-tolerant Petunia hybrid cell line. Archeology and Biochemistry and Biophysics. 244: 169-178.

14. Hollander-Czytko H. and Amrhin N. (1987). 5-Enolpyruvylshikimate 3-Phosphate Synthase, the Target Enzyme of the Herbicide Glyphosate, Is Synthesized as a Precursor in a Higher Plant. Plant Physiology. 83: 229-231.

15. McCabe P.F., Cselpo A., Timmons A.M. and Dix P.J. (1990). Selection of chloroplast mutants. In: Pollard JW and Walker JM (eds). Methods in Molecular Biology, Vol. 6. Plant cell and tissue culture. The Humana Press, Totowa NJ., pp 467-675.

16. Sandhu S.S., Bastos C.R., Azini L.E., Neto A.T. and Colombo C. (2002). RAPD analysis of herbicide-resistant Brazilian rice lines produced via Mutagenesis. Genetics and Molecular Research. 1: 359-370.

17. Tian Y.S., Jing X., Xiong A., Zhao W., Xiao-Yan F., Peng R.H. and Yao Q.H. (2011). Improvement of glyphosate resistance through concurrent mutations in three amino acids of the Ochrobactrum 5-enopyruvylshikimate-3-phosphate synthase. Apply Environment and Microbiology. 77: 8409–8414.

18. De-Carvalho L.B., Alves P.L.C.A. and Duke S.O. (2013). Hormesis with glyphosate depends on coffee growth stage. Annual Brazilian Academic Science. 85: 813–821.

19. Borggaard O.K. and Gimsing A.L. (2008). Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. Pest Management Science. 64: 441-456.

20. Pline-Srnic, W. (2006). Physiological mechanisms of glyphosate resistance. Weed Technology. 20:290–300.

21. Castle L., Siehl L., Gorton R., Patten P.H., Chen Y., Bertain S., Cho H., Duck N., Wong J., Liu D. and Lassner M. (2004). Discovery and directed evolution of a glyphosate tolerance gene. Science. 304: 1151-1154.

22. Delaney B., Zhang J., Carlson G., Schmidt J., Stagg B. and Comstock B. (2008). A gene-shuffled glyphosate acetyltransferase protein from *Bacillus licheniformis* (GAT4601) shows no evidence of allergenicity or toxicity. Toxicology Science. 102: 425–432.

23. Liu Y., Cao G., Chen R., Wang J. and Wang G. (2015). Transgenic tobacco simultaneously overexpressing glyphosate N-acetyltransferase and 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase are more resistant to glyphosate than those containing one gene, Transgenic Research. 24: 753–763.

24. Nicolia A., Ferradini N., Molla G., Biagetti E., Pollegioni L. and Veronesi F. (2014). Expression of an evolved engineered variant of a bacterial glycine oxidase leads to glyphosate resistance in alfalfa. Journal of Biotechnology. 184: 201–208.

25. Han H., Zhu B., Fu X., You S. and Wang B. (2015). Overexpression of D -amino acid oxidase from *Bradyrhizobium japonicum*, enhances resistance to glyphosate in Arabidopsis thaliana. Plant Cell Report. 34, 2043–2051.

26. Gaines T.A., Zhang W., Wang D., Bukun B., Chisholm S.T., Shaner D.L., Nissen S.J., Patzoldt W.L., Tranel P.J., Culpepper A.S., Grey T.L., Webster T.M., Vencill W.K., Sammons R.D., Jiang J., Preston C., Leach J.E. and Westra P. (2010). Gene amplification confers

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of American. 107:1029–1034.

27. Nasir I.A., Tabassum B., Qamar Z., Javed M.A., Tariq M., Farooq A.M., Butt S.J., Qayyum A. and Husnain T. (2014). Herbicide tolerant Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Plants: An Unconventional Method of Weed Removal, Turkish Journal of Biology. 38: 439-449.

