مجله ایمنی زیستی
دوره ۱۱، شماره ۳، پائیز ۱۳۹۷

استفاده از فناوری آر.ان.ای مداخله‌گر در مدیریت آفات و حفاظت از حشرات مفید در برابر بیماری‌ها: چالش‌ها و ارزیابی ملاحظات

مریم آل‌عصفور[۱*] و منیره شکوه خانیمانی[۲]

۱- دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۲- کارشناسی ارشد حشره‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

aosfoor@shirazu.ac.ir

چکیده

آر.ان.ای مداخله‌گر (RNAi) یک مکانیسم تنظیم بیان ژن پس از رونویسی است که طی آن آر.ان.ای دو رشته‌ای (dsRNA) معرفی شده، از طریق مسیر siRNA یا miRNA باعث خاموشی ژن هدف می‌شود. این روش در طول چند سال گذشته نشان داده است که دارای توانایی زیادی در زمینهٔ مدیریت حشرات از جمله، کنترل حشرات آفت، دستکاری حشرات ناقل بیماری و حفاظت و درمان حشرات مفید است. مکانیسم جذب آر.ان.ای دو رشته‌ای در سلول حشرات به‌طور کلی به دو روش انجام می‌شود و از بین روش‌های مختلف تحویل آر.ان.ای دو رشته‌ای، تحویل دهانی بهترین روش برای کنترل کاربردی آفات در مزرعه است. با توجه به موفقیت‌های روش آر.ان.ای مداخله‌گر در کنترل آفات ، انتظار می‌رود این روش، پتانسیل بالایی در راهکارهای آتی مدیریت آفات داشته باشد. اگرچه به دلیل نبود دانسته‌های ژنومی برای اکثر موجودات غیرهدف، درک ملاحظات زیست‌محیطی ناشی از فناوری آر.ان.ای مداخله‌گر و مزیت‌های آن در حفاظت از محصولات مشکل است. مطالعات بیشتر و درک بهتر سازوکارهای آر.ان.ای مداخله‌گر در حشرات، انتشار جهانی روش‌های تجاری مبتنی بر آر.ان.ای مداخله‌گر را سرعت می‌بخشد.

واژه‌های کلیدی: آر.ان.ای مداخله‌گر، آر.ان.ای دو رشته‌ای، مدیریت حشرات، خاموشی ژن، موجودات غیرهدف.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

مقدمه

فایر و همکاران در سال ۱۹۹۸، فرآیندی بر اساس خاموشی ژن هدف را در نماتد *Caenorhabditis elegans* توصیف کرده و آن را آر.ان.ای مداخله‌گر (RNAi) نامیدند و به خاطر این کشف‌شان در سال ۲۰۰۶ موفق به دریافت جایزهٔ نوبل شدند (۱). آر.ان.ای مداخله‌گر یک مکانیسم تنظیم بیان ژن پس از رونویسی است که نیازمند معرفی آر.ان.ای دو رشته‌ای (dsRNA) به موجودات زنده به‌منظور خاموشی ژن هدف است (۲). برای اینکه آر.ان.ای دو رشته‌ای به‌طور موفق خاموشی ژن را انجام دهد، موجود زنده باید دارای مکانیسم‌های لازم برای پردازش آر.ان.ای دو رشته‌ای و تجزیه یا مهار ترجمهٔ آر.ان.ای پیامبر (mRNA) هدف باشد (۱). رویکرد پژوهشگران به زیست‌شناسی با روش آر.ان.ای مداخله‌گر متحول شد و به همین دلیل پژوهش‌های زیادی به‌منظور شفاف‌سازی عملکرد این سازوکار برای کاربردهای عملی انجام شده است (۳). این روش دارای پتانسیل فراوانی در زمینهٔ حشره‌شناسی کاربردی است. برای مثال، آر.ان.ای مداخله‌گر می‌تواند برای کنترل حشرات آفت از طریق مهار بیان ژن‌های ضروری که منجر به کاهش شایستگی و یا افزایش مرگ‌ومیر می‌شود، مورد استفاده قرار گیرد. علاوه‌براین، با پاسخ ضدویروسی، آر.ان.ای مداخله‌گر می‌تواند گونه‌های مفید حشرات مانند زنبورعسل و کرم ابریشم را از بیماری‌های ویروسی بسیار خطرناک محافظت کند (۴). میزان موفقیت آر.ان.ای مداخله‌گر در حشرات بسته به گونهٔ حشره، ژن‌های هدف و روش‌های تحویل آر.ان.ای دو رشته‌ای متفاوت است (۵). در بسیاری از آزمایش‌های انجام شده، آر.ان.ای دو رشته‌ای به‌طور مستقیم به موجود زنده تزریق شده، که برای کنترل آفات در مزرعه قابل اجرا نیست. برای کنترل کارآمد حشرات، حشره بایستی قادر به جذب خودکار آر.ان.ای دو رشته‌ای از طریق تغذیه و هضم در دستگاه گوارش باشد (۶). هدف از این مقاله توصیف مکانیسم تنظیم بیان ژن به‌وسیلهٔ آر.ان.ای مداخله‌گر و بحث در مورد اقدامات انجام‌شده به‌منظور استفاده از آر.ان.ای

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

مداخله‌گر برای کنترل حشرات آفت و همچنین پیشگیری از ایجاد بیماری در برخی از حشرات مفید است.

۱- سازوکار آر.ان.ای مداخله‌گر

آر.ان.ای مداخله‌گر از طریق ایجاد برش در مولکول آر.ان.ای پیامبر هدف یا بازدارندگی از ترجمه باعث خاموشی ژن هدف می‌شود. آر.ان.ای مداخله‌گر دارای دو مسیر microRNA (miRNA) و short interfering RNA (siRNA) است. miRNA از منشا ژن‌های درون سلولی است که در تنظیم و بیان ژن نقش دارد. درحالی‌که، siRNA از منشا ژن‌های خارج سلولی است، که در دفاع در برابر ویروس‌ها نقش دارد (۴).

۱-۱ مسیر miRNA

رونوشت اولیه از اغلب miRNAها در هستهٔ سلول تهیه شده و به آن pri-miRNA گفته می‌شود و دارای یک یا چند ساختار ساقه- لوپی یا سنجاق‌سری است. یک آنزیم RNAase III به نام دروشا (Drosha) در ترکیب با یک پروتئین باندشونده به آر.ان.ای دو رشته‌ای تشکیل ساختاری در هسته معروف به میکروپروسسور (microprocessor) را می‌دهد. pri-miRNA در میکروپروسسور برای تولید pre-miRNA به قطعات حدود ۷۰-۶۵ نوکلئوتیدی شکسته می‌شود. pre-miRNAs تولید شده توسط exoprotin¬5 از هستهٔ سلول به سیتوپلاسم منتقل می‌شوند و در آنجا به وسیلهٔ دومین آنزیم RNAase III به نام دایسر (Dicer) به آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای کوتاه ۲۵-۲۰ نوکلئوتیدی تبدیل می‌شوند (۴).

