مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
دوره اول، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۱
صفحه ۶۲-۴۹

بررسی آخرین وضعیت تولید چغندرقند تراریخته مقاوم به آفات در ایران و جهان

پیمان نوروزی[۱*]، مراد جعفری[۲]، بهزاد قره‌یاضی[۳]، محمدعلی ملبوبی[۴]، محمدرضا رضاپناه[۵]

۱- موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذرچغندرقند
۲- دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه
۳- پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی
۴- پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری
۵- موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور
* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: norouzi@sbsi.ir

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

چکیده

در این مقاله ابتدا مروری بر تحقیقات انجام شده در زمینه تولید چغندرقند تراریخته مقاوم به آفات (در مفهوم عام شامل حشرات آفت، بیماری ها و علف های هرز) در جهان و نیز اشاره ای به ملاحظات ایمنی زیستی چغندرقند تراریخته خواهد شد و سپس به نتایج پژوهش های انجام شده در ایران در زمینه تولید گیاهان چغندرقند تراریخته حامل ژن *Bt* و زیست سنجی و ارزیابی خسارت آفات مذکور بر روی چند لاین تراریخته چغندرقند حامل ژن *cry1Ab* نسل T_0 ، F_1 و T_1 خواهیم پرداخت. در آزمایش های زیست سنجی با لارو سه نوع آفت پرودنیا، کاردرینا و آگروتیس، لاین های تراریخته از نظر صفات میزان مرگ و میر لارو، کاهش وزن لاروی و کاهش خسارت ایجاد شده روی برگ میزبان مورد مقایسه آماری قرار گرفتند. نتایج آزمایش زیست سنجی لاین های تراریخته نسل T_0 و F_1 بیان ژن و مقاومت گیاهان تراریخته را بر علیه کرم برگخوار پرودنیا نسبت به شاهد نشان داد. همچنین بر اساس نتایج زیست سنجی لاین های تراریخته نسل T_1، مشخص شد که لاین S37-3 با ۳۸ درصد مرگ و میر لاروی، ۱۲/۵ میلی گرم 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 میلی گرم کاهش وزن لاروی و ۶۳ درصد کاهش خسارت برگ (در مورد آفت کاردرینا) و لاین S36-13 با ۲۰ درصد مرگ ومیر لاروی، ۱۰/۸ میلی گرم کاهش وزن لاروی و ۵۴ درصد کاهش خسارت برگ (در مورد آفت اگروتیس) به عنوان برترین لاین های نسل T_1 از گیاهان تراریخته چغندرقند هستند.

واژه‌های کلیدی

چغندرقند
ژن *cry1Ab*
پرودنیا
کاردرینا
اگروتیس

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.1.7.4]

مقدمه

چغندرقند 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). چغندرقند 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). تنش های 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 می برند (Hilder and Boulter, 1999).

چغندرقند متحمل به علف‌کش

ژن‌های مختلفی برای ایجاد گیاهان چغندرقند 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 گلوفسینات 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 چغندرقند منتقل شده‌اند. از بین گیاهان چغندرقند تراریخته ایجاد شده در جهان، این محصول از سال ۲۰۰۹ میلادی تنها در آمریکا به صورت تجاری در سطح وسیع کشت می‌شود. طبق این گزارش تقریبا کل سطح کشت چغندرقند در آمریکا معادل ۴۷۵ هزار هکتار در سال ۲۰۰۹ از نوع تراریخته بوده است. چغندرقند تراریخته 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 چغندرقند می‌شود (Ananymus, 2010).

به موازات پیشرفت در زمینه مهندسی ژنتیک چغندرقند، سوالاتی نیز در مورد اثرهای احتمالی ارقام تراریخته مطرح شده است که هر یک درجای خود می‌تواند مورد بحث علمی قرار گرفته و پاسخ داده شود. در این قسمت اشاره‌ای به ملاحظات ایمنی زیستی مرتبط با چغندر تراریخته مقاوم به علف کش می‌شود.

