

## بررسی آخرین وضعیت تولید چغندر قند تراریخته مقاوم به آفات در

### ایران و جهان

پیمان نوروزی<sup>۱\*</sup>، مراد جعفری<sup>۲</sup>، بهزاد قره‌یاضی<sup>۳</sup>، محمدعلی ملبویی<sup>۴</sup>، محمدرضا  
رضایانه<sup>۵</sup>

۱- موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند

۲- دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

۳- پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی

۴- پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

۵- موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور

\* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: norouzi@sbsi.ir

(تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۳ - تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۱۰)

### چکیده

#### واژه‌های کلیدی

چغندر قند  
ژن *cryIAb*  
پرودنیا  
کارادرینا  
اگروتیس

در این مقاله ابتدا مروری بر تحقیقات انجام شده در زمینه تولید چغندر قند تراریخته مقاوم به آفات (در مفهوم عام شامل حشرات آفت، بیماری‌ها و علف‌های هرز) در جهان و نیز اشاره ای به ملاحظات ایمنی زیستی چغندر قند تراریخته خواهد شد و سپس به نتایج پژوهش‌های انجام شده در ایران در زمینه تولید گیاهان چغندر قند تراریخته حامل ژن *Bt* و زیست‌سنجی و ارزیابی خسارت آفات مذکور بر روی چند لاین تراریخته چغندر قند حامل ژن *cryIAb* نسل  $T_0$ ،  $F_1$  و  $T_1$  خواهیم پرداخت. در آزمایش‌های زیست‌سنجی با لارو سه نوع آفت پرودنیا، کاردینا و آگروتیس، لاین‌های تراریخته از نظر صفات میزان مرگ و میر لارو، کاهش وزن لاروی و کاهش خسارت ایجاد شده روی برگ میزان مورد مقایسه آماری قرار گرفتند. نتایج آزمایش زیست‌سنجی لاین‌های تراریخته نسل  $T_0$  و  $F_1$  بیان‌کننده مقاومت گیاهان تراریخته را بر علیه گرم‌کاهش و وزن لاروی و میر لاروی، ۱۱/۵ میلی‌گرم کاهش وزن لاروی و ۶۳ درصد کاهش خسارت برگ (در مورد آفت پرودنیا)، لاین H2-3 با ۴۳ درصد مرگ و میر لاروی، ۱۱/۵ میلی‌گرم کاهش وزن لاروی و ۶۳ درصد کاهش خسارت برگ (در مورد آفت کارادرینا) و لاین S36-13 با ۲۰ درصد مرگ و میر لاروی، ۱۰/۸ میلی‌گرم کاهش وزن لاروی و ۵۴ درصد کاهش خسارت برگ (در مورد آفت آگروتیس) به عنوان برترین لاین‌های نسل  $T_1$  از گیاهان تراریخته چغندر قند هستند.

چغندر قند از مهم‌ترین گیاهان صنعتی در دنیا و ایران بوده و در حدود یک چهارم شکر جهان در مناطق معتدل، جایی که نیشکر کشت نمی‌شود، بوسیله آن تولید می‌شود (Datta et al., 1998). چغندر قند به دلیل قابلیت عملکرد بالای آن (بیش از ۲۴ میلیون تن تولید جهانی) نه تنها به عنوان منبع شکر بلکه به عنوان یک بیوراکتور سبز برای ذخیره متابولیت‌های جدید در ریشه بطور قابل ملاحظه‌ای مورد توجه است (Ivic-Haymes and Smigoki, 2005). تنش‌های زیستی و غیرزیستی از عوامل مهم در کاهش عملکرد و تولید محصولات کشاورزی هستند به طوری که حشرات آفت حدود ۱۴ درصد کل محصولات کشاورزی در جهان را از بین می‌برند (Hilder and Boulter, 1999).

### چغندر قند متحمل به علف کش

ژن‌های مختلفی برای ایجاد گیاهان چغندر قند مقاوم به آفات، امراض و علف‌های هرز با استفاده از فنون مهندسی ژنتیک در منابع خارجی به کار رفته است. ژن *ALS* برای مقاومت به علف‌کش کلروسولفورون (Halluin et al., 1992)، ژن *bar* برای مقاومت به علف‌کش گلیفوسینات آمونیوم (Kishchenko et al., 2005; Halluin et al., 1992) و ژن‌های *CP4 EPSPS* و *GOX* جهت مقاومت به علف‌کش گلیفوسیت (Mannerllof et al., 1997) به چغندر قند منتقل شده‌اند. از بین گیاهان چغندر قند ترا ریخته ایجاد شده در جهان، این محصول از سال ۲۰۰۹ میلادی تنها در آمریکا به صورت تجاری در سطح وسیع کشت می‌شود. طبق این گزارش تقریباً کل سطح کشت چغندر قند در آمریکا معادل ۴۷۵ هزار هکتار در سال ۲۰۰۹ از نوع ترا ریخته بوده است. چغندر قند ترا ریخته مقاوم به علف کش موسوم به RoundupReady توسط شرکت مونسانتوی آمریکا و با همکاری شرکت KWS آلمان ایجاد شده است که به ماده موثره علف کش راندآپ (گلیفوسیت) مقاومت نشان می‌دهد و در نتیجه باعث کنترل و مدیریت موثر کلیه علف‌های هرز مزارع چغندر قند می‌شود (Anonymus, 2010).

به موازات پیشرفت در زمینه مهندسی ژنتیک چغندر قند، سوالاتی نیز در مورد اثرهای احتمالی ارقام ترا ریخته مطرح شده است که

هر یک در جای خود می‌تواند مورد بحث علمی قرار گرفته و پاسخ داده شود. در این قسمت اشاره‌ای به ملاحظات ایمنی زیستی مرتبط با چغندر ترا ریخته مقاوم به علف کش می‌شود.

### مهاجرت و انتشار ژن

جهت بررسی شار ژنی از چغندر ترا ریخته مقاوم به علف‌کش به چغندر علفی و انواع وحشی آن یک سری آزمایش در شش سال و دو مکان در سطح مزارع صورت گرفته است (Darmency et al., 2007). در این آزمایش‌ها از دو لاین چغندر قند ترا ریخته یکی مقاوم به علف‌کش گلیفوسینات و دیگری مقاوم به علف‌کش راندآپ استفاده شد. انتقال مستقیم دانه گرده از چغندر ترا ریخته به ساقه رفته در سال اول به چغندر علفی<sup>۱</sup> که در مزارع مورد آزمایش و یا در مزارع آیش مجاور رشد می‌کردند فقط منجر به تولید ۰/۴ درصد بذر مقاوم برداشت شده از روی چغندرهای علفی در طی شش سال آزمایش در دو مکان شد. ضمناً بذور مقاوم به علف‌کش از نتایج چغندر علفی زمانی ایجاد می‌شدند که فاصله بوته‌های والدی آنها از چغندر ترا ریخته حداکثر ۱۱۲ متر بوده است (Darmency et al., 2007). در آزمایش دیگر برای تعیین میزان شار ژنی دانه گرده چغندر ترا ریخته از گیاهان نر عقیم تله (این گیاهان به علت نداشتن دانه گرده به عنوان گیرنده دانه گرده از سایر گیاهان عمل می‌کنند و در نتیجه بذر تشکیل شده بر روی آنها صد درصد هیبرید است) که درون و بیرون از مزارع چغندر ترا ریخته محصور شده با نواری از شاهدانه کشت شده بودند استفاده و مشخص شد که شار ژنی در فاصله ۳۰۰ متری بسیار محدود می‌شود (Saeglitz et al., 2000). بنابراین این آزمایش‌ها نشان دادند که با وجود آنکه احتمال فرار ژن از چغندر زراعی به انواع وحشی آن وجود دارد می‌توان با کشت چغندرهای ترا ریخته مقاوم به ساقه روی و حذف ساقه رفته‌های سال اول (با توجه به آنکه چغندر قند یک گیاه دو ساله است که در سال اول تولید ریشه و در سال دوم تولید بذر می‌کند) و نیز استفاده از بذور گواهی شده با کیفیت بالا که فاقد بذر هیبرید چغندر ترا ریخته و چغندرهای یک ساله باشند، شار ژنی را در زراعت چغندر قند به تاخیر انداخت (Darmency et al., 2007). همچنین

1 - Weed beet

زراعی و گونه وحشی آن (*Beta maritima*) انتقال دادند، ولی آنها هیچگونه آنالیز مولکولی برای ژن‌های *cry* و آزمایش زیست‌سنجی به منظور بررسی مقاومت به آفت را گزارش نکردند (Hisano et al., 2004). با بررسی‌های انجام شده از منابع علمی موجود در دسترس، هنوز در دنیا چغندر قند مقاوم به آفات حشره‌ای Bt تجاری وجود ندارد.