یکی از دو رشتهٔ این آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای کوچک به‌عنوان رشتهٔ راهنما یا miRNA و دیگری رشتهٔ مسافر یا miRNA* است. آر.ان.ای دو رشته‌ای روی یک پروتئین، از خانوادهٔ آرگونات بارگذاری می‌شود و مجموعهٔ خاموشی RISC را به وجود می‌آورد. آنزیم هلیکاز، دو رشتهٔ آر.ان.ای دو رشته‌ای را از یکدیگر جدا کرده، رشتهٔ مسافر تجزیه شده و رشتهٔ راهنما باقی می‌ماند. با تک‌رشته شدن آر.ان.ای دو رشته‌ای مجموعهٔ خاموشی فعال شده و با کمک

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

رشتهٔ راهنما به توالی مکمل خود در آر.ان.ای پیامبر هدف متصل می‌شود. اگر اتصال بین miRNA و آر.ان.ای پیامبر هدف به‌صورت کامل باشد، باعث ایجاد برش در آر.ان.ای پیامبر و در نتیجه تجزیهٔ آن می‌شود. درحالی‌که اتصال به‌صورت ناقص، باعث مهار ترجمه آر.ان.ای پیامبر هدف می‌شود (۲).

۲-۱ مسیر siRNA

در مسیر siRNA، آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای خارج سلولی به روش‌هایی مانند تزریق یا تغذیه وارد سیتوپلاسم سلول می‌شوند. آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای واردشده توسط آنزیم دایسر به قطعات بین ۲۵-۲۰ نوکلئوتیدی شکسته می‌شوند. این آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای کوچک به پروتئین‌هایی از خانواده آرگونات متصل شده و باعث ایجاد مجموعهٔ خاموشی RISC می‌شوند. پس از تک‌رشته شدن این آر.ان.ای دو رشته‌ای کوچک که به آن siRNA گفته می‌شود، مجموعهٔ خاموشی فعال شده و به آر.ان.ای پیامبر هدف متصل می‌شود. siRNA با آر.ان.ای پیامبر هدف، اتصال کامل ایجاد کرده و باعث برش در آر.ان.ای پیامبر و در نتیجه تجزیهٔ آن می‌شود (۲).

۲- انواع آر.ان.ای مداخله‌گر

آر.ان.ای مداخله‌گر را می‌توان به دو گروه تقسیم کرد: ۱- cell-autonomous آر.ان.ای مداخله‌گر، که دربرگیرندهٔ فرآیندهای خاموشی تنها در همان سلولی است که آر.ان.ای دو رشته‌ای در آن معرفی شده است. ۲- non-cell-autonomous آر.ان.ای مداخله‌گر، که در آن فرآیند تداخل در سلول‌ها یا بافت‌های مختلف نسبت به محل اعمال یا تولید آر.ان.ای دو رشته‌ای تاثیر می گذارد. دو نوع مختلف از non-cell-autonomous آر.ان.ای مداخله‌گر وجود دارد:

۱- آر.ان.ای مداخله‌گر محیطی (enviromental RNAi)، که در آن آر.ان.ای دو رشته‌ای توسط یک سلول از محیطی مثل دستگاه گوارش گرفته می‌شود، بنابراین این فرآیند را می‌توان در موجودات تک سلولی نیز مشاهده کرد.

۲- آر.ان.ای مداخله‌گر سیستمیک (systemic RNAi)، که تنها می‌تواند در موجودات پرسلولی اتفاق بیفتد، چون

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

شامل فرآیندهایی است که در آن سیگنال خاموشی از یک سلول به سلول دیگر و یا از یک بافت به بافت دیگر منتقل می‌شود. در موجودات پرسلولی آر.ان.ای مداخله‌گر محیطی می‌تواند به وسیلهٔ آر.ان.ای مداخله‌گر سیستمیک دنبال شود. بر اساس پژوهش‌های انجام گرفته مشخص شده است که برای استفادهٔ کارآمد از آر.ان.ای مداخله‌گر در مدیریت حشرات بایستی روی non-cell-autonomous آر.ان.ای مداخله‌گر تمرکز کرد (۶).

۳- روش‌های تحویل آر.ان.ای دو رشته‌ای

آر.ان.ای دو رشته‌ای را می‌توان به روش‌های مختلفی به حشرات هدف تحویل داد، که یکی از این روش‌ها ریز تزریق است. اولین کاربرد موفقیت‌آمیز آر.ان.ای مداخله‌گر به روش ریزتزریق در مگس *Dorsophila melanogaster* بوده، ولی بعد از آن در آرایه‌های مختلفی از حشرات از جمله:.*Tribolium* sp، *Bombyx mori*، چند جنس از راستهٔ دوبالان، سوسری‌ها، راست‌بالان و زنبورعسل نیز استفاده شده است (۴). تزریق ممکن است به جنین یا هموسل مادری انجام شود. تزریق آر.ان.ای دو رشته‌ای به هموسل مادری، که به آر.ان.ای مداخله‌گر والدینی معروف است، منجر به جلوگیری از بیان ژن هدف و احتمالاً تغییر فنوتیپ در فرزندان می‌شود. فعالیت آر.ان.ای مداخله‌گر ناشی از تزریق آر.ان.ای دو رشته‌ای به جنین در تعدادی از گونه‌های حشرات از جمله *B. mori* انجام شده است (۲).

یک مانع مهم برای استفاده از ریزتزریق در برخی حشرات، آسیب‌های غیراختصاصی مانند آسیب مکانیکی است، که اغلب در زمانی که هدف جنین است، مطرح می‌شود. متغییرهای آزمایشی مانند حجم و محل تزریق آر.ان.ای دو رشته‌ای بر موفقیت روش ریزتزریق تاثیر گذارند. تحویل دهانی یک روش کمتر تهاجمی و به‌طور بالقوه پرتوان برای تحویل آر.ان.ای دو رشته‌ای است. این روش به‌طور خاص برای حشراتی که تحمل تزریق را ندارند، استفاده شده و برای کنترل کاربردی آفات در مزرعه به واسطهٔ آر.ان.ای مداخله‌گر مناسب است. تحویل دهانی ممکن است به‌صورت ترکیب آر.ان.ای دو رشته‌ای با

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

رژیم غذایی حشره باشد، که این ترکیبات هم اکنون برای زنبورعسل، مگس سفید، شته‌ها و پسیل‌ها وجود دارد. تحویل دهانی آر.ان.ای دو رشته‌ای به حشرات گیاهخوار، هچنین می‌تواند توسط گیاهان تراریخته بیان‌کنندهٔ آر.ان.ای دو رشته‌ای انجام شود. از دیگر روش‌های تحویل آر.ان.ای دو رشته‌ای به حشرات می‌توان به روش خیساندن، ادغام در نانوذرات، بیان در باکتری، تزریق به گیاهان چوبی و جذب مستقیم در محلول آب برای قلمه‌های گیاهی یا نهال‌های ریشه‌دار اشاره کرد (۴).

۴- مقدار آر.ان.ای دو رشته‌ای لازم

مقدار آر.ان.ای دو رشته‌ای مورد نیاز برای این مکانیسم خاموشی با توجه به گونهٔ حشره، مرحله رشدی حشره، فراوانی ژن هدف، روش تحویل، روش جذب و توانایی گسترش و پردازش مولکول‌های آر.ان.ای دو رشته‌ای متفاوت است. به‌عنوان مثال، در تحویل دهانی نسبت به روش تزریق، مقدار بیشتری از آر.ان.ای دو رشته‌ای مورد نیاز است. هزینه‌های بالای ساخت مقدار زیاد آر.ان.ای دو رشته‌ای، چالشی برای غلظت‌های بالا در رژیم غذایی مصنوعی ایجاد کرده است (۴).

۵- مکانیسم جذب آر.ان.ای دو رشته‌ای

به‌طور کلی مکانیسم جذب آر.ان.ای دو رشته‌ای در سلول‌های حشرات به‌واسطهٔ کانال‌های غشایی یا مسیر جذب اندوسیتوز انجام می‌شود.

