

ارزیابی احتمال خطر یونجه‌های تراریخته

مسعود تو حیدر

پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران

gtohifar@abrii.ac.ir

چکیده

تا پایان سال ۲۰۱۲ سطح زیر کشت محصولات تراریخته به بیش از $170/3$ میلیون هکتار رسید که از این میان بیش از ۱۰۰ میلیون هکتار به پنبه، ذرت، سویا و یونجه تراریخته اختصاص داشت. آمریکا با تولید یونجه‌های تراریخته مقاوم به علفکش بیشترین سطح زیر کشت را دارا است. در ایران و خاورمیانه هم برای اولین مرتبه یونجه تراریخته متحمل به آفات حشره‌ای (Bt) تولید شد، اگرچه تولید تجاری آن هنوز انجام نشده است. به منظور تجزیه و تحلیل احتمال خطر محصولات تراریخته، قوانین و استانداردهایی وجود دارد تا بتوان به وسیله آنها ایمنی آن را تضمین کرد. تولید یونجه Bt، تعداد دفعات سمپاشی و هزینه کاربرد حشره‌کش‌های مورد نیاز جهت کنترل آفتها را کاهش می‌دهد. پروتئین Cry3 موجود در یونجه تراریخته با پروتئین‌های Cry که به صورت سالم برای ۴ سال مورد استفاده قرار گرفته‌اند، قابل مقایسه است. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که پروتئین Cry برای موجودات زنده غیرهدف و محیط زیست فاقد خطر است. بر اساس داده‌ها و اطلاعات قابل دسترس و تجربیات گردآوری شده، یونجه Bt، تاثیری مشابه با یونجه‌های تیمار شده با حشره‌کش را دارد. هدف از این مقاله بررسی جنبه‌های علمی ارزیابی احتمال خطر کشت یونجه تراریخته Bt مطالعه این مقاله و آشنایی با نحوه ارزیابی یونجه تراریخته می‌تواند برای اهل فن و بهویژه مسئولین نظارتی مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: یونجه Bt، ایمنی زیستی، ملاحظات، آفت، مهندسی ژنتیک.

مقدمه

هاضمه حشره به جاهای ویژه‌ای در راس ریز پرده‌های سلول‌های مخاطی مجرای هاضمه لاروها می‌چسبد و پس از چسبیدن، وارد فضای پلاسمایی سلول و باعث ایجاد جراحت و زخم شده که این زخم موجب ورود یون‌ها و آب و در نهایت منجر به آماس و تخریب سلول می‌شود. بدین ترتیب، دیواره روده، پاره شده و موجب عفونت خون در حشره می‌شود. (۲).

تا کنون گیاهان تاریخته Bt زیادی مانند ذرت، پنبه و سویا تجاری شده‌اند (۱۵) و برای اولین مرتبه در ایران و در منطقه خاورمیانه یونجه تاریخته مقاوم به آفات حشره‌ای تولید شد که کلیه مراحل کشت بافت، بهینه سازی مراحل انتقال ژن، انتخاب سلول‌های تاریخته و در نهایت انتقال موفق ژن به یونجه در ایران انجام شد. انجام پژوهش‌های گستردۀ زیست‌سنگی و بررسی مقاومت گیاهان حاصل در آزمایشگاه و گلخانه تحت نظارت کامل نسبت به آفت‌سرخرطومی یونجه انجام شد (۱). آفت سرخرطومی برگ یونجه که از مهم‌ترین آفت‌های یونجه محسوب می‌شود، در ایران باعث انهدام چین اول و خسارت ۳۳ درصد کل محصول می‌شود. به منظور کنترل آن