#### وضعیت تولید چغندر قند ترا ریخته در ایران

در سال‌های اخیر در داخل کشور نیز پژوهش‌های زیادی در زمینه انتقال ژن‌های مهندسی شده به چغندر قند به منظور ایجاد مقاومت در برابر آفات پروانه‌ای در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی و موسسه تحقیقات چغندر قند (نوروزی، قره یاضی و ملبوبی، نتایج منتشر نشده)، در برابر آفات سخت بالپوش چغندر قند در دانشگاه ارومیه (جعفری، نتایج منتشر نشده)، بیماری‌های ویروسی عمدتاً ریزومانیا (ملبوبی، نتایج منتشر نشده)، مقاومت در برابر بیماری‌های قارچی چغندر قند (زمانی و مطلبی، نتایج منتشر نشده) و مقاومت در برابر علف‌کش گلیفوسیت (سلمانیان، نتایج منتشر نشده) در پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری انجام شده است. برخی از مقالات حاصل از پژوهش‌های مذکور شامل انتقال ژن پروتئین پوششی ریزومانیا به چغندر قند (Aghel, 2010)، ژن پلاتنی بادی ویروس ریزومانیا به چغندر قند (Mardani, 2010)، ژن‌های *PGIP1&2* برای ایجاد مقاومت بر علیه بیماری‌های قارچی چغندر قند (Mohammadzadeh, 2010) پیش از این منتشر شده است.

آفات پروانه‌ای (Lepidoptera) از جمله آفات مهمی هستند که در اغلب مزارع چغندر وجود دارند. سه آفت مهم این گروه شامل کرم برگ‌خوار مصری یا پرو دنیا (*Spodoptera littoralis*)، کرم برگ‌خوار چغندر قند یا کارادرینا (*Spodoptera exigua*) و کرم طوقه‌بر یا آگروتیس (*Agrotis segetum*) هستند که هر ساله خسارت قابل توجهی به مزارع چغندر قند وارد می‌کنند (Asadi, 1994; Behdad, 1997; Kheiri, 1990; Ghadiri, 2004; Mirderikvand, 1999; Rivany, 1962). در واقع گیاهان ترا ریخته به نوعی با دارا بودن ترکیباتی از باکتری باسیلوس تورینجینسیس موجب از بین رفتن آفت و یا کاهش میزان رشد آن

در مزارع تولید بذر چغندر ترا ریخته نیز می‌توان با حصر فیزیکی چغندر ترا ریخته در بین نوارهای کشت گیاه شاهدانه (این گیاه با داشتن ارتفاع زیاد و برگ‌های چسبنده تا حد زیادی از جریان دانه‌های گرده جلوگیری می‌کند) و نیز فاصله استاندارد بین مزارع تولید بذر از ورود و خروج گرده‌های ناخواسته جلوگیری کرد (Saeglitz et al., 2000).

#### چغندر مقاوم به ریزومانیا و آفات حشره‌ای

برای ایجاد مقاومت به بیماری ریزومانیا به چغندر قند عمدتاً از ژن پروتئین پوششی (Coat protein) ویروس ریزومانیا (Mannerlof et al., 1996) و ژن dsRNA ویروس ریزومانیا (Lennefors et al., 2006) استفاده شده است. گزارش‌های محدودی در استفاده از بعضی ژن‌های مقاومت به حشرات آفت به خصوص ژن‌های *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) در چغندر قند وجود دارد. ژن‌های رمزکننده بازدارنده‌های پروتئازی (PI) جهت مقاومت به آفت مگس ریشه (Root maggot) به چغندر قند انتقال داده شده است (Wilhite et al., 2000; Smigocki et al., 2003; Smigocki, 2001). استریزوف و همکاران (۲۰۰۰)، گزارش کردند که ژن تغییر یافته *cryIC* در گیاهان ترا ریخته یونجه و سیب زمینی قادر به کنترل حشراتی همچون کارادرینای چغندر قند است (Strizhov et al., 2000). کیموتو و شیماموتو (۲۰۰۲)، به منظور ایجاد مقاومت به کرم کلم (*Mamestra brassicae*)، ژن‌های *cryIAb* و *cryIAC* را تحت کنترل پیشبر CaMV35S توسط آگروباکتریوم تومه‌فاسینس به چغندر قند انتقال دادند. نتایج زیستی‌سنجی نشان داد که هر دو ژن برای لارو سن دوم کرم کلم مقاومت ایجاد می‌کنند و باعث توقف رشد و یا کند شدن رشد لاروها می‌شوند ولی گیاهان ترا ریخته حاوی *cryIC* نسبت به آفت مذکور سمیت بیشتری نشان می‌دهند (Kishchenko et al., 2005). اسمیکوگی و همکاران (۲۰۰۳)، ژن سازنده سیتوکینین باکتریایی موسوم به *ipt* که باعث مرگ و یا اختلال در رشد و تولید مثل مگس ریشه چغندر قند می‌شود را به چغندر قند وارد کردند (Smigocki et al., 2003). هیسانو و همکاران (۲۰۰۴)، با معرفی یک روش جدید به منظور تولید گیاهان ترا ریخته با فراوانی بالا، ژن‌های *cryIAb* و *cryIC* را تحت کنترل پیشبر CaMV35S به چغندر قند

گرفتند. تعداد هفت لارو سن اول (۲۴-۰ ساعته) در یک مرحله بر روی برگ گیاهان ترا ریخته چغندر قند حاوی ژن *cryIAb* و گیاه غیر ترا ریخته به عنوان شاهد در پتری دیش حاوی کاغذ صافی استریل مرطوب گذاشته و بوسیله پارافیلیم بسته شد. برای هر لاین ترا ریخته سه تکرار در نظر گرفته شد. نمونه‌ها به اتاقک رشد با شرایط دمایی  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ، رطوبت ۷۰٪ و تناوب نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند و آزمایش زیست سنجی ۴ بار به فواصل چند هفته‌ای تکرار شد. تعداد لارو مرده، وزن لاروهای زنده و درصد خسارت به طور چشمی پس از سومین و هفتمین روز آلودگی بر طبق روش مرسوم در موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور یادداشت برداری شد.

**زیست سنجی گیاهان نسل T<sub>1</sub>:** برای هر یک از سه آفت پرو دنیا، کارادرینا و آگروتیس به طور جداگانه در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار و در هر تکرار روی ۱۰ عدد لارو نئونات در داخل ظروف پتری شیشه‌ای با قطر ۱۰ سانتی‌متر در فواصل زمانی ۳ و ۶ روز پس از آغاز تغذیه روی چغندرهای ترا ریخته نسل T<sub>1</sub> بررسی شد. صفات اندازه گیری شده شامل تعداد لاروهای مرده، وزن لاروهای زنده مانده و میزان خسارت (کاهش وزن) برگ بود. همچنین صفات محاسبه شده شامل درصد لاروهای مرده، کاهش وزن لاروی و کاهش خسارت برگ در مقایسه با گیاهان شاهد غیر ترا ریخته بود. این آزمایش‌ها در سه مرحله و در شرایط محیطی دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی  $65 \pm 10\%$  درصد انجام شدند.

**تجزیه و تحلیل آماری:** داده‌های حاصل از زیست‌سنجی گیاهان ترا ریخته نسل T<sub>0</sub> و F<sub>1</sub> بوسیله نرم‌افزار SAS و گیاهان ترا ریخته نسل T<sub>1</sub> با استفاده از نرم‌افزار SPSS ver.13 در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. بر روی داده‌های حاصل از تعداد و داده‌های حاصل از درصد به ترتیب تبدیل جذری و تبدیل زاویه‌ای انجام شد و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن انجام گرفت.

### نتایج و بحث

فرآیند ترا ریزش چغندر قند به کمک آگروباکتری و باززایی گیاهان

می‌شوند. اثر آنتی‌بیوتیکی در این نوع گیاهان بر روی حشره می‌تواند از ملایم تا کشنده باشد (Hatammi, 1991). در این مقاله به نتایج پژوهش‌های انجام شده در ایران در زمینه تولید گیاهان چغندر قند ترا ریخته Bt و زیست سنجی و ارزیابی خسارت آفات پرو دنیا، کارادرینا و آگروتیس بر روی چند لاین ترا ریخته چغندر قند حامل ژن *cryIAb* نسل T<sub>0</sub>، F<sub>1</sub> و T<sub>1</sub> اشاره می‌شود.

### مواد و روش‌ها

**مواد گیاهی:** این تحقیق در قالب طرح مشترک مصوب بین موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند (SBSI) و پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج (ABRII) انجام گرفته است. در این پژوهش بنا به پیشنهاد موسسه اصلاح و تهیه بذر چغندر قند از دو رقم مولتی ژرم دیپلوئید HM1990 و 7233 برای ترا ریزش گیاه استفاده شد.

**تهیه سازه‌های ژنی:** سازه‌های ژنی حاوی ژن *cryIAb* تحت کنترل پیشبر 35S CaMV و یا PEPC به روش سمبروک و راسل (Sambrook and Russell, 2001) از پلاسمیدهای اولیه انجام گرفت (Sambrook and Russell, 2001). سازه‌های جدید به ترتیب به اسامی pBI35Scry و pBIPEPcry نامگذاری شدند.