۵-۱ کانال‌های غشایی

در نماتد *C. elegans*، سه پروتئین غشایی درگیر در آر.ان.ای مداخله‌گر توصیف شده است. پروتئین SID-1 که برای آر.ان.ای مداخله‌گر سیستمیک ضروری است و باعث انتقال غیرفعال آر.ان.ای دو رشته‌ای به داخل سلول می‌شود، با این‌حال برای صدور آر.ان.ای دو رشته‌ای از سلول لازم نیست (۶). دو پروتئین دیگر SID-2 و SID-5 هستند، که به ترتیب در جذب آر.ان.ای دو رشته‌ای توسط سلول‌های دستگاه گوارش و صدور آر.ان.ای دو رشته‌ای از سلول نقش دارند (۴).

اگرچه ژن‌های ارتولوگ *SID-1* در بسیاری از حشرات حضور دارند، اما هنوز

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

نمی‌توان هیچ نتیجه‌ای در مورد مشارکت این ژن‌های ارتولوگ در جذب آر.ان.ای دو رشته‌ای، با توجه به نتایج متضاد به دست آمده، گرفت. برای مثال، یک ژن ارتولوگ *SID-1* در شته پنبه، *Aphis gossypii*، پیدا شده است که نشان‌دهندهٔ یک نقش احتمالی در جذب آر.ان.ای دو رشته‌ای است. با این وجود بیان و عملکرد آن مشخص نشده است (۶). تصور می‌شود ژن همولوگ *SID-1* در زنبورعسل، *Amsid-1* ، در انتشار سیستمیک آر.ان.ای دو رشته‌ای در این حشره نقش داشته باشد (۲).

از تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک کامپیوتر (in silico) در حضور ژن‌های ارتولوگ *SID-1* در حشرات، به نظر می‌رسد که این ارتولوگ‌های *SID-1* شباهت زیادی با ژن‌های *tag-130* نماتد *C. elegans* نسبت به ژن‌های *SID-1* این نماتد دارند (۲). در نماتد، ژن‌های *tag-130* ناقل کلسترول بوده و در مسیر آر.ان.ای مداخله‌گر درگیر نیستند. این پژوهش‌ها نشان می‌دهد، که ژن *SID-1* برای عملکرد آر.ان.ای مداخله‌گر سیستمیک یا جذب آر.ان.ای دو رشته‌ای در تعدادی از حشرات ضروری نیست (۴،۷).

۵-۲ مسیر جذب اندوسیتوز

در صورت عدم وجود ژن‌های ارتولوگ *SID-1*، آر.ان.ای دو رشته‌ای با استفاده از یک مسیر اندوسیتوز به‌واسطهٔ کلاترین (پروتئین دخیل در تشکیل وزیکول‌های پوشش‌دار) قادر به ورود به سلول S2 (رده سلولی مشتق‌شده از سلول‌های جنینی مگس سرکه) است. به نظر می‌رسد که این فرآیند، با اتصال آر.ان.ای دو رشته‌ای به گیرنده‌های رفتگر در سطح سلول S2 شروع می‌شود و سپس از طریق وزیکول درون سلولی جذب می‌شود. دو گیرنده‌ی رفتگر SR-CI و Eater، در مگس سرکه مسئول بیش از ۹۰٪ جذب آر.ان.ای دو رشته‌ای هستند. تصور می‌شود که سلول‌های S2 در فاگوسیتوز بیماری‌زاهای باکتریایی در حشرات نقش داشته باشند (۲). سلول‌های S2 به‌واسطهٔ داشتن H^+ATPase واکوئلی، آر.ان.ای دو رشته‌ای را در وزیکول‌های درون سلولی ذخیره می‌کنند، اما هیچ القای آر.ان.ای مداخله‌گر

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

را نشان نمی‌دهند. یک نقش کنترلی فعال برای H^+ATPase واکوئلی در شکستن مسیر اندوسیتوز طبیعی برای القاء خاموشی آر.ان.ای مداخله‌گر در سلول‌های S2 پیشنهاد شده است (۶). با این‌حال باید در تعمیم این داده‌ها برای آر.ان.ای مداخله‌گر جانوری محتاط بود، زیرا سلول‌های S2 شبیه به سلول‌های خونی هستند و در مقایسه با بیشتر سلول‌های حشرات میزان بالایی از اندوسیتوز را نشان می‌دهند (۴).

۵-۳ آر.ان.ای پلی‌مراز وابسته به آر.ان.ا (RdRp)

تکثیر آر.ان.ای مداخله‌گر سیستمیک در گیاهان، مبتنی‌بر آر.ان.ای پلیمراز وابسته به آر.ان.ا (RdRp) بوده و انتشار آنها از طریق پلاسمودسماها است. در نماتدها نیز ارتولوگ‌های RdRp پیدا شده ولی با وجود مشاهده‌ی فعالیت RdRp در عصارهٔ جنین مگس سرکه، حضور RdRp در دیگر حشرات هنوز تایید نشده است. این نشان می‌دهد، که تکثیر آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای در حشرات در مقایسه با نماتدها بر اساس مکانیسم دیگری است (۶).

۶- استفاده از آر.ان.ای مداخله‌گر در کنترل حشرات آفت

پس از کشف خاموشی ژن هدف با siRNA مشخص شد، که راهکارهای آر.ان.ای مداخله‌گر دارای پتانسیل زیادی برای استفاده در کنترل حشرات آفت هستند. امکان‌پذیر بودن راهکار حشره‌کشی آر.ان.ای مداخله‌گر در گیاهان اولین‌بار با استفاده از بیان آر.ان.ای دو رشته‌ای در گیاهان ذرت و توتون بررسی شده است (۲).

گیاهان توتون تراریخته برای فعالیت آر.ان.ای مداخله‌گر، ژن سایتوکروم P450 شب‌پره *Helicoverpa armigera* به نام *CYPAE14* را هدف قرار دادند (۲). این ژن در معده میانی لارو تولید شده و سم‌زدایی گوسیپول که یک متابولیت ثانویه در گیاهان پنبه است را انجام می‌دهد. آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای تولیدی باعث مهار بیان *CYPAE14* در این آفت و افزایش حساسیت به گوسیپول بیان‌شده توسط گیاه شد (۴). تولید گیاهان ذرت بیان‌کننده آر.ان.ای دو رشته‌ای در برابر ژن *Vacuolar ATPase* کرم ساقه‌خوار غربی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

ذرت، *Diabrotica virgifera*، باعث بروز مقاومت به خسارت این آفت شد (۲). با اینکه موفقیت گیاهان تراریخته بیان‌کننده ژن توکسین (Bt) باکتری *Bacillus thuringiensis* بوده که راه را برای تولید گیاهان تراریخت بیان‌کننده آر.ان.ای دو رشته‌ای هموار ساخته است ولی گیاهان تراریخته Bt تنها بر روی آفات جونده موثر هستند و این گیاهان تاثیر چندانی بر کنترل آفات مکنده ندارند. در این‌حال گیاهان ترایخته حاوی آر.ان.ای مداخله‌گر نه تنها در برابر آفات جونده بلکه در برابر آفات مکنده‌ای مانند زنجرک برنج (*Nilaparvata lugens*) و شته سبز هلو (*Myzus persica*) نیز موثر هستند (۴).