مهاجرت و انتشار ژن

جهت بررسی شار ژنی از چغندر تراریخته 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 چغندرقند تراریخته یکی مقاوم به علف‌کش گلیفوسینات و دیگری مقاوم به علف‌کش رانداپ استفاده شد. انتقال مستقیم دانه گرده از چغندر تراریخته به ساقه رفته در سال اول به چغندر علفی[1] 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. ضمنا بذور مقاوم به علف‌کش از نتاج چغندر علفی زمانی ایجاد می‌شدند که فاصله بوته‌های والدی آنها از چغندر تراریخته حداکثر ۱۱۲ متر بوده است (Darmency *et al*., 2007). در آزمایش دیگر برای تعیین میزان شار ژنی دانه گرده چغندر تراریخته از گیاهان نرعقیم 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 تراریخته 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 تراریخته مقاوم به ساقه روی و حذف ساقه رفته‌های سال اول (با توجه به آنکه چغندرقند 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 تراریخته و چغندرهای یک ساله باشند، شار ژنی را در زراعت چغندرقند به تاخیر انداخت (Darmency *et al*., 2007). همچنین

1 -Weed beet

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.1.7.4]

در مزارع تولید بذر چغندر تراریخته نیز می‌توان با حصر فیزیکی چغندر تراریخته 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 ریزومونیا و آفات حشره‌ای

برای ایجاد مقاومت به بیماری ریزومانیا به چغندرقند عمدتا 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 چغندرقند وجود دارد. ژن‌های رمزکنندهٔ بازدارنده‌های پروتئازی (PI) جهت مقاومت به آفت مگس ریشه (Root maggot) به چغندرقند انتقال داده شده است (Wilhite *et al.*, 2000; Smigocki *et al.*, 2003; Smigocki, 2001). استریزوف و همکاران (۲۰۰۰)، گزارش کردند که ژن تغییر یافته *cry1C* در گیاهان تراریخته یونجه و سیب زمینی قادر به کنترل حشراتی همچون کارادرینای چغندرقند است (Strizhov *et al.*, 2000). کیموتو و شیماموتو (۲۰۰۲)، به منظور ایجاد مقاومت به کرم کلم (*Mamestra brassicae*)، ژن‌های *cry1Ab* و *cry1Ac* را تحت کنترل پیشبر CaMV35S توسط آگروباکتریوم تومه‌فاسینس به چغندرقند 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 تراریخته حاوی *cry1c* 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 چغندرقند می‌شود را به چغندرقند وارد کردند (Smigocki *et al.*, 2003). هیسانو و همکاران (۲۰۰۴)، با معرفی یک روش جدید به منظور تولید گیاهان تراریخته با فراوانی بالا، ژن‌های *cry1Ab*، *cry1C* و *chi* را تحت کنترل پیشبر CaMV35S به چغندرقند زراعی و گونهٔ 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 چغندرقند مقاوم به آفات حشره‌ای Bt تجاری وجود ندارد.

وضعیت تولید چغندرقند تراریخته در ایران

در سال‌های اخیر در داخل کشور نیز پژوهش‌های زیادی در زمینه انتقال ژن‌های مهندسی شده به چغندرقند به منظور ایجاد مقاومت در برابر آفات پروانه‌ای در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی و موسسه تحقیقات چغندرقند (نوروزی، قره یاضی و ملبوبی، نتایج منتشر نشده)، در برابر آفات سخت بالپوش چغندرقند در دانشگاه ارومیه (جعفری، نتایج منتشر نشده)، بیماری‌های ویروسی عمدتا ریزومانیا (ملبوبی، نتایج منتشر نشده)، مقاومت در برابر بیماری‌های قارچی چغندرقند (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 چغندرقند (Aghel Pasand, 2010)، ژن پلانتی بادی ویروس ریزومانیا به چغندرقند (Mardani, 2010)، ژن‌های *PGIP1&2* برای ایجاد مقاومت برعلیه بیماری‌های قارچی چغندرقند (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 پرودنیا (*Spodoptera littoralis*)، کرم برگ‌خوار چغندرقند یا کارادرینا (*Spodoptera exigua*) و کرم طوقه‌بر یا آگروتیس (*Agrotis segetum*) هستند که هر ساله خسارت قابل توجهی به مزارع چغندرقند وارد می‌کنند (Asadi, 1994; Behdad, 1997; Kheiri, 1990; Ghadiri, 2004; Mirderikvand, 1999; Rivany, 1962). در واقع گیاهان تراریخته به نوعی با دارا بودن ترکیباتی از باکتری باسیلوس تورینجینسیس موجب از بین رفتن آفت و یا کاهش میزان رشد آن

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.1.7.4]

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 چغندرقند تراریخته Bt و زیست سنجی و ارزیابی خسارت آفات پرودنیا، کارادرینا و آگروتیس بر روی چند لاین تراریخته چغندرقند حامل ژن *cry1Ab* نسل T_0، F_1 و T_1 اشاره می‌شود.

مواد و روش ها

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

تهیهٔ سازه‌های ژنی: سازه‌های **ژنی** حاوی ژن *cry1Ab* تحت کنترل پیشبر CaMV 35S و یا PEPC به روش سمبروک و راسل (۲۰۰۱) از پلاسمید های اولیه انجام گرفت (Sambrook and Russell, 2001). سازه‌های جدید به ترتیب به اسامی pBI35Scry و pBIPEPcry نامگذاری شدند.