28. Goldsbrough P., Hatch E., Huang B., Kosinski W., Dyer W., Herrmann K. and Weller S. (1990). Gene amplification in glyphosate tolerant tobacco cells. Plant Science. 72: 53–62.

29. Hollander-Czytko H., Johanning D., Meyer H. and Amrhein N. (1988). Molecular basis for the overproduction of 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase in a glyphosate tolerant cell suspension culture of *Corydalis sempervirens*. Plant Molecular Biology. 11: 215–220.

30. Shah D.M., Horsch R.B., Klee H.J., Kishore G.M., Winten J.A., Turner N.E., Hironaka C.M., Sanders P.R., Gasser C.S., Aykent S.A., Siegel N.R., Rogers S.G. and Fraley R.T. (1986). Engineering herbicide tolerance in transgenic plants. Science. 233: 474-481.

31. Kishore G.M. and Shah D. (1988). Amino acid biosynthesis inhibitors as herbicides. Annual Reviews of Biochemistry. 57: 627-663.

32. Wang H.Y., Li Y.F., Xie L.X. and Xu P. (2003). Expression of bactrial *aroA* mutant, aroAM1, encoding 5-enolpyruvylshikimate 3-phospate synthase for the production of glyphosate resistant tobacco plants. Journal of Plant Research. 116: 455-460.

33. Tyagi R., Lai R. and duggleby R.G. (2004). A new approach to megaprimer polymerase chain reaction mutagenesis without an intermediate gel purification step. Biotechnology. 4: 1-6.

34. Mc Pherson M.G. and Moller S.G. (2003). PCR. Bios Scientific Published, Enfield, NH, USA.

35. He M., Yan-Fang N.I.E. and Pielin X.U. (2003). T42M mutation in a bacterial 5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase generates enzyme with increased resistance to Glyphosate. Biochemistry. 67(6):17405-1409.

36. Novoradosky A., Zhang V., Ghosh M., Hogrefe M., Sorge J.A. and Gaasterland T. (2005). Computational principle of primer design for site directed mutagenesis, Nano Science and Technology Institute. 1: 532-535.

37. Dev A., Tapas S., Pratap S. and Kumar P. (2012). Structure and function of enzymes of shikimate pathway. Bioinformatic. Vol 7.

38. Sost D. and Amrhein N. (1990). Substitution of Gly-96 to Ala in the 5-Enolpyruvylshikimate 3- Phosphate Synthase of *Klebsiella pneumoniae* results in a greatly reduced affinity for the herbicide glyphosate. Archeology and Biochemistry and Biophysics. 282:433-436.

39. Barry G.L., Francis G., Kishore K. and Murthy G. (1998). Glyphosate tolerant plants. Patent Search. 5: 776- 760.

40. Fillatti J.J., Kiser R. and Comai L. (1987). Efficient transfer of a glyphosate tolerance gene in to tomato using a binary Agrobacterium tumeifaciens vector. Biotechnology. 5: 726-730.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

41. Padgette S.R., Kolacz K.H., Delannay X., Re D.B., La Vallee B.J., Peschke V.M., Nida D.L., Taylor N.B. and Kishore G.M. (1995). Development, identification and characterization of a glyphosate tolerant soybean line. Crop Science. 35: 1451-1461.

42. Liang A., Shah J., Lu W., Chen M., Li L., Jin Dan, Yongliang Y., Jin W., Ping S., Zhang W., Wang Y. and Lin M. (2008). A single residue mutation of 5-enoylpyruvylshikimate-3-phosphate synthase in *Pseudomonas stutzeri* enhances resistance to the herbicide glyphosate. Biotechnology Letter. 30:1397–1401.

43. Baerson S.R., Rodriguez D.J., Tran M., Feng Y., Biest N.A. and Dill M. (2002). Glyphosate resistant *goosegrass*. Identification of a mutation in the target enzyme 5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase. Plant Physiology. 129: 1265-1275.