با توجه به مراحل طولانی و وقت‌گیر تصویب قانونی گیاهان تراریخته، بیشتر مطالعات کنونی بر روی روش‌های جایگزین متمرکز شده است (۲). از جمله روش‌های جایگزین برای تحویل آر.ان.ای دو رشته‌ای می‌توان به استفاده از آن به عنوان حشره‌کش‌های شیمیایی معمول اشاره کرد، مانند طعمه‌های حشره‌کشی که برای آفات شهری نظیر مورچه‌ها، موریانه‌ها، سوسری‌ها یا مراحل لاروی آبزی پشه‌ها وجود دارد. پتانسیل اقتصادی این روش‌ها، به توانایی تحویل آر.ان.ای دو رشته‌ای به حشرات هدف بستگی دارد که توسط پایداری آر.ان.ای دو رشته‌ای در محیط، غلظت مناسب آن در طعمه و بالابردن نرخ جذب آن توسط حشره، جهت جبران هزینه‌های تولید آر.ان.ای دو رشته‌ای تعیین می‌شود. این اهداف به وسیلهٔ فرمولاسیون‌هایی که موجب افزایش جذب آر.ان.ای دو رشته‌ای به داخل سلول های حشرات و حفاظت از آن در برابر آنزیم dsRNAase حشرات شود، تسهیل خواهد شد (۴).

۶-۱ پژوهش‌های انجام شده روی پنج راستهٔ مهم حشرات

۶-۱-۱ سخت‌بال‌پوشان: با توجه به دانش موجود، به نظر می‌رسد تنها حشراتی هستند که آر.ان.ای مداخله‌گر می‌تواند تا حد زیادی به‌عنوان یک راهکار عملی کنترل، علیه آنها مورد استفاده قرار گیرد. این امر به خاطر چند ویژگی مهم این راسته، ازجمله راندمان بالای آر.ان.ای مداخله‌گر سیستمیک و توانایی جذب

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

دهانی کارامد آر.ان.ای دو رشته‌ای در افراد این راسته است (۷،۸).

۶-۱-۲ راست‌بالان: ملخ‌ها به آر.ان.ای دو رشته‌ای تزریق‌شده در هموسل‌شان بسیار حساس هستند. در مقایسه با سخت بال‌پوشان، آر.ان.ای دو رشته‌ای پس از جذب دهانی باعث خاموشی نمی‌شود، که این مسئله تاکنون از موانع جدی این راهکار برای برنامه‌های کاربردی کنترل این حشرات بوده است (۷،۸).

۶-۱-۳ نیم‌بال‌پوشان: حشرات مکندهٔ شیرهٔ گیاهی هستند، که باعث خسارت قابل‌توجهی به گیاهان از هر دو طریق گیاه خواری و انتقال بیماری‌های ویروسی می‌شوند. یک ویژگی این راسته از حشرات جذب غذا از طریق آوند آبکش است؛ بنابراین آر.ان.ای دو رشته‌ای به‌منظور به حداکثر رساندن جذب دهانی بایستی به شیرهٔ گیاهی تحویل داده شود. گیاهان تمایل به انتقال siRNAs کوچک و آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای کوتاه، به داخل آوند آبکش دارند، در حالی‌که به نظر می‌رسد دستگاه گوارش حشرات برای جذب آر.ان.ای دو رشته‌ای طولانی موثرتر از siRNA کوچک عمل می‌کنند و این از موانع اصلی استفاده از این روش است (۷،۸). البته مواردی مانند کنترل زنجرک برنج و شته سبز هلو با تغذیه از siRNAs کوچک تولیدشده توسط گیاهان تراریخته موجود گزارش شده است (۸).

۶-۱-۴ بال‌پولکداران: در موارد متعدد موفقیت آر.ان.ای مداخله‌گر سیستمیک و محیطی گزارش شده است اما بسیاری از محققان با مشکلات زیادی در آزمایش‌های آر.ان.ای مداخله‌گر در این راسته مواجه هستند. برای استفاده از آر.ان.ای مداخله‌گر به‌عنوان یک راهکار کنترلی در برابر آفات بال‌پولکدار، بایستی یک سری موانع موجود از قبیل تجزیهٔ سریع آر.ان.ای دو رشته‌ای در محیط قلیایی دستگاه گوارش توسط آنزیم نوکلئاز اختصاصی برداشته شود. بنابراین روش‌های پیچیده‌تر مانند استفاده از ذرات زیستی یا مصنوعی محصورکنندهٔ آر.ان.ای دو رشته‌ای برای محافظت در دستگاه گوارش استفاده می‌شود (۷،۸).

۶-۱-۵ بال‌غشاییان: در مقایسه با گروه‌های حشرات ذکر شده در بالا،

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

بال‌غشاییان به‌طور کلی حشرات مفیدی هستند و نقش آن‌ها به‌عنوان گرده‌افشان‌ها، تولیدکنندگان عسل و عوامل کنترل زیستی بر کسی پوشیده نیست. در این گروه آر.ان.ای مداخله‌گر نه برای کشتن حشرات، بلکه برای محافظت آنها در برابر ویروس‌ها و دیگر بیماری‌زاها استفاده می‌شود. در بال‌غشاییان آر.ان.ای مداخله‌گر سیستمیک به خوبی کار می‌کند (۷).

۷- آر.ان.ای مداخله‌گر و حفاظت حشرات در برابر انگل‌ها و بیماری‌زاها

حساسیت بسیاری از بیماری‌زاهای یوکاریوتی به آر.ان.ای مداخله‌گر، یک راهکار جدید را به‌منظور ارتقاء سلامت حشرات مفید ارائه می‌دهد. آر.ان.ای مداخله‌گر دارای پتانسیل بسیار زیادی در درمان بیماری‌های ویروسی است، به همین دلیل فرصت‌هایی برای مهار آلودگی‌های ویروسی در حشراتی از جمله ناقلین بیماری‌های مهم ویروسی انسان، دام و گیاهان زراعی به وجود آورده است. مواردی از موفقیت آر.ان.ای مداخله‌گر در کنترل بیماری‌زاها یا انگل‌های مرتبط با حشرات در قسمت زیر مورد بررسی قرار گرفته است (۴).

۷-۱ حفاظت از حشرات مفید

نوزما "Nosema" یک انگل زنبورعسل است، که باعث مرگ و میر بالای این حشره می‌شود. دو جنبهٔ مهم زیست‌شناسی نوزما، آن را هدف مناسبی برای راهکارهای مبارزه مبتنی‌بر آر.ان.ای مداخله‌گر ساخته که یکی مکانیسم مولکولی آن است و دیگری استقرارش در سلول‌های اپی‌تلیال معده میانی که مکانی مناسب برای دسترسی آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای بلعیده شده به آنها است. تغذیهٔ زنبورهای عسل آلوده به نوزما با آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای خاص برای ژن ناقل ATP/ADP در نوزما، باعث کاهش مرگ و میر زنبورهای عسل در اثر این بیماری‌زا شده است (۴).

این راهکار برای کنه‌های اکتوانگل *Varroa destructor* تغذیه‌کننده از خون زنبورعسل نیز مورد استفاده قرار گرفته است و باعث شده تراکم کنه‌های *Varroa* روی بدن زنبورها بدون هیچ اثر مخرب آشکاری تا ۵۰٪ کاهش یابد. یکی از

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

ویروس‌های بسیار خطرناک زنبورعسل، ویروس فلج حاد اسرائیلی (IAPV) است، که باعث کاهش مداوم جمعیت زنبوران و فروپاشی همسانه می‌شود. درمان همسانه‌های آلوده به IAPV با یک محصول آر.ان.ای دو رشته‌ای خاص این ویروس به نام *Remebee-1* باعث شد که بقای زنبورهای عسل، اندازه‌ی همسانه و عسل تولیدی در تمام موارد افزایش یابد (۴).