تراریزش چغندرقند: مراحل کشت آگروباکتری، تلقیح بافت گیاهی، انتقال به محیط کشت توام و گزینش جوانه‌های تراریخته 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_1 و F_1: گیاهان تراریخته نسل T_0 به صورت رویشی (کلون) تکثیر شدند. برای بدست آوردن بذر T_1 کلون‌های مختلف یک رخداد تراریخته با یکدیگر تلاقی داده شدند (خودگشنی). برای تهیه نسل F_1، گیاه تراریخته T_0 با لاین 231 نرعقیم سیتوپلاسمی (CMS#231) تلاقی داده شد و بذرها جمع‌آوری شدند.

زیست سنجی گیاهان تراریخته نسل T_0 و F_1: با همکاری موسسه تحقیقات گیاهپزشکی، دسته‌های تخم حشره پرودنیا، یکی از آفات پروانه‌ای مهم مزارع چغندرقند ایران، از مزارع گرگان و دزفول جمع‌آوری شدند و در ظروف حاوی مواد غذایی لازم قرار گرفتند. تعداد هفت لارو سن اول (۲۴-۰ ساعته)در یک مرحله بر روی برگ گیاهان تراریخته چغندرقند حاوی ژن *cry1Ab* و گیاه غیرتراریخته به عنوان شاهد در پتری‌دیش حاوی کاغذ صافی استریل مرطوب گذاشته و بوسیله پارافیلم بسته شد. برای هر لاین تراریخته سه تکرار در نظر گرفته شد. نمونه‌ها به اتاقک رشد با شرایط دمایی $20\pm2^{\circ}C$، 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_1: برای هر یک از سه آفت پرودنیا، کارادرینا و اگروتیس به طور جداگانه در قالب طرح کاملا 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 تراریخته نسل T_1 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 تراریخته بود. این آزمایش‌ها در سه مرحله و در شرایط محیطی دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 65 ± 10 درصد انجام شدند.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های حاصل از زیست‌سنجی گیاهان تراریخته نسل T_0 و F_1 بوسیله نرم‌افزار SAS و گیاهان تراریخته نسل T_1 با استفاده از نرم افزارSPSS ver.13 در قالب طرح کاملا 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 مقایسهٔ میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

فرآیند تراریزش چغندرقند به کمک آگروباکتری و باززایی گیاهان

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.1.7.4]

تراریخته نشان داد که برگ حاوی جوانه القا شده بـه عنـوان یـک جداکشت مناسب و با قابلیـت جوانـه‌زایـی بـالا بـرای تراریـزش چغندرقند است.

زیست سنجی گیاهان T_0 تراریختـه حـاوی ژن *cry1Ab* تحـت کنترل پیشبر CaMV 35S: تعدادی گیاه تراریختـه T_0 حـاوی ژن *cry1Ab* تحـت کنتـرل پیشـبر CaMV 35S بـه همـراه دو گیـاه غیرتراریخته برای بررسی اثر توکسین Cry1Ab و مقاومت بر علیه پرودنیا انتخاب شدند. بر اسـاس نتـایج حاصـل از زیسـت‌سـنجی (جـدول ۱) تفـاوت بسـیار معنـی‌دار بـین گیاهـان تراریختـه و غیرتراریخته از نظر هر سه صفت اندازه گیری شده وجود دارد.

زیست سنجی گیاهان تراریختـه T_0 حـاوی ژن *cry1Ab* تحـت کنترل پیشبر PEPC: مقاومـت گیاهـان تراریختـه T_0 حـاوی ژن *cry1Ab* تحت کنترل پیشبر PEPC همراه گیاهان غیرتراریختـه بـه عنوان کنترل با زیست سنجی بر علیه آفت پرودنیا مـورد بررسـی قرار گرفتند. نتایج زیست سنجی در جدول ۲ آمده اسـت. تفـاوت بسیار معنی‌دار بین گیاهان تراریخته و غیرتراریخته از نظر هر سـه صفت اندازه گیری شده وجود دارد.