44. Dill G. (2005). Glyphosate-resistant crops: history, status and future. Pest Management Science. 61:219–224.

45. Kang K., Jin Y., Jeon H., Park S., Song D., Lee J., Pan C. and Kim M. (2010). The three proline residues (P25, P242, and P434) of *Agrobacterium* CP4 5-enolpyruvylshikimate- 3-phosphate synthase are crucial for the enzyme activity. Plant Biotechnology Report. 4: 329–334.

46. Kahrizi D., Salmanian A.H. Afshari A. and Mousavi A. (2007). Simultaneous substitution of Gly96 to Ala and Ala183 to Thr in 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase of *E.coli* (k12) and transformation of rapeseed (*Brassica napus* L.) in order to make tolerance to glyphosate. Plant Cell Report. 26(1): 94-105.

47. Li J., Meng X., Zong Y., Chen K., Zhang H., Liu J. and Li J. (2016). Gene replacements and insertions in rice by intron targeting using CRISPR-Cas9. National Plants. 2, 16139.

48. Dong Y., Jin X., Tang Q., Zhang X., Yang J., Liu X., Cai J., Zhang X., Wang X. and Wang Z. (2017). Development and event-specific detection of transgenic glyphosate-resistant rice expressing the *g2-epsps* gene. Frontiers in Plant Science Journal. 8: 885.

49. Zhao T., Lin C. and Shen Z. (2011). Development of transgenic glyphosate-resistant rice with *G6* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. Journal of integrative agriculture. 10: 1307–1312.

50. Tian Y.S., Xu J., Peng R.H., Xiong A.S., Xu H. and Zhao W. (2013). Mutation by DNA shuffling of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Malus domestica* for improved glyphosate resistance. Journal of Plant Biotechnology. 11: 829–838.

51. Chandrasekhar K., Reddy G.M., Singh J., Vani K., Vijayalakshmi M. and Kaul T. (2014). Development of transgenic rice harbouring mutated rice 5-Enolpyruvylshikimate 3-Phosphate synthase (Os-mEPSPS) and *Allium sativum leaf agglutinin* (ASAL) genes conferring tolerance to herbicides and sap-sucking insects. Plant Molecular and Biological Report. 32: 1146–1157.

52. Chhapekar S., Raghavendrarao S., Pavan G., Ramakrishna C., Singh V.K. and Phanindra M.L.V. (2015). Transgenic rice expressing a codon-modified synthetic CP4-EPSPS confers tolerance to broad-spectrum herbicide. glyphosate. Plant Cell Report. 34: 721–731.

53. Fartyal D., Agarwal A., James D., Borphukan B., Ram B., Sheri V., Yadav R., Manna M., Varakumar P., Achary M.M. and Reddy M.K. (2018). Co-expression of P173S mutant rice EPSPS and *igrA* genes results in higher glyphosate tolerance in transgenic rice. Frontiers in Plant Science Journal. 9: 144.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

54. Salmanian A.H. and Hemmesi K. (2010). Site-directed mutagenesis, expression and biological activity of E. coli 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase gene. Iranian journal of Biotechnology. 4: 224-229.

55. Hummel A.W., Chauhan R.D., Cermak T., Mutka A.M., Vijayaraghavan A., Boyher A., Starker C.G., Bart R., Voytas D.F. and Taylor N.J. (2018). Allele exchange at the EPSPS locus confers glyphosate tolerance in cassava. Plant Biotechnology Journal. 16, pp. 1275–1282 doi: 10.1111/pbi.12868.

56. Mousavi A., Salmanian A.H., Eftekharian Ghamsari M.R. and Parvanian S. (2018). Simultaneous expression of 5-enol pyruvyl shikimate 3-phosphate synthase (*epsps*) and glyphosate oxidoreductase (*gox*) in transgenic canola plants towards enhancing resistance to glyphosate herbicide. Iranian Journal of Plant Biology. Vol. 10, No. 1, 57-66. (In Farsi with English abstract).