**ترا ریزش چغندر قند:** مراحل کشت آگروباکتری، تلقیح بافت گیاهی، انتقال به محیط کشت توام و گزینش جوانه‌های ترا ریخته احتمالی در محیط حاوی آنتی‌بیوتیک طبق روش تلفیقی هیسانو و همکاران (۲۰۰۴) و نوروزی و همکاران (۲۰۰۵) با تغییرات جزئی انجام گرفت (Hisano, 2004; Norouzi et al., 2005).

**تهیه نسل‌های T<sub>1</sub> و F<sub>1</sub>:** گیاهان ترا ریخته نسل T<sub>0</sub> به صورت رویشی (کلون) تکثیر شدند. برای بدست آوردن بذر T<sub>1</sub> کلون‌های مختلف یک رخداد ترا ریخته با یکدیگر تلاقی داده شدند (خودگشنی). برای تهیه نسل F<sub>1</sub>، گیاه ترا ریخته T<sub>0</sub> با لاین 231 نر عقیم سیتوپلاسمی (CMS#231) تلاقی داده شد و بذرها جمع‌آوری شدند.

**زیست سنجی گیاهان ترا ریخته نسل T<sub>0</sub> و F<sub>1</sub>:** با همکاری موسسه تحقیقات گیاهپزشکی، دسته‌های تخم حشره پرو دنیا، یکی از آفات پروانه‌ای مهم مزارع چغندر قند ایران، از مزارع گرگان و دزفول جمع‌آوری شدند و در ظروف حاوی مواد غذایی لازم قرار

*cryIAb* تحت کنترل پیشبر PEPC همراه گیاهان غیرتراریخته به عنوان کنترل با زیست سنجی بر علیه آفت پرودنیا مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج زیست سنجی در جدول ۲ آمده است. تفاوت بسیار معنی دار بین گیاهان تراریخته و غیرتراریخته از نظر هر سه صفت اندازه گیری شده وجود دارد.

زیست سنجی گیاهان تراریخته F<sub>1</sub>: گیاهان تراریخته F<sub>1</sub> حاوی ژن *cryIAb* تحت کنترل پیشبر CaMV35S همانند گیاهان T<sub>0</sub> در تحت آنالیز زیست سنجی با آفت پرودنیا قرار گرفتند. نتایج حاصل از زیست سنجی در جدول ۳ خلاصه شده است. به طور کلی هر سه شاخص در گیاهان تراریخته و غیرتراریخته از لحاظ آماری تفاوت بسیار معنی دار داشتند. گیاهان تراریخته F<sub>1</sub> مورد بررسی، مقاومت بهبود یافته ای در برابر آفت مورد بررسی نشان

تراریخته نشان داد که برگ حاوی جوانه القا شده به عنوان یک جداکشت مناسب و با قابلیت جوانه زایی بالا برای تراریزش چغندر قند است.

زیست سنجی گیاهان T<sub>0</sub> تراریخته حاوی ژن *cryIAb* تحت کنترل پیشبر CaMV 35S: تعدادی گیاه تراریخته T<sub>0</sub> حاوی ژن *cryIAb* تحت کنترل پیشبر CaMV 35S به همراه دو گیاه غیرتراریخته برای بررسی اثر توکسین CryIAb و مقاومت بر علیه پرودنیا انتخاب شدند. بر اساس نتایج حاصل از زیست سنجی (جدول ۱) تفاوت بسیار معنی دار بین گیاهان تراریخته و غیرتراریخته از نظر هر سه صفت اندازه گیری شده وجود دارد.

زیست سنجی گیاهان تراریخته T<sub>0</sub> حاوی ژن *cryIAb* تحت کنترل پیشبر PEPC: مقاومت گیاهان تراریخته T<sub>0</sub> حاوی ژن

جدول ۱- زیست سنجی پرودنیا و ارزیابی مقاومت گیاهان تراریخته T<sub>0</sub> حامل ژن *cryIAb* تحت کنترل پیشبر CaMV 35S

Table 1- Bioassay of resistance of T<sub>0</sub> sugar beet plants carrying a *cryIAb* gene under the control of CaMV 35S promoter against Prodenia.

مرگ و میر (%) %Mortality	خسارت برگ (%) %Leaf damage		وزن لاروهای زنده (mg) Weight of live larvae		تعداد لارو مرده No. of dead larvae		لاین Line
	7DAI	7DAI	3DAI	7DAI	3DAI	7DAI	
2.31±0.01 <sup>e</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>	55.00±3.52 <sup>a</sup>	10.24±1.22 <sup>a</sup>	7.71±0.00 <sup>a</sup>	0.12±0.10 <sup>d</sup>	0±0.00 <sup>e</sup>	7233*
2.52±0.44 <sup>e</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>	36.45±2.11 <sup>b</sup>	12.11±0.31 <sup>a</sup>	1.92±0.20 <sup>b</sup>	0.25±0.08 <sup>d</sup>	0±0.00 <sup>e</sup>	HM1990*
70.00±1.2 <sup>a</sup>	31.34±0.70 <sup>c</sup>	12.54±0.13 <sup>d</sup>	2.55±0.15 <sup>c</sup>	1.90±0.25 <sup>bc</sup>	4.92±0.10 <sup>a</sup>	1.9±0.11 <sup>ab</sup>	7233-15
48.88±2.53 <sup>bcd</sup>	47.50±1.42 <sup>bc</sup>	22.52±0.10 <sup>b</sup>	2.62±0.20 <sup>bc</sup>	1.00±0.10 <sup>d</sup>	3.41±0.31 <sup>abc</sup>	1.41±0.23 <sup>bcd</sup>	7233-16
55.73±2.33 <sup>abc</sup>	27.54±1.40 <sup>e</sup>	27.251±1.45 <sup>b</sup>	2.60±0.22 <sup>bc</sup>	2.30±0.22 <sup>b</sup>	3.91±0.22 <sup>ab</sup>	2.31±0.11 <sup>a</sup>	7233-17
37.30±2.60 <sup>d</sup>	51.34±1.31 <sup>b</sup>	20.12±0.80 <sup>c</sup>	3.33±0.10 <sup>bc</sup>	1.92±0.40 <sup>bc</sup>	2.61±0.30 <sup>c</sup>	1.10±0.12 <sup>cd</sup>	7233-18
38.34±2.40 <sup>d</sup>	50.00±3.11 <sup>bc</sup>	21.00±0.65 <sup>bc</sup>	3.82±0.24 <sup>bc</sup>	1.52±0.11 <sup>cd</sup>	2.72±0.30 <sup>c</sup>	0.94±0.31 <sup>d</sup>	7233-31
37.03±2.61 <sup>d</sup>	40.02±1.00 <sup>d</sup>	18.84±0.71 <sup>c</sup>	3.80±0.11 <sup>bc</sup>	2.33±0.10 <sup>b</sup>	2.63±0.30 <sup>c</sup>	1.20±0.12 <sup>bcd</sup>	7233-35
38.32±02.33 <sup>d</sup>	43.81±1.73 <sup>cd</sup>	16.32±0.70 <sup>cd</sup>	3.30±0.10 <sup>bc</sup>	1.14±0.10 <sup>d</sup>	2.72±0.30 <sup>c</sup>	1.52±0.10 <sup>abcd</sup>	7233-36
40.030±1.32 <sup>cd</sup>	53.382±3.84 <sup>b</sup>	20.10±1.24 <sup>c</sup>	4.42±0.43 <sup>b</sup>	2.24±0.40 <sup>b</sup>	2.84±0.20 <sup>bc</sup>	1.41±0.21 <sup>bcd</sup>	HM1990-2
61.53±2.34 <sup>ab</sup>	48.83±2.40 <sup>c</sup>	20.00±0.21 <sup>c</sup>	2.32±0.13 <sup>c</sup>	1.83±0.10 <sup>bc</sup>	4.31±0.20 <sup>a</sup>	1.83±0.20 <sup>ab</sup>	HM1990-3

گیاهان غیرتراریخته به عنوان شاهد، † روزهای پس از آلودگی با آفت (Days after infestation). در هر ستون میانگین هایی که حروف غیرمشترک دارند، دارای اختلاف معنی دار به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Non-transgenic parental genotype were used as control.

جدول ۲- زیست سنجی پرودنیا و ارزیابی مقاومت گیاهان تراریخته T<sub>0</sub> حامل ژن *cry1Ab* تحت کنترل پیشبر PEPC

**Table 2-** Bioassay of resistance of sugar beet to plantal containing a *cry1Ab* under the control of PEPC promoter against *Prodenia*.

مرگ و میر (%)	خسارت برگ (%)	وزن لاروهای زنده (mg)		تعداد لارو مرده		لاین	
%Mortality	%Leaf damage	Weight of live larvae		No. of dead larvae		Line	
7DAI	7DAI	3DAI	7DAI	3DAI	7DAI	3DAI†	
4.16±1.50 <sup>e</sup>	97.43±5.32 <sup>a</sup>	28.66±1.51 <sup>b</sup>	11.12±0.38 <sup>a</sup>	3.07±0.20 <sup>b</sup>	0.16±0.06 <sup>d</sup>	0±0.00 <sup>c</sup>	7233*
8.39±1.30 <sup>e</sup>	100±00.00 <sup>a</sup>	47.49±0.83 <sup>a</sup>	13.05±0.86 <sup>a</sup>	3.9±0.54 <sup>a</sup>	0.16±0.10 <sup>d</sup>	0±0.00 <sup>c</sup>	HM1990*
67.64±2.13 <sup>a</sup>	14.95±0.82 <sup>f</sup>	5.58±0.74 <sup>d</sup>	3.27±0.28 <sup>d</sup>	0.26±0.07 <sup>d</sup>	4.39±0.04 <sup>a</sup>	1.65±0.05 <sup>a</sup>	7233-2
40.53±2.38 <sup>bc</sup>	47.57±0.83	11.21±0.65 <sup>c</sup>	3.62±0.37 <sup>dc</sup>	0.75±0.06 <sup>dc</sup>	2.83±0.02 <sup>b</sup>	1.31±0.05 <sup>a</sup>	7233-33
57.14±2.00 <sup>bc</sup>	46.87±1.07 <sup>e</sup>	9.92±0.98 <sup>c</sup>	4.12±0.43 <sup>dc</sup>	0.79±0.06 <sup>dc</sup>	4.10±0.04 <sup>a</sup>	1.28±0.05 <sup>a</sup>	7233-43
40.61±2.40 <sup>bc</sup>	62.51±0.61 <sup>d</sup>	11.21±0.65 <sup>c</sup>	6.50±0.29 <sup>b</sup>	1.42±0.05 <sup>c</sup>	2.20±0.03 <sup>b</sup>	0.98±0.05 <sup>ab</sup>	7233-46
22.61±2.34 <sup>d</sup>	80.11±1.47 <sup>c</sup>	6.19±0.86 <sup>d</sup>	5.55±0.31 <sup>bc</sup>	0.55±0.06 <sup>d</sup>	1.57±0.05 <sup>c</sup>	1.01±0.02 <sup>ab</sup>	7233-50
31.12±0.84 <sup>dc</sup>	77.54±1.00 <sup>c</sup>	12.44±0.89 <sup>c</sup>	5.17±0.28 <sup>bcd</sup>	0.78±0.08 <sup>dc</sup>	1.82±0.02 <sup>c</sup>	0.76±0.04 <sup>ab</sup>	HM1990-1
53.20±2.00 <sup>b</sup>	42.49±0.84 <sup>e</sup>	11.80±1.04 <sup>c</sup>	3.12±0.43 <sup>d</sup>	0.81±0.05 <sup>dc</sup>	2.86±0.03 <sup>b</sup>	0.46±0.16 <sup>bc</sup>	HM1990-6

گیاهان غیرتراریخته به عنوان شاهد، † روزهای پس از آلودگی با آفت (Days after infestation). در هر ستون میانگین‌هایی که حروف غیرمشترک دارند، دارای اختلاف معنی‌دار به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪ هستند.  
Non-transgenic parental genotype were used as control.

جدول ۳- زیست سنجی پرودنیا و ارزیابی مقاومت گیاهان تراریخته نسل F<sub>1</sub>

**Table 3-** Insect bioassay of F<sub>1</sub> transgenic sugar beet plants against *Prodenia*.

مرگ و میر (%)	خسارت برگ (%)	وزن لاروهای زنده (mg)		تعداد لارو مرده		لاین	
%Mortality	%Leaf damage	Weight of live larvae		No. of dead larvae		Line	
7DAI	7DAI	3DAI	7DAI	3DAI	7DAI	3DAI†	
4.16±1.50 <sup>c</sup>	97.43±5.32 <sup>a</sup>	28.66±1.51 <sup>b</sup>	11.12±0.38 <sup>a</sup>	3.07±0.20 <sup>a</sup>	0.16±0.06 <sup>c</sup>	0±0.00 <sup>d</sup>	7233*
8.39±1.30 <sup>c</sup>	100±0 <sup>a</sup>	47.49±0.83 <sup>a</sup>	13.05±0.86 <sup>a</sup>	3.9±0.54 <sup>a</sup>	0.16±0.10 <sup>c</sup>	0±0.00 <sup>d</sup>	HM1990*
43.89±1.6 <sup>a</sup>	23.71±0.86 <sup>e</sup>	3.23±0.39 <sup>d</sup>	3.5±0.20 <sup>b</sup>	0.38±0.04 <sup>b</sup>	2.80±0.03 <sup>a</sup>	1.41±0.01 <sup>a</sup>	7233-8-29
39.47±1.74 <sup>a</sup>	32.49±0.62 <sup>dc</sup>	11.20±0.45 <sup>c</sup>	3.15±0.43 <sup>b</sup>	0.60±0.14 <sup>b</sup>	2.61±0.02 <sup>a</sup>	1.11±0.04 <sup>b</sup>	7233-8-42
30.31±1.17 <sup>b</sup>	50±0.58 <sup>c</sup>	9.33±0.63 <sup>c</sup>	4.37±0.24 <sup>b</sup>	0.45±0.09 <sup>b</sup>	1.81±0.03 <sup>b</sup>	0.9±0.03 <sup>bc</sup>	7233-8-45
45.95±0.67 <sup>a</sup>	42.44±0.85 <sup>dc</sup>	5.57±0.74 <sup>d</sup>	3.75±0.48 <sup>b</sup>	0.92±0.09 <sup>b</sup>	0.74±0.02 <sup>a</sup>	0.7±0.02 <sup>c</sup>	7233-12-12

گیاهان غیرتراریخته به عنوان شاهد، † روزهای پس از آلودگی با آفت (Days after infestation). در هر ستون میانگین‌هایی که حروف غیرمشترک دارند، دارای اختلاف معنی‌دار به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪ هستند.  
Non-transgenic parental genotype were used as control.

جدول ۴- زیست سنجی پرودنیا و ارزیابی مقاومت گیاهان چغندر قند تراریخته Bt نسل T<sub>1</sub>Table 4- Insect bioassay of T<sub>1</sub> transgenic sugar beet plants against Prodenia.

کاهش خسارت برگ (%)		کاهش وزن لاروی (mg)		مرگ و میر لاروی (%)		لاین
%Decrease in Leaf Damage		Decrease in larvae Weight		Larvae Death		Line
6DAI	3DAI	6DAI	3DAI	6DAI	3DAI†	
48.37±1.85 <sup>ghi</sup>	31.15±1.42 <sup>ef</sup>	10.96±0.05 <sup>i</sup>	0.09±0.02 <sup>i</sup>	35.00±4.78 <sup>abc</sup>	5.00±2.88 <sup>c</sup>	S18-1
49.99±0.94 <sup>fghi</sup>	36.90±1.07 <sup>cd</sup>	11.67±0.06 <sup>ef</sup>	0.68±0.03 <sup>gh</sup>	45.00±4.78 <sup>a</sup>	22.50±2.50 <sup>a</sup>	S18-12
41.91±1.19 <sup>j</sup>	33.83±1.17 <sup>de</sup>	11.73±0.08 <sup>de</sup>	0.82±0.06 <sup>efg</sup>	30.00±2.50 <sup>ab</sup>	17.50±2.50 <sup>ab</sup>	S18-15
47.89±1.12 <sup>hi</sup>	38.70±0.70 <sup>bc</sup>	11.28±0.09 <sup>gh</sup>	0.98±0.06 <sup>def</sup>	35.00±6.29 <sup>ab</sup>	7.50±4.78 <sup>bc</sup>	S32-2
58.64±1.26 <sup>bcd</sup>	40.92±0.48 <sup>b</sup>	12.17±0.06 <sup>b</sup>	1.42±0.23 <sup>ab</sup>	35.00±2.50 <sup>abc</sup>	17.50±4.78 <sup>ab</sup>	S35-3
48.45±1.38 <sup>ghi</sup>	30.30±0.90 <sup>ef</sup>	11.39±0.10 <sup>g</sup>	0.96±0.06 <sup>def</sup>	37.50±4.08 <sup>abc</sup>	12.50±2.50 <sup>abc</sup>	S36-13
63.05±2.50 <sup>abc</sup>	45.50±0.09 <sup>a</sup>	12.52±0.03 <sup>a</sup>	1.44±0.07 <sup>a</sup>	37.50±7.07 <sup>abc</sup>	15.00±2.88 <sup>abc</sup>	S37-3
58.26±1.50 <sup>cd</sup>	41.09±0.81 <sup>b</sup>	11.76±0.04 <sup>de</sup>	0.93±0.04 <sup>ef</sup>	40.00±2.50 <sup>ab</sup>	15.00±2.88 <sup>abc</sup>	S37-4
51.69±1.15 <sup>efgh</sup>	36.68±1.06 <sup>cd</sup>	11.70±0.10 <sup>e</sup>	0.58±0.09 <sup>h</sup>	25.00±4.78 <sup>bcd</sup>	15.00±2.88 <sup>abc</sup>	S37-5
51.40±2.30 <sup>efgh</sup>	28.15±1.29 <sup>fg</sup>	11.16±0.03 <sup>h</sup>	0.77±0.02 <sup>fgh</sup>	32.50±2.88 <sup>abc</sup>	15.00±2.88 <sup>abc</sup>	S38-3
45.00±1.54 <sup>ij</sup>	27.50±1.34 <sup>fg</sup>	11.28±0.05 <sup>gh</sup>	1.02±0.03 <sup>de</sup>	30.00±4.78 <sup>abcd</sup>	10.00±0.00 <sup>bc</sup>	S38-4
55.24±1.42 <sup>def</sup>	19.80±0.69 <sup>ij</sup>	11.87±0.08 <sup>de</sup>	1.18±0.09 <sup>bcd</sup>	25.00±4.08 <sup>bcd</sup>	10.00±2.50 <sup>bc</sup>	H2-3
53.88±1.74 <sup>defg</sup>	19.22±1.68 <sup>j</sup>	11.53±0.16 <sup>ef</sup>	0.91±0.04 <sup>ef</sup>	22.50±4.78 <sup>cd</sup>	15.00±4.78 <sup>abc</sup>	H2-13
56.73±1.15 <sup>de</sup>	25.76±1.17 <sup>gh</sup>	11.94±0.04 <sup>cd</sup>	1.38±0.05 <sup>ab</sup>	27.50±4.78 <sup>bcd</sup>	10.00±2.50 <sup>bc</sup>	H2-28
65.73±1.17 <sup>de</sup>	24.61±1.06 <sup>gh</sup>	11.76±0.06 <sup>de</sup>	1.33±0.08 <sup>ab</sup>	35.00±4.08 <sup>abc</sup>	22.50±2.88 <sup>a</sup>	H2-33
65.16±1.43 <sup>a</sup>	39.88±1.01 <sup>bc</sup>	12.11±0.04 <sup>bc</sup>	1.45±0.04 <sup>a</sup>	37.50±4.78 <sup>abc</sup>	17.50±4.08 <sup>ab</sup>	H2-39
54.27±1.25 <sup>def</sup>	23.13±1.62 <sup>hi</sup>	11.78±0.04 <sup>de</sup>	0.96±0.03 <sup>def</sup>	37.50±2.50 <sup>abc</sup>	10.00±2.50 <sup>bc</sup>	H2-40
47.19±2.52 <sup>hi</sup>	14.65±1.04 <sup>k</sup>	11.85±0.04 <sup>de</sup>	1.04±0.01 <sup>cde</sup>	17.50±2.50 <sup>d</sup>	10.00±2.50 <sup>bc</sup>	H3-2
62.36±2.33 <sup>abc</sup>	41.99±1.69 <sup>b</sup>	12.09±0.03 <sup>bc</sup>	1.36±0.02 <sup>ab</sup>	40.00±6.45 <sup>ab</sup>	15.00±4.78 <sup>abc</sup>	H6-3
63.86±2.34 <sup>ab</sup>	19.69±1.86 <sup>ij</sup>	11.84±0.05 <sup>de</sup>	1.26±0.03 <sup>abc</sup>	30.00±2.88 <sup>abcd</sup>	10.00±2.50 <sup>bc</sup>	H6-4
50.338±2.23 <sup>fghi</sup>	18.50±1.38 <sup>j</sup>	11.48±0.04 <sup>fg</sup>	0.96±0.02 <sup>def</sup>	32.50±4.78 <sup>abc</sup>	05.62±1.87 <sup>c</sup>	H6-8

گیاهان غیرتراریخته به عنوان شاهد، † روزهای پس از آلودگی با آفت (Days after infestation). در هر ستون میانگین‌هایی که حروف غیرمشترک دارند، دارای اختلاف معنی‌دار به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Non-transgenic parental genotype were used as control.

دادند. در ایجاد مرگ و میر روی لاروهای پرودنیا، کاهش وزن لاروی و کاهش خسارت برگ در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد. نتایج نشان داد که لاین‌های تراریخته برتر در کنار ایجاد مرگ و میر در جمعیت آفت، بر روی افراد باقیمانده

نتایج زیست سنجی آفت پرودنیا در گیاهان چغندر قند تراریخته نسل T<sub>1</sub>: نتایج حاصل از بررسی‌ها (جدول ۴) روی میزان مرگ و میر لاروها نشان داد که بین کارایی ۲۱ لاین چغندر قند تراریخته

جدول ۵- زیست سنجی کارادرینا و ارزیابی مقاومت گیاهان چغندر قند ترا ریخته Bt نسل T<sub>1</sub>

Table 5- Insect bioassay of T<sub>1</sub> transgenic sugar beet plants against Caradrina.

کاهش خسارت برگ (%)		کاهش وزن لاروی (mg)		مرگ و میر لاروی (%)		لاین
% Decrease in Leaf Damage		Decrease in larvae Weight		Larvae Death		Line
6DAI	3DAI	6DAI	3DAI	6DAI	3DAI†	
63.06±1.17 <sup>a</sup>	34.65±1.29 <sup>b</sup>	11.46±0.02 <sup>a</sup>	1.54±0.02 <sup>ab</sup>	42.50±2.50 <sup>a</sup>	20.00±2.50 <sup>ab</sup>	H2-3
53.03±1.16 <sup>b</sup>	25.51±1.13 <sup>b</sup>	11.16±0.03 <sup>de</sup>	1.33±0.04 <sup>de</sup>	22.50±4.78 <sup>cd</sup>	12.50±2.50 <sup>bcd</sup>	H2-8
62.96±1.11 <sup>a</sup>	36.58±1.15 <sup>a</sup>	11.39±0.02 <sup>ab</sup>	1.61±0.05 <sup>a</sup>	40.00±2.50 <sup>a</sup>	25.00±2.50 <sup>a</sup>	H2-13
57.13±1.10 <sup>d</sup>	29.58±1.09 <sup>d</sup>	11.31±0.03 <sup>bc</sup>	1.47±0.04 <sup>bc</sup>	30.00±2.50 <sup>abc</sup>	10.00±0.00 <sup>e</sup>	H2-27
61.26±1.21 <sup>b</sup>	24.67±1.30 <sup>b</sup>	11.04±0.03 <sup>ef</sup>	1.20±0.03 <sup>fg</sup>	20.00±2.88 <sup>d</sup>	5.00±2.88 <sup>de</sup>	H6-5
55.87±1.15 <sup>f</sup>	27.42±1.04 <sup>f</sup>	11.05±0.05 <sup>ef</sup>	1.12±0.02 <sup>g</sup>	25.00±2.50 <sup>bcd</sup>	7.50±2.50 <sup>cde</sup>	H6-7
60.07±1.30 <sup>c</sup>	33.36±1.07 <sup>c</sup>	11.20±0.03 <sup>cd</sup>	1.42±0.06 <sup>bcd</sup>	35.00±2.50 <sup>ab</sup>	12.50±2.88 <sup>bcd</sup>	H6-8
56.12±1.05 <sup>e</sup>	27.61±1.17 <sup>f</sup>	10.99±0.03 <sup>f</sup>	1.29±0.01 <sup>ef</sup>	27.50±2.88 <sup>bcd</sup>	10.00±2.50 <sup>cd</sup>	H6-9
50.91±1.14 <sup>h</sup>	23.98±1.15 <sup>i</sup>	11.11±0.05 <sup>def</sup>	1.35±0.02 <sup>cde</sup>	30.00±2.50 <sup>abc</sup>	15.00±4.78 <sup>bc</sup>	H6-12

گیاهان غیر ترا ریخته به عنوان شاهد، † روزهای پس از آلودگی با آفت (Days after infestation). در هر ستون میانگین‌هایی که حروف غیرمشترک دارند، دارای اختلاف معنی‌دار به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪ هستند.  
Non-transgenic parental genotype were used as control.

در لاین‌های S36-13، S18-15 دیده شد. به عبارت بهتر در روی این لاین‌ها میزان تغذیه لاروها کمتر از سایر لاین‌ها بود. در واقع نتایج حاصل از ارزیابی‌ها در مورد هر سه آفت مورد بررسی (کرم برگ‌خوار مصری، شب پره زمستانی و برگ‌خوار کارادرینا) نشان داد که بین لاین‌های ترا ریخته و غیر ترا ریخته (شاهد) در مورد فاکتورهای مورد ارزیابی از نقطه نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود دارد.

#### بحث

نتایج حاصل از تراریزش نشان داد که برگ جوانه کشت بافت مناسب‌ترین جداگشت برای تراریزش چغندر قند بوده و دارای مزیت‌هایی چون سادگی تهیه جداگشت، یک منبع قابل دسترس و دائمی با قابلیت باززایی بالا برای تهیه جداگشت هدف، کاهش زمان لازم برای باززایی جوانه‌های ترا ریخته به دلیل باززایی مستقیم و به حداقل رسیدن تنوع سوماکلونی به دلیل نداشتن فاز کالوس است. به طور کلی سیستم تراریزش مورد استفاده در این

نیز اثرهای آنتی‌بیوزی داشته و منجر به کاهش معنی‌دار وزن لاروها و اختلالات زیستی در آنها می‌شود.

**نتایج زیست سنجی آفت کارادرینا در گیاهان چغندر قند ترا ریخته نسل T<sub>1</sub>:** نتایج حاصل از زیست سنجی (جدول ۵) نشان داد که بر اساس نتایج سه آزمون، لاین‌های H2-3، H2-13 با توجه به مرگ و میر لاروی ۴۳-۲۰ درصد، کاهش وزن لاروی ۱۱/۵-۱۰/۹ میلی‌گرم و کاهش خسارت برگ ۶۳-۵۱ درصد در روز ششم، به عنوان مؤثرترین لاین‌های ترا ریخته در کنترل آفت برگ‌خوار کارادرینا هستند.

**نتایج زیست سنجی آفت آگروتیس در گیاهان چغندر قند ترا ریخته نسل T<sub>1</sub>:** نتایج حاصل از بررسی‌ها (جدول ۶) در آزمایش اول روی میزان مرگ و میر لاروها، در آزمایش دوم روی میزان کاهش وزن لاروها و در آزمایش سوم روی کاهش میزان خسارت ناشی از تغذیه لاروها نشان داد که بین ۱۶ لاین چغندر قند ترا ریخته از نظر این صفات اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. کمترین میزان خسارت در برگ‌های مورد بررسی به ترتیب

جدول ۶- زیست سنجی آگروتیس و ارزیابی مقاومت گیاهان چغندر قند تراریخته Bt نسل T<sub>1</sub>Table 6- Insect bioassay of T<sub>1</sub> transgenic sugar beet plants against Agrotis.

خسارت برگ (%)		وزن لاروهای زنده (mg)		مرگ و میر لاروی (%)		لاین
% Leaf damage		Weight of live larvae		No. of dead larvae		Line
6DAI	3DAI	6DAI	3DAI	6DAI	3DAI <sup>†</sup>	
47.56±1.40 <sup>f</sup>	31.79±1.96 <sup>i</sup>	10.01±0.03 <sup>f</sup>	0.21±0.06 <sup>g</sup>	12.50±2.50 <sup>abc</sup>	2.50±2.50 <sup>ns</sup>	S18-1
51.51±1.55 <sup>c</sup>	33.53±1.42 <sup>g</sup>	10.10±0.08 <sup>ef</sup>	0.88±0.08 <sup>f</sup>	5.00±2.88 <sup>bc</sup>	2.50±2.50 <sup>ns</sup>	S18-8
53.65±1.38 <sup>a</sup>	38.95±1.13 <sup>a</sup>	10.78±0.05 <sup>a</sup>	1.41±0.06 <sup>abc</sup>	10.00±0.00 <sup>abc</sup>	2.50±2.50 <sup>ns</sup>	S18-15
51.92±2.25 <sup>bc</sup>	37.00±1.57 <sup>bc</sup>	10.48±0.04 <sup>bc</sup>	1.20±0.03 <sup>de</sup>	7.50±2.50 <sup>bc</sup>	5.00±2.88 <sup>ns</sup>	S32-2
52.78±1.18 <sup>ab</sup>	37.29±1.45 <sup>b</sup>	10.60±0.07 <sup>ab</sup>	1.50±0.07 <sup>ab</sup>	12.50±4.78 <sup>abc</sup>	2.50±2.50 <sup>ns</sup>	S35-3
53.64±2.10 <sup>a</sup>	39.30±2.18 <sup>a</sup>	10.76±0.03 <sup>a</sup>	1.57±0.08 <sup>a</sup>	20.00±4.08 <sup>a</sup>	7.50±2.50 <sup>ns</sup>	S36-13
51.06±1.57 <sup>cd</sup>	34.42±1.56 <sup>f</sup>	10.36±0.05 <sup>cd</sup>	1.24±0.02 <sup>cde</sup>	10.00±4.08 <sup>abc</sup>	5.00±2.88 <sup>ns</sup>	S37-2
45.75±1.47 <sup>g</sup>	33.29±1.53 <sup>gh</sup>	9.96±0.05 <sup>f</sup>	1.34±0.01 <sup>bcd</sup>	2.50±2.50 <sup>c</sup>	2.50±2.50 <sup>ns</sup>	H2-2
51.98±2.10 <sup>bc</sup>	37.11±1.64 <sup>bc</sup>	10.67±0.03 <sup>ab</sup>	1.45±0.06 <sup>abc</sup>	15.00±2.88 <sup>ab</sup>	2.50±2.50 <sup>ns</sup>	H2-5
46.45±1.38 <sup>fg</sup>	36.20±1.21 <sup>d</sup>	9.99±0.07 <sup>f</sup>	1.28±0.07 <sup>cde</sup>	10.00±4.08 <sup>abc</sup>	7.50±2.50 <sup>ns</sup>	H2-6
49.76±1.16 <sup>e</sup>	32.83±2.31 <sup>h</sup>	10.14±0.06 <sup>ef</sup>	1.15±0.02 <sup>e</sup>	5.00±2.88 <sup>bc</sup>	2.50±2.50 <sup>ns</sup>	H2-7
45.29±2.21 <sup>g</sup>	31.60±1.83 <sup>i</sup>	10.11±0.04 <sup>ef</sup>	1.44±0.06 <sup>abc</sup>	7.50±2.50 <sup>bc</sup>	2.50±2.50 <sup>ns</sup>	H3-2
50.17±2.32 <sup>de</sup>	35.27±1.42 <sup>e</sup>	10.01±0.09 <sup>f</sup>	1.38±0.03 <sup>abcd</sup>	10.00±4.08 <sup>abc</sup>	2.50±2.50 <sup>ns</sup>	H3-4
51.29±1.72 <sup>cd</sup>	36.25±1.40 <sup>d</sup>	10.25±0.05 <sup>de</sup>	1.15±0.03 <sup>e</sup>	7.50±2.50 <sup>bc</sup>	2.50±2.50 <sup>ns</sup>	H6-3
46.29±1.64 <sup>g</sup>	31.76±1.51 <sup>i</sup>	10.21±0.05 <sup>de</sup>	0.93±0.03 <sup>f</sup>	7.50±2.50 <sup>bc</sup>	5.00±2.88 <sup>ns</sup>	H6-4
49.27±1.20 <sup>e</sup>	36.64±1.87 <sup>cd</sup>	10.13±0.05 <sup>ef</sup>	1.44±0.03 <sup>abc</sup>	10.00±4.08 <sup>abc</sup>	2.50±2.50 <sup>ns</sup>	H6-10

گیاهان غیرتراریخته به عنوان شاهد، † روزهای پس از آلودگی با آفت (Days after infestation). در هر ستون میانگین‌هایی که حروف غیرمشترک دارند، دارای اختلاف معنی‌دار به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Non-transgenic parental genotype were used as control.

این تحقیق موفق به تولید گیاهان چغندر قند تراریخته حاوی ژن *cry1Ab* تحت کنترل دو پیشبر مختلف 35S CaMV و PEPC و از هر دو نوع ژنوتیپ 7233 و HM1990 چغندر قند شد. به طور کلی لاین‌های تراریخته حاصل در مقایسه با گیاهان کنترل در برابر آفت پرودنیا مقاومت مناسبی نشان دادند، اگر چه مقاومت ۱۰۰٪ در این گیاهان مشاهده نشد که ممکن است به دلیل سطح ناکافی پروتئین Cry1Ab تولید شده و همچنین حساسیت پایین آفت مذکور نسبت به این توکسین باشد. همچنین بین لاین‌های تراریخته تحت کنترل هر دو پیشبر تنوع و تفاوت در درصد مرگ

پژوهش که برگرفته از دو روش تراریزش هیسانو و همکاران (۲۰۰۴) و نوروزی و همکاران (۲۰۰۵) بود (Hisano et al., 2004; Norouzi et al., 2005)، یک روش تکرارپذیر و با کارایی بالا برای تولید گیاهان چغندر قند تراریخته در مقیاس وسیع است. بر اساس منابع علمی قابل دسترس پژوهش‌های بسیار محدودی مبنی بر ایجاد چغندر قند مقاوم به حشرات آفت به خصوص با استفاده از ژن‌های *Bt* وجود دارد و فقط یک گزارش توسط کیموتو و شیماموتو (۲۰۰۲)، ارائه شده است (Kimoto and Shimamoto, 2002) و چغندر قند *Bt* تجاری در دنیا وجود ندارد.

آنرا از یک سو به علت تفاوت حساسیت گونه‌ها در مقابل توکسین ایجاد شده توسط باکتری و از سوی دیگر به دلیل تفاوت در جثه لاروها در گونه‌های مختلف و نیاز به مقدار توکسین بیشتر برای تاثیر همسان روی لاروهای با جثه درشت‌تر دانست. شاید به همین دلیل در گونه آگروتیس که نسبت به دو گونه دیگر لاروهای درشت درشت‌تر دارد تاثیر کمتری دیده شد. خاصیت ضد تغذیه‌ای یکی از اثرهای مثبت باکتری Bt است که به عنوان یکی از جنبه‌های مفید در مبارزه بیولوژیک نیز بررسی می‌شود. این عکس العمل در بین لاروهای تغذیه شده از برگ ترا ریخته (به ویژه در آگروتیس) نیز مشهود بود. در واقع می‌توان این موضوع را یک نوع مقاومت آنتی بیوزی به شمار آورد که با ایجاد اختلال در فیزیولوژی آفت موجب می‌شود. این موضوع از نظر علم مدیریت آفات حائز اهمیت است. زیرا نه تنها تغذیه شدیدی انجام نمی‌شد بلکه در چنین شرایطی، لاروهای آفت به دلیل افزایش طول دوره زیستی، مدت زمان بیشتری در معرض پرداتورها و پارازیتوئیدها قرار می‌گیرند. لاروهایی که در اثر تغذیه از گیاه ترا ریخته در آزمایش‌های انجام شده زنده ماندند، طول دوره لاروی در آنها افزایش یافته و وزن لاروهای باقیمانده نسبت به شاهد به شدت کاهش نشان داد. این موضوع توسط باجوا و همکاران (۲۰۰۱)، در قالب اثرهای ذره‌ای زیرکشنده Bt شامل کاهش تغذیه، کاهش طول عمر لاروی و بالغین، کاهش باروری و کاهش وزن لارو و حشرات بالغ ذکر شده است (Bajuwa and Kogan, 2001). عده‌ای از لاروهای زنده مانده در آزمایش در مرحله انتقال لارو به شفیره، توانایی رفتن به این مرحله را نداشته و در حالی که لارو طول بدن خود را کم و پاهای خود را جمع کرده و آماده رفتن به مرحله شفیرگی بود ولی نمی‌توانست این مرحله را پشت سر بگذارد، براین اساس در همین وضعیت می‌مرد. لاروهایی که در طول زمان‌های متفاوت از گیاه ترا ریخته تغذیه کرده ولی در پایان آزمون زنده بودند با گذشت زمان نسبت به لاروهای شاهد از نظر رشد دچار عقب افتادگی شده بودند به طوری که وقتی لاروهای شاهد به سن سوم رسیدند لاروهای تیمار در سن دوم توقف کرده بودند. نتایج پژوهش حاضر که در قالب بررسی کاهش وزن لاروهای تغذیه کننده از لاین‌های ترا ریخته، کاهش تغذیه و در نتیجه کاهش

و میر آفت و خسارت برگ مشاهده شد که می‌تواند ناشی از تفاوت در سطح بیان توکسین Bt در نتیجه اثرهای اپی ژنتیک مانند تعداد نسخه، اثرهای موضعی در محل تلفیق و یا متیله شدن تراژن، شرایط آزمایش‌های زیست سنجی و تا حدودی به دلیل تفاوت فیزیولوژیک بین لاروها (Fujimoto *et al.* 1998) باشد. رجوو و همکاران (۱۹۹۶)، گزارش کردند که پروتئین CryIC قادر به کنترل آفت جنس پرو دنیا است (Regev *et al.* 1996) در حالی که داتون و همکاران (۲۰۰۲ و ۲۰۰۵)، گزارش کردند که پروتئین CryIAb آفت پرو دنیا را کنترل کرده و اثرهای نامطلوبی بر روی این آفت دارد (Dutton *et al.* 2002; Dutton *et al.* 2005)، همانطور که در این تحقیق نیز گزارش شد. کوزییل و همکاران (۱۹۹۳)، کنترل کامل آفت کرم ساقه‌خوار ذرت توسط تعدادی از گیاهان ترا ریخته حاوی ژن *cryIAb* تحت کنترل پیشبر PEPC در ترکیب با پیشبر اختصاصی دانه گرده گزارش کردند (۲۸). قره‌یاضی و همکاران (۱۹۹۷) و داتا و همکاران (۱۹۹۸)، مقاومت ۱۰۰٪ در برابر کرم ساقه‌خوار زرد و حسنین و همکاران (۲۰۰۲)، مقاومت ۱۷٪ نسبت به کرم ساقه‌خوار زرد و مقاومت ۵۳٪ نسبت به کرم برگ‌خوار برنج در گیاهان برنج ترا ریخته حاوی ژن *cryIAb* تحت کنترل پیشبر PEPC را گزارش کردند (Husnain *et al.* 2002; Dutton *et al.* 1998; Ghareyazie *et al.* 1997). علی‌نیا و همکاران (۲۰۰۱)، تاثیر کشنده برنج ترا ریخته طارم مولایی در بردارنده ژن *cryIAb* تحت کنترل پیشبر PEPC را بر روی چهار نوع آفت پروانه‌ای برنج نشان دادند (Alinia *et al.* 2001). براقا و همکاران (۲۰۰۳)، نیز نتیجه گرفتند که گیاهان نیشکر ترا ریخته حاوی ژن *cryIAb* تحت کنترل پیشبر PEPC مقاومت بهتری در مقایسه با پیشبر pith در برابر آفت ساقه‌خوار نیشکر دارند (Braga *et al.* 2003). با توجه به نتایج حاصل از زیست سنجی در این پژوهش، می‌توان نتیجه گرفت که اگر چه دامنه مقاومت در گیاهان ترا ریخته تحت کنترل پیشبر PEPC متنوع است ولی این گیاهان تقریباً سطح مقاومت مشابهی با گیاهان ترا ریخته تحت کنترل پیشبر CaMV35S نشان دادند. در زیست سنجی گیاهان نسل T<sub>1</sub> میزان مرگ و میر حادث شده در لاروهای آفات پرو دنیا و کارادرینا تا حدودی رضایت بخش بود اما در آگروتیس مرگ و میر کمتری اتفاق افتاد که می‌توان دلیل

مورد ارزیابی از نقطه نظر آماری تفاوت معنی دار وجود دارد. با توجه به پژوهش‌های محدود انجام یافته در مورد مقاومت به حشرات آفت در چغندر قند، لازم است پژوهش‌های بیشتری در مورد ایجاد چغندر قند مقاوم به آفات با استفاده از ژن‌های مختلف *Bt* و یا در ترکیب با دیگر ژن‌های رمز کننده مقاومت انجام گیرد. توصیه می‌شود آزمایش‌های ارزیابی کارایی لاین‌های تراریخته چغندر قند روی سایر آفات پروانه‌ای چغندر قند (در مراحل مختلف و نسل‌های بعد) و در صورت امکان تحت شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای نیز انجام گیرد. بر اساس یافته‌های این پژوهش احتمالاً بتوان لاین‌های تراریخته مورد بررسی را به عنوان یکی از ابزارهای قابل استفاده در برنامه مدیریت تلفیقی آفات (IPM) چغندر قند معرفی کرد که در کنار سایر روش‌های غیر شیمیایی در تولید محصولات عاری از سموم شیمیایی مؤثر باشد.

#### تشکر

نویسندگان لازم می‌دانند از همکاری و مساعدت مسئولین محترم موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی و موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور جهت تامین امکانات لازم در مراحل مختلف اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی کنند.

#### منابع

1. Aghel Pasand H. 2010. Assessment of tolerance of transgenic T<sub>1</sub> lines of sugar beet against *Rhizomonina*. 19<sup>th</sup> Iranian Plant Production Congress. Plant Production Research Institute. July 30 – Aug. 2 2010. Tehran, Iran (in Farsi).
2. Alinia, F., Ghareyazie, B., Rubia, L., Bennett, J., and Cohen, M.B. (2001). Expression of effect of plant age, larval age, and fertilizer treatment on resistant of a *cryIAb*-transformed aromatic rice to lepidopteran stem borers and foliage feeders. *J. Econ. Entomol.* 93:484-493.
3. Asadi G. 1994. Biological studies on *Agrotis segetum* Schitt (Lep. Noctuidae) and strategies for its control in sugar beet fields of Shirvan MSc thesis, Tarbiat Modarres University (in Farsi).
4. Ananymus. (2010). Debate over GM sugar beets:

US court allows planting and harvest. [www.gmo.compass.org.eng/news](http://www.gmo.compass.org.eng/news).

5. Bajwa, W.I. and M.Kogan. (2001). Integrated plant protection center (IPPC) Oregon State University, Corvallis.

6. Behdad A. 1997. Insect Pests of Crop Plants. Neshat Publisher, Isfahan, Iran (in Farsi).

7. Braga, D.P.V., Arrigoni, E.D.B., Silva-Filho, M.C., and Ulian, E.C. (2003). Expression of the *CryIAb* protein in genetically modified sugarcane for the control of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). *J. of New Seeds.* 5(2/3): 209-221.

8. Darmency, H., Vigouroux, Y., Garambe, T.G., Richard-Molard, M. and Muchembled, C. (2007). Transgene escape in sugar beet production fields: data from six years farm scale monitoring. *Environ.*

خسارت ایجاد شده در گیاهان تراریخته بود طبق یافته‌های باجوا و همکاران (۲۰۰۱)، قابل توجیه است (Bajuwa and Kogan, 2001). به طور کلی لاین‌های تراریخته حاصل در مقایسه با گیاهان شاهد در برابر آفت مذکور با ایجاد اثرهای نامطلوب در روند رشد و نمو و بازدارندگی از تغذیه آفت، مقاومت نسبتاً خوبی نشان دادند.

اگرچه چغندر قند یک گیاه صنعتی بوده و بیشتر ریشه آن مورد استفاده قرار می‌گیرد و استفاده مستقیم خیلی کمی دارد با این حال برای کاهش نگرانی‌های عمومی مبنی بر استفاده از چغندر قند تراریخته و همچنین به عنوان یک استراتژی مدیریت مقاومت به آفت در این پژوهش از پیشبر PEPC (اختصاصی بافت سبز) برای محدود کردن بیان ژن انتقالی به برگ استفاده شد. این اولین گزارش در مورد استفاده از پیشبر درگیر در مسیر فتوسنتزی C4 در چغندر قند است. به طور کلی گیاهان تراریخته حاصل هیچ مشخصه غیرعادی مورفولوژیک نشان ندادند و روند رشدی کاملاً مشابهی با گیاهان غیرتراریخته مربوط به خود داشتند با این حال، خصوصیات زراعی و این همانی آنها با گیاهان غیرتراریخته باید مورد بررسی‌های بعدی قرار گیرد. نتایج زیست سنجی گیاهان T<sub>1</sub> با سه آفت پروانه‌ای مهم مزارع چغندر قند مقاومت نسبتاً خوبی را در تعدادی از گیاهان تراریخته حاصل تایید کرد. نتایج حاصل از ارزیابی‌ها در مورد هر سه آفت مورد بررسی نشان داد که بین لاین‌های تراریخته و غیر تراریخته (شاهد) در مورد فاکتورهای

- Biosafety Res. 6: 197-206.
9. Datta, K., Vasquez, A., Tu, J., Torrizo, L., Alam, M.F., Oliva, N., Abrigo, E., Khush, G.S. and Datta, S.K. (1998). Constitutive and tissue specific differential expression of the *cryIAb* gene in transgenic rice plants conferring resistance to rice insect pest. *Theor. Appl. Genet.* 97: 20-30.
  10. Draycott, A.P. (2006). *Sugar Beet*. Wiley-Blackwell, London. 496pp.
  11. Dutton, A., Klein, H., Romeis J., and Bigler, F. (2002). Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecol. Entomol.* 27: 441-447.
  12. Dutton, A., Romeis, J., and Bigler, F. (2005). Effects of Bt-maize expressing Cry1Ab and Bt-spray on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Entomol. Exp. Appl.* 114: 161-170.
  13. Fujimoto, H., Itoh, K., Yamamoto M., Kyojuka, J., and Shimamoto, K. (1993). Insect resistant rice generated by introduction of a modified endotoxin gene of *Bacillus thuringiensis*. *Bio/technology.* 11: 1151-1155.
  14. Ghadiri V., Arjmand M.N. and Shimi P. 2004. Pests, diseases and weed of sugar beet and integrated pest management. Nashr Amoozesh Keshavarzi publisher, Tehran, Iran (in Farsi).
  15. Ghareyazie, B., Alinia, F., Menguito, C.A., Rubia, L.G., Palma, J.M., Liwanag, E.L., Cohen, M.B., Khush, G.S., and Bennett, J. (1997). Enhanced resistance to two stem borers in an aromatic rice containing a synthetic *cryIAb* gene. *Mol. Breeding.* 3:401-414.
  16. Halluin, K.D., Bossut, M., Bonne, E., Mazur, B., Leemans, J., and Botterman, J. (1992). Transformation of sugar beet and evaluation of herbicide resistance in transgenic plants. *Bio/Technol.* 10: 309-315.
  17. Hatami B. 1991. Field trial guidelines in plant pathology. Arkan Publisher. Isfahan, Iran (in Farsi).
  18. Hilder, V.A. and Boulter, D. (1999). Genetic engineering of crop plants for insect resistance. *Crop production.* 18: 177-191.
  19. Hisano, H., Kimoto, Y., Hayakawa, H., Takeichi, J., Domae, T., Hashimoto, R., Abe, J., Asano, S., Kananzawa, A. and Shimamoto, Y. (2004). High frequency Agrobacterium-mediated transformation and plant regeneration via direct shoot formation from leaf explants in *Beta vulgaris* and *Beta maritima*. *Plant Cell Rep.* 22: 910-918.
  20. Husnain, T., Asad, J., Maqbool, S.B., Datta, S.K. and Riazuddin, S. (2002). Variability in expression of insecticidal *cryIAb* gene in Indica Basmati rice. *Euphytica.* 128: 121-128.
  21. Ivic-Haymes, S.D. and Smigocki, A.C. (2005). Identification of highly regenerative plants within sugar beet (*Beta vulgaris* L.) breeding lines for molecular breeding. *In Vitro Cell Dev. Plant.* 41:483-488.
  22. Kheiri M. 1990. Most Important pests of sugar beet and their control. Agricultural Research, Education and Extension organization (in Farsi).
  23. Kimoto, Y. and Shimamoto, Y. (2002). Difference in toxicity to larvae of cabbage armyworm between transgenic sugar beet lines with Cry1Ab and Cry1C. *Journal of Proceedings of the Japanese Society of Sugar Beet Technologists.* 43: 20-23.
  24. Kishchenko, E.M., Komarnitskii, I.K., and Kuchuk, N.V. (2005). Production of transgenic sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants resistant to phosphinothricin. *Cell Biol. Int.* 29: 15-19.
  25. Koziel, M.G., Beland, G.L., Bowman, C., Carozzi, N., Crensham, R., Crossland, L., Dawson, J., Desai, N., Hill, M., Kadwell, S., Launis, K., Lewis, K., Maddox, D., McPherson, K., Meghji, M., Merlin, E., Rhodes, R., Warren, G.W., Wright, M., and Evola, S. (1993). Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. *Nat. Biotechnol.* 11:194-200.
  26. Lennefors, B.L., Savenkov, E.I., Bensefelt, J., Wremerth-Weich, E., Roggen, P., Tuveesson, S., Valkonen, J.P.T., Gielen, J. (2006). dsRNA-mediated resistance to Beet Necrotic Yellow Vein Virus infections in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Mol. Breeding.* 18:313-325.
  27. Mannerlof, M., Lennerfors, B.L., and Tenning, P. (1996). Reduced titer of BNYVV in transgenic sugar beets expressing the BNYVV coat protein. *Euphytica.* 90: 293-299.
  28. Mannerlof, M., Tuveesson, S., Steen, P., and Tenning, P. (1997). Transgenic sugar beet tolerant to glyphosate. *Euphytica.* 94: 83-91.
  29. Mardani H. 2010. Stability of Inheritance of Plantibody Conferring Rhizomonina resistance in transgenic sugar beet. 11<sup>th</sup> Iranian Genetic Congress May 21-23, 2010. Tehran, Iran (in Farsi).
  30. Mirderikvand M, Ghareyazie B. and Zargham N. 1999. Assessment of economic potentials for Agricultural Biotechnology in Iran. Agricultural Research and Extension Organization (in Farsi).
  31. Mohammadzadeh R. 2010. Transformation of sugar beet using a polygalacturonidase inhibitor proteins for enhanced fungal disease tolerance. 19<sup>th</sup> Iranian Plant Production Congress, Plant Production Research Institute, July 30 – Aug 2, 2010. Tehran, Iran (in Farsi).
  32. Norouzi, P., K. Zamani, Malboobi, M.A., and Yazdi-Samadi, B. (2005). Using a competent tissue for efficient transformation of sugar beet (*Bata vulgaris* L.). *In Vitro Cell Dev. Plant.* 41: 11-16.
  33. Regev, A., Keller, M., Strizhov, N., Sneh, B., Prudovsky, E., Chet, I., Ginzberg, I., Koncz-Kalman, Z., Koncz, C., Schell, J., Zilberstein, A. (1996). Synergistic activity of a *Bacillus thuringiensis* d-endotoxin and a bacterial endochitinase against *Spodoptera littoralis* larvae. *Appl. Environ. Microb.*

62: 3581–3586.

34. Rivany, E. (1962). Field crop pests in the near east. Uitgeverij Dr.W.Junk-Den. Haag. 450 pp.

35. Saeglitz, C., Pohl, M. and Bartsch, D. (2000). Monitoring gene flow from transgenic sugar beet using cytoplasmic male-sterile bait plants. *Molecular Ecology*. 9: 2035-2040.

36. Sambrook, J. and Russell, D.W. (2001). *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, USA.

37. Smigocki, A.C. (2001). Engineering sugarbeets with multiple proteinase inhibitor genes for enhanced tolerance to sugarbeet root maggot. Sugarbeet Development Foundation Research Report. United States Department of Agriculture (USDA), NY, USA.

P. 17-24.

38. Smigocki, A.C., Ivic, S.D., Wilson, D., Wozniak, C.A., Campbell, L., Dregseth, R., and Boetel, M. (2003). Molecular approaches for control of the sugar beet root maggot. 1st joint IIRB-ASSBT Congress, 26th Feb-1st March, San Antonio, USA. P. 419–428.

39. Strizhov, N., Schell, J., Zilberstein, A., Keller, M., Sneh, B., and Koncz, C. (2000). Synthetic *Bacillus thuringiensis cry1C* gene encoding insect toxin. United States Patent: 6043415.

40. Wilhite, S.E., Elden, T.C., Puizdar, V., Armstrong, S., and Smigocki, A.C. (2000). Inhibition of aspartyl and serine proteinases in midgut of sugar beet root maggot with proteinase inhibitors. *Entomol. Exp. Appl.* 97:229-233.