زیست سنجی گیاهان تراریخته F_1 : گیاهان تراریختـه F_1 حـاوی ژن *cry1Ab* تحت کنترل پیشبر CaMV35S همانند گیاهـان T_0 در تحت آنالیز زیست سنجی بـا آفـت پرودنیـا قـرار گرفتنـد. نتـایج حاصل از زیست **سنجی** در جدول ۳ خلاصه شده است. به طـور کلی هر سه شاخص در گیاهان تراریخته و غیرتراریختـه از لحـاظ آماری تفاوت بسیار معنی‌دار داشتند. گیاهـان تراریختـهٔ F_1 مـورد بررسی، مقاومت بهبود یافته‌ای در برابر آفت مورد بررسی نشان

جدول ۱- زیست سنجی پرودنیا و ارزیابی مقاومت گیاهان تراریخته T_0 حامل ژن *cry1Ab* تحت کنترل پیشبر CaMV 35S

Table 1- Bioassay of resistance of T_0 sugar beet plants carrying a *cry1Ab* gene under the control of CaMV 35S 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†	
2.31±0.01^{e}	100±0.00^{a}	55.00±3.52^{a}	10.24±1.22^{a}	7.71±0.00^{a}	0.12±0.10^{d}	0±0.00^{e}	7233*
2.52±0.44^{e}	100±0.00^{a}	36.45±2.11^{b}	12.11±0.31^{a}	1.92±0.20^{b}	0.25±0.08^{d}	0±0.00^{e}	HM1990*
70.00±1.2^{a}	31.34±0.70^{e}	12.54±0.13^{d}	2.55±0.15^{c}	1.90±0.25^{bc}	4.92±0.10^{a}	1.9±0.11^{ab}	7233-15
48.88±2.53^{bcd}	47.50±1.42^{bc}	22.52±0.10^{b}	2.62±0.20^{bc}	1.00±0.10^{d}	3.41±0.31^{abc}	1.41±0.23^{bcd}	7233-16
55.73±2.33^{abc}	27.54±1.40^{e}	27.251±1.45^{b}	2.60±0.22^{bc}	2.30±0.22^{b}	3.91±0.22^{ab}	2.31±0.11^{a}	7233-17
37.30±2.60^{d}	51.34±1.31^{b}	20.12±0.80^{c}	3.33±0.10^{bc}	1.92±0.40^{bc}	2.61±0.30^{c}	1.10±0.12^{cd}	7233-18
38.34±2.40^{d}	50.00±3.11^{bc}	21.00±0.65^{bc}	3.82±0.24^{bc}	1.52±0.11^{cd}	2.72±0.30^{c}	0.94±0.31^{d}	7233-31
37.03±2.61^{d}	40.02±1.00^{d}	18.84±0.71^{c}	3.80±0.11^{bc}	2.33±0.10^{b}	2.63±0.30^{c}	1.20±0.12^{bcd}	7233-35
38.32±02.33^{d}	43.81±1.73^{cd}	16.32±0.70^{cd}	3.30±0.10^{bc}	1.14±0.10^{d}	2.72±0.30^{c}	1.52±0.10^{abcd}	7233-36
40.030±1.32^{cd}	53.382±3.84^{b}	20.10±1.24^{c}	4.42±0.43^{b}	2.24±0.40^{b}	2.84±0.20^{bc}	1.41±0.21^{bcd}	HM1990-2
61.53±2.34^{ab}	48.83±2.40^{c}	20.00±0.21^{c}	2.32±0.13^{c}	1.83±0.10^{bc}	4.31±0.20^{a}	1.83±0.20^{ab}	HM1990-3

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.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.1.7.4]

جدول ۲- زیست سنجی پرودنیا و ارزیابی مقاومت گیاهان تراریخته T_0 حامل ژن *cry1Ab* تحت کنترل پیشبرPEPC

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^{e}	97.43±5.32^{a}	28.66±1.51^{b}	11.12±0.38^{a}	3.07±0.20^{b}	0.16±0.06^{d}	0±0.00^{c}	7233*
8.39±1.30^{e}	100±00.00^{a}	47.49±0.83^{a}	13.05±0.86^{a}	3.9±0.54^{a}	0.16±0.10^{d}	0±0.00^{c}	HM1990*
67.64±2.13^{a}	14.95±0.82^{f}	5.58±0.74^{d}	3.27±0.28^{d}	0.26±0.07^{d}	4.39±0.04^{a}	1.65±0.05^{a}	7233-2
40.53±2.38^{bc}	47.57±0.83	11.21±0.65^{c}	3.62±0.37^{dc}	0.75±0.06^{dc}	2.83±0.02^{b}	1.31±0.05^{a}	7233-33
57.14±2.00^{bc}	46.87±1.07^{e}	9.92±0.98^{c}	4.12±0.43^{dc}	0.79±0.06^{dc}	4.10±0.04^{a}	1.28±0.05^{a}	7233-43
40.61±2.40^{bc}	62.51±0.61^{d}	11.21±0.65^{c}	6.50±0.29^{b}	1.42±0.05^{c}	2.20±0.03^{b}	0.98±0.05^{ab}	7233-46
22.61±2.34^{d}	80.11±1.47^{c}	6.19±0.86^{d}	5.55±0.31^{bc}	0.55±0.06^{d}	1.57±0.05^{c}	1.01±0.02^{ab}	7233-50
31.12±0.84^{dc}	77.54±1.00^{c}	12.44±0.89^{c}	5.17±0.28^{bcd}	0.78±0.08^{dc}	1.82±0.02^{c}	0.76±0.04^{ab}	HM1990-1
53.20±2.00^{b}	42.49±0.84^{e}	11.80±1.04^{c}	3.12±0.43^{d}	0.81±0.05^{dc}	2.86±0.03^{b}	0.46±0.16^{bc}	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_1