57. Nasr Ramzi S., Sohani M.M., Shirzadian K.R., Amini nasab M. and Asghari J. (2018). The reaction of transgenic rice plants containing EPSPS gene to glyphosate. Genetic Engineering and Biosafety Journal. Volume 7, Number 1. 65-78. (In Farsi with English abstract).

58. Nasr Ramzi S., Sohani M.M., Hasani H. and Asghari J. (2012). A stable and simple transformation of rice (*Oryza sativa* L.) mature embryo using in planta method. Crop Biotechnology Journal. Volume 2, Number 2. 49-62. (In Farsi with English abstract).

59. Nasr Ramzi S., Sohani M.M. and Imanzadeh M. (2014). Optimization of Agrobacterium-mediated transformation efficiency in wheat and rice using a non-tissue culture approach. Genetic Engineering and Biosafety Journal. Volume 2, Number 1. 71-80. (In Farsi with English abstract).

60. Nasr Ramzi S., Sohani M.M., Shirzadian K.R., Amini nasab M. and Asghari J. 2020. Enhancement of glyphosate tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) through mutation induction in EPSPS (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase). Plant Gene Journal. 22. https://doi.org/10.1016/j.plgene.2020.100225.

61. Green J.M. (2018). The rise and future of glyphosate and glyphosate-resistant crops. Pest Management Science. 74: 1035-1039.

62. Dill G., Cajacob C. and Padgette S. (2008). Glyphosate-resistant crop: adoption, use and future considerations. Pest Management Science. 64:326 -331.

63. . Green J.M. and Owen M.D.K. (2011). Herbicide-Resistant Crops: Utilities and Limitations for Herbicide-Resistant Weed Management. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59(11): 5819–5829.

64. Green J.M. (2009). Evolution of glyphosate-resistant crop technology. Weed Science. 57: 108 -117.

65. Kniss A.R. (2018). Genetically Engineered Herbicide-Resistant Crops and Herbicide-Resistant Weed Evolution in the United States, Author(s): http://orcid.org/0000-0003-2551. Weed Science. 66(2): 260-273.

66. Spencer M., Mumm R. and Gwyn J. (2000). Glyphosate tolerant maize line. USA Patent and Trademark Office. 6040497.

67. AgBios. (2009). GM crop database. http:www.agbios.com.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]

68. Leger A. (2005). Risks and consequences of gene flow from herbicide-resistant crops: canola (*Brassica napus* L) as a case study. Pest Management Science. 61: 292-300.

69. ISAAA (International Service for the Acquisition of Agribiotech Applications). (2007). ISAAA Briefs 37-2007: Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: Available at http://www.isaaa.org/.

A Review on Production of Glyphosate-Resistant Plants with Emphasis on Molecular Methods

Sedigheh Nasr Ramzi [1*], Mohammad Mahdi Sohani [2], Reza Shirzadian Khorramabad [3]

1- Ph.D. Plant Biotechnology. The Guilan University, Iran.
2- Associate Professor. Molecular Biology. The Guilan University, Iran.
3- Assistant Professor. Molecular Genetic. The Guilan University, Iran.

kiana.ramsey@gmail.com

Abstract

Herbicide-resistant plants are one of the most common plants that comprise the majority of the total population of transgenic plants. Glyphosate is an herbicide that controls a wide range of plant species. Position of these herbicides reaction is 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) that only exists in plants and some bacteria. This herbicide was known to be suitable and safe for the environment. However, it can also damage crops in farming systems, therefore, it is used before planting. Today, using genetic engineering techniques, the herbicide-resistant gene was isolated and transferred to different crops. The cultivation of herbicide-resistant crops to is increasing. This study, is a review on studies about herbicide-resistant crops.

Keywords: Biosafety, Glyphosate, Mutagenesis, Weeds, Transgenic Plants.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-10]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.2.3.8]