۷-۲ مدیریت حشرات ناقل یا عوامل بیماری‌زاها

آر.ان.ای مداخله‌گر همچنین دارای پتانسیل درخور توجهی برای پاک‌کردن برخی حشرات ناقل از بیماری‌زاهایی نظیر پلاسمودیوم است که خودشان به آر.ان.ای مداخله‌گر حساس نیستند. در مورد انگل‌های جنس پلاسمودیوم عامل بیماری مالاریا که توسط پشهٔ آنوفل منتقل می‌شوند، می‌توان با کاهش پروتئین مورد نیاز برای ورود پلاسمودیوم یا کاهش بقای آن در بدن حشره ناقل، با استفاده از آر.ان.ای مداخله‌گر پشه‌های مقاوم تولید کرد (۴). آر.ان.ای مداخله‌گر همچنین توانسته به دیگر روش‌های کنترلی حشرات ناقل عوامل بیماری‌زا کمک کند. یکی دیگر از بیماری‌زاهای مقاوم به آر.ان.ای مداخله‌گر جنس *Trypanosoma* است که عامل بیماری خواب در انسان و بیماری ناگانا در دام است و توسط مگس تسه تسه منتقل می‌شود. گرچه تلاش در استفاده از روش‌های نر عقیمی برای کنترل مگس تسه تسه در همسانه‌های آزمایشگاهی نگهداری مگس بی‌فایده بوده است. تکنیک آر.ان.ای مداخله‌گر توانست با موفقیت محدودی سطوح آلودگی این ویروس را در همسانه‌های آزمایشگاهی کاهش دهد (۲).

۸- ارزیابی ملاحظات زیست‌محیطی

علاقه به استفاده از آر.ان.ای دو رشته‌ای در کشاورزی به‌عنوان حشره‌کش سنتی و یا در محصولات تراریخته به سرعت در دانشگاه‌ها و بخش‌های تجاری در حال افزایش است. در محصولات تراریخته بیان آر.ان.ای دو رشته‌ای به خوبی برای کنترل ۵ گونه آفت مهم کشاورزی (۹،۱۰،۱۱،۱۲،۱۳) و ویروس‌های گیاهی (۱۴) استفاده شده و انتظار می‌رود که در

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

آینده محصولات تراریخته جدیدی تولید شوند. در سال ۲۰۱۶، پوشش جهانی محصولات تراریخته به ۱۸۵/۱ میلیون هکتار رسید. بیشترین سطح زیر کشت این محصولات به ترتیب در آمریکا (۷۲/۹)، برزیل (۴۹/۱)، آرژانتین (۲۳/۸)، کانادا و هند (۱۱/۶) میلیون هکتار است (۱۵).

با این‌حال در بسیاری از کشورها قبل از استفاده از این گیاهان به‌عنوان غذا و یا انتشار در طبیعت بایستی مطالعات جامعی انجام شود و تغییرات احتمالی و غیرقابل پیش‌بینی این محصولات در مقایسه با محصولات غیرتراریخته از جمله ویژگی‌های فنوتیپی و ترکیبات غذایی و پتانسیل حساسیت و سم‌شناسی آنها مورد بررسی قرار گیرد تا اثرهای احتمالی مضر آنها بر محیط زیست و سلامت انسان‌ها مشخص شود (۱۶). در دو دهه گذشته این رویکرد در ارزیابی ریسک صفات معرفی‌شده برای گیاهان تراریخته موفق بوده که بیشتر آنها به بیان پروتئین‌های باکتری *B. thuringiensis* در محصولات تراریخته مختلف نظیر ذرت، پنبه و سویا مربوط بوده است (۱۷). این رویکرد برای فناوری‌های مبتنی‌بر آر.ان.ای مداخله‌گر نیز موفق بوده و چارچوبی که توسط CTNBIO برای شناسایی و ارزیابی اثرهای منفی معرفی گیاهان تراریخته دارای آر ان ا مداخله‌گر بر سلامت انسان‌ها و یا حیوان‌ها معرفی شده است شبیه به دستورالعمل‌های پیشنهادی توسط سایر آژانس‌ها است. با این‌حال این چارچوب‌های پایه به خوبی گیاهان تراریخته برای فناوری‌های مبتنی‌بر آر.ان.ای مداخله‌گر که آر.ان.ای دو رشته‌ای را بیان می‌کند عمل نمی‌کند، زیرا نحوه عمل و مکانیسم جذب آن در گونه‌های غیرهدف بسیار متغیر است و آگاهی بیشتری برای کاهش ریسک خطرهای زیست‌محیطی مورد نیاز است (۱۸،۱۹،۲۰).

نسخه‌های تجاری قبلی گیاهان تراریخته که نزدیک به دو دهه در سراسر جهان کشت می‌شود، نشان دادند که این محصولات برای تغذیه مناسب هستند اما نسل جدید این گیاهان مولکول‌های آر.ان.ای دو رشته‌ای را به جای پروتئین‌های سمی بیان می‌کنند که

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

سناریوی جدید و متفاوتی برای بحث و گفتگو است. در پستانداران، این گیاهان پس از ورود به دستگاه گوارش به دلیل pH پائین تخریب شده و مصرف آنها برای انسان‌ها بی‌خطر است. پژوهش‌های پزشکی نیز نشان داده‌اند که مولکول‌های آر.ان.ا ثبات کمی در بدن پستانداران دارند. ارزیابی ملاحظات زیست‌محیطی برای آر.ان.ای مداخله‌گر، مشابه با گیاهان حاوی Bt است ولی تفاوت اساسی در شیوه عمل این فناوری‌ها به‌ویژه در مورد عمل آر.ان.ا های کوچک است. برخلاف انتظارات عمومی، siRNA ها اغلب در گیاهان تراریخته یا سایر موجوداتی که در معرض این گیاهان قرار می‌گیرند به ژن‌های غیرهدف که همسانی توالی کافی دارند، متصل می‌شوند (۲۰) و این امر امکان پیش‌بینی اثرهای سمی و طراحی آزمایشات برای بررسی اثرهای منفی این گیاهان را بسیار دشوار می‌کند. نبود داده‌های ژنومی برای بسیاری از موجودات غیرهدف که در معرض این ترکیبات قرار دارند، مانعی جدی در بررسی دامنه‌ی اثر آر.ان.ای مداخله‌گر و پیش‌بینی خطرات احتمالی استفاده از این فناوری است. مطالعات ژنومیک نشان داده‌اند که آر.ان.ای دو رشته‌ای در نظر گرفته‌شده برای خاموشی یک ژن ممکن است همان ژن محافظت‌شده را در یک موجود غیرهدف خاموش کند (۲۱).