Table 3- Insect bioassay of F_1 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^{c}	97.43±5.32^{a}	28.66±1.51^{b}	11.12±0.38^{a}	3.07±0.20^{a}	0.16±0.06^{c}	0±0.00^{d}	7233*
8.39±1.30^{c}	100±0^{a}	47.49±0.83^{a}	13.05±0.86^{a}	3.9±0.54^{a}	0.16±0.10^{c}	0±0.00^{d}	HM1990*
43.89±1.6^{a}	23.71±0.86^{e}	3.23±0.39^{d}	3.5±0.20^{b}	0.38±0.04^{b}	2.80±0.03^{a}	1.41±0.01^{a}	7233-8-29
39.47±1.74^{a}	32.49±0.62^{de}	11.20±0.45^{c}	3.15±0.43^{b}	0.60±0.14^{b}	2.61±0.02^{a}	1.11±0.04^{b}	7233-8-42
30.31±1.17^{b}	50±0.58^{c}	9.33±0.63^{c}	4.37±0.24^{b}	0.45±0.09^{b}	1.81±0.03^{b}	0.9±0.03^{bc}	7233-8-45
45.95±0.67^{a}	42.44±0.85^{dc}	5.57±0.74^{d}	3.75±0.48^{b}	0.92±0.09^{b}	0.74±0.02^{a}	0.7±0.02^{c}	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.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.1.7.4]

جدول ۴- زیست سنجی پرودنیا و ارزیابی مقاومت گیاهان چغندرقند تراریخته Bt نسل T_1

Table 4- Insect bioassay of T_1 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^{ghi}	31.15±1.42^{ef}	10.96±0.05^{i}	0.09±0.02^{i}	35.00±4.78^{abc}	5.00±2.88^{c}	S18-1
49.99±0.94^{fghi}	36.90±1.07^{cd}	11.67±0.06^{ef}	0.68±0.03^{gh}	45.00±4.78^{a}	22.50±2.50^{a}	S18-12
41.91±1.19^{j}	33.83±1.17^{de}	11.73±0.08^{de}	0.82±0.06^{efg}	30.00±2.50^{ab}	17.50±2.50^{ab}	S18-15
47.89±1.12^{hi}	38.70±0.70^{bc}	11.28±0.09^{gh}	0.98±0.06^{def}	35.00±6.29^{ab}	7.50±4.78^{bc}	S32-2
58.64±1. 26^{bcd}	40.92±0.48^{b}	12.17±0.06^{b}	1.42±0.23^{ab}	35.00±2.50^{abc}	17.50±4.78^{ab}	S35-3
48.45±1.38^{ghi}	30.30±0.90^{ef}	11.39±0.10^{g}	0.96±0.06^{def}	37.50±4.08^{abc}	12.50±2.50^{abc}	S36-13
63.05±2.50^{abc}	45.50±0.09^{a}	12.52±0.03^{a}	1.44±0.07^{a}	37.50±7.07^{abc}	15.00±2.88^{abc}	S37-3
58.26±1.50^{cd}	41.09±0.81^{b}	11.76±0.04^{de}	0.93±0.04^{ef}	40.00±2.50^{ab}	15.00±2.88^{abc}	S37-4
51.69±1.15^{efgh}	36.68±1.06^{cd}	11.70±0.10^{e}	0.58±0.09^{h}	25.00±4.78^{bcd}	15.00±2.88^{abc}	S37-5
51.40±2.30^{efgh}	28.15±1.29^{fg}	11.16±0.03^{h}	0.77±0.02^{fgh}	32.50±2.88^{abc}	15.00±2.88^{abc}	S38-3
45.00±1.54^{ij}	27.50±1.34^{fg}	11.28±0.05^{gh}	1.02±0.03^{de}	30.00±4.78^{abcd}	10.00±0.00^{bc}	S38-4
55.24±1.42^{def}	19.80±0.69^{ij}	11.87±0.08^{de}	1.18±0.09^{bcd}	25.00±4.08^{bcd}	10.00±2.50^{bc}	H2-3
53.88±1.74^{defg}	19.22±1.68^{j}	11.53±0.16^{ef}	0.91±0.04^{ef}	22.50±4.78^{cd}	15.00±4.78^{abc}	H2-13
56.73±1.15^{de}	25.76±1.17^{gh}	11.94±0.04^{cd}	1.38±0.05^{ab}	27.50±4.78^{bcd}	10.00±2.50^{bc}	H2-28
65.73±1.17^{de}	24.61±1.06^{gh}	11.76±0.06^{de}	1.33±0.08^{ab}	35.00±4.08^{abc}	22.50±2.88^{a}	H2-33
65.16±1.43^{a}	39.88±1.01^{bc}	12.11±0.04^{bc}	1.45±0.04^{a}	37.50±4.78^{abc}	17.50±4.08^{ab}	H2-39
54.27±1.25^{def}	23.13±1.62^{hi}	11.78±0.04^{de}	0.96±0.03^{def}	37.50±2.50^{abc}	10.00±2.50^{bc}	H2-40
47.19±2.52^{hi}	14.65±1.04^{k}	11.85±0.04^{de}	1.04±0.01^{cde}	17.50±2.50^{d}	10.00±2.50^{bc}	H3-2
62.36±2.33^{abc}	41.99±1.69^{b}	12.09±0.03^{bc}	1.36±0.02^{ab}	40.00±6.45^{ab}	15.00±4.78^{abc}	H6-3
63.86±2.34^{ab}	19.69±1.86^{ij}	11.84±0.05^{de}	1.26±0.03^{abc}	30.00±2.88^{abcd}	10.00±2.50^{bc}	H6-4
50.338±2.23^{fghi}	18.50±1.38^{j}	11.48±0.04^{fg}	0.96±0.02^{def}	32.50±4.78^{abc}	05.62±1.87^{c}	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.