امروزه به دلیل استفاده از آفتکش‌های شیمیایی و اثر سوآن‌ها بر محیط زیست و سلامتی انسان، توجه دانشمندان و پژوهشگران به روش‌های کنترل بیولوژیک معطوف شده است. یکی از میکرووارگانیسم‌های کاربردی در این زمینه *Bacillus thuringiensis* است که از لحاظ مقدار و وسعت کاربرد، در مقام اول قرار دارد. این باکتری یک باکتری میله‌ای شکل، گرم مثبت و اسپورزا است. این باکتری دارای ژنهایی با نام *cry* است که پروتئین‌های کریستالی تولید می‌کند. این پروتئین‌ها برای بعضی از گونه‌های حشرات سمی است. این فعالیت سمی شامل لارو حشرات مختلفی از جمله فلس بالان، دوبالان، سخت بال‌پوشان و همچنین موجوداتی از جمله کرم‌های پهن، نماتدها و تک یاخته‌ها می‌شود. مزیت عمده‌ی این باکتری، اختصاصی بودن برای میزبان‌های مختلف است، به طوری که برای حشرات و گیاهان دیگر، حالت سمی ندارد. نحوه عملکرد این باکتری بدین صورت است که کریستال‌های پروتئینی^۱ پس از هضم توسط پروتئازهای موجود در قسمت میانی مجرای

1- Crystal Protein

"توحیدفر، ارزیابی مخاطرات احتمالی یونجه‌های تراریخته"

حال حاضر یونجه Round up Ready (RR) است که متحمل به علفکش گلیفوسات است (۱۵). علوفه یونجه برای ۳ گروه بزرگ گاوهای شیری پرواری و اسبها و در مقدار کمتر برای بزها و گوسفندان و خرگوشها و جانوران خانگی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در حدود ۷۵ درصد علوفه یونجه برای تولید لبنیات استفاده می‌شود. این‌منی استفاده از یونجه به عنوان یک گیاه زراعی در طی سالیان سال امری مسلم و مشهود است. یونجه کمتر به عنوان غذای انسان مصرف می‌شود گاهی یونجه در قالب برگ‌های فشرده به عنوان مکمل غذایی و چای مصرف می‌شود. معمولاً مصرف برگ‌های یونجه در حجم زیاد و به صورت تازه به علت حضور ساپونین و مواد ضد تغذیه‌ای مضر است. در یونجه گرده‌افشانی و انتقال دانه گرده با توجه به ساختمان ویژه گل در گیاهان خانواده بقولات به وسیله حشرات از جمله زنبور عسل انجام می‌شود که این زنبورها در هنگام گرده افشانی یک مسیر مستقیم را از کندو به سمت مزرعه و بر عکس طی می‌کنند (۲۰)، بنابراین پتانسیل یونجه به عنوان یک عامل آلرژی‌زا از طریق هوای بسیار کم و ناچیز است. به علاوه استفاده

هر سال در سطح وسیعی علیه آن مبارزه می‌شود. با توجه به چرخه زندگی آفت استفاده از سومونه تنها موثر نیست، بلکه باعث آلودگی زیست‌محیطی و به خطر انداختن سلامتی جامعه و نسل‌های آینده خواهد شد. از آنجایی که منبع مقاومتی در ژرم‌پلاسم‌های گیاهی وجود ندارد (۲۶)، مهندسی ژنتیک راه حل بسیار مناسبی برای کاهش مصرف سومونه و مبارزه با این آفت است. با استفاده از این فناوری ژن *cry3* از *Bacillus thuringiensis tenebrionis* باکتری تراریخته نسل اول صورت گرفت جدا و به یونجه منتقل شده است. گیاهان تولید شده همگی بارور بودند (۲۸). آزمایش زیست‌سنگی که توسط لارو سرخرطومی روی یونجه تراریخته نسل اول نشان داد که این یونجه دارای مقاومت بالایی در مقابل این آفت بوده است. اما با توجه به ملاحظات ابراز شده لازم است قبل از رهاسازی، ارزیابی احتمال خطر، به منظور تایید این‌منی آنها انجام شود.

جنبه‌های این‌منی زیستی یونجه تراریخته

۱-آلرژی‌زا بودن

تنها یونجه دست‌ورزی شده تجاری در

یونجه تاریخته به علت بیان پایین این پروتئین‌ها بسیار کم خواهد بود.

یکی از راه‌های کاهش ملاحظه‌های زیست محیطی محصولات تاریخته تولید گیاهان تاریخته کلیستوگام است. یونجه گیاهی است با گل‌های کلیستوگام یا بسته که امکان مهاجرت دانه گرده بدون عمل تریپینگ حشرات وجود ندارد و بنابراین دانه‌های گرده به آسانی توسط باد حمل نمی‌شوند (۴)، بنابراین احتمال تماس با دانه گرده و آلرژی زا بودن آنها بسیار محدود است و این در حالی است که پروتئین‌های بیان شده در یونجه تاریخته در سطوح پایین در دانه گرده بیان می‌شوند. تماس پوستی کارگران با گرده امکان‌پذیر است، که البته احتمال این تماس بسیار پایین و دور از انتظار است.

عامل دیگری که به عامل آلرژنی پروتئین‌های غذایی کمک می‌کند، تجمع بالای آنها در غذاها است (۱۲). بر عکس پروتئین Cry با سطوح پایین در یونجه Bt وجود دارند و در اجزای تشکیل دهنده‌ی یونجه قابل تشخیص نیستند.

به نظر می‌رسد که احتمال سمی بودن و آلرژی زا بودن یونجه Bt برای انسان به دلایل

از یونجه به عنوان غذای انسان چه در قبل و چه در حال حاضر خیلی محدود است. گزارش‌های تایید شده برای آلرژی‌های انسانی به محصولات غذایی مشتق شده از یونجه بسیار نادر است، ولی انسان می‌تواند از طریق غیرمستقیم و مصرف مواد گوشتی در معرض یونجه تاریخته قرار گیرد که احتمال وجود چنین خطری در زیر مورد بحث و بررسی قرار خواهد گرفت.

احتمال قرار گرفتن افراد در معرض یونجه تاریخته می‌تواند از طریق زیر باشد.
- هنگام برداشت علوفه (در مزارع یونجه، در مراحل فرآوری یونجه).
- زندگی کردن در مناطق نزدیک ناحیه کشت یونجه تاریخته.

افرادی که با یونجه کار می‌کنند به طور معمول با لایه کوتیکول خارجی یونجه در سطح گیاه سر و کار دارند که عاری از پروتئین هستند. تماس با پروتئین‌ها (شامل پروتئین‌های جدید بیان شده در یونجه تاریخته) و سایر اجزای سلولی گیاه یونجه تنها هنگامی اتفاق می‌افتد که سلول‌های یونجه پاره شوند و یا آسیب بینند. حتی اگر سلول‌ها آسیب بینند، تماس با پروتئین‌های موجود در

"توحیدفر، ارزیابی مخاطرات احتمالی یونجه‌های تراریخته"

ترکیبی یونجه‌های تراریخته شامل پروتئین، چربی، خاکستر، رطوبت، لیگنین، آمینواسیدها، K, Zn, N, P, Mn, Mg, Fe, Cu, Ca, Na و کربوهیدرات‌ها تفاوت آماری نسبت به یونجه‌های غیرتراریخته مشاهده نشد و یونجه‌های تراریخته مشابه یونجه‌های غیرتراریخته که در شمال آمریکا رشد می‌کنند بودند (۱۲).

پروتئین‌های Cry به‌طور وسیعی در محیط پراکنده هستند. فرمولاسیون‌های تجاری میکروبی Bt نیز دارای این پروتئین‌ها هستند و در طی ۳۰ سال استفاده شده‌اند (۳). سازمان حفاظت محیط زیست امریکا (EPA) در بررسی‌های خود نتیجه گرفته است که اثرهای سو جانبی محصولات Bt برای پرندگان، آبریان و حشرات مفید مانند شکارچی‌ها و زنبور عسل بسیار پایین است.

تغذیه از یونجه توسط حیوانات به‌طور معمول در سطح محدود انجام می‌شود و در بیشتر موارد از تغذیه یونجه به علت نفخ در سطح زیاد جلوگیری می‌شود. برای ایجاد اثر سمی در ابتدا باید پروتئین‌های Cry که به صورت پروتوكسین بیان می‌شوند به‌وسیله

زیر بسیار کم است.

محصولات یونجه تراریخته به‌طور مستقیم به عنوان غذای انسان استفاده نمی‌شوند و احتمال این که انسان در معرض پروتئین‌های Cry موجود در یونجه تراریخته قرار بگیرد بسیار پایین و کم است. گرده یونجه به‌طور معمول در هوا توسط باد پخش نمی‌شود بنابراین نمی‌تواند به عنوان یک عامل آلرژی‌زا هوایی محسوب شود پروتئین‌های Cry در حال حاضر به‌طور وسیعی در طبیعت و محیط زیست پراکنده‌اند، پروتئین‌های Cry سیمیت Cry گوارشی بسیار پایینی دارند پروتئین‌های Cry به عنوان یک آلرژی‌زا شناخته نمی‌شوند زیرا خصوصیات پروتئین‌های آلرژی‌زای شناخته شده را ندارند.

۲- احتمال خطر سمی بودن یونجه Bt

یونجه به صورت خشک و تازه در تغذیه دام مصرف می‌شود و استفاده از آن سابقه مصرف ایمن دارد. علاوه بر یونجه‌های مقاوم به علف‌کش، یونجه‌چهای Bt هم تولید شده‌اند که مقاوم به آفات از جمله سرخرطومی یونجه هستند (۲۸) و ارزیابی آلرژی آن‌ها نیز از اهمیت بسزایی برخوردار است. تجزیه‌های

ژنی باید کترل شوند. شواهدی مبنی بر اینکه یونجه، خصوصیات علف‌هرز یا ویژگی آفت دارد، وجود ندارد و یونجه‌های تاریخته تفاوتی با یونجه‌های معمولی در این مورد ندارند. یکی از خویشاوندان وحشی یونجه گیاه *M. lupulina* است که در رگ بین *M. sativa* و *M. lupulina* به‌طور طبیعی ناممکن یا ناموفق است. بنابراین احتمال انتقال ژن از یونجه‌های تاریخته به خویشاوندان وحشی بسیار کم است. پس بنابراین امکان ایجاد خطر برای موجودات غیرهدف خیلی ناچیز است زیرا که امکان انتقال ژن پایین است. مشاهده و بررسی مزارع کشت یونجه تاریخته هیچ بیماری یا آفت تغییر ژنتیکی Cry یافته را نشان نداده است. پروتئین‌های Cry خصوصیت مقاومت به حشرات خانواده بال‌پولکداران را به یونجه می‌دهند. بررسی‌های انجام شده توسط سازمان‌های مدیریت آفات در استرالیا روی گیاهان *Bt* نشان داده است که هیچ‌گونه پتانسیل تبدیل شدن به علف‌هرز در پروتئین‌های Cry وجود ندارد (۱۰، ۱۶).

۴- انتقال ژن‌های *cry3* به دیگر موجودات

جریان ژنی عبارت از تلفیق ژن‌ها به داخل

پروتئینازهای اختصاصی در روده میانی حشره هضم و تجزیه شوند و به گیرنده‌های اختصاصی موجود در سطح اپیتلیوم روده میانی اتصال یابند. پستانداران، پرندگان و ماهی‌ها این گیرنده‌ها را ندارند و بنابراین پروتئین‌های Cry نمی‌توانند روی آن‌ها اثر بگذارند (۲۲، ۲۳، ۲۴).

۳- احتمال تبدیل شدن به علف‌هرز

در ارزیابی احتمال تبدیل یونجه تاریخته به علف‌هرز، عوامل به ارث رسیدن صفت علف‌هرزی برای یونجه غیرتاریخته توانایی مزایای انتخابی که توسط پروتئین‌ها اعطا می‌شود و توانایی تبدیل یونجه تاریخته به علف‌هرز باید مورد بررسی قرار گیرد. یونجه قرن‌ها است که در سراسر جهان بدون هیچ‌گونه گزارشی مبنی بر علف‌هرز بودن آن کشت و کار شده است. هیچ تلاقی شناخته شده‌ای میان یونجه‌های کشت شده با گیاهان وحشی یا علف‌هرز یا یونجه‌های وحشی دیگر در آمریکا مشخص نشده است (۱۳). یونجه‌های وحشی کنار جاده‌ها می‌توانند به عنوان یک پل بین گرده‌افشان‌ها و یونجه‌های تاریخته محسوب شوند و برای کاهش جریان

"توحیدفر، ارزیابی مخاطرات احتمالی یونجه‌های تراریخته"

در یک مکان و اجازه دادن برای شروع بیان و عمل آن ژن مواد ژنتیک منتقل شده در والد پذیرنده باقی بماند و دوباره بوجود آید و والد پذیرنده تغییرات ژنتیک را حفظ کند اطمینان از بی خطر بودن مواد ژنتیک منتقل شده به طوری که برای سلامتی انسان خطری نداشته باشند و تولید بذر آن انجام می‌شود. بنابراین نیازمند اقداماتی برای کنترل ایمنی و اطمینان از خلوص صفت منتقل شده توسط مهندسی ژنتیک و جلوگیری از صفت منتقل شده به سایر موجودات است (۹).

پژوهش‌های میدانی که در مناطق تولید بذر یونجه در ایالت آیداهو توسط زنبورهای برگ‌خوار انجام شده میزان فاصله مزرعه یونجه از سایر مزارع در حدود ۴ کیلومتر برآورد شد (۲۷). همچنین با پژوهش‌های انجام شده روی زنبورهای عسل در ایالت کالیفرنیا میزان انتشار دانه گرده یونجه اندازه‌گیری شد. بر پایه این پژوهش‌ها حداقل فاصله لازم برای جلوگیری از انتشار دانه گرده یونجه مقاوم به علف کش گلیفوسات ۱/۹ کیلومتر اندازه‌گیری شد (۱۱). بر اساس پژوهش‌های انجام شده روی یونجه‌های تراریخته و بررسی آن‌ها توسط نشانگر

خرانه ژنی یک جمعیت یا جمعیت‌های دیگر است. جریان ژنی بین گیاهان زراعی و جمعیت‌های وحشی در طول تاریخ همیشه اتفاق افتاده است (۸). از جمله عواملی که بر جریان ژن در جوامع گیاهی اثر می‌گذارند، انتشار بذر از طریق عوامل طبیعی یا انسان، انتقال افقی ژن و دانه گرده است. عوامل موثر در میزان و سرنوشت جریان ژنی شامل انتشار دانه، تعداد کشت گیاه در هر فصل زراعی و شایستگی ژن‌های خارجی در جمعیت پذیرنده است. مدیریت جریان ژنی از جمله رعایت فاصله و از بین بردن بقایای گیاه تراریخته اثرهای سو احتمالی جریان ژنی را کاهش می‌دهد.

به طور معمول در گیاهان برای انتقال ژن از طریق جنسی از یک گونه دیگر محدودیت‌هایی وجود دارد. احتمال انتقال ژن از یونجه تراریخته به چند عامل بستگی دارد که شامل موارد زیر هستند.

فرصت انتقال ژن در صورتی بدست می‌آید که والد پذیرنده در معرض مواد ژنتیک والد بخشندۀ قرار گیرد که به عنوان مثال می‌توان گرده سلول‌های گیاهی و یا دی‌ان‌ای را نام برد. قرارگرفتن مواد ژنتیک گیاه بخشندۀ و پذیرنده

ولی با افزایش سطح زیر کشت این محصولات ملاحظاتی در خصوص تکامل جمعیت حشرات مقاوم وجود دارد. اگرچه تکامل آفات مقاوم در طول تاریخ ادامه داشته، اما این مشکل بعد از جنگ جهانی دوم بواسطه توسعه فناوری های نو و کشاورزی جدید با شدت بیشتری نمایان شد، با این حال تا سال ۲۰۰۱، نژاد مقاومی از حشرات آفت در مزارع کشت محصولات تاریخته گزارش نشده است (۲۵).

متخصصین روش های زیادی برای مدیریت مقاومت آفات ارایه داده اند که مهم ترین آن روش دوز بالا / پناهگاه است. که نقش بسیار مهمی در به تاخیر انداختن مقاومت حشرات دارد. در مورد انتقال ژن به جمعیت های باکتریایی، گونه های باکتریایی، از لحظه توانایی شان در پذیرش دی.ان.ای از محیط متفاوتند و فراوانی تراپیزش، حتی تحت شرایط مناسب و مساعد، بسیار پایین است. ژن *cry3* که جهت ایجاد یونجه *Bt* استفاده می شود، در دی.ان.ای ژنومی گیاه تلفیق می شود و بخش کوچکی از ژنوم یونجه را شامل می شود. احتمال اینکه یک باکتری، ژن های هدف را از طریق تراپیزش دریافت

مولکولی RAPD حداقل فاصله مورد نیاز برای جداسازی مزارع یونجه ۱۵۵۷ متر گزارش شده است (۲۰).

با رعایت کردن قوانین مربوط به ایمنی زیستی و با کشت یونجه تاریخته با فاصله حدود ۱۰۰۰ متر از انتقال این ژن ها به سایر گیاهان می توان جلوگیری کرد (۱۷).

تلاقي دو طرفه به طور معمول برای توليد بذر مورد نياز است و نه برای توليد علوفه، بنابراین پتانسیل شارژ ژن برای یونجه علوفه ای مانند یونجه های که برای بذرگیری پرورش داده می شود نیست. برای شارژ ژن از مزارع تولید یونجه علوفه ای به مزارع همسایه موارد زیر موثر هستند.

- ۱- باید زمان گلدهی و ساختار گل شبیه باشد.
- ۲- گرده افشارها بین مزارع حرکت کنند.
- ۳- گرده توانایی بارور کردن گیاه را داشته باشد.
- ۴- جنین باید بتواند رشد کرده و به بذر تبدیل شود.
- ۵- بذر باید توانایی رشد و جوانه زنی را داشته باشد.
- ۶- برای شارژ ژن همه موارد بالا باید فراهم باشد.

استفاده از گیاهان تاریخته مقاوم به آفات در کشورهای توسعه یافته باعث کاهش مصرف سموم شیمیایی و هزینه های تولید شده است.

"توحیدفر، ارزیابی مخاطرات احتمالی یونجه‌های تراریخته"

موجود در ترکیبات خاک متصل شوند (۶ و ۲۱).

نتیجه‌گیری

کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی با استفاده از سم‌های شیمیایی، خسارات جبران ناپذیری بر سلامت مردم و محیط زیست وارد می‌کند. علاوه‌بر این با توجه به هزینه بالای سم‌های شیمیایی، استفاده از آفت‌کش‌های زیستی و تولید محصولات تراریخته *Bt* نیز یکی از راه کارهای مهمی است که در کشورهای مختلف دنیا دنبال می‌شود. باکتری *Bt* به دلیل اهمیت بالا در کنترل آفت‌های خاص و عدم اثر سو بر محیط زیست و سلامت انسان، به یک عامل بیولوژیک منحصر به فرد در کنترل آفات حشره‌ای تبدیل شده است. از طرفی تولید گیاهان *Bt* از لحاظ اقتصادی، بسیار مقرون به صرفه است (۲).

هیچ فناوری جدید یا قدیمی، بدون ریسک نبوده و بیوتکنولوژی هم به عنوان سومین تحول بزرگ در فناوری دنیا از این قاعده مستثنی نیست. اگر چه از زمان ظهور این فناوری تا به حال چالش‌ها و بحث‌های جنجال‌برانگیزی بر علیه آن مطرح شده است

کند، برابر با حالتی است که به صورت تصادفی، یک قطعه دی.ان.ای را از گیاه دریافت کند. انتقال افقی ژن تنها تحت شرایط ایده‌آل طراحی شده در آزمایش‌ها امکان‌پذیر است. علاوه‌بر این ژن *Bt* از باکتری خاکزی جدا شده است، بنابراین به نظر نمی‌رسد که دارای ارزش انتخابی برای میگرووارگانیسم‌های خاک باشند. بر اساس پژوهش‌های انجام شده اثرهای جانبی پروتئین *Cry* بر خاک به‌طور معمول ناچیز یا بی‌اثر بوده است (۱۸).

۵- سرنوشت پروتئین *Cry3* در محیط

آزمایش‌های مربوط به ارزیابی سرنوشت پروتئین‌های *Cry* بیان شده در گیاهان تراریخته نشان داده است که این پروتئین‌ها نیز همانند بیشتر پروتئین‌های خوراکی در طول فرایندهای فرآوری گرمایی (پختن، اکستروزن، سرخ کردن و میکروویو) و تیمار با اسید یا باز قوی تجزیه و واسرشته می‌شوند (۵، ۷ و ۱۸).

بلورهای پروتئین *Cry*، در برابر دما و نور خورشید، تجزیه می‌شوند. پژوهش‌های انجام شده نشان داد که پروتئین‌های *Cry* می‌توانند به قطعات خاک رس و هیومیک اسیدها

فناوری قضاوت کند. تا کنون هیچ مدرکی دال بر مضر بودن گیاهان Bt برای انسان، موجودات دیگر و محیط زیست گزارش نشده است.

ولی هر روز سطح زیر کشت محصولات ناشی از این فناوری در حال افزایش است. به نظر می‌رسد جامعه باید با نگرش منطقی، علمی و بدون هیچ ادعای اغراق‌آمیز نسبت به این

References

منابع مورد استفاده

1. توحیدفر م.، زارع ن. و افتخاری م. (۱۳۹۰). مهندسی ژنتیک یونجه برای افزایش مقاومت به آفت سرخرطومی یونجه. هفتمین کنگره بیوتکنولوژی. تهران شهریور.
2. ریاضی ا.، زرگری ک. و کشاورزی م. (۱۳۸۸). شناسایی انواع ژن‌های *cryI* در نمونه‌های باسیلوس تورنجینیس (*Bacillus thuringiensis*) جمع‌آوری شده از استان‌های خراسان و همدان. دانش زیستی ایران، ۲: ۱۲۳-۱۳۳.
3. Anzfa A. (1999). Full assessment report and regulatory impact statement, A341: Oil and linters derived from insect resistant cotton. Report No. A341, Australia new Zealand Food Authority, Canberra, Australia. pp 123.
4. Barnes D.K. Bingham E.T. Axtell J.D. and Davis W.H. (1972). The flower, sterility mechanisms, and pollination control. In: Hanson CH (ed) Alfalfa science and technology. Am Soc Agron, Madison, Wisconsin, pp 137.
5. Betz F. Hammond B.G. and Fuchs R.L. (2000). Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. Regul. Toxicol. Pharmacol. 32: 156-173.
6. Crecchio C. and Stotzky G. (1998). Insecticidal activity and biodegradation of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. Kurstaki bound to humic acids from soil. Soil Bio. Biochem. 30:463-470.
7. Delaney B. Astwood J.D. Cunny. H. Conn. R.E. Herouet-Guicheney. C. MacIntosh. S. Meyer. Li.S. Privalle. L. Gao. Y. Mattsson J. and Levine M. (2008). Evaluation of protein safety in the context of agricultural biotechnology. Food and Chemical Toxicology, 46: S71-S97.
8. Ellstrand N.C. Prentice. H.C. and Hancock J.F. (1999). Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. Annu. Rev. Ecol. Syst. 30: 539-563.

"توحیدفر، ارزیابی مخاطرات احتمالی یونجه‌های تراریخته"

9. EPA (1998). EPA registration eligibility decision *Bacillus thuringiensis*. Identification of a gene associated with Bt resistance in *Heliothis virescens*. Science. 293: 857-860.
10. Farrell T. and Roberts G. (2002). Survey of cotton volunteers north of latitude 22 south. Australian Cotton CRC and CSIRO Plant Industry. 34: 22-32.
11. Fitzpatrick S. Reisen P. and McCaslin M. (2003). Pollen-mediated Gene Flow in Alfalfa: A three-year summary of field research. Proceedings of the 2003 Central Alfalfa Improvement Conference, Virtual Meeting July 21–25.
12. Fuchs R.L. and Astwood J.D. (1996). Allergenicity assessment to foods derived from genetically modified plants. Food Technology. 50: 83-88.
13. Groves R.H. Hosking J.R. Cooke D.A. Johnson R.W. Lepschi B.J. Mitchell A.A. and Waterhouse B.M. (2002). The naturalised non-native flora of Australia: its categorisation and threat to agricultural ecosystems. Unpublished report to Agriculture, Fisheries and Forestry Australia. CRC for Weed Management Systems.
14. Huesing J. English. L. (2004). The impact of Bt crops on the developing world. AgBioForum. 7: 84-95.
15. James C. (2011). Global status of commercialized biotech/GM crops: brief 43, International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications ISAAA, pp 1-16.
16. Lidia S. Watrud S.M. Leshitew G.T. Shiroyama S.M. and George D.G. (2006). Ecological Risk Assessment of Alfalfa (*Medicago Varia* L.) Genetically engineered to Express A Human Metallothionein (*Hmt*) Gene . Water Air, and Soil Pollution. 176: 329–349.
17. Llewellyn D.L. Cousins Y.L. Lyon B.R. Dennis E.S. and Peacock W.J. (1990). Prospects for the genetic engineering of Heliothis resistant cotton varieties. Fifth Australian Cotton Conference. Pp. 23-26.
18. Mendelsohn M. Kough J. Vatzis Z. and Matthews K. (2003). Are Bt crops safe. Nature Biotech. 21: 1003-1009.
19. Metcalfe D.D. Astwood J.D. Townsend R. Sampson H.A. (1996). Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 36: 165-186.
20. Pioneer C. Amand D.Z. and Skinner R.N. (2000). Risk of alfalfa transgene dissemination and scale-dependent effects. Theor Appl Genet 101:107-114.

21. Palm C.J. Seidler R.J. Donegan K.K. and Harris D. (1993). Transgenic plant pesticides: Fate and Persistence in soil. *Plant Physiol.* 45:102: 166.
22. Ranjekar P.K. Patankar A. Gupta V. Bhatnagar R. Benture J. and Kumar P.A. (2003). Genetic engineering of crop plants for insect resistance. *Current Sci.*, 84: 321-329.
23. Schnepf E. Crickmore N. Van Rie J. Lereclus D. Baum J. and Dean D.H. (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62: 775.806.
24. Takkashi Y. and Powell G.K. (1993). *Bacillus thuringiensis* crystal proteins: recent advance in understanding its insecticidal activity. In: L. Kim (ed.). Advanced Engineered Pesticides. Marcel Dekker, Inc. pp 243.
25. Tang J.D. Collings H.L. Metz T.D. Earle E.D. Zhao J.Z. Roush R.T. and Shelton A.M. (2001). Green tests on resistance management of Bt transgenic plants using refuge strategies. *Journal of Economical Entomology*.1: 240-247.
26. Tesfaye M. Samac D. A. and Lamb J.F.S. (2009). Alfalfa. In: Chittaranjan K, Timotry CH, Compendium of transgenic crop. Wiley, New York, pp 435.
27. Teuber L.R. Van Deynze A. Mueller S. McCaslin M. Fitzpatrick S. and Rogan G. (2004). Gene flow in alfalfa under honey bee (*Apis mellifera*) pollination Joint Conference of the 39th North American Alfalfa Improvement Conference and the 18th Trifolium Conference Quebec City, Quebec, Canada, July 18 – 21.
28. Tohidfar M. Zare N. Salehi Jozani Gh. And Eftekhari S.M. (2012). Agrobacterium-mediated transformation of alfalfa (*Medicago sativa*) using a synthetic *cry3* a gene to enhance resistance against alfalfa weevil. *Journal of Plant Biotechnology*. Published online: 25 November 2012.