اگرچه برای کاهش اثرهای احتمالی روی موجودات غیرهدف، از ماهیت وابسته به توالی آر.ان.ای مداخله‌گر به‌عنوان یک مزیت برای طرحی توالی آر.ان.ای دو رشته‌ای استفاده شده است. ولی حتی این روش نیز جلوی تمام اثرهای ناخواسته خاموشی ژن در موجودات غیرهدف را نمی‌گیرد. با وجود پیشرفت‌های زیاد در دهه‌های گذشته، هنوز نکات مبهم زیادی وجود دارد و سازوکارهای اثر آر.ان.ای مداخله‌گر روی حشرات غیرهدف همچنان ناشناخته مانده است (۱۶). یکی از موفق‌ترین مثال‌ها در زمینه‌ی کاربرد گیاهان دارای آر.ان.ای مداخله‌گر علیه آفات توسط بائوم و همکاران (۲۰۰۷) انجام شده است. آنها اثرهای تولید آر.ان.ای دو رشته‌ای در ذرت تراریخته را نه فقط بر روی آفت *D. virgifera*

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

(کرم ریشه ذرت) بلکه اثرهای آن را بر روی تعدادی از گونه‌های سوسک غیرهدف نیز بررسی کردند. در این آزمایش سوسک‌های *D. undecimpunctata* و *Leptinoparsa decemlineata* (سوسک کلرادوی سیب‌زمینی) نیز در معرض این ذرت‌های تراریخته قرار گرفتند. نتایج در این دو سوسک نیز نرخ مرگ و میر بالاتری را نشان داد (۹). بدون شک، موجودات غیرهدف در معرض محصولات حاوی آر.ان.ای مداخله‌گر قرار می‌گیرند، گرچه میزان و شدت این قرار گرفتن هنوز معلوم نیست. زمانی‌که محصولات حاوی آر.ان.ای مداخله‌گر و یا حشره‌کش‌های مبتنی‌بر آر.ان.ای مداخله‌گر برای استفاده مورد تأیید قرار گرفته و به بازار عرضه شوند، موجودات غیرهدف به‌صورت فیزیکی و یا فیزیولوژیکی در معرض آنها قرار می‌گیرند. در معرض قرار گرفتن فیزیکی زمانی است که یک موجود غیرهدف با این حشره‌کش‌ها سمپاشی شود، یا این گیاهان در محیط رشد کرده و از آنها تغذیه شود. ولی در معرض قرار گرفتن فیزیولوژیکی به عوامل پیچیده‌ی دیگری از جمله گیرنده‌های جذب، وجود توالی مناسب و مکانیسم خاموشی ارتباط دارد. مجموعه‌ی این عوامل بر روی شدت اثر آر.ان.ای مداخله‌گر تأثیر می‌گذارد. واضح است که موجودات به‌طور یکسان در معرض این ترکیبات قرار نمی‌گیرند و بنابراین فناوری آر.ان.ای دو رشته‌ای در صورتی‌که موجودات غیرهدف در معرض آن قرار نگیرند، ایمن است. لیکن با توجه به وضعیت کنونی دانسته‌های فیلوژنی و مولکولی در مورد موجودات غیرهدف، اظهارنظر در مورد ملاحظات احتمالی این فناوری مشکل است (۱۶).

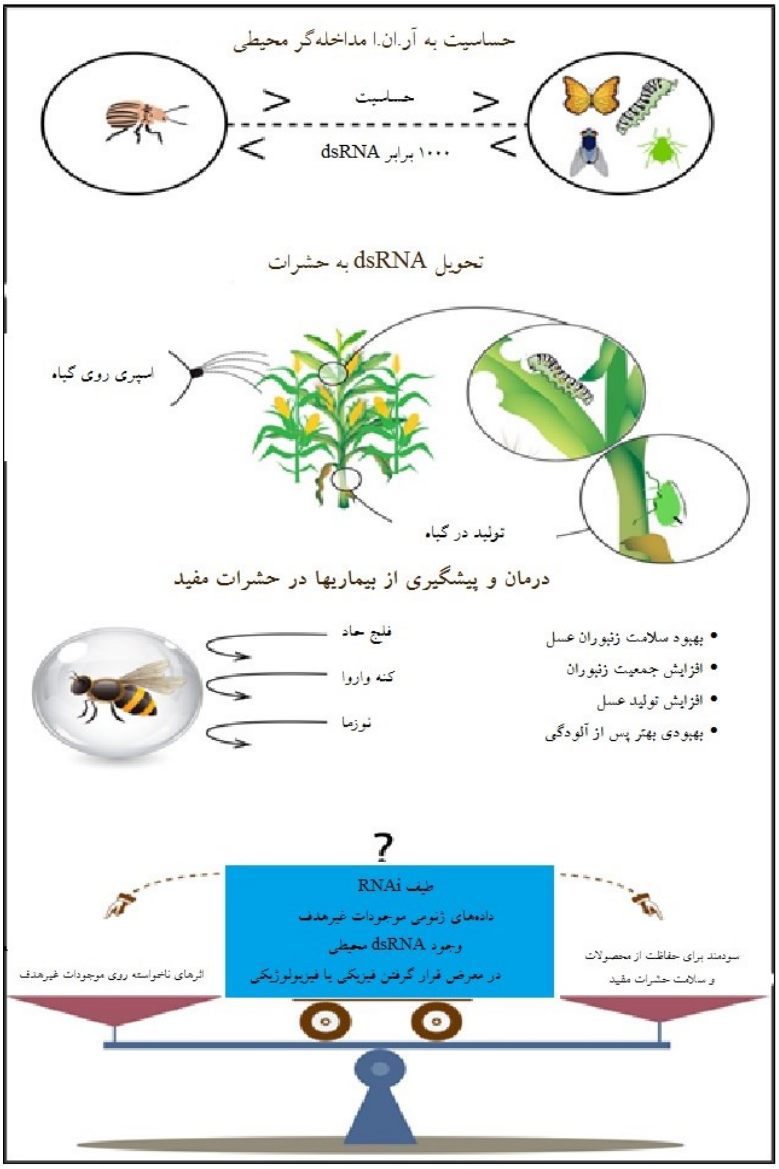
۹- چه چیز از دیدگاه مدیریت حشرات با آر.ان.ای مداخله‌گر باید یاد گرفت؟

آر.ان.ای مداخله‌گر، توانایی خود در کنترل حشرات آفت و حفاظت از حشرات مفید در مقابل بیماری‌ها و آفات را به خوبی نشان داده است. گرچه این نتایج بسیار دلگرم‌کننده است ولی پژوهش‌های بیشتری در زمینه‌ی ایمنی زیستی این ترکیبات بایستی انجام شود (شکل ۱).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

انتظار می‌رود نتـایج پژوهش‌هـا در آینـده کمک شایانی به حل تنگناهـا و اجـازه بـه استفاده از این فناوری در مدیریت تلفیقی آفات به‌عنوان یک روش منحصر به فـرد و جدید کند.



شکل ۱- برخی دستاوردها و نگرانی‌ها از کاربرد آر.ان.ای مداخله‌گر محیطی در مدیریت حشرات. حساسیت به آر.ان.ای مداخله‌گر محیطی: در ایـن روش بـا سـاخت آر.ان.ای‌هـای دو رشـته‌ای کوچـک از تولید یک پروتئین ضروری در بدن حشره جلوگیری می‌شود. به این ترتیب ژن موردنظر در مرحله پـس از

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

رونویسی خاموش می‌شود و عوارضی چون کاهش طول عمر، کاهش تغذیه، کاهش باروری و افزایش مرگ و میر آفت پدید می‌آید. واکنش حشرات در پاسخ به آر.ان.ای مداخله‌گر محیطی متفاوت بوده و برخی مقاومند. در کل سه روش برای دریافت آر.ان.ای دو رشته‌ای (dsRNA) وجود دارد یا تولید در گیاه یا اسپری‌شدن با حشره‌کش‌ها و یا بیان در باکتری‌ها. گرچه استفاده از فناوری آر.ان.ای مداخله‌گر برای انسان‌ها و حیوان‌ها ایمن است ولی باز شکاف‌های اطلاعاتی زیادی وجود دارد تا تعادلی بین خطر آن برای موجودات غیرهدف و سود آن در حفاظت از محصولات و حشرات مفید برقرار شود.

۹-۱ حساسیت به آر.ان.ای مداخله‌گر

حساسیت به آر.ان.ای مداخله‌گر در بین گونه‌های حشرات بسیار متغیر است. راسته‌ی سوسک‌ها (چه مرحله لاروی و چه حشره کامل) بیشترین حساسیت را دارند، در حالی‌که راسته‌ی پروانه‌ها و ناجوربالان کمترین حساسیت را نشان می‌دهند. در پروانه‌ها ژن‌های مشارکت‌کننده در ایمنی و در جوربالان ژن‌های بیان‌شونده در معده، غدد بزاقی و ضمایم گناتال (gnathal appendages) به آر.ان.ای مداخله‌گر حساس هستند (۱۶).

در بعضی از شته‌ها نظیر شته‌ی نخود (*Acyrthosiphon pisum*)، آر.ان.ای مداخله‌گر توسط ترشحات بزاقی و همولنف تجزیه می‌شود (۵). آر.ان.ای مداخله‌گر از بروز بیماری در حشرات مفید جلوگیری می‌کند. بعضی از انگل‌های زنبورعسل نظیر کنه واروآ (*V. destructor*)، ویروس فلج حاد اسرائیلی (IAPV) و نوزما به آر.ان.ای مداخله‌گر محیطی حساس هستند و می‌توان در درمان زنبور از آنها استفاده کرد. هانتر و همکاران ۲۰۱۰ از یک محصول آر.ان.ای دو رشته‌ای اختراع‌شده به نام RemebeeTM برای حفاظت همسانه‌های زنبوران عسل از ویروس فلج حاد اسرائیلی استفاده کردند که اولین مورد از مبارزه با یک ویروس توسط آر.ان.ای مداخله‌گر در حشرات است (۲۲).

۹-۲ تحویل آر.ان.ای دو رشته‌ای

تحویل آر.ان.ای دو رشته‌ای توسط میکرواینجکشن برای کنترل آفات در مزرعه غیرممکن است. برای کنترل موثر آفات بایستی از آر.ان.ای مداخله‌گر مستقل

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

غیرسلولی استفاده کرد. در این فرآیند، حشره آر.ان.ای دو رشته‌ای را یا توسط محصولات تراریخته و یا پاشیدن حشره‌کش دریافت می‌کند. سایر روش‌های دریافت نظیر راهکارهای بیان در باکتری پس از تصویب سازمان‌های نظارتی قابل استفاده هستند (۱۶).

۹-۳ استفاده از آر.ان.ای مداخله‌گر برای حشرات مکنده‌ی شیره‌ی گیاهی

این حشرات چالش اصلی در استفاده از این فناوری هستند (۵). مولکول های آر.ان.ای دو رشته‌ای بایستی در شیره‌ی گیاه میزبان موجود باشند. هر چند پژوهش‌ها نشان دادند که این ترکیبات قادر به کشتن این حشرات هستند (۱۲،۱۳) ولی با وجود این موارد، در تعداد زیادی از حشرات این راسته همانند شته‌ی نخود استفاده از آر.ان.ای مداخله‌گر مشکل بوده و نیازمند پژوهش‌های بیشتری است (۱۶).

۹-۴ عامل ویروسی و پاسخ آر.ان.ای مداخله‌گر

آر.ان.ای مداخله‌گر، ژنوم حشره را از ویروس‌های مهاجم محافظت و در کارایی خاموشی ژن دخالت می‌کند. راهکار ویروس برای جلوگیری از عمل آر.ان.ای مداخله‌گر، تولید پروتئین‌های سرکوبگر ویروسی آر.ان.ای مداخله‌گر و یا اشباع کامل ماشین آر.ان.ای مداخله‌گر با تولید مقادیر زیادی آر.ان.ا است (۲۳). در بسیاری از گونه‌های پروانه‌ها که واکنش کمی به آر.ان.ای مداخله‌گر نشان می‌دهند تعداد زیادی ویروس وجود دارد و پاسخ شدید راسته‌ی سوسک‌ها به آر ان ا مداخله‌گر ممکن است به تعداد کم ویروس‌ها مرتبط باشد (۴).

۹-۵ اثرهای غیر هدف

گرچه اتصال siRNA بسیار اختصاصی است ولی اتصالات غیراختصاصی نیز رخ می‌دهد. اتصال siRNA در هر جایی از ژنوم موجود هدف مشکل‌ساز نیست ولی بروز این مساله در موجودات غیرهدف یکی از مشکلات استفاده از این روش است. در بیشتر موارد این اتصالات به‌طور معمول کشنده نیستند. از آنجایی‌که آگاهی کمی در مورد پایداری آر.ان.ای دو رشته‌ای در خاک و در محصولات زراعی، قرار گرفتن فیزیکی و نیز مورفولوژیکی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

موجودات غیرهدف در معرض آر.ان.ای مداخله‌گر و حرکت این ترکیبات در زنجیره‌ی غذایی موجودات وجود دارد، تعیین سود حاصل از استفاده از این ترکیبات در کنترل حشرات در مقابل خطرات احتمالی آنها بسیار دشوار است (۱۶).

۹-۶ مقاومت حشرات به آر.ان.ای دو رشته‌ای

مقاومت حشرات به یک روش جدید کنترل، همواره مورد توجه حشره‌شناسان است. به علت پلی‌مورفیسم توالی، توانائی آر.ان.ای دو رشته‌ای برای تولید اثر فنوتیپی بسیار کم است. مهم است بدانیم که استفاده از مخلوط روش‌های کنترلی از مقاومت حشرات جلوگیری می‌کند و جمع کردن صفات مختلف در محصولات تراریخته به این رویکرد اشاره دارد. برای کنترل پروانه‌ها، ژن‌های *Bt* بسیار کارآمدی وجود دارد که می‌تواند با آر.ان.ای مداخله‌گر همزمان استفاده شود ولی برعکس در ناجوربالان کنترل مشکل است زیرا تاکنون هیچ صفت زیست‌فناوری مکمل شناخته‌شده‌ای برای استفاده‌ی همزمان در کنار آر.ان.ای مداخله‌گر شناخته نشده است (۱۶).

نتیجه‌گیری

امروزه روش‌های جدیدی برای حفاظت محصولات و حشرات جدید با استفاده از طرز عمل منحصر به فرد آر.ان.ای مداخله‌گر ارائه شده و عدم اطمینان از عملکرد و ایمنی آر.ان.ای مداخله‌گر کاهش یافته است. هر چند پاسخ گونه‌های مختلف به آر.ان.ای مداخله‌گر محیطی، در راسته‌های مختلف حشرات متفاوت است و مطالعات برای یافتن روش‌های تکمیلی، کارآمد و کم هزینه‌بر روی گونه‌های مهم آفت در جریان است. محصولات آر.ان.ای مداخله‌گر، زنبورها را از ویروس‌ها، کنه‌ها و بیماری نوزما حفاظت می‌کند. در مقیاس بزرگ استفاده از این ترکیبات باعث درمان زنبورهای آلوده به ویروس فلج حاد شده است. چارچوب مورد استفاده برای ارزیابی اثرهای منفی محصولات Bt بر سلامت انسان و حیوان‌ها مناسب برای ارزیابی ملاحظات ناشی از محصولات آر.ان.ای مداخله‌گر است. موجودات

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

غیرهدف موجود در آگرواکوسیستم‌ها، به‌طور بالقوه در معرض محصولات آر.ان.ای مداخله‌گر هستند و آر.ان.ا های کوچک که اغلب باعث خاموشی ژن در موجودات غیرهدف می‌شوند از موارد بحث‌برانگیز هستند. در کل باید بین مزیت‌ها و ملاحظات احتمالی استفاده از این روش تعادل برقرار شود. فناوری آر.ان.ای مداخله‌گر در رشته‌ی حشره‌شناسی در حال توسعه است و تلاش‌های زیادی در زمینه‌ی استفاده از فناوری آر.ان.ای مداخله‌گر چه در مدیریت تلفیقی آفات و چه در درمان بیماری در حشرات سودمند در حال انجام است.

فهرست منابع

References

1. Zhao C., Alvarez Gonzales M.A., Poland T.M. and Mittapalli O. (2015). Core RNAi machinery gene knockdown in the emerald ash borer (Agrilus planipennis). Journal of Insect Physiology. 72: 70-78.

2. Burand J.P. and Hunter W.B. (2013). RNAi: Future in insect management. Journal of Invertebrate Pathology. 112: 68–74.

3. Kolliopoulou A. and Swevers L. (2014). Recent progress in RNAi research in Lepidoptera: intracellular machinery, antiviral immune response and prospects for insect pest control. Current Opinion in Insect Science. 6:28–34.

4. Scott J.G., Michel K., Bartholomay L.C., Siegfried B.D., Hunter W.B., Smagghe G., Yan Zhu K. and Douglas A.E. (2013). Towards the elements of successful insect RNAi. Journal of Insect Physiology. 59: 1212–1221.

5. Christiaens O., Swevers L. and Smagghe G. (2014). DsRNA degradation in the pea aphid (Acyrthosiphon pisum) associated with lack of response in RNAi feeding and injection assay. Peptides. 53: 307-314.

6. Huvenne H. and Smagghe G. (2010). Mechanisms of dsRNA uptake in insects and potential of RNAi for pest control: A review. Journal of Insect Physiology. 56: 227–235.

7. Smagghe G. and Swevers L. (2014). Editorial overview: Pests and resistance — RNAi research in insects. Current Opinion in Insect Science. 6: 4-5.

8. Christiaens O. and Smagghe G. (2014). The challenge of RNAi-mediated control of hemipterans. Current Opinion in Insect Science. 6:15–21.

9. Baum J.A., Bogaert T., Clinton W., Heck G.R., Feldmann P., Ilagan O., Johnson S., Plaetinck G., Munyikwa T., Pleau M., Vaughn T. and Roberts J. (2007). Control of coleopteran insect pests through RNA interference. Nature Biotechnology. 25:1322–1326.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

10. Kumar P., Pandit S.S. and Baldwin I.T. (2012). Tobacco rattle virus vector: a rapid and transient means of silencing Manduca sexta genes by plant me- diated RNA interference. PLOS ONE. 7(2):e31347. doi:10.1371/journal. pone.0031347.

11. Mao Y.B., Tao X.Y., Xue X.Y., Wang L.J. and Chen X.Y. (2011). Cotton plants expressing CYP6AE14 double-stranded RNA show enhanced resistance to bollworms. Transgenic Research. 20:665–673.

12. Pitino M., Coleman A.D., Maffei M.E., Ridout C.J. and Hogenhout S.A. (2011). Silencing of aphid genes by dsRNA feeding from plants. PLoS ONE. 6(10):e25709. doi:10.1371/journal.pone.0025709.

13. Zha W., Peng X., Chen R., Du B., Zhu L. and Guangcun H. (2011). Knockdown of midgut genes by dsRNA-transgenic plant-mediated RNA interference in the hemipteran insect Nilaparvata lugens. PLOS ONE. 6 (5):e20504. doi:10.1371/journal.pone.0020504.

14. Aragão F.J. and Faria J.C. (2009). First transgenic geminivirus-resistant plant in the field. Nature Biotechnology. 27:1086–1088.

15. ISaaa. (2017). Available at http://www.isaaa.org/resources/ publications/ pocketk/16.

16. Zotti M.J. and Smagghe G. (2015). RNAi technology for insect management and protection of beneficial insects from diseases: lessons, challenges and risk assessments. Neotropical Entomology. 44(3):197-213.

17. Andrade P.P., Melo M.A. and Kido E.A. (2014). Post-release monitoring: the Brazilian system, its aims and requirements for information. Transgenic Research. 23: 1043–1047.

18. CTNbio. (2014). Technical Opinion No. 3024/2011—Commercial release of genetically modified bean resistant to Bean Golden Mosaic Virus (Bean golden mosaic virus—BGMV), event Embrapa 5.1—Case No. 01200.005161/2010-86. Available at http://www.ctnbio.gov.br/index.php/ content/view/12492.html Accessed 18 Feb 2015.

19. EFSA. (2014). International scientific workshop 'Risk assessment consid- erations for RNAi-based GM plants. Available at http://www.efsa.europa.eu/en/ events/event/140604.htm Accessed 18 Feb 2015.

20. US EPA. (2014). RNAi technology as a pesticide: problem formulation for human health and ecological risk assessment. Available at http://www.epa.gov/ scipoly/sap/meetings/2014/january/ 012814minutes.pdf Accessed 20 Feb 2015.

21. Lundgren J.G. and Duan J.J. (2013). RNAi-based insecticidal crops: potential effects on non-target species. Bioscience. 8:657–665.

22. Hunter W., Ellis J., van Engelsdorp D., Hayes J., Westervelt D., Glick E., Williams M., Sela I., Maori E., Pettis J., Cox-Foster D. and Paldi N. (2010). Large-scale field application of RNAi technology reducing Israeli acute paralysis virus disease in honey bees (Apis mellifera Hymenoptera: Apidae). PLOS Pathogens. 6(12): e1001160. doi:10.1371/ journal.ppat.1001160.

23. Swevers L., Vanden Broeck J. and Smagghe G. (2013). The possible impact of persistent virus infection on the function of the RNAi machinery in insects: a hypothesis. Frontiers in Physiology. 4:319. doi:10.3389/fphys.2013. 00319.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]

RNAi Technology for pest Management and Protection of Beneficial Insects from Disease: Challenges and Risk Assessments

Maryam Aleosfoor [1*], Monire Shokouh Khanimani [2]

1- Associate Professor. Department of Plant Protection, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.
2- MSc. of Entomology, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.
aosfoor@shirazu.ac.ir

Abstract

RNA interference (RNAi) is a mechanism of post-transcriptional regulation of gene-expression, during which the introduced dsRNA results in target gene silencing through siRNA or miRNA pathways. Over the past few years, it has been shown that this approach has a great ability in management of insects including insect pests' control, manipulated disease-carrying insects treatment and prevention of disease in beneficial insects. At least two pathways for dsRNA uptake in insects are described and among the various methods of dsRNA delivery, oral delivery of dsRNA is the best method for practical control of pests in the farm. Due to the success of RNAi method in pest control, it is expected that the method has a high potential for future pest management strategies, however due to the lack of genomic data for most exposed non-target organisms, it becomes difficult to understand the environmental risks caused by RNAi-based technologies and the benefits provided for the protection of crops. Further studies and better understanding the mechanisms of RNAi in insects would accelerate the world wide release of commercial RNAi-based methods.

Keywords: RNAi, dsRNA, Insect Management, Gene Silencing, Non-Target Organisms.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.3.6.6]