نتایج زیست سنجی آفت پرودنیا در گیاهان چغندرقند تراریخته

نسل T_1: نتایج حاصل از بررسی‌ها (جدول ۴) روی میزان مرگ و میر لاروها نشان داد که بین کارایی ۲۱ لاین چغندرقند تراریخته 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 ومیر در جمعیت آفت، بر روی افراد باقیمانده

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.1.7.4]

جدول ۵- زیست سنجی کارادرینا و ارزیابی مقاومت گیاهان چغندرقند تراریخته Bt نسل T_1

Table 5- Insect bioassay of T_1 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^{a}	34.65±1.29^{b}	11.46±0.02^{a}	1.54±0.02^{ab}	42.50±2.50^{a}	20.00±2.50^{ab}	H2-3
53.03±1.16^{g}	25.51±1.13^{g}	11.16±0.03^{de}	1.33±0.04^{de}	22.50±4.78^{cd}	12.50±2.50^{bcd}	H2-8
62.96±1.11^{a}	36.58±1.15^{a}	11.39±0.02^{ab}	1.61±0.05^{a}	40.00±2.50^{a}	25.00±2.50^{a}	H2-13
57.13±1.10^{d}	29.58±1.09^{d}	11.31±0.03^{bc}	1.47±0.04^{bc}	30.00±2.50^{abc}	10.00±0.00^{e}	H2-27
61.26±1.21^{b}	24.67±1.30^{h}	11.04±0.03^{ef}	1.20±0.03^{fg}	20.00±2.88^{d}	5.00±2.88^{de}	H6-5
55.87±1.15^{f}	27.42±1.04^{f}	11.05±0.05^{ef}	1.12±0.02^{g}	25.00±2.50^{bcd}	7.50±2.50^{cde}	H6-7
60.07±1.30^{c}	33.36±1.07^{c}	11.20±0.03^{cd}	1.42±0.06^{bcd}	35.00±2.50^{ab}	12.50±2.88^{bcd}	H6-8
56.12±1.05^{e}	27.61±1.17^{f}	10.99±0.03^{f}	1.29±0.01^{ef}	27.50±2.88^{bcd}	10.00±2.50^{cd}	H6-9
50.91±1.14^{h}	23.98±1.15^{i}	11.11±0.05^{def}	1.35±0.02^{cde}	30.00±2.50^{abc}	15.00±4.78^{bc}	H6-12

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.

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

نتایج زیست سنجی آفت کارادرینا در گیاهان چغندرقند تراریخته نسل T_1: نتایج حاصل از زیست سنجی (جدول ۵) نشان داد که بر اساس نتایج سه آزمون، لاین های H2-3, H2-13 با توجه به مرگ و میرلاروی۴۳-۲۰ درصد، کاهش وزن لاروی ۱۰/۹-۱۱/۵ میلی‌گرم و کاهش خسارت برگ ۶۳-۵۱ درصد در روز ششم، به عنوان مؤثرترین لاین‌های تراریخته در کنترل آفت برگخوار کارادرینا هستند.

نتایج زیست سنجی آفت آگروتیس در گیاهان چغندرقند تراریخته نسل T_1: نتایج حاصل از بررسی ها (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 چغندرقند تراریخته از نظر این صفات اختلاف معنی دار مشاهده شد. کمترین میزان خسارت در برگ های مورد بررسی به ترتیب در لاین‌های S18-15، S36-13 دیده شد. به عبارت بهتر در روی این لاین ها 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 تراریخته و غیر تراریخته (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 جداکشت برای تراریزش چغندرقند بوده و دارای مزیت‌هایی چون سادگی تهیه جداکشت، یک منبع قابل دسترس و دائمی با قابلیت باززایی بالا برای تهیه جداکشت هدف، کاهش زمان لازم برای باززایی جوانه‌های تراریخته 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

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.1.7.4]

جدول ۶- زیست سنجی آگروتیس و ارزیابی مقاومت گیاهان چغندرقند تراریخته Bt نسل T_1

Table 6- Insect bioassay of T_1 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†	
47.56±1.40^{f}	31.79±1.96^{i}	10.01±0.03^{f}	0.21±0.06^{g}	12.50±2.50^{abc}	2.50±2.50^{ns}	S18-1
51.51±1.55^{c}	33.53±1.42^{g}	10.10±0.08^{ef}	0.88±0.08^{f}	5.00±2.88^{bc}	2.50±2.50^{ns}	S18-8
53.65±1.38^{a}	38.95±1.13^{a}	10.78±0.05^{a}	1.41±0.06^{abc}	10.00±0.00^{abc}	2.50±2.50^{ns}	S18-15
51.92±2.25^{bc}	37.00±1.57^{bc}	10.48±0.04^{bc}	1.20±0.03^{de}	7.50±2.50^{bc}	5.00±2.88^{ns}	S32-2
52.78±1.18^{ab}	37.29±1.45^{b}	10.60±0.07^{ab}	1.50±0.07^{ab}	12.50±4.78^{abc}	2.50±2.50^{ns}	S35-3
53.64±2.10^{a}	39.30±2.18^{a}	10.76±0.03^{a}	1.57±0.08^{a}	20.00±4.08^{a}	7.50±2.50^{ns}	S36-13
51.06±1.57^{cd}	34.42±1.56^{f}	10.36±0.05^{cd}	1.24±0.02^{cde}	10.00±4.08^{abc}	5.00±2.88^{ns}	S37-2
45.75±1.47^{g}	33.29±1.53^{gh}	9.96±0.05^{f}	1.34±0.01^{bcde}	2.50±2.50^{c}	2.50±2.50^{ns}	H2-2
51.98±2.10^{bc}	37.11±1.64^{bc}	10.67±0.03^{ab}	1.45±0.06^{abc}	15.00±2.88^{ab}	2.50±2.50^{ns}	H2-5
46.45±1.38^{fg}	36.20±1.21^{d}	9.99±0.07^{f}	1.28±0.07^{cde}	10.00±4.08^{abc}	7.50±2.50^{ns}	H2-6
49.76±1.16^{e}	32.83±2.31^{h}	10.14±0.06^{ef}	1.15±0.02^{e}	5.00±2.88^{bc}	2.50±2.50^{ns}	H2-7
45.29±2.21^{g}	31.60±1.83^{i}	10.11±0.04^{ef}	1.44±0.06^{abc}	7.50±2.50^{bc}	2.50±2.50^{ns}	H3-2
50.17±2.32^{de}	35.27±1.42^{e}	10.01±0.09^{f}	1.38±0.03^{abcd}	10.00±4.08^{abc}	2.50±2.50^{ns}	H3-4
51.29±1.72^{cd}	36.25±1.40^{d}	10.25±0.05^{de}	1.15±0.03^{e}	7.50±2.50^{bc}	2.50±2.50^{ns}	H6-3
46.29±1.64^{g}	31.76±1.51^{i}	10.21±0.05^{de}	0.93±0.03^{f}	7.50±2.50^{bc}	5.00±2.88^{ns}	H6-4
49.27±1.20^{e}	36.64±1.87^{cd}	10.13±0.05^{ef}	1.44±0.03^{abc}	10.00±4.08^{abc}	2.50±2.50^{ns}	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.

پژوهش کـه برگرفتـه از دو روش تراریـزش هیسـانو و همکـاران (۲۰۰۴) و نـوروزی و همکـاران (۲۰۰۵) بـود (Hisano *et al.*, 2004; Norouzi *et al.*, 2005)، یک روش تکرارپذیر و با کـارایی بالا برای تولید گیاهان چغندرقند تراریخته در مقیاس وسیع است. بر اساس منابع علمی قابل دسترس پژوهش‌های بسـیار محـدودی مبنی بر ایجاد چغندرقند مقاوم به حشرات آفـت بـه خصـوص بـا استفاده از ژن‌هـای *Bt* وجـود دارد و فقـط یـک گـزارش توسـط کیموتـو و شـیماموتو (۲۰۰۲)، ارائـه شـده اسـت (Kimoto and Shimamoto, 2002) و چغندرقند Bt تجاری در دنیا وجود ندارد. این تحقیق موفق به تولید گیاهان چغندرقند تراریختـه حـاوی ژن *cry1Ab* تحت کنترل دو پیشبر مختلـف CaMV 35S و PEPC و از هر دو نوع ژنوتیپ 7233 و HM1990 چغندرقند شد. بـه طـور کلی لاین‌های تراریخته حاصل در مقایسه با گیاهان کنترل در برابر آفت پرودنیا مقاومت مناسبی نشان دادند، اگر چـه مقاومـت ۱۰۰٪ در این گیاهان مشاهده نشد که ممکن است به دلیل سطح ناکـافی پروتئین Cry1Ab تولید شده و همچنـین حساسـیت پـایین آفـت مذکور نسبت بـه ایـن توکسـین باشـد. همچنـین بـین لایـن‌هـای تراریخته تحت کنترل هر دو پیشبر تنوع و تفاوت در درصد مرگ

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.1.7.4]

و میر آفت و خسارت برگ مشاهده شد که می‌تواند ناشی از تفاوت در سطح بیان توکسین Bt در نتیجه اثرهای اپی‌ژنتیک 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 Cry1C قادر به کنترل آفت جنس پرودنیا است (Regev *et al*. 1996) در حالی‌که داتون و همکاران (۲۰۰۲ و ۲۰۰۵)، گزارش کردند که پروتئین Cry1Ab آفت پرودنیا 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 تراریخته حاوی ژن *cry1Ab* 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 تراریخته حاوی ژن *cry1Ab* 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 تراریخته طارم مولایی در بردارنده ژن *cry1Ab* 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 تراریخته حاوی ژن *cry1Ab* 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 تراریخته تحت کنترل پیشبر PEPC متنوع است ولی این گیاهان تقریبا سطح مقاومت مشابهی با گیاهان تراریخته تحت کنترل پیشبر CaMV35S نشان دادند. در زیست سنجی گیاهان نسل T_1 .میزان مرگ و میر حادث شده در لاروهای آفات پرودنیا و کارادرینا تا حدودی رضایت بخش بود اما در اگروتیس مرگ و میر کمتری اتفاق افتاد که می‌توان دلیل 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 درشت‌تردارد تاثیر کمتری دیده شد. خاصیت ضد تغذیه‌ای یکی از اثرهای مثبت باکتری Bt است که به عنوان یکی از جنبه‌های مفید در مبارزه بیولوزیک نیز بررسی می‌شود. این عکس العمل در بین لاروهای تغذیه شده از برگ تراریخته (به ویژه در اگروتیس) 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 می شود. 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 تراریخته 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 دزهای 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 حالی‌که 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. لاروهائی که در طول زمان‌های متفاوت از گیاه تراریخته 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 تراریخته، کاهش تغذیه و در نتیجه کاهش

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.1.7.4]

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 نسبتا خوبی نشان دادند.

اگرچه چغندرقند 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 چغندرقند 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 چغندرقند است. به طور کلی گیاهان تراریخته حاصل هیچ مشخصه غیرعادی مورفولوژیک نشان ندادند و روند رشدی کاملا 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_1 با سه آفت پروانه‌ای مهم مزارع چغندرقند مقاومت نسبتا 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 لاین های تراریخته و غیر تراریخته (شاهد) در مورد فاکتورهای مورد ارزیابی از نقطه نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود دارد. با توجه به پژوهش‌های محدود انجام یافته در مورد مقاومت به حشرات آفت در چغندرقند، لازم است پژوهش‌های بیشتری در مورد ایجاد چغندرقند 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 کