فصلنامه پژوهش در علوم، مهندسی و فناوری
دوره ۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱
صفحات ۱۷۰-۱۷۶
ISSN: 2476-5082
www.uctjournals.com

روش‌ها، کاربردها و معایب دست‌کاری ژنتیک گیاهان

منا افشاری نیا
کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، پژوهشی وارزشیابی سازمان مطالعه و تدوین کتب علوم اسلامی و انسانی، ایران، تهران
m55000@yahoo.com

چکیده
کشورهای درحال توسعه، برای تغذیه جمعیت فعلی، نیمی از جمعیت آنها، که هر ساله میلیونها نفر به آن اضافه میشوند، به کشاورزی مشغول هستند .این در حالی است که کمترین درآمد و بالاترین نرخ رشد جمعیت را دارند .اصلاح نباتات به تنهایی نمیتواند جوابگوی تغذیه چنین جمعیتی باشد و با وجود مشکلات فراوان اصلاح نباتات، از جمله مصرف زیاد سموم و کاهش تنوع زیستی، امنیت غذایی را تهدید کرده و بازده اقتصادی پایین و هزین ههای هنگفت مصرف سموم را به همراه دارد . مهندسی ژنتیک با رفع موانع موجود در اصلاح نباتات سنتی، امکان استفاده از منابع ژنتیکی موجود در دنیا را برای اصلاح گیاهان فراهم ساخته است و نقش بسزایی در حفظ تنوع زیستی و تامین غذای جهان دارد .هدف از این مقاله، مقایسه محصولات تراریخته با محصولات حاصل از اصلاح سنتی و بررسی جنبه های زیستی و اقتصادی محصولات تراریخته است. هدف از انجام این تحقیق بررسی روش‌ها، کاربردها و معایب دست‌کاری ژنتیک گیاهان بود.

واژه‌های کلیدی: تراریخته، دستکاری ژنتیکی، حساسیت زدایی

۱- مقدمه

در برنامه‌های اصلاحی گیاهان و به‌منظور شناسایی و تشخیص قرابت‌های ژنتیکی ارقام، ارزیابی بسیاری از تفاوت‌ها به دلیل عدم تظاهر مورفولوژی کی، بیوشیمیایی و قابل ثبت هستند و DNA فیزیولوژیکی، تنها از طریق بررسی به همین د لیل طی چند دهه گذشته نشانگرهای مبتنی بر توجه محققان را برای بررسی تنوع ژنتیکی موجوداتDNA مختلف، به خود جلب کرده است. شروع اصلاح گیاهان توسط انسان با آغاز کشاورزی همراه بوده است و هرساله بذور مرغوب‌تر، برای سال آینده انتخاب می‌شد. مهروموم‌های بعد محققان با شناخت کافی از سیستم تولیدمثل گیاهان، دورگگیری بین ارقام مختلف را انجام دادند و شمار زیادی از واریته های جدید تولید شدند. با این وجود، پیشرفت اصلاح نباتات باز هم چشمگیر نبود، زیرا تلاقی ها بدون اطلاع از اصول ژنتیکی صورت می گرفت و نتایج حاصله، بیشتر به شانس و تصادف بستگی داشت. در حال حاضر، اکثر روش‌های اصلاح نباتات، با توجه به قوانین ژنتیکی برنامه ریزی شده اند و پیشرفت های چشمگیر و سریع در به نژادی گیاهان مختلف، مدیون کشف این قوانین است (Megha, 2013). از جمله هدف های کلی اصلاح نباتات، افزایش عملکرد در واحد سطح، بالا بردن کیفیت محصولات کشاورزی و تولید مواد اولیه مورد نیاز جوامع انسانی است. هدف های نامبرده شده در صورتی به وقوع می پیوندد که شرایط محیطی مناسب باشد، ولی امکان ایجاد چنین شرایطی با توجه به تنش های زنده و غیرزنده موجود و ایجاد نژادهای بیماری زای جدید که هرساله رو به افزایش است، عملکرد را به شدت تحت تاثیر قرار می دهد. علاوه بر معایب روش‌های اصلاح سنتی، هزینه های بالای مبارزه شیمیایی و سموم دفع آفات گیاهی و هزینه های مصرف نهاده های کشاورزی وجود دارد. از سوی دیگر جدای از هزینه های گزافی که به کشاورزان وارد می شود، صدمات زیست محیطی دیگری بر منابع زیستی، مثل آلودگی خاک و آب های زیرزمینی که با مصرف سموم و آفات آلوده شده اند، بوجود خواهد آمد. مهندسی ژنتیک، پاسخ مناسبی در برابر این چالشها است (Shewry,2007) . مهندسی ژنتیک با رفع موانع موجود روشهای اصلاح نباتات سنتی، امکان استفاده از منابع عظیم ژنتیکی موجود در دنیا را برای اصلاح گیاهان فراهم ساخته است. از این رو هدف از انجام این تحقیق بررسی روش‌ها، کاربردها و معایب دست‌کاری ژنتیک گیاهان بود. به طور کلی انتقال و بیانگذرای ژن در گیاهان را میتوان به چهار روش کلی استفاده از بمباران ژنی، استفاده از ویروس های گیاهی، استفاده از پروتوپلاست و استفاده از اگروباکتری تقسیم نمود. که در ادامه به آنها اشاره می شود.

۱. بیان گذرا با استفاده از روش بمباران ژنی

در بمباران ژنی از شکلهای مختلف اسیدهای نوکلئیک شامل توالی ژنی تحت کنترل پروموتر یوکاریوتی و خاتمه دهنده مناسب درون پلاسمید یا به شکل یک DNA خطی مانند محصول PCR و یا حتی از RNA ، برای انتقال به بافت های مختلف گیاهی مانند کالوس، سلولهای مزوفیل، تریکوم، اپیدرم برگ و ... استفاده می شود. ذرات طلا یا تنگستن با قطر ۱ تا ۲ میکرومتر را با اسیدنوکلئیک مورد نظر پوشانده و با فشار بالا به بافت مورد نظر شلیک میکنند. ذرات فلزی و فشار حاصل از شلیک به ورود اسیدنوکلئیک به درون بافت کمک می نماید. این ذرات باعث درجاتی از آسیب های مکانیکی به بافت هدف شده و تنها برخی از سلولها قادر به بیانگذرای ژن خواهند بود. مزیت اصلی این روش به سایر روشها، فرایند انتقال مکانیکی بدون نیاز به یک حامل سازگار زیستی همانند باکتری یا ویروس است و برای داشتن حداکثر کارآیی تنها شرایط بمباران مانند فشار گاز، اندازه ذره فلزی، فاصله بافت از محل شلیک و ... باید بهینه سازی شود. این روش تنها به گیاهان مدل محدود نمی شود و قابلیت استفاده در گیاهان recalcitrant و گیاهان زراعی مانند گندم، ذرت، پنبه و ... را دارد. همچنین این روش قابلیت انتقال همزمان چند ژن را دارد. انتقال چندین ژن به طور همزمان در بررسی آنزیم هایی که در مسیرهای متابولیکی درگیر هستند اهمیت پیدا می کند (Gao and Nielsen, 2013). از معایب این روش علاوه بر موارد اشاره شده مانند آسیب مکانیکی و تعداد کم سلولهای دریافت کننده ژن میتوان به هزینه بالا و محدود بودن سلولها و بافتهایی که ژن را دریافت می کنند و ... اشاره نمود (Canto, 2016).

۲. بیانگذرا با استفاده از ویروسهای گیاهی

استفاده از ناقل های ویروسی به‌منظور بیانگذرای ژن در گیاهان، وسیله ای مفید برای تولید انبوه پروتئین های مهم صنعتی از جمله آنتی بادیها و آنتی ژنهاست . این فناوری از سیستم همانندسازی و
تکثیر سریع ویروس برای تولید پروتئین بهره برداری می نماید. ویروس های گیاهی تنوع بسیاری داشته و دارای ویژگی هایی هستند که آنها را از ویروسهای جانوری متمایز میسازد. اغلب ویروسهای گیاهی دارای اندازه کوچک و فشرده هستند و ژنوم آنها در محدوده‌ای از kb3 تا kb7 قرار دارد. نتیجه این فشردگی، همپوشانی ژنهای ویروسی با یکدیگر و وجود قالبهای خواندنی باز متفاوت در یک توالی واحد است. بسیاری از پروتئینهای ویروسی دارای چندین عملکرد مختلف و مهم در چرخه بیماری زایی ویروس هستند که این امر توسعه ناقلهای ویروسی را برای آنکه بتوانند همزمان به عنوان یک ناقل بیانی و یک ویروس عمل کنند با چالش مواجه میسازد (Canto, 2016). با این وجود ناقلهای ویروسی به سرعت تکامل یافته و به دو نوع ناقلهای کامل و ناقلهای بازسازی شده تقسیم می‌شوند. در ناقلهای کامل، ژنوم ویروسی به گونه ای مهندسی شده است که علاوه بر کلیه ژنهای ویروسی، ژن هدف را نیز بیان مینماید. ژن هدف تحت کنترل نسخه ای از پروموتر درونی ویروس، به ژنوم ویروس اضافه شده و یا به یک ژن ویروسی مانند ژن پوشش پروتئینی متصل و یک فیوژن پروتئین ایجاد مینماید. ناقلهای کامل ویروسی دارای محدودیتهایی هستند که از مهمترین آنها میتوان به اندازه توالی ژن هدف اشاره نمود. بین اندازه توالی هدف و پایداری ناقل ویروسی رابطهای منفی مشاهده شده است. توالی های بزرگتر از kb 1معمو لا بیان نمیشوند و ناقل حاصل ناپایدار بوده و مانع از تجمع اجزای ویروس به صورت یک ویروس کامل می شود. همچنین با افزایش در اندازه ژنوم ویروسی حرکت سلول به سلول آن از طریق پلاسمودسماتا با مشکل مواجه میشود. در چنین حالتی ناقل ویروسی قادر به گسترش و آلودهسازی سایر بخشهای گیاه و تولید پروتئین در آنها نخواهد بود (Baltes et al., 2014). برخی ویروس های گیاهی دامنه میزبانی وسیعی دارند و به سادگی با تلقیح مکانیکی قابل انتقال بوده و از گیاهی به گیاه دیگر منتشر می‌شوند، بنابراین ممکن است بخش وسیعی از گیاهان زراعی را آلوده نمایند. این فرآیند همچنین میتواند در مقیاس وسیع در مزرعه با پاشیدن مخلوطی از ذرات ویروسی و یک ماده ساینده مانند کاربوراندوم بر روی گیاهان انجام شود. بسته به کارآیی ناقل و توانایی حرکت آن در گیاه، دو تا سه هفته برای آلوده شدن بافتهای گیاهی زمان لازم است. در مراحل بعد عصاره گیاهان آلوده میتواند دوباره برای تلقیح تعداد زیادی از گیاهان مورد استفاده قرار گیرد (Mortimer et al., 2015). در مواردی که اندازه توالی ژن هدف بزرگ است از ناقلهای ویروسی بازسازی شده استفاده میشود. در ناقلهای بازسازی شده فقط عناصر ویروسی لازم برای همانندسازی و بیان ژن هدف، حفظ شده و سایر اجزای ویروسی حذف شدهاند. این ناقلها با استفاده از تکنیکهای وابسته به اگروباکتریوم وارد گیاه می‌شوند. توسعه ناقلهای ویروسی بازسازی شده برای بیانگذرا موجب پیشرفتهای سریع در تولید محصولاتی شده است که آماده تجاری سازی هستند (Mortimer et al., 2015).

۳. بیانگذرا با استفاده از پروتوپلاست

در دهه گذشته استفاده از پروتوپلاستهای گیاهی حیاتی دوباره یافته است. بیانگذرا در پروتوپلاست کارآیی بالایی داشته و تکنیکی ساده محسوب میشود که به ابزارهای خاص نیازی نداشته و مستقل از جنس و گونه گیاهی بوده و نتایج خوبی طی چند ساعت یا چند روز تولید مینماید. بدین ترتیب مطالعات بررسی عملکرد ژن از تعداد معدودی از گیاهان مدل به سایر گیاهان زراعی و غیر مدل گسترش یافته است. از آنجا که جداسازی پروتوپلاست از هر گونه گیاهی، بافت و اندام امکانپذیر است و با توجه به اینکه پروتوپلاستها تقریبا کلیه ویژگیها و هویت سلولی و تمایزی سلولهایی را که از آن نشات گرفتهاند، حفظ مینمایند، این روش برای طراحی آزمایشهای مطالعه عملکرد ژن اهمیت بیشتری پیدا کرده و از این رو به روشی کلیدی برای تحقیق و پژوهش در گیاهان غیر مدل تبدیل شده است (Duarte et al., 2016).

۴. بیانگذرا بااستفاده از اگروباکتری Agroinfiltration

اگروباکتریوم یکی از چند باکتری شناخته شده ای است که قابلیت انتقال DNA به سلول گیاهی را داراست. انتقال T-DNA با دخالت مجموعه ای از ژنهای باکتریایی و تشکیل یک ساختار کانال مانند انجام میشود. سالهاست که از T-DNA فاقد ژنهای

طبیعی بیماریزا برای تراریختی گیاهان به صورت پایدار و گذرا استفاده میشود و به عنوان یک روش قدرتمند و موفق در تحقیقات زیستی به کار گرفته میشود(Canto, 2016) . انتقال ژن به روش Agroinfiltration به دو صورت انجام می شود: در روش اول با استفاده از سرنگ بدون سوزن، سوسپانسیون اگروباکتری حاوی ژن هدف به سطح پشتی برگ وارد میشود. محیط حاوی اگروباکتری وارد فضای بین سلولی برگ میشود. تغییر رنگ برگ از سبز روشن به سبز تیره و حالت شیشهای نشانگر موفقیت نفوذ مخلوط حاوی باکتری به درون برگ است. همچنین بخشی از باکتریها از طریق روزنه ها وارد بافت مزوفیل شده و نسخه هایی از T-DNA نیز از اگروباکتری وارد سلولهای پارانشیمی می‌شوند. این روش برای گونه‌های متعدد گیاهی با موفقیت استفاده شده است. با استفاده از سرنگ میتوان نواحی مختلف یک برگ را با چند سازه همزمان تراریخت نمود و بدین ترتیب چندین آزمایش بر روی یک برگ واحد قابل انجام است. در روش دیگر، Agroinfiltration با استفاده از خلأ انجام میشود. در این روش برگهای گیاه در سوسپانسیون باکتری غوطهور شده و در یک اتاقک خلأ قرار می گیرند. با ایجاد فشار منفی هوای موجود در فضاهای بین سلولی برگ خارج میشود. سپس با رها شدن خلأ این فضاها توسط محیط حاوی باکتری پر می‌شوند (Bond et al., 2016).

اثر گیاهان تراریخته بر تنوع زیستی

کنوانسیون تنوع زیستی ، تنوع زیستی را به عنوان تنوع موجود میان موجودات زنده شامل تنوع درون گونه ای و بین گونه ای در زیستگاههای مختلف خشکی و روی GM آبی تعریف میکند. اثر محصولات تنوع زیستی یک موضوع پیچیده بوده و این محصولات ممکن است موجب از بین رفتن تنوع GM زیستی شوند. سوال اینجاست که آیا محصولات تهدیدی جدی برای تنوع زیستی محسوب می‌شوند؟ روی تنوع زیستی باید GM ارزیابی اثر محصولات شامل مقایسه بین مزیتها و خطرهای احتمالی این محصولات با محصولات سنتی باشد(Megha,2013). نظرهای روی تنوع GM مختلفی در مورد اثر محصولات GM زیستی وجود دارد. برخی معتقدند که محصولات اثرهای فاجعه بار برگشت ناپذیری بر تنوع زیستی دارند، اما پژوهشگران دیگر این فرضیه را قبول ندارند. تنها مطالعه مورد به مورد میتواند ارزیابی روی تنوع GM درستی از اثرهای احتمالی محصولات ممکن است GM زیستی داشته باشد. محصولات خاستگاه تنوع محصول زراعی را تهدید کرده یا موجب بزرگتر شدن فلور محلی و ایجاد خسارت به گونه های بومی شوند. به هر حال گسترش کشاورزی نوین بر اساس اصلاح گیاهان زراعی و توسعه جوامعی از گیاهان دورگ یک شکل نسبت به انتقال تراژنها به واریته ها از طریق مهندسی ژنتیک میتواند یک تهدید بزرگتر برای تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی مقاوم به تنشهای غیر GM باشد (Louwaars, 2002). محصولات زنده مانند شوری یا خشکی می توانند به شرایط محیطی مختلف سازگار شده و با افزایش توسعه، جوامع گیاهی بومی را به خطر اندازند. این حالت در مورد محصولات سنتی نیز وجود دارد. امکان به شرایط محیطی سخت GM سازگاری محصولات میتواند مزیتهای زیادی برای حفظ تنوع زیستی داشته باشد. یکی از تهدیدهای بزرگ تنوع زیستی، کاهش زیستگاهها به دلیل تبدیل اکوسیستم های طبیعی به زمینهای کشاورزی در واکنش به نیاز با عملکرد بالا در GM غذایی است. تولید محصولات واحد سطح و کشت و کار روی خاکهای کمتر حاصلخیز میتواند خطر از دست رفتن زیستگاهها را کاهش داده و به حفظ تنوع زیستی کمک کند (Paine, 2005).

تاثیر محصولات GM بر سلامتی انسان

امروزه میلیونها نفر در سراسر جهان غذاهای تولید شده از گیاهان تراریخته مانند ذرت، سویا و کلزا را مصرف میکنند اما تاکنون هیچ گزارشی از اثرهای سمی یا زیانآور مصرف این گونه غذاها روی انسان و حیوانها ارائه نشده است (Nielsen, 2000). در ارزیابی ایمنی محصولات صفت جدید، تغییراتی را در محصول به وجود آورده است. یکی از روشهای اتخاذ شده جهت پاسخگویی با گیاه GM به این سوال، ارزیابی مقایسهای گیاه غیرتراریخته والدی از نظر ترکیب و غلظت عناصر غذایی و ترکیبات ضد تغذیهای است. . وجود تغییرات معنی دار در این عوامل می تواند پیامدهای سوء بر سلامت انسان داشته باشد. ارزیابی مقایسه ای یا آزمون این همانی بر اساس تجزیه و تحلیل عناصر GM محصولات غذایی و ترکیبات ضد تغذیهای برای بیشتر متابولیتها ارزیابی می‌شوند که مهمترین آنها عبارتند از: ۱. متابولیتهای اصلی شامل کربوهیدراتها، پروتئینها، لیپیدها،

فیبر و عناصر معدنی، ۲) عناصر غذایی مانند عناصر پر مصرف و کم مصرف ضروری، ۳)ترکیبات سمی و ضد تغذیهای در گونه های ویژه مانند بازدارنده های آنزیمهای گوارشی، لکتینها، ساپونینها و گلوکوزیدها، ۴) تمایل به تحریک واکنشهای حساسیت زا، ۵(دانسته های بدست آمده از آزمایشهای تغذیهای و مطالعات سمیت زایی روی حیوانها (Shewry, 2007). در صورت شناسایی هر گونه نگرانی ایمنی با استفاده از بررسیهای فوق، خطر احتمالی آن در ارتباط با سلامت انسان باید مشخص شود. مهمترین نگرانی های مخالفین مهندسی ژنتیک از روی سلامتی انسان GM اثرهای نامطلوب محصولات خطر سمی بودن و حساسیتزا بودن غذاهای حاصل است. هر گونه ترکیب وارد شده به محصولات غذایی باید از نظر ایمنی غذایی مورد بررسی قرار بگیرد. به عنوان مثال یک پروتئین بالقوه سمی مانند Bt سم موجود در GM محصولات مقاوم به آفات باید از نظر ایمنی ارزیابی شود. به هر حال ممکن است استثناهایی در این زمینه وجود داشته باشد، به ویژه زمانی که محصول ژن بیان شده در گیاهان تراریخته با ترکیب موجود در گیاه غیرتراریخته مشابه باشد، مانند ویتامینها. اما لازم است که این گیاهان تراریخته برای هر گونه اثرهای ناخواستهای که ممکن است در طی فرآیند تراریزش رخ دهد، مورد ارزیابی اینهمانی قرار بگیرند .

در غذاهایی که روزانه مصرف میکنیم، تعداد بسیار زیادی پروتئین وجود دارد که بدون اثرهای سوء مورد مصرف قرار میگیرند. اما تعداد کمی از این پروتئینها ممکن است اثرهای نامطلوب بر سلامت انسان داشته باشند. همانطور که پروتئینها دارای نقشهای کارکردی زیادی در بدن موجودات زنده هستند، اثرهای سوء احتمالی پروتئینهای جدید نیز باید مد نظر قرار بگیرند. بهعنوان مثال، فعالیت آنزیمها یا اثر بازدارندگی آنها ممکن است سبب سنتز ترکیبات سمی، ایجاد اثرهای ضد تغذیهای از طریق اتصال به ترکیبات غذایی ویژه یا مختل کردن فعالیت پروتئینهای ناقل و هورمونها شود. بسیاری از گیاهان بهطور طبیعی ترکیبات سمی و عوامل ضد تغذیهای را بهمنظور دفاع در برابر عوامل بیرونی تولید میکنند، مانند سولانین در سیب زمینی، لینامارین در ریشه های کاساوا و لکتین در بقولات. بنابراین این نگرانی وجود ممکن است سطح بیان این GM دارد که محصولات ترکیبات را تغییر داده و یا با فعالسازی مسیرهای متابولیکی این ترکیبات، اقدام به تولید مواد سمی و ترکیبات ضد تغذیهای کنند. همچنین پروتئینهایی که به طور ذاتی حساسیت زا نیستند، پس از بیان در گیاه تراریخته نیز حساسیتزا نخواهند بود. به عنوان مثال، از آنجایی که شواهدی در مورد حساسیت زایی پروتئین فریتین وجود ندارد، بنابراین برنج تراریخته غنی شده با آهن منجر به واکنشهای حساسیتزا نخواهد شد. اما پروتئینی که به طور ذاتی به عنوان یک ماده حساسیتزا شناخته میشود، در گیاه تراریخته نیز بهطور یقین حساسیتزا خواهد بود. برای مثال، انتقال آلبومین از بادام زمینی برزیلی به سویا بهمنظور افزایش محتوی متیونین. از آنجا که آلبومین یک ماده حساسیتزا محسوب میشود، بنابراین افرادی که پیشتر به سویا حساس نبودند، هم اکنون به سویای تراریخته حساس شدهاند (Devos, 2013) . هنگامی که ارزیابی حساسیتزایی محصولات GM خصوصیت حساسیتزایی پروتئین جدید ناشناخته باشد، بسیار پیچیده خواهد بود. بهعنوان مثال، پروتئین GFP که هیچ شناختی از حساسیتزا بودن آن وجود ندارد ممکن است واکنشهای حساسیتزایی را در انسان به وجود آورد. همچنین آزمون مشخصی برای تعیین حساسیتزا بودن پروتئینها وجود ندارد. روش مورد استفاده شامل مقایسه پروتئین جدید با مواد حساسیتزای شناخته شده و بررسی میزان پایداری دمایی و هضم آنزیمی آن است. اگر پروتئین جدید در برابر دما ناپایدار بوده و به آسانی در واکنشهای آنزیمی هضم شود، احتمال حساسیتزا بودن آن بسیار پایین خواهد بود. در غیر این صورت میتواند به عنوان یک ماده حساسیتزا مطرح شود..

بحث و نتیجه گیری

هدف از انجام این تحقیق بررسی روش‌ها، کاربردها و معایب دست‌کاری ژنتیک گیاهان بود. از دیدگاه تئوری، گیاهان با کمک ابزارهای مولکولی قادر به تولید هر پروتئینی خواهند بود چنانچه ژن مورد نظر را دریافت کرده باشند. بنابراین نخستین مرحله برای تولید محصول و یا ایجاد صفتی جدید، انتقال ژن مناسب به گیاه است (Canto, 2016). دو راهکار اصلی برای انتقال و بیان توالیهای خارجی در گیاهان استفاده میشود: درج توالیهای خارجی در ژنوم و بیان موقت ژن بدون درج در ژنوم میزبان. هر دو روش دارای مزایا و کاستیهایی هستند ولی معمولا مکمل یکدیگرند. تراریختی پایدار، بررسی بیان دائم ژن در گیاه کامل را امکان پذیر میسازد و در گیاهانی که قابلیت باززایی و تراریختی خوبی دارند به عنوان روشی مفید و کارآمد به اثبات رسیده

است. انتقال پایدار ژن برای بسیاری از جنبههای نوین علوم گیاهی لازم بوده و استفاده از آن برای اصلاح گیاهان رو به افزایش است. لیکن علیرغم پیشرفتهای بسیار در علوم زیستی، باززایی و تراریختی پایدار و تولید گیاهان کامل تراریخت همچنان با مشکل مواجه بوده و فرآیندی تصادفی و زمانبر است که برای بررسیها و تحقیقات گسترده نامناسب میباشد . خطرهای احتمالی گیاهان تراریخته روی محیط زیستابتدا توسط Moran-Palma و Snow معرفی شدند که عبارت بودند از: ۱) اثرات سوء روی تنوع زیستی موجودات زنده غیرهدف، ۲) خطر جریان ژنی در بین گونه های مشابه و حتی دور و ۳) احتمال ایجاد مقاومت در موجود زنده غیرهدف مانند حشرات آفات مقاوم به محصولاتBt و علفهای هرز مقاوم به علفکشها(. Taverne, 2005). یکی دیگر از نگرانیهایی که در مورد محصولات GM بیان شد، اثرهای سوء غذاهای حاصل از گیاهان تراریخته روی سلامت انسان بود که این ادعا بر سمی بودن گیاهان تراریخته یا تحریک واکنشهای حساسیتزایی در بدن انسان تاکید میکرد (Craig, 2009). بررسی سلامت غذاهای حاصل از گیاهان تراریخته، بهویژه زمانی که گیاه تراریخته، پروتئین جدیدی را به میزان زیاد بیان میکند، یا هنگامی که محصول حاصل از تراژن بهطور معمول در رژیم غذایی انسان وجود ندارد، ضروری است. همچنین بررسی حساسیت زایی پروتئین حاصل از تراژن، از اهمیت بالایی برخوردار میباشد که معمولا شامل میزان پایداری پروتئین در برابر واکنشهای دمایی و هضم و نیز میزان شباهت به آلرژنهای شناخته شده میباشد (Craig, 2009). از نگرانیهای مطرح شده دیگر از طرف مخالفان مهندسی ژنتیک، استفاده از ژنهای مقاومت به آنتیبیوتیک در تولید آنها میباشد. آنتیبیوتیکها، ترکیبات زیستی تولید شده توسط گونههای مختلفی از ریزسازورهها میباشند که از رشد سایر ریزسازوارهها جلوگیری کرده و ممکن است موجب از بین رفتن آنها شوند. رقابت میان گونه های میکروبی احتمال دارد به دلیل وجود آنتیبیوتیکها بوده و ریزسازوارهها از طریق سازوکارهای مختلفی، صفت مقاومت به آنتیبیوتیکها را کسب میکنند. بیشتر مقاومتهای مهم کلینیکی به آنتیبیوتیکها در باکتریها، ناشی از وجود پلاسمیدها یا سایر عناصر متحرک ژنتیکی حاوی ژن یا ژنهای مقاومت به آنتیبیوتیکها میباشند. بهطور معمول پلاسمیدها به سرعت در میان باکتریهای هم گونه و حتی میان سایر گونههای غیر مرتبط منتقل میشوند (Gay, 2005 .)

منابع

Gao C, Nielsen KK (2013) Comparison between *Agrobacterium*-mediated and direct gene transfer using the gene gun. Biolistic DNA Delivery: Meth. Protoc. 3-16.

Canto T (2016) Transient Expression Systems in Plants: Potentialities and Constraints." Advanced Technologies for Protein Complex Production and Characterization. Springer International Publishing, 287-301.

Baltes NJ, Gil-Humanes J, Cermak T, Atkins PA, Voytas DF (2014) DNA replicons for plant genome engineering Plant. Cell. 26(1): 151-63.

Mortimer CL, Dugdale B, Dale JL (2015) Updates in inducible transgene expression using viral vectors: from transient to stable expression. Cur. Opin. Biotechnol. 32:85-92.

Duarte P, Ribeiro D, Carqueijeiro I, Bettencourt S, Sottomayor M (2016) Protoplast transformation as a plant-transferable transient expression system. Biotechnology of Plant Secondary Metabolism: Meth. Protoc. 137-48.

Bond DM, Albert NW, Lee RH, Gillard GB, Brown CM, Hellens RP, Macknight RC (2016) Infiltration-RNAseq: transcriptome profiling of Agrobacterium-mediated infiltration of transcription factors to discover gene function and expression networks in plants. Plant methods. 12(1):41.

Megha, K. and Kaur, S.G. 2013. Ecological impact of genetically modified crops. Research Journal of Recent Sciences, 2, 1-4.

Louwaars, N.P., Visser, B., Nap, J.P. and Brandenburg, W. 2002. Transgenes in mexican maize landraces: Analysis of data and potential impact. Policy brief, Wageningen, the Netherlands: Plant Research International, pp. 4.

Nielsen, K.M., van Elsas, J.D. and Smalla, K. 2000. Transformation of Acinetobacter sp. Strain BD413 (pfg4dnptII) with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kanamycin on selection of transformants. Applied and Environmental Microbiology, 66, 1237–1242.
Shewry, P.R., Baudo, M., Lovegrove, A., Powers, S., Napier, J.A., Ward, J.L., Baker, J.M. and Beale, M.H. 2007. Are GM and conventionally bred cereals really different? Trends Food Science and Technology, 18, 201–209.
Devos, Y., Aguilera, J., Diveki, Z., Gomes, A., Liu, Y., Paoletti, C., du Jardin, P., Herman, L., Perry, J.N. and Waigmann, E. 2014. EFSA's scientific activities and achievements on the risk assessment of genetically modified organisms (GMOs) during its first decade of existence: looking back and ahead. Transgenic Research, 23, 1–25.
Taverne, D. 2005. The new fundamentalism. Nature Biotechnology, 23, 415–6.
Craig, W., Tepfer, M., Degrassi, G. and Ripandelli, D. 2008. An overview of general features of risk assessments of genetically modified crops. Euphytica, 164, 853–880.
Gay, P.B. and Gillespie, S.H. 2005. Antibiotic resistance markers in genetically modified plants: A
risk to human health? Lancet Infectious Diseases, 5, 637–46.
Paine, J.A., Shipton, C.A., Chaggar, S., Howells, R.M., Kennedy, M.J., Vernon, G., Wright, S.Y., Hinchliffe, E., Adams, J.L., Silverstone, A.L. et al. 2005. A new version of golden rice with increased pro-vitamin A content. Nature Biotechnology, 23, 482–487.