مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۷، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳

ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

توسعه درختان جنگلی مقاوم به تنش‌های زیستی و غیرزیستی با استفاده از فناوری‌های نوین ویرایش ژنوم

نوع مقاله: مروری 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5

زینب بهمنی[1*]، زهرا میرسلیمانی[2]، امیررضا پاکنژاد[3]

۱- استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۲- استادیار، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی، گروه علوم جنگل، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

z.bahmani@ilam.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۱۶، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۲۴

صفحه ۵۷-۳۵

چکیده

محدودیت‌هایی مانندطولانی بودن روند به‌نژادی و بازده پایین اصلاح صفات، کارایی روش‌های سنتی اصلاح ژنتیکی درختان جنگلی را کاهش داده است. در این شرایط، استفاده از فناوری‌های نوین زیستی ضروری است. این مقاله به معرفی رویکردهایی مانند دست‌ورزی ژنتیکی با استفاده ازآگروباکتریوم، تفنگ ژنی، نانوذرات، سامانه ویرایش ژنوم CRISPR/Cas و آپتامرهای پپتیدی می‌پردازد. برخی از این فناوری‌ها، از جمله ویرایش تک‌باز و خاموشی ژن القاشده با اسپری (SIGS)، امکان اصلاح دقیق را بدون وارد کردن دی‌ان‌ای خارجی فراهم کرده‌اند. این ابزارها به‌منظور افزایش مقاومت درختان نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند آفات، بیماری‌ها، خشکی، شوری و سرما توسعه یافته‌اند. در کنار مزایا، چالش‌هایی مانند ارزیابی ایمنی زیستی، حفظ پایداری صفات در محیط طبیعی و نیاز به زیرساخت‌های تخصصی نیز مطرح است. به‌کارگیری هدفمند این فناوری‌ها می‌تواند در حفاظت از تنوع زیستی، بازسازی جنگل‌ها و مقابله با تغییرات اقلیمی، به‌ویژه در زیست‌بوم‌های آسیب‌پذیر، نقش مؤثری ایفا کند.

واژه‌های کلیدی: آپتامرهای پپتیدی، اصلاح ژنتیکی، دست‌ورزی ژنتیکی، خاموشی ژن، نانوذرات

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

مقدمه

از دیرباز، انسان‌ها برای بهبود ویژگی‌های مفید گیاهان تلاش کرده‌اند. در گذشته، این اصلاحات محدود به انتخاب و تلاقی گونه‌ها بود، اما با پیشرفت دانش و فناوری، رویکردهای جدیدی مانند مهندسی ژنتیک شکل گرفت. این فناوری امکان تغییر هدفمند در ژن‌های گیاهان را فراهم کرد و زمینه‌ساز پیشرفت‌های چشمگیر در کیفیت و عملکرد محصولات کشاورزی شد. جنگل‌ها از جمله مهم‌ترین منابع طبیعی محسوب می‌شوند که نقشی بسیار مهمی در پایداری اکوسیستم‌ها، حفظ تنوع زیستی، ارتقای کیفیت زندگی انسان و تقویت بنیان‌های اقتصادی ایفا می‌کنند (Liang et al. 2016; José et al. 2018).

تمروزخ دیگر شیوه‌های معمول اصلاح درختان پاسخ‌گوی فشارهای محیطی و تهدیدهای ناشی از عوامل زنده، به‌ویژه آفات و بیماری‌های نیست. علاوه بر این، محدودیت‌های زیستی خاص درختان، مانند چرخه‌های زندگی بسیار طولانی، زمان‌بر بودن بلوغ جنسی، فواصل نسلی گسترده و تنوع ژنتیکی محدود، روند اصلاح سنتی را با چالش‌های جدی مواجه کرده است (Suzuki and Suzuki, 2014; Thapliyal et al. 2022). در چنین شرایطی، استفاده از فناوری‌های نوین زیستی به‌ویژه ویرایش ژنوم درختان، به عنوان یکی از راهکارهای جدید برای افزایش مقاومت، بهره‌وری و پایداری گونه‌های درختی، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. با استفاده از ابزارهای نوین بیوتکنولوژی، می‌توان ژن‌های مفید را که محصول آنها در شبکه‌های مربوط به ایجاد تحمل در برابر تنش‌ها نقش مهمی ایفا می‌کنند را شناسایی و به سلول‌های گیاهی منتقل کرد (Saki and Mirsoleymsni, 2024). این فرآیند باعث تغییر در ساختار ژنتیکی گیاه شده و به بهبود ویژگی‌های ظاهری و عملکردی آن کمک می‌کند. در گذشته، روش‌هایی مانند انتقال ژن به واسطه آگروباکتریوم و از طریق تفنگ ژنی به‌عنوان فناوری‌های رایج در مهندسی ژنتیک استفاده می‌شدند. با این حال، محدودیت‌هایی که این روش‌ها داشتند، همراه با پیشرفت‌های چشمگیر در زمینه‌های مهندسی ژنتیک، منجر به ظهور روش‌های نوین و کارآمدتری شده است. از جمله این روش‌ها می‌توان به کاربرد نانوذرات، ویرایش ژنوم بدون استفاده از دی‌ان‌ای خارجی و استفاده از آپتامرهای پپتیدی اشاره کرد. این رویکردها ضمن افزایش دقت و ایمنی، امیدهایی را در توسعه پایدار و بهبود امنیت زیستی در حوزه‌هایی مانند کشاورزی، جنگلداری و حفاظت از منابع طبیعی ایجاد کرده‌اند (Wingfield et al. 2015; Yin et al. 2021). دست‌ورزی ژنتیکی درختان نقش مهمی در افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی، بهبود عملکرد و ارتقای کیفیت

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

محصولات چوبی و غیرچوبی دارد. به عنوان مثال، وارد کردن ژن‌های مقاوم به خشکی می‌تواند به تولید درختانی منتهی شود که قادرند در مناطق خشک و کم‌آب رشد کنند. علاوه بر این، اصلاح الگوی رشد و تنظیم میزان لیگنین در دیواره سلولی می‌تواند به‌طور قابل توجهی تحمل درختان را نسبت به شوری افزایش دهد (De Meester et al. 2022). این مرور، نگاهی جامع به پیشرفت‌های اخیر در فناوری‌های تراریختی و کاربرد آنها در درختان دارد. همچنین برخی از فناوری‌های جدید که راندمان موفقیت انتقال ژن را افزایش می‌دهند نیز بررسی شده است. در ادامه، به چالش‌های زیست محیطی که با استفاده از این روش‌ها ممکن است به وجود آیند نیز پرداخته شده است تا فرصت‌ها و محدویت‌های این فناوری‌ها در حفظ و پایداری جنگل‌ها روشن شود.

کاربرد و چالش‌های دست‌ورزی ژنتیکی درختان چوبی با استفاده از باکتری آگروباکتریوم

دو روش اصلی برای انتقال ژن به گیاهان چوبی که از دیرباز مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل انتقال ژن با تفنگ ژنی (Biolistic) و دست‌ورزی ژنتیکی به واسطه باکتری آگروباکتریوم (*Agrobacterium tumefaciens*) است (Sanford et al. 1987; De Cleene and De Ley, 1976). انتخاب روش مناسب با بازدهی بالا در دست‌ورزی ژنتیکی درختان چوبی به گونه گیاهی، هدف اصلاح ژنتیکی و شرایط آزمایشگاهی بستگی دارد. انتقال ژن با استفاده از باکتری آگروباکتریوم به دلیل پایداری بالاتر ژن منتقل شده و ادغام پایدارتر آن در ژنوم گیاهان میزبان، در بسیاری از پژوهش‌ها و کاربردهای مهندسی ژنتیک ترجیح داده می‌شود. در این روش باکتری آگروباکتریوم از طریق زخم‌های ایجاد شده روی گیاه وارد سلول‌های آن می‌شود و بخشی از دی‌ان‌ا خود به نام T-DNA را به داخل ژنوم گیاه منتقل می‌کند. پس از اینکه این قطعه دی‌انِا به درون ژنوم گیاه الحاق یافت، به صورت پایدار در سلول باقی می‌ماند و هنگام تقسیم سلولی به نسل‌های بعدی منتقل می‌شود (Grant et al. 2015). سویه‌های مختلف آگروباکتریوم که در دست‌ورزی ژنتیکی گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرند، به‌طور کلی به سه گروه اصلی اکتوپین، ناپالین و آگروپین تقسیم می‌شوند. سویه‌های LBA4404، GV3101 و EHA101/EHA105 به ترتیب نماینده این گروه‌ها هستند. این سویه‌ها از نظر توانایی در انتقال ژن به بافت‌های گیاهی هدف، عملکردهای متفاوتی از خود نشان می‌دهند و کارایی آن‌ها به نوع گیاه میزبان، ویژگی‌های ناقل ژنی و شرایط آزمایشگاهی بستگی دارد (Zhao et al. 2024).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

سویه های مختلفی از باکتری آگروباکتریوم مانند LBA4404، GV3101 و EHA105 در اصلاح گونه‌های *Abies nephrolepis*، *Pinus elliottii* و *Pinus radiata* به کار رفته‌اند (Tang et al. 2013; Grant et al. 2015). علاوه براین سویه *Agrobacterium rhizogenes* نیزدر مطالعات عملکرد ژن و باززایی درختان جنگلی به کار گرفته شده است (Montoya et al. 1977). اما باوجود مزیای فراوان روش انتقال ژن بوسیله باکتری اگروباکتریوم، چالش هایی نیز در استفاده از این باکتری وجود دارد. به عنوان مثال، دربرخی موارد رشد بیش از حد باکتری ها یا ایجاد نکروز در بافت ها می‌تواند مانع موفقیت فرایند انتقال ژن شود (Sarmast, 2016). با این وجود با توجه به نرخ بالای موفقیت در اصلاح ژنتیکی، این فناوری همچنان به عنوان یکی از روش های موثر و قابل اعتماد در این حوزه شناخته می‌شود (Konagaya et al. 2013).

دست‌ورزی ژنتیکی گونه‌های درختی با استفاده از روش زیست‌پرتابی

روش زیست‌پرتابی (Biolistic) یا بمباران ذره‌ای روشی جایگزین برای دست‌ورزی ژنتیکی گیاهانی است که محدودیت های موجود در روش انتقال با استفاده از آگروباکتریوم را دارند. این روش برخلاف محدودیت های زیستی روش آگروباکتریومی، بر روی طیف گسترده‌ای از گونه های گیاهی قابل اجراست. با این حال، در مورد دست‌ورزی ژنتیکی مخروطیان، معمولا این روش کارایی کمتری در مقایسه با روش آگروباکتریومی دارد (Konagaya et al. 2013). این روش به صورت موثر برای باززایی کامل گیاهان که دست‌ورزی ژنتیکی شده‌اند مورد استفاده قرار می‌گیرد. در یکی از دستاوردهای مهم، موفق به ایجاد بیان پایدار یک ژن خارجی در درخت کاج سفید (*Picea glauca*) شدند که آغازگر استفاده موفقیت‌آمیز از تفنگ‌ژنی در تولید درختان تراریخته بود (Ellis et al. 1993). در ادامه، در مطالعه‌ای دیگر با استفاده از همین تکنیک، چهار رده سلولی جنینی از کاج رادیاتا (*Pinus radiata*) را هدف قرار دادند و در مجموع از ۲۰ آزمایش تراریختی، بیش از ۱۵۰ گیاه تراریخته به دست آوردند. نتایج این آزمایش‌ها با استفاده از آنالیزهای Southern و Northern تأیید شد و نشان داد ژن مورد نظر به‌درستی وارد ژنوم گیاه شده و بیان می‌شود (Walter et al. 1998). در ادامه‌ی موفقیت‌های به‌دست‌آمده با استفاده از این روش، توانسته‌اند در کشت‌های جنینی صنوبر قفقازی(*Abies nordmanniana*) نیز تراریختی پایداری ایجاد کنند که در نهایت منجر به تولید گیاهان تراریخته شد (Find et al. 2005) همچنین، این روش در کاج سیاه (*Pinus nigra*) و به‌ویژه

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

در رده سلولی E104 هم نتایج موفقی به همراه داشته و تراریختی پایدار در بافت‌های جنینی آن گزارش شده است (Salaj et al. 2005). با توجه به انعطاف‌پذیری بالا و گستره وسیع کاربرد این تکنیک، پیش‌بینی می‌شود که بمباران ذره‌ای همچنان یکی از روش‌های کلیدی در زمینه دست‌ورزی ژنتیکی باقی بماند.

پیشرفت‌های اخیر در دست‌ورزی ژنتیکی درختان جنگلی

دست‌ورزی ژنتیکی در درختان جنگلی، برای اولین‌بار در سال ۱۹۹۸ گزارش شد (Tulecke et al. 1988). از آن زمان تاکنون، پیشرفت‌های زیادی در این زمینه صورت گرفته است، اما با این حال چالش‌های مهمی همچنان در این حوزه وجود دارد که استفاده موثر از این فناوری را در درختان جنگلی محدود کرده است. یکی از اصلی‌ترین موانع، توان باززایی پایین در بسیاری از گونه‌های چوبی است. این عامل مستقیماً بر کارایی فرایند دست‌ورزی ژنتیکی تأثیرگذار است. علاوه بر این، چرخه رشد طولانی درختان جنگلی باعث می‌شود که مدت‌زمان زیادی برای دستیابی به گیاهان تراریخته بالغ مورد نیاز باشد. این مسئله روند توسعه و گسترش این فناوری را کند کرده است و نیازمند صرف زمان و هزینه‌های قابل توجهی است (Thapliyal et al. 2022). علاوه بر این، گونه‌های مختلف درختی نیازهای فیزیولوژیک و کشت بافتی متفاوتی دارند، که استفاده از محیط‌های کشت اختصاصی و کنترل دقیق شرایط آزمایشگاهی را پیچیده می‌کند با وجود این چالش‌ها، پیشرفت‌های اخیر در فناوری‌های دست‌ورزی ژنتیکی، به‌ویژه در زمینه بهینه‌سازی محیط‌های کشت و سیستم‌های جنینی، باعث افزایش دقت، پایداری و کارایی این فرایندها شده است (Yin et al. 2021). همزمان، فناوری‌های نوینی نیز برای انتقال ژن ایجاد شده است که از جمله این فناوری‌ها می‌توان به استفاده از ناقل‌های پیشرفته، روش‌های ویرایش ژن بدون وارد کردن دی‌انِای خارجی و نانوذرات حامل ژن اشاره کرد. این رویکردها نه‌تنها زمان تولید گیاهان تراریخته را کاهش می‌دهند، بلکه به بهبود ثبات ژنتیکی در نسل‌های بعد نیز کمک می‌کنند (Yin et al. 2021; Thapliyal et al. 2022). در ادامه به مهمترین این روش‌ها اشاره خواهد شد.

استفاده از فناوری‌نانو برای افزایش کارامدی دست‌ورزی ژنتیکی در گونه‌های درختی

فناوری نانو یکی از جدیدترین و پیشرفته‌ترین حوزه‌های علوم بین‌رشته‌ای است که نقش مهمی در زمینه‌های گوناگون علمی و صنعتی ایفا می‌کند. در این فناوری با استفاده از دانش فیزیک، شیمی،

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

زیست‌شناسی و مهندسی، موادی در مقیاس نانو (۱ تا ۱۰۰ نانومتر) ساخته می‌شود که ویژگی‌هایی منحصربه‌فردی دارند (Lv et al. 2020). این فناوری در زمینه دست‌ورزی ژنتیکی درختان جنگلی نیز تحولاتی ایجاد کرده است. یکی از رویکردهای جدید در این زمینه، استفاده از نانوذرات به‌عنوان حامل‌های مواد ژنتیکی است. این ذرات نانو مولکول‌های دی‌انا یا آرانا را از دیواره سلولی گیاهی عبور داده و آنها را به درون سیتوپلاسم یا حتی هسته سلول منتقل می‌کنند (Wang et al. 2016). این قابلیت، فرصت‌های جدیدی را در زمینه دست‌ورزی ژنتیکی درختان جنگلی ایجاد کرده است. به خصوص برای گونه‌هایی که به روش‌های متداول دست‌ورزی ژنتیکی واکنش ضعیفی نشان می‌دهند. نانوذرات به‌خاطر ابعاد بسیار کوچک، سطح فعال بالا و سازگاری زیستی ویژه، نقش بسیار کارآمدی در انتقال دقیق و مؤثر مواد ژنتیکی به سلول‌های گیاهی ایفا می‌کنند. اما با این حال، دیواره سخت و مقاوم سلول‌های گیاهی، محدودیتی بزرگ در عبور نانوذرات به داخل سلول‌ها ایجاد می‌کند، چرا که تنها ذرات کوچکتر از ۲۰ نانومتر قادر به نفوذ هستند (Lv et al. 2020).

نقاط کربنی (Carbon Dots) و نانولوله‌های کربنی (Carbon Nanotubes)، هر دو از جمله نانوذرات پایه کربنی هستند که نقش مهمی در انتقال ژن به گیاهان دارند. نقاط کربنی، ساختارهایی بسیار کوچک (کمتر از ۱۰ نانومتر) هستند که ویژگی‌هایی مثل اندازه بسیار ریز و قدرت پیوند با پلیمرهای کاتیونی را دارند. این مزایا باعث می‌شود تا آن‌ها بتوانند انواع مختلف اسیدهای نوکلئیک مانند دی‌انای پلاسمیدی، siRNA و dsRNA را به طور مؤثر به سلول‌های گیاهی منتقل کنند و به راحتی از دیواره سلولی عبور دهند؛ بنابراین، هم برای دست‌ورزی ژنوم هسته‌ای و هم اندامکی گیاهان قابل استفاده هستند (Nayak and Das, 2021). علاوه بر نقاط کربنی، نانولوله‌های کربنی نیز به دلیل ساختار استوانه‌ای، نسبت سطح به حجم زیاد و استحکام بالا می‌توانند مقدار قابل توجهی مواد ژنتیکی را حمل کرده و وارد سلول‌های گیاهی کنند. این نانولوله‌ها قادرند دی‌انا یا آرانا را بدون آسیب فیزیکی جدی و به صورت غیرتهاجمی از سد دیواره سلولی عبور دهند و محموله ژنتیکی را به هسته یا سایر اندامک‌ها برسانند. توانایی نانولوله‌های کربنی در ارائه بیان موقت یا پایدار ژن در بافت‌های گیاهی، آنها را به گزینه‌ای مناسب برای اصلاح ژنتیکی طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی، حتی نمونه‌هایی که نسبت به روش‌های مرسوم مقاوم هستند، تبدیل کرده است (Demirer et al. 2021). در مجموع، استفاده از نقاط کربنی و نانولوله‌های کربنی محدودیت‌های روش‌های سنتی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

انتقال ژن را برطرف کرده است و همچنین باعث افزایش کارایی انتقال ژن به گیاهان شده است (Shivashakarappa et al. 2025).

مکانیسم انتقال ژن به درختان با استفاده از نانوذرات به این صورت است که ابتدا دی‌انا یا سایر مواد ژنتیکی روی سطح نانوذرات قرار داده می‌شود سپس این نانو ذرات به کمک روش‌هایی مانند تزریق به برگ یا ساقه، اسپری روی سطح گیاه و استفاده میدان مغناطیسی یا الکتروواپوریشن وارد سلول گیاهی می‌شوند. این فناوری نسبت به روش‌های قدیمی‌تر، مانند استفاده از آگروباکتریوم یا شوک‌های فیزیکی مانند بمباران ذره‌ای، آسیب کمتری به سلول‌ها وارد می‌کند. از سایر مزایای مهم این روش افزایش کارایی جذب ماده ژنتیکی، عدم وابستگی به گونه‌های خاص گیاهی (برخلاف روش‌های مبتنی بر آگروباکتریوم) و امکان کنترل دقیق‌تر بر محل و میزان انتقال ژن است (Shivashakarappa et al. 2025). با ادامه تحقیقات و توسعه این فناوری، انتظار می‌رود استفاده از نانوذرات به یکی از روش‌های کارآمد و اصلی در دست‌ورزی ژنتیکی گیاهان تبدیل شود؛ به‌ویژه در گونه‌هایی که اصلاح ژنتیکی آن‌ها با روش‌های سنتی دشوار یا زمان‌بر است.

کاربردهای نوین فناوری CRISPR-Cas در اصلاح ژنتیکی گونه‌های درختی

پژوهشگران برای بیان پایدار و دقیق ژن‌ها استراتژی‌های مختلفی مانند انتخاب پیشبر و پایان‌دهنده مناسب، کنترل تعداد نسخه‌های ژن منتقل‌شده، تعیین محل‌های هدف در ژنوم برای ادغام دقیق ژن و بهینه‌سازی مکانیسم‌های تنظیم ژنی را مورد بررسی قرار داده‌اند (Su et al. 2023). در این میان، سیستم CRISPR-Cas به‌عنوان یکی از پیشرفته‌ترین ابزارهای موجود شناخته شده است. این فناوری با الهام از سیستم ایمنی باکتری‌ها، توانایی ایجاد برش‌های هدفمند در دی‌انای را فراهم کرده و تحولی در مهندسی ژنتیک ایجاد کرده است (Jinek et al. 2012). این سیستم برای اولین بار در سال ۲۰۰۲ شناسایی و نام‌گذاری شد. اجزای اصلی این سیستم شامل توالی‌های تکرارشونده خوشه‌ای منظم و پالیندروم کوتاه (CRISPR) به‌همراه پروتئین‌های Cas، است (Jansen et al. 2002).

فناوری ویرایش ژن CRISPR-Cas9 با استفاده از پروتئین Cas9 و آران‌اهای راهنمای تک‌رشته‌ای (sgRNA) توالی‌های خاصی از دی‌انا را شناسایی و برش می‌دهد. این برش‌ها مسیرهای ترمیمی درون‌سلولی مانند پیوند انتهایی غیرهمولوگ (NHEJ) یا ترمیم با الگوی همولوگ (HDR) را فعال می‌کنند که در نتیجه، جهش‌های الحاقی یا

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

حذفی در محل هدف ایجاد می‌شود (Vu et al. 2014). با این حال، مکانیزم HDR معمولاً ناکارآمد است و NHEJ نیزاغلب جهش‌هایی ایجاد می‌کند که باعث از دست رفتن عملکرد پروتئین می‌شود. به همین دلیل ویرایش ژنوم با استفاده از CRISPR/Cas9 در ایجاد جایگزینی‌های دقیق تک‌باز پایه محدودیت دارند. در حالیکه، تغییرات تک‌باز پایه اغلب باعث بهبود ویژگی‌های مهم کشاورزی می‌شوند. بنابراین، توسعه سیستم‌های پیشرفته‌تری مانند ویرایش تک‌باز (Base Editing) برای ویرایش دقیق و کارآمد تک‌باز پایه برای اصلاح ژنتیکی در جنگلداری اهمیت ویژه‌ای دارد (Yang et al. 2024).

استفاده از ویرایش تک‌باز برای اصلاح دقیق ژنوم در درختان

ویرایش تک‌باز یکی از پیشرفته‌ترین روش‌ها در زمینه ویرایش ژنوم است که با استفاده از سیستم CRISPR-Cas، به‌طور دقیق توالی‌های خاص دی‌انِ‌ا را هدف قرارمی‌دهد. دراین فناوری اصلاح هدفمند نوکلئوتیدهای منفرد بدون نیاز به ایجاد شکست‌های دو رشته‌ای در دی‌انِ‌ا یا استفاده از الگوهای دهنده (Donor templates) انجام می‌شود. ویرایش باز به‌طور مستقل از مکانیسم‌های ترمیم دی‌انِ‌ای سلولی عمل می‌کند. بنابراین از دقت و کارایی بالاتری نسبت به سایر روش‌های برخوردار است (Villiger et al. 2021). از زمان معرفی اولین ویرایش باز دی‌انِ‌ا با نام BE1 در سال ۲۰۱۶، نسل‌های متعددی از ویرایش تک‌باز با سرعت توسعه یافته است. به‌عنوان مثال، ویرایش تک‌باز سیتیدینی (CBE) قادر است جفت‌بازهای سیتوزین-گوانین (C–G) را به جفت‌بازهای تیمین-آدنین (T–A) تبدیل کند؛ در حالی که ویرایش تک‌باز آدنین (ABE) توانایی تبدیل جفت‌بازهای آدنین-تیمین (A–T) به گوانین-سیتوزین (G–C) را دارد (Gaudelli et al. 2017). علاوه بر این، ویرایش تک باز دوگانه (DBE) توانایی ویرایش هر دو نوع جفت‌باز C–G و A–T را به‌طور هم‌زمان دارد (Li et al. 2021). این سیستم‌های ویرایشی معمولاً از پروتئین‌های تلفیقی تشکیل شده‌اند که شامل پروتئین Cas، آنزیم دآمیناز و سایر عوامل کمکی هستند. این مجموعه توسط آران‌ای راهنما (sgRNA) به توالی هدف حاوی توالی PAM (Protospacer Adjacent Motif) هدایت می‌شود. در ادامه، آنزیم دآمیناز فرآیند دآمیناسیون بازهای سیتوزین (C) یا آدنین (A) را کاتالیز کرده و آن‌ها را به‌ترتیب به اوراسیل (U) یا اینوزین (I) تبدیل می‌کند. در طول همانندسازی دی.ان.اِی، یوراسیل به‌عنوان تیمین (T) و اینوزین به‌عنوان گوانین (G) شناسایی می‌شوند و بدین‌ترتیب، تبدیل باز به‌صورت دقیق و مؤثری انجام می‌پذیرد (Yang et al. 2024).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

اگرچه فناوری ویرایش تک‌باز تاکنون در بسیاری از گونه‌های زراعی و گیاهان مدل مانند گوجه‌فرنگی، برنج و گندم به‌طور موفقیت‌آمیزی انجام شده است، اما کاربرد آن در درختان جنگلی هنوز در مراحل ابتدایی قرار دارد. با این وجود، مطالعات اولیه نتایج امیدوارکننده‌ای به همراه داشته‌اند. برای مثال، در یک مطالعه با استفاده از دو ویرایش باز CBE، دو ویرایش ABE و نیز استفاده از پروموتر AtU3، توانستند به نرخ بالایی از ویرایش ژنومی در هیبریدهای صنوبر دست پیدا کنند (Li et al. 2021) در ادامه، در تحقیقی دیگر نیز با استفاده از سیستم pHEE901-BE3، کارایی بالای ویرایش باز CBE را در گونه‌های مختلف صنوبر تأیید کردند. این دستاوردها، افق‌های جدیدی برای اصلاح دقیق، هدفمند و بدون تخریب گسترده‌ی ژنومی در درختان جنگلی ترسیم می‌کنند، اما با این وجود، چالش‌های زیادی نیز پیش روی کاربرد این فناوری در جنگل‌داری وجود دارد که نیاز به بررسی و توسعه بیشتر دارند. به عنوان مثال، برای تحت تاثیر قرار دادن طیف وسیعی از ژن‌ها و بازهای نکلئوتیدی لازم است دامنه عملکرد و دقت ویرایش‌های تک باز افزایش یابد. همچنین باید آثار این ویرایش‌ها بر ویژگی‌های ظاهری (فنوتیپی) درختان و پیامدهای زیستی آن‌ها به‌طور دقیق ارزیابی شود. علاوه بر این، برای بدست آوردن صفات جدید و سودمند در درختان می‌توان از ترکیب ویرایش‌های تک باز با سایر فناوری‌های ویرایش ژن یا روش‌های پیشرفته اصلاح نژاد استفاده کرد. در کنار این موارد، توجه به جنبه‌های اخلاقی و قوانین مرتبط با استفاده از ویرایش ژن در حوزه جنگل‌داری نیز ضروری است (Yang et al. 2024).

نقش آپتامرهای پپتیدی در مهندسی عملکرد پروتئین‌های گیاهی بدون اصلاح ژنتیکی

آپتامرهای پپتیدی (Peptide aptamers)، زنجیره‌های کوتاهی از اسیدهای آمینه (معمولاً شامل ۸ تا ۲۰ واحد) هستند که می‌توانند به‌صورت اختصاصی به پروتئین‌ها یا مولکول‌های هدف متصل شده و عملکرد آن‌ها راتنظیم کنند. نکته قابل توجه این است که این فرآیند بدون نیاز به تغییر در دی‌انِا، آرانا یا حتی ساختار خود پروتئین انجام می‌شود و از این طریق، مسیرهای زیستی و تعاملات مولکولی در سلول قابل کنترل خواهد بود (Hao et al. 2018).

این ویژگی‌ها باعث شده آپتامرهای پپتیدی در مطالعات ژنومیک عملکردی گیاهان بسیار ارزشمند باشند؛ زیرا امکان مداخله مستقیم در عملکرد پروتئین‌ها را فراهم کرده است. این فناوری بدون نیاز به اصلاح ژنتیکی، می‌تواند صفاتی مانند مقاومت به تنش‌ها یا بهبود رشد را

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

در گیاهان ایجاد کند. در یک مطالعه، محققین با استفاده از یک کتابخانه آپتامری شامل پپتیدهای ۱۶ تایی، پروتئین MAGO در گیاه برنج (*Oryza sativa*) را به‌عنوان هدف بررسی کردند. در نتیجه این بررسی، آپتامری اختصاصی به نام PAP شناسایی شد که از تشکیل کمپلکس طبیعی MAGO-Y14 جلوگیری کرده و به‌جای آن، کمپلکسی جدید با عنوان PAP-MAGO تشکیل داد (Gong et al. 2014). این تغییر در تعاملات پروتئینی منجر به بروز فنوتیپ‌هایی شد که مشابه گیاهانی بودند که یا بیان *PAP* در آن‌ها زیاد شده یا ژن‌های *OsMAGO* و *OsY14* در آن‌ها سرکوب شده‌اند. همچنین در مطالعه‌ای دیگر، آپتامری به نام cPEP برای هدف‌گیری اختصاصی پروتئین HSP101 در گیاه سویا طراحی شده است که مقاومت به تنش گرمایی را در این گیاه به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد (Ormancey et al. 2023). این نتایج نشان داد که استفاده از آپتامرهای پپتیدی می‌تواند به‌طور مؤثری عملکرد پروتئین‌ها را تغییر دهد. در پژوهش‌های مربوط به درختان جنگلی نیز، آپتامرهای پپتیدی پتانسیل بالایی برای کنترل دقیق صفات دارند. از طریق دخالت در مسیرهای مولکولی، قادرند رشد، کیفیت چوب، و مقاومت به تنش‌های محیطی را به‌صورت هدفمند تنظیم کنند. یکی از مزایای مهم این آپتامرها این است که بدون نیاز به استفاده از سامانه‌های ویرایش ژن یا اصلاح ژنومی، می‌توان عملکرد سلولی گیاه را تنظیم کرد. همچنین، امکان تزریق آن‌ها از طریق محلول‌پاشی یا آبیاری، این روش را برای گیاهانی که قابلیت دست‌ورزی ژنتیکی محدودی دارند نیز کاربردی ساخته است (Li et al. 2024).

استراتژی‌های حذف دی‌انِ‌ای خارجی در فرایند ویرایش ژنومی

در بعضی از روش‌های ویرایش ژن، برای انتقال سیستم‌های ویرایشی مانند CRISPR/Cas9 به سلول‌های گیاهی معمولاً از دی‌انِ‌ای خارجی استفاده می‌شود. در ادامه حذف این عناصر خارجی پس از انجام ویرایش، نیازمند فرآیندی زمان‌بر و پرهزینه است تا در پایان گیاهانی بدون بقایای تراریخته تولید شوند (Kocsisova and Coneva, 2023).

بدین منظور، محققین از روش‌هایی مانند به‌کارگیری نشانگرهای فلوئورسنت یا ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک در حامل‌های CRISPR استفاده می‌کنند. این نشانگرها تمایز و شناسایی گیاهانی را که فاقد دی‌انِ‌ای خارجی هستند را تسهیل می‌کنند. در این فرایند، گیاهان اصلاح‌شده تحت میکروسکوپ فلوئورسنت مورد بررسی قرار می‌گیرند و نمونه‌هایی که فاقد نشانگر هستند از سایر نمونه‌ها جدا می‌شوند همچنین با کمک

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

نشانگرهای مقاومتی، می‌توان گیاهانی را که هنوز حاوی دی‌انِ‌ای خارجی هستند، در مراحل اولیه غربال کرد (Khosravi et al. 2020). یکی از پیشرفت‌های مهم در زمینه حذف دی.ان.ِای خارجی، توسعه سیستمی به نام Transgene Killer CRISPR است. این فناوری به‌گونه‌ای طراحی شده که بعد از ویرایش ژن، قسمت‌های اضافی و خارجی دی‌انِ‌ا را به طور خودکار شناسایی و حذف می‌کند. این ویژگی باعث می‌شود که تولید گیاهان اصلاح‌شده بدون هیچ دی‌انِ‌ای خارجی سریع‌تر و کم‌هزینه‌تر شود (He et al. 2018). روش دیگری که مورد استفاده قرار می‌گیرد، استفاده از ویروس‌هایی است که ژنوم آن‌ها از آرانا ساخته شده و نمی‌توانند به ژنوم گیاه متصل شوند. این ویروس‌ها در مراحل رشد گیاه از بین می‌روند و در جنین و دانه باقی نمی‌مانند، بنابراین احتمال باقی ماندن عناصر خارجی در نسل‌های آینده بسیار کم است (Ma et al. 2023).

کاربرد دست‌ورزی ژنتیکی در افزایش مقاومت درختان به تنش‌های غیرزیستی

درختان از اجزای کلیدی اکوسیستم‌های طبیعی هستند و نقش مهمی در حفظ پایداری محیط زیست، تنوع زیستی و تعادل اقلیمی ایفا می‌کنند. با این حال، توانایی ذاتی آن‌ها برای مقابله با تنش‌های زیستی و غیرزیستی محدود است. از طرفی، روند آهسته انتخاب طبیعی و محدودیت‌های روش‌های سنتی اصلاح گیاهی باعث شده که نتوانند به سرعت با شرایط جدید سازگار شوند. این مسئله به خوبی نشان می‌دهد که به‌کارگیری روش‌های نوین به‌نژادی ضروری است. در این میان، با استفاده از دست‌ورزی ژنتیکی، می‌توان ژن‌های مقاوم را به ژنوم درختان منتقل کرد و درنتیجه مقاومت آن‌ها را در برابر تنش‌های محیطی افزایش داد (Li et al. 2022). تنش‌های غیرزیستی شامل عواملی مانند خشکسالی، شوری، سرما، یخبندان، کمبود مواد معدنی و آلودگی به فلزات سنگین هستند (Gong et al. 2020; Deng et al. 2022). مهندسی ژنتیک با شناسایی ژن‌های مرتبط با این تنش‌ها (جدول ۱)، رشد و بقای درختان را در شرایط سخت افزایش می‌دهد (Naidoo et al. 2019). در سال‌های اخیر، این روش‌ها عمدتا برای افزایش مقاومت به خشکسالی و شوری مورد توجه قرار زیادی قرار گرفته‌اند. ژن‌های مرتبط با مقاومت به خشکسالی، با تنظیم میزان تعرق و حفظ رطوبت گیاه، مقاومت آن‌ها را در شرایط کم‌آبی افزایش می‌دهند. شناسایی و انتقال این ژن‌های مقاومت به گونه‌های درختی حساس، بسیار ضروری است. یکی دیگر از راهکارهای ژنتیکی برای افزایش مقاومت در گیاهان، افزایش بیان ژن‌های مؤثر در

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

سنتز لیگنین است. لیگنین یکی از ترکیبات اصلی دیواره سلولی گیاهان بوده و در استحکام بافت‌ها و انتقال آب نقش دارد (Zhao, 2023). افزایش بیان ژن‌هایی مانند *C4H*، *CAD* و *F5H* باعث افزایش رسوب لیگنین، ضخیم‌تر شدن دیواره سلولی و در نتیجه، بهبود مقاومت به تنش‌های اسموتیک و شوری در گونه‌هایی مانند *Betula platyphylla* و *Malus domestica* شده است (Chen et al. 2019). ژن‌های کلیدی در مسیرهای سنتز ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند کاروتینوئیدها و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) نیز نقش مهمی در افزایش دفاع گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی ایفا می‌کنند. با اصلاح ژنتیکی و افزایش بیان این ژن‌ها، ظرفیت دفع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در گیاهان افزایش یافته و ساختارهای سلولی بهتر محافظت می‌شوند که این امر منجر به بهبود مقاومت گیاهان در شرایط تنش اکسیداتیو می‌شود (Gill and Tuteja, 2010; Zhao et al. 2023). به‌عنوان مثال، اصلاح ژنتیکی درختان *Populus alba* × *P. glandulosa* با بیان بیش‌ازحد ژن‌های *PagDA1a* و *PagDA1b* توانایی دفع ROS را افزایش داده است و درنتیجه باعث افزایش مقاومت در برابر شوری و خشکسالی شده است (Zhao et al. 2023). علاوه بر این، ژن‌های مؤثر در سنتز اسمولیت‌هایی مانند پرولین نیز از اهداف اصلاح ژنتیکی هستند، زیرا پرولین به حفظ تعادل اسمزی، پایداری ساختار پروتئین‌ها و غشا و پاک‌سازی ROS کمک می‌کند و باعث افزایش تحمل گیاه به تنش‌هایی همچون خشکی و سرما می‌شود (Sherwood et al. 2015). بنابراین، اصلاح ژنتیکی با هدف افزایش بیان ژن‌های مرتبط با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و اسمولیت‌های سازگار، از راهکارهای مؤثر در بهبود مقاومت گیاهان به تنش‌های غیرزیستی محسوب می‌شود.

در چند دهه اخیر، محققین موفق به تولید گونه‌های متعددی از درختان تراریخته با صفات بهبود یافته شده‌اند. با این حال، نگرانی‌هایی در مورد ایمنی زیست‌محیطی و اجتماعی آن‌ها وجود دارد. بررسی ایمنی زیستی گونه تراریخته اکالیپتوس مقاوم به علف‌کش در برزیل نیز نشان داد که این گیاه در مقایسه با گیاه شاهد، خطری برای انسان، جانوران یا محیط‌زیست ندارد (Avisar et al. 2023). در پاسخ به نگرانی‌ها درباره انتقال تراژن‌ها از گونه‌های نامرتبط، روشی به نام سیس‌ژنزیس (Cisgenesis) مطرح شده است. این رویکرد فقط از ژن‌های همان گونه یا گونه‌های خویشاوند نزدیک استفاده می‌کند و از ورود نواحی ژنومی غیرضروری جلوگیری می‌کند (Avisar et al. 2023). در نهایت می‌توان گفت که روش‌های دست‌ورزی ژنتیکی نوین فرصت‌های ارزشمندی برای افزایش مقاومت درختان نسبت به

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

تنش‌های غیرزیستی ایجاد کرده‌اند. با این حال، برای دستیابی به نتایج گسترده‌تر و موثرتر در این زمینه، انجام مطالعات بیشتر ضروری است. شناسایی ژن‌های مقاوم در درختان و گونه‌های بومی، نخستین گام موثر در این زمینه است. علاوه‌بر این با توجه به تغییرات اقلیمی در سال‌های اخیر، نیاز به چنین پژوهش‌هایی بیشتر احساس می‌شود، تا بتوانیم درختان جنگلی مقاوم‌تری برای آینده پرورش دهیم.

جدول ۱- ژن‌ها و عملکردهای مرتبط با مقاومت به تنش در گونه‌های مختلف درختان

تنش	گونه درختی	ژن	پذیرنده تراریختی	صفت	منابع
خشکی	*Betula platyphylla*	*Dof4, Dof11, Dof17*	نهال	پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن، کاهش آسیب سلولی	Sun et al. 2021
خشکی	*Betula platyphylla*	*ERF2*	نهال	پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن برای حفظ یکپارچگی دیواره سلولی	Sun et al. 2021
خشکی	*Betula platyphylla*	*MYB102*	نهال	پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن	Wen et al. 2019
خشکی	*Populus tremula* × *Populus alba*	*GS1a*	برگ	نقش مهم در متابولیسم نیتروژن گیاه	Molina-Rueda et al. 2015
خشکی، سرما	*Populus trichocarpa*	*PYRL1, PYRL5*	برگ	گیرنده هورمون آبسیزیک اسید	Yu et al. 2017
خشکی، شوری	*Picea wilsonii*	*NF-YB3*	گل	تنظیم بیان ژنها در مسیر وابسته به CBF	Zhang et al. 2015
خشکی، شوری	*Picea wilsonii*	*NAC30*	گل	تنظیم پاسخ به تنش‌های غیرزیستی	Liang et al. 2016
خشکی، شوری	*Populus euphratica*	*CBF4*	برگ	افزایش بیان ژن مرتبط با اکسین	Tian et al. 2016

کاربرد دست‌ورزی ژنتیکی در افزایش مقاومت درختان به تنش‌های زیستی

تنش‌های زیستی مانند بیماری‌های گیاهی و آفات از جمله مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و استحکام درختان در اکوسیستم‌های طبیعی و کشت‌های مصنوعی به شمار می‌روند. استفاده از فناوری دست‌ورزی ژنتیکی برای انتقال ژن‌های مقاومت به این تنش‌ها، یکی از رویکردهای مؤثر در افزایش تحمل درختان در برابر این عوامل مخرب محسوب می‌شود. به عنوان مثال، دخالت ژن‌های دارای فعالیت ضدویروسی می‌تواند سیستم دفاعی گیاه را در مقابل عفونت‌های ویروسی تقویت کند. در همین راستا، استفاده از سازه‌های RNAi با ساختار Hairpin که بر اساس هم‌زمان بودن روند تکاملی گونه *Prunus persica* در گونه *Prunus salicina* طراحی شده‌اند، منجر به مهار مؤثر ویروس لکه حلقوی شاهلو (PPV) شده است. گیاهان تراریخته حاصل از این روش، مقاومت پایداری در برابر این ویروس نشان داده‌اند (Rubio et al. 2019). علاوه بر مقاومت

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

در برابر ویروس‌ها، انتقال ژن‌های مقاومت به باکتری‌ها و قارچ‌ها نیز نقش مهمی در افزایش تحمل گیاهان در برابر بیماری‌های میکروبی دارد.

قارچ‌ها یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای درختان هستند که می‌توانند بیماری‌هایی مانند شانکر، پوسیدگی ریشه و سفیدک را ایجاد کنند. برای افزایش مقاومت درختان در برابر این عوامل، روش‌های ژنتیکی متعددی توسعه یافته‌اند. به عموان مثال، بیان بیش از حد ژن *AtGolS* از گیاه *Arabidopsis* و ژن *CsRFS* از خیار (*Cucumis sativus*) در کاج هیبریدی (*Populus alba* × *P. grandidentata*) منجر به فعال‌سازی پاسخ‌های دفاعی مؤثر در برابر بیماری‌های قارچی شده است. این مکانیسم دفاعی از طریق کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، مهار سیگنال‌های کلسیمی و اسید فسفاتیدیک و القای مسیر دفاعی مرتبط با اسید سالیسیلیک (SA) انجام می‌پذیرد (La Mantia et al. 2018). علاوه بر این، سیستم ویرایش ژن CRISPR/Cas9 نیز در اصلاح ژنتیکی درختان و گیاهان برای افزایش مقاومت به پاتوژن‌های قارچی مانند *Magnaporthe oryzae*، عامل بیماری بلاست برنج، مورد استفاده قرار گرفته است. هدف‌گیری و اصلاح ژن‌های حساسیت در میزبان با این فناوری منجر به افزایش مقاومت پایدار و کاهش شدت بیماری می‌شود (Arazoe, 2021).

استفاده از تکنولوژی آران‌ای مداخله‌گر (RNA interference) برای هدف قرار دادن ژن‌های کلیدی قارچ‌های بیماری‌زا، باعث کاهش بیماری و بهبود سلامت گیاه می‌شود (Wang et al. 2016). به منظور استفاده از RNAiها جهت کنترل بیمارگرگیاهی از دو رویکرد رایج و مهم استفاده می‌شود. این دو رویکرد شامل خاموشی ژن توسط میزبان HIGS (Host-Induced Gene Silencing) و خاموشی ژن توسط اسپری (Spray-Induced Gene Silencing) SIGS می‌باشد. سازکار HIGS در گیاهان تراریخته به این صورت است که در آن آر.ان.ای دورشته‌ای (dsRNA) یک ژن بیمارگرقارچی در گیاه میزبان بیان می‌شود و small RNA مشتق شده از آنها توسط بیمارگر شناسایی و سبب خاموش شدن ژن هدف می‌شوند (Sang and Kim. 2020). بیان آران‌اهای دو رشته‌ای در گیاهان می‌تواند باعث خاموش شدن آران‌اهای هومولوگ در بیمارگرهای قارچی شد (Borniegoa et al. 2024)، اما آران‌اهای دورشته‌ای در رویکرد SIGS، به صورت پاشش روی سطح برگ (اسپری) استفاده می‌شوند و ژن‌های کلیدی بیمارگر را مورد هدف قرار می‌دهند. در این روش دیگر نیازی به تغییرات ژنومی میزبان نیست. با استفاده از این رویکرد تابحال قارچ‌های بیماری‌زایی مانند *Botrytis cinerea*، *Fusarium graminearum* و

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

Sclerotinia sclerotiorum مهار شده‌اند (González-García et al. 2024). در همین راستا کارایی روش SIGS (خاموشی ژن القاشده با اسپری) در کنترل قارچ جنگلی *Fusarium circinatum* نیز بررسی شده است. این قارچ عامل بیماری سرطان رزینی کاج است و تحت مقررات قرنطینه‌ای قرار دارد. از طریق اسپری کردن dsRNA، ژن‌های کلیدی در مسیر زیستی بیمارگر مورد هدف قرار گرفت. درنتیجه کاهش معناداری در بیماری‌زایی قارچ مشاهده شد. همچنین استفاده مکرر از SIGS نسبت به کاربرد یک‌باره اثربخش‌تر بود. این یافته‌ها بر پتانسیل بالای SIGS در مدیریت پایدار بیماری‌های قارچی در اکوسیستم‌های جنگلی تأکید دارند (González-García et al. 2024).

در زمینه مبارزه با نماتدها نیز، شناسایی و مهار افکتورهای بیماری‌زا اهمیت بالایی دارد. به عنوان مثال، افکتور BxML1 موجود در نماتد *Bursaphelenchus xylophilus* با مهار پاسخ‌های ایمنی القاء شده توسط الگوی مولکولی BxCDP1، دفاع گیاه میزبان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. سایلنس‌سازی ژن *BxML1* موجب کاهش تکثیر و گسترش نماتد در گونه *Pinus thunbergii* و همچنین کاهش شدت بیماری‌زایی آن شده است (Zhang et al. 2022). با توجه به شیوع گسترده این نماتد در کاج چینی (*Pinus tabuliformis*) و عدم وجود راهکارهای کنترلی مؤثر، استفاده از این رویکرد ژنتیکی می‌تواند به‌طور چشمگیری در کاهش خسارات اقتصادی ناشی از این آفت مؤثر باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

جنگلداری در تامین محصولات اقتصادی مانند چوب، کاغذ و سوخت‌های زیستی نقش اساسی ایفا می‌کند. علاوه بر این، در کاهش اثرات تغییرات محیطی و حفاظت از تنوع زیستی اکوسیستم‌ها به عنوان یک منبع طبیعی کربن نقش موثری دارد. با این حال، این بخش با چالش‌هایی جدی مانند تغییرات اقلیمی، شیوع آفات و بیماری‌ها، بهره‌وری پایین و محدودیت در تنوع ژنتیکی مواجه است. این چالش‌ها آینده پایداری جنگل‌ها را تهدید می‌کنند. بنابراین نیازمند راهکارهایی نوین و علمی برای مدیریت و مقابله با آنها هستند.

پیشرفت‌های اخیر در حوزه ژنومیک و فناوری زیستی، ابزارهای قدرتمندی برای مقابله با این چالش‌ها در اختیار ما قرار داده‌اند. از مهمترین این ابزارها می‌توان به دست‌ورزی ژنتیکی درختان با روش‌های نوینی مانند آپتامرهای پپتیدی، ویرایش تک باز، فناوری نانو و فناوری ویرایش ژن با استفاده از CRISPR-Cas9 اشاره کرد. این روش‌ها، نقش مهمی در ارتقای کیفیت و کمی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

درختان جنگلی دارد زیرا باعث بهبود صفات مهمی مانند کیفیت چوب، عملکرد زیستی، مقاومت به تنش‌های محیطی (به‌ویژه تنش‌های غیرزیستی) و پاسخ دفاعی در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شوند و در نتیجه گونه‌های درختی با خصوصیات مطلوب‌تری مانند بازده بالاتر، تحمل بیشتر به شرایط محیطی نامساعد و مقاومت گسترده‌تر در برابر بیماری‌ها و آفات ایجاد می‌شوند. این دستاوردها می‌توانند نقش مهمی در توسعه پایدار جنگل‌داری، حفظ تنوع زیستی و مقابله با تغییرات اقلیمی ایفا کنند. با این حال، استفاده از این روش‌ها برای اصلاح ژنتیکی درختان محدودیت‌هایی نیز دارد که نیازمند زمان، هزینه و مطالعه بیشتر است. به عنوان مثال، در روش سیس‌ژنتیکی (که از ژن‌های درون‌گونه‌ای استفاده می‌شود) احتمال بروز واکنش‌های ناخواسته ژنتیکی به‌دلیل شباهت بیشتر ژن‌های انتقالی با ژنوم میزبان، کاهش می‌یابد. با این حال، مسائلی چون پیچیدگی ژنومی درختان، طولانی‌بودن دوره رشد و چیمر بودن بافت‌های گیاهی، این روش را نیز با چالش‌هایی همراه می‌کند. همچنین وجود دستاوردهای اولیه در استفاده از ویرایش تک باز در اصلاح درختان، هنوز چالش‌های مهمی وجود دارد که باید مورد توجه قرار گیرند. از جمله این چالش‌ها می‌توان به گسترش دامنه عملکرد و افزایش دقت این ابزارها برای هدف‌گیری ژن‌ها و بازهای متنوع‌تر اشاره کرد. علاوه‌براین، ارزیابی دقیق اثرات فنوتیپی اصلاحات انجام‌شده، بررسی ایمنی زیستی گیاهان ویرایش‌شده، و به‌کارگیری این فناوری در گونه‌های درختی با ارزش اقتصادی یا در معرض خطر انقراض، از جمله زمینه‌هایی هستند که به پژوهش‌های بیشتری نیاز دارند. ترکیب ویرایش تک باز با دیگر روش‌های اصلاح ژنتیکی نیز می‌تواند باعث ایجاد صفات جدید و بهبود عملکرد درختان شود. از سوی دیگر، بسیاری از ژن‌های مهم مرتبط با رشد، مقاومت به تنش، و مسیرهای زیستی مانند سنتز لیگنین هنوز شناسایی نشده‌اند. بنابراین، توسعه ویرایش تک‌باز دقیق‌تر و کارآمدتر و استفاده هدفمند از آن‌ها در پژوهش‌های اصلاح درختان می‌تواند گامی مؤثر در بهبود ژنتیکی گونه‌های درختی باشد.

استفاده از این فناوری‌ها در جنگل‌داری نیازمند نگاهی دقیق، محتاطانه و علمی است. بسیاری از صفات مهم در درختان مانند مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی، بهره‌وری زیستی و ویژگی‌های چوب از نوع صفات چندژنی (Polygenic) هستند. در نتیجه، ویرایش یک ژن خاص ممکن است اثرات ناخواسته‌ای بر صفات دیگر بگذارد. بنابراین، لازم است تمامی پیامدهای احتمالی به‌طور دقیق بررسی شوند. علاوه بر این، باید به این نکته توجه کرد که نتایج حاصل از

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

آزمایش‌های آزمایشگاهی یا گلخانه‌ای لزوماً نشان‌دهنده عملکرد واقعی درختان در شرایط زیست‌بوم‌های طبیعی نیست. پیچیدگی‌ها و پویایی‌های محیط‌های جنگلی، با عوامل مختلف زیستی و اقلیمی، می‌تواند تأثیر زیادی بر موفقیت یا شکست فناوری‌های زیستی داشته باشد. ازاین‌رو، اجرای آزمایش‌های میدانی گسترده، بلندمدت و تحت شرایط واقعی محیطی، برای ارزیابی کارایی و ایمنی درختان ویرایش‌شده کاملاً ضروری است. هرچند استفاده از این فناوری در اکثر جنگل‌های طبیعی در آینده نزدیک احتمالاً محدود خواهد بود، اما می‌توان انتظار داشت که کاربردهای اصلی آن بر روی مزارع کلونال با چرخه کوتاه و مدیریت فشرده به‌ویژه برای تولید چوب با ویژگی‌های خاص صنعتی متمرکز شود، اما نقش تدریجی این فناوری‌ها در حفاظت و بازسازی جنگل‌های طبیعی یا نیمه‌وحشی نیز نباید نادیده گرفته شود. با رویکردی متعادل، علمی و مبتنی بر شفافیت اجتماعی، می‌توان از پتانسیل‌های این نوع فناوری‌ها برای ساختن جنگل‌هایی پایدار، مقاوم در برابر تغییرات اقلیمی و پاسخگو به نیازهای آینده استفاده کرد.

در ایران، علی‌رغم وجود ظرفیت‌های موجود در عرصه‌های جنگلی زاگرس، البرز و شمال کشور، پژوهش‌های اصلاح ژنتیکی نهال‌های جنگلی در مراحل ابتدایی قرار دارد. دلایلی مانند کمبود زیرساخت‌های آزمایشگاهی، محدودیت‌های قانونی در استفاده از موجودات تراریخته، و نبود سیاست‌گذاری مشخص در این حوزه، باعث شده‌اند که استفاده از روش‌های پیشرفته اصلاح ژن در جنگل‌های ایران به کندی صورت گیرد. با توجه به چالش‌های متعدد جنگل‌های کشور از جمله شیوع بیماری‌های قارچی (مانند پوسیدگی ریشه در بلوط و زغالی بلوط)، تغییرات اقلیمی و تخریب زیستگاه‌ها، استفاده از اصلاح ژنتیکی نوین می‌تواند به‌عنوان ابزاری مکمل در برنامه‌های احیاء و بازسازی جنگل‌ها مورد توجه قرار گیرد. تلفیق فناوری‌های زیستی با دانش بومی و رویکردهای اکولوژیک، راهی برای ایجاد نهال‌هایی مقاوم‌تر، پایدارتر و سازگار با شرایط اقلیمی ایران خواهد بود. در نهایت، توسعه‌ی کاربردهای اصلاح ژن در جنگل‌کاری‌های ایران مستلزم سرمایه‌گذاری در تحقیقات پایه‌ای، تدوین چارچوب‌های اخلاقی و قانونی، و همکاری میان نهادهای دانشگاهی، پژوهشی و اجرایی است. اگر این الزامات فراهم شوند، ایران نیز می‌تواند از دستاوردهای این فناوری در حفظ منابع ژنتیکی جنگلی و توسعه پایدار استفاده کند.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

فهرست منابع References

Arazoe T. 2021. Genome editing using CRISPR/Cas9 system in the rice blast fungus. Methods in Molecular Biology. 2356: 149–160. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1613-0_12.

Avisar D, Azulay S, Bombonato L, Carvalho D, Dallapiccola H, de Souza C, Santos A, Dias T, Galan MP, Galvao M, Gonsalves JM, Gonzales E, Graca R, Livne S, Mafia R, Manoeli A, May M, Drezza Menezes TR, Pinheiro AC, Porto A, Rocha C, Schafer A, Schafer B, Zauza E, Silva W. 2023. Safety assessment of the CP4 EPSPS and NPTII proteins in eucalyptus. GM Crops & Food. 14(1): 1–14. https://doi.org/101080/21645698.20232222436.

Borniego L, Singla-Rastogi M, Baldrich P, Sampangi-Ramaiah MH, Zand Karimi H, McGregor M, Meyers B, Innes RW. 2024. Diverse plant RNAs coat *Arabidopsis* leaves and are distinct from apoplastic RNAs. Plant Biology. https://doi.org/10.1073/pnas.2409090121.

Chen K, Song M, Guo Y, Liu L, Xue H, Dai H, Zhang Z. 2019. MdMYB46 could enhance salt and osmotic stress tolerance in apple by directly activating stress-responsive signals. Plant Biotechnology Journal. 17(12): 2341–2355. https://doi.org/10.1111/pbi.13151.

De Cleene M, De Ley J. 1976. The host range of crown gall. Botanical Review. 42(4): 389–466. https://doi.org/10.1007/BF02860827.

De Meester B, Vanholme R, Mota T, Boerjan W. 2022. Lignin engineering in forest trees: From gene discovery to field trials. Plant Communications. 3(4): 100465. https://doi.org/10.1016/j.xplc.2022.100465.

Demirer GS, Silva TN, Jackson CT, Thomas JB, Ehrhardt DW, Rhee SY, Mortimer JC, Landry MP. 2021. Nanotechnology to advance CRISPR-Cas genetic engineering of plants. Nature Nanotechnology. 16(3): 243–250. https://doi.org/10.1038/s41565-021-00854-y.

Deng S, Li J, Du Z, Wu Z, Yang J, Cai H, Wu G, Xu F, Huang Y, Wang S, Wamg C. 2022. Rice ACID PHOSPHATASE 1 regulates Pi stress adaptation by maintaining intracellular Pi homeostasis. Plant, Cell & Environment. 45(1): 191–205. https://doi.org/10.1111/pce.14191.

Ellis DD, McCabe DE, McInnis S, Ramachandran R, Russell DR, Wallace KM, Martinell BJ, Roberts DR, Raffa KF, McCown BH. 1993. Stable transformation of *Picea glauca* by particle acceleration. Bio/Technology. 11(1): 84–89. https://doi.org/10.1007/s002990050426.

Find JI, Charity JA, Grace LJ, Kristensen MMH, Krogstrup P, Walter C. 2005. Stable genetic transformation of embryogenic cultures of *Abies nordmanniana* (Nordmann fir) and regeneration of transgenic plants. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology Plant. 41(6): 725–730. https://doi.org/10.1079/IVP2005704.

Gaudelli NM, Komor AC, Rees HA, Packer MS, Badran AH, Bryson DI, Liu DR. 2017. Programmable base editing of A•T to G•C in genomic DNA without DNA cleavage. Nature. 551(7681): 464–471. https://doi.org/10.1038/nature24644.

Gill SS, Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry. 48(12): 909–930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016.

Gong P, Quan H, He C. 2014. Targeting MAGO proteins with a peptide aptamer reinforces their essential roles in multiple rice developmental pathways. The Plant Journal. 80(6): 905–914. https://doi.org/10.1111/tpj.12672.

Gong Z, Xiong L, Shi H, Yang S, Herrera-Estrella LR, Xu G, Chao DY, Li J, Wang PY, Qin F, Li J, Ding Y. Shi Y. Wang Y. Yang Y. Guo Y. Zhu JK. 2020. Plant abiotic stress response and nutrient use efficiency. Science China Life Sciences. 63(5): 635–674. https://doi.org/10.1007/s11427-020-1683-x.

González-García M, Quesada-Moraga E, Santos-Hernández M. 2024. Spray-induced gene silencing (SIGS) effectively controls Fusarium circinatum, a globally relevant forest pathogen. Journal of Fungi. 10(1): 95. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-24-0286-RE.

Grant JE, Cooper PA, Dale TM. 2015. Genetic transformation of micropropagated shoots of *Pinus radiata* D.Don. BioRxiv. 025497. https://doi.org/10.1101/030080.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

Hao Z, Gong P, He C, Lin J. 2018. Peptide aptamers to inhibit protein function in plants. Trends in Plant Science. 23: 281–284. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.02.007.

He Y, Zhu M, Wang L, Wu J, Wang Q, Wang R, Zhao Y. 2018. Programmed self-elimination of the CRISPR/Cas9 construct greatly accelerates the isolation of edited and transgene-free rice plants. Molecular Plant. 11(10): 1210–1213. https://doi.org/10.1016/j.molp.2018.05.005.

Jansen R, Embden JDA, Gaastra W, Schouls LM. 2002. Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. Molecular Microbiology. 43(6): 1565–1575. https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02839.x.

Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. 2012. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. Science. 337(6096): 816–821. https://doi.org/10.1126/science.1225829.

José AS, Luis BU, María LS, Juan VMO. 2018. Forest ecosystem services: An analysis of worldwide research. Forests. 9(8): 453. https://doi.org/10.3390/f9080453.

Khosravi S, Ishii T, Dreissig S, Houben A. 2020. Application and prospects of CRISPR/Cas9-based methods to trace defined genomic sequences in living and fixed plant cells. Chromosome Research. 28(1): 7–17. https://doi.org/10.1007/s10577-019-09622-0.

Kocsisova Z, Coneva V. 2023. Strategies for delivery of CRISPR/Cas-mediated genome editing to obtain edited plants directly without transgene integration. Frontiers in Genome Editing. 5:1209586. https://doi.org/10.3389/fgeed.2023.1209586.

Konagaya K, Kurita M, Taniguchi T. 2013. High-efficiency *Agrobacterium*-mediated transformation of *Cryptomeria japonica* D. Don by co-cultivation on filter paper wicks followed by meropenem treatment to eliminate *Agrobacterium*. Plant Biotechnology. 30(5): 523–528. https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.13.0909a.

La Mantia J, Unda F, Douglas CJ, Mansfield SD, Hamelin R. 2018. Overexpression of *AtGolS3* and *CsRFS* in poplar enhances ROS tolerance and represses defense response to leaf rust disease. Tree Physiology. 38(3): 457–470. https://doi.org/10.1093/treephys/tpx100.

Li JY, Jiao GA, Sun YW, Chen J, Zhong YX, Yan L, et al. 2021. Modification of starch composition, structure and properties through editing of *TaSBEIIa* in both winter and spring wheat varieties by CRISPR/Cas9. Plant Biotechnology Journal. 19(5): 937–951. https://doi.org/10.1111/pbi.13519.

Li SJ, Liu SC, Lin XH, Grierson D, Yin XR, Chen KS. 2022. Citrus heat shock transcription factor CitHsfA7-mediated citric acid degradation in response to heat stress. Plant, Cell & Environment. 45(1): 95–104. https://doi.org/10.1111/pce.14207.

Li Y, Yuan Y, Hu Z, Liu S, Zhang X. 2024. Genetic transformation of forest trees and its research advances in stress tolerance. Forests. 15(3): 441. https://doi.org/10.3390/f15030441.

Liang J, Crowther TW, Picard N, Wiser S, Zhou M, Alberti G, Schulze ED, Mcguire AD, Bozzato F, Pretzsch H, Miguel SD, Paquette A, Herault B, Scherer-Orenzen M, Barrett CB, Glick HB, Hengeveld GM, Nabuurs GJ, Pfautsch S, Viana H, Vibrans AC, Ammer C, Schall P, Verbyla D, Tchebakova N, Fischer M, Watson JV, Chen HH, Lei X, Schelhaas MJ, Lu H, Gianelle D, Parfenova EI, Salas C, Lee E, Lee B, Kim HS, Bruelheide H, Coomes DA, Piotto D, Sunderland T, Schmid B, Gourlet-Fleury S, Sonke B, Tavani R, Zhu J, Brandl S, Vayreda J, Kitahara F, Searle EB, Neldner VJ, Ngugl MR, Baraloto C, Frizzera L, Balazy R, Oleksyn J, Zawila-niedzwiecki T, Bouriaud O, Bussotti F, Finer L, Jaroszewicz B, Jucker T, Valladares F, Jagodzinski AM, Peri PL, Gonmadje C, Marthy W, Obrien T, Martin EH, Marshall AR, Rovero F, Bitariho R, Niklaus PA, Alvarez-loayza P, Chamuya N, Valencia R, Mortier F, Wortel V, Engoge-obiang N, Ferreira LV, Odeke DE, Vasquez RM, Lewis SL, Reich PB. 2016. Positive biodiversity-productivity relationship predominant in global forests. Science. 354(6309): aaf8957. https://doi.org/10.1126/science.aaf8957.

Lv Z, Jiang R, Chen J, Chen W. 2020. Nanoparticle-mediated gene transformation strategies for plant genetic engineering. The Plant Journal. 104(4): 880–891. https://doi.org/10.1111/tpj.14973.

Ma X, Li X, Li Z. 2023. Transgene-free genome editing in *Nicotiana benthamiana* with CRISPR/Cas9

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

delivered by a rhabdovirus vector. In: Yang B, Harwood W, Que Q (Eds.) Plant genome engineering: Methods and protocols. Springer, Singapore 173–185. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3131-7_11.

Molina-Rueda JJ, Kirby EG. 2015. Transgenic poplar expressing the pine GS1a show alterations in nitrogen homeostasis during drought. Plant Physiology and Biochemistry. 94: 181-190. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.06.009.

Montoya AL, Chilton MD, Gordon MP, Sciaky D, Nester EW. 1977. Octopine and nopaline metabolism in *Agrobacterium tumefaciens* and crown gall tumor cells: Role of plasmid genes. Journal of Bacteriology. 129(1): 101–107. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.06.009.

Naidoo S, Slippers B, Plett JM, Coles D, Oates CN. 2019. The road to resistance in forest trees. Frontiers in Plant Science. 10: 273. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00273.

Nayak S, Das P. 2021. Covalent conjugation of carbon dots with plasmid and DNA condensation thereafter: Realistic insights into the condensate morphology, energetics, and photophysics. ACS Omega. 6(33): 21425–21435. https://doi.org/10.1021/acsomega.1c02247.

Ormancey M, Guillotin B, Merret R, Camborde L, Duboé C, Fabre B, Pouzet C, Impens F, Van Haver D, Carpentier MC, Clmente HS, Aguilar M, Lauressergues D, Scharff LB, Pichereaux C, Burlet-Schiltz O, Bousquet-Antonelli C, Gevaert K, Thuleau P, Plaza S, Combier JP. 2023. Complementary peptides represent a credible alternative to agrochemicals by activating translation of targeted proteins. Nature Communications. 14: https://doi.org/10.1038/s41467-023-35951-0.

Rubio J, Sánchez E, Tricon D, Montes C, Eyquard JP, Chague A, Aguirre C, Prieto H, Decroocq V. 2019. Silencing of one copy of the translation initiation factor eIFiso4G in Japanese plum (*Prunus salicina*) impacts susceptibility to Plum pox virus (PPV) and small RNA production. BMC Plant Biology. 19(1): 440. https://doi.org/10.1186/s12870-019-2047-9.

Saki M, Mirsoleymsni Z. 2024. Application of new small RNA-based approaches in plant diseases control. Journal of Biosafety. 16(4): 1-16.

Salaj T, Moravčíková J, Grec-Niquet L, Salaj J. 2005. Stable transformation of embryogenic tissues of *Pinus nigra* Arn. using a biolistic method. Biotechnology Letters. 27(12): 899–903. https://doi.org/10.1007/s10529-005-7178-4.

Sanford JC, Klein TM, Wolf ED, Allen N. 1987. Delivery of substances into cells and tissues using a particle bombardment process. Particulate Science and Technology. 5(1): 27–37. https://doi.org/10.1080/02726358708904533.

Sang H, Kim JI. 2020. Advanced strategies to control plant pathogenic fungi by host-induced gene silencing (HIGS) and spray-induced gene silencing (SIGS). Plant Biotechnology Reports. 14: 1–8. https://doi.org/10.1007/S11816-019-00588-3.

Sarmast MK. 2016. Genetic transformation and somaclonal variation in conifers. Plant Biotechnology Reports. 10(6): 309–325. https://doi.org/10.1007/s11816-016-0416-5.

Sherwood P, Villari C, Capretti P, Bonello P. 2015. Mechanisms of induced susceptibility to *Diplodia tip* blight in drought-stressed Austrian pine. Tree Physiology. 35(5): 549–562. https://doi.org/10.1093/treephys/tpv026.

Shivashakarappa K, Marriboina S, Dumenyo K, Taheri A, Yadegari Z. 2025. Nanoparticle-mediated gene delivery techniques in plant systems. Frontiers in Nanotechnology. 7: 1516180. https://doi.org/10.3389/fnana.2025.1516180.

Su WB, Xu MY, Radani Y, Yang LM. 2023. Technological development and application of plant genetic transformation. International Journal of Molecular Sciences. 24(15): 10646. https://doi.org/10.3390/ijms241310646.

Sun S, Wang B, Jiang Q, Li Z, Jia S, Wang Y, Guo H. 2021. Genome-wide analysis of BpDof genes and the tolerance to drought stress in birch (*Betula platyphylla*). PeerJ. 9: e11938. https://doi.org/10.7717/peerj.11938.

Suzuki S, Suzuki H. 2014. Recent advances in forest tree biotechnology. Plant Biotechnology. 31(1): 1–

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

9. https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.13.1203b.

Tang W, Xiao B, Fei Y. 2013. Slash pine genetic transformation through embryo co-cultivation with *Agrobacterium tumefaciens* and transgenic plant regeneration. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant. 50(2): 199–209. https://doi.org/10.1007/s11627-013-9551-7.

Thapliyal G, Bhandari MS, Vemanna RS, Pandey S, Meena RK, Barthwal S. 2022. Engineering traits through CRISPR/Cas genome editing in woody species to improve forest diversity and yield. Critical Reviews in Biotechnology. 43(6): 884–903. https://doi.org/10.1080/07388551.202202092714.

Tian Q, Chen J, Wang D, Wang HL, Liu C, Wang S, Xia X, Yin W. 2016. Overexpression of a *Populus euphratica* CBF4 gene in poplar confers tolerance to multiple stresses. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 128(2): 391–407. https://doi.org/10.1007/s11240-016-1118-y.

Tulecke W, McGranahan G, Ahmadi H. 1988. Regeneration by somatic embryogenesis of triploid plants from endosperm of walnut, *Juglans regia* L. cv Manregian. Plant Cell Reports. 7(5): 301–304. https://doi.org/10.1007/BF00269923.

Villiger L, Schmidheini L, Mathis N, Rothgangl T, Marquart K, Schwank G. 2021. Replacing the SpCas9 HNH domain by deaminases generates compact base editors with an alternative targeting scope. Molecular Therapy: Nucleic Acids. 26: 502–510. https://doi.org/10.1016/j.omtn.2021.08.025.

Vu GT, Cao HX, Watanabe K, Hensel G, Blattner FR, Kumlehn J, Schubert I. 2014. Repair of site-specific DNA double-strand breaks in barley occurs via diverse pathways primarily involving the sister chromatid. Plant Cell. 26: 2156–2167. https://doi.org/10.1105/tpc.114.126607.

Walter C, Grace LJ, Wagner A, White DWR, Walden AR, Donaldson SS, Hinton H, Gardner RC, Smith Dr. 1998. Stable transformation and regeneration of transgenic plants of *Pinus radiata* D. Don. Plant Cell Reports. 17(6): 460–468. https://doi.org /10.1007/S002990050426.

Wang P, Lombi E, Zhao FJ, Kopittke PM. 2016. Nanotechnology: A new opportunity in plant sciences. Trends in Plant Science. 21(8): 699–712. https://doi.org /10.1016/J.TPLANTS.2016.04.005.

Wen X, Wang J, Zhang D, Wang Y. 2019. A gene regulatory network controlled by BpERF2 and BpMYB102 in birch under drought conditions. International Journal of Molecular Sciences. 20(12): 3071. https://doi.org/10.3390/ijms20123071.

Wingfield MJ, Brockerhoff EG, Wingfield BD, Slippers B. 2015. Planted forest health: The need for a global strategy. Science. 349(6250): 832–836. https://doi.org/10.1126/science.aac6674.

Yang X, Zhu P, Gui J. 2024. Advancements of CRISPR-mediated base editing in crops and potential applications in Populus. International Journal of Molecular Sciences. 25(15): 8314. https://doi,org/10.3390/ijms25158314.

Yin Y, Wang C, Xiao D, Liang Y, Wang Y. 2021. Advances and perspectives of transgenic technology and biotechnological application in forest trees. Frontiers in Plant Science. 12: 786328. https://doi,org/10.3389/fpls.2021.786328.

Yu J, Ge H, Wang X, Tang R, Wang Y, Zhao F, Lan W, Luan S, Yang L. 2017. Overexpression of pyrabactin resistance-like abscisic acid receptors enhances drought, osmotic, and cold tolerance in transgenic poplars. Frontiers in Plant Science. 8: 1752. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01752.

Zhang T, Zhang D, Liu Y, Luo C, Zhou Y, Zhang L. 2015. Overexpression of a NF-YB3 transcription factor from Picea wilsonii confers tolerance to salinity and drought stress in transformed *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiology and Biochemistry. 94: 153–164. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.05.001.

Zhang W, Wang Y, Zhang T, Zhang J, Shen L, Zhang B, Ding C, Su X. 2022. Transcriptomic analysis of mature transgenic poplar expressing the transcription factor JERF36 gene in two different environments. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 10: 929681. https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.929681.

Zhao Y, Lu K, Zhang W, Guo W, Chao E, Yang Q, Zhang H. 2023. PagDA1a and PagDA1b expression improves salt and drought resistance in transgenic poplar through regulating ion homeostasis and reactive oxygen species scavenging. Plant Physiology and Biochemistry. 201: 107898.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107898.

Zhao H, Zhang J, Zhao J, Niu S. 2024. Genetic transformation in conifers: Current status and future prospects. Forest Research. 4: e010. https://doi.org/10.48130/forres-0024-0007.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]

Development of Forest Trees Resistant to Biotic and Abiotic Stresses Using Advanced Genome Editing Technologies

Zeinab Bahmani[1*], Zahra Mirsoleymani[2], Amirreza Paknzhad [3]

1-Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran
2- Assistant Professor, Plant Protection Research Department Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center. AREEO. Shiraz. Iran
3.-BS Student, Department of Forest Science, Faculty of Agriculture. Ilam University, Ilam, Iran
z.bahmani@ilam.ac.ir

Abstract

Conventional genetic improvement methods in forest trees face significant limitations, including extended breeding cycles and low efficiency in enhancing desirable traits. These challenges have reduced their effectiveness in meeting the growing demands of forest sustainability. As a result, the use of modern biotechnological tools has become increasingly important. This article introduces several emerging approaches, such as Agrobacterium-mediated transformation, particle bombardment, nanoparticle-based delivery, CRISPR/Cas genome editing systems, and peptide aptamers. Some of these methods—like base editing and spray-induced gene silencing (SIGS)—allow for precise, non-transgenic modifications without introducing foreign DNA. These technologies aim to improve tree tolerance to a range of biotic and abiotic stresses, including pests, diseases, drought, salinity, and low temperatures. While offering promising solutions, they also raise concerns regarding biosafety, the long-term stability of modified traits in natural environments, and the availability of advanced research infrastructure. Nevertheless, when applied thoughtfully and responsibly, these tools can contribute meaningfully to biodiversity conservation, forest regeneration, and adaptation to climate change, especially in ecologically fragile regions. This review highlights both the opportunities and challenges associated with these technologies and underscores their potential role in the future of sustainable forest breeding and management programs.

Keywords: Peptide aptamers, Genetic improvement, Genetic manipulation, gene silencing, nanoparticles

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1403.17.3.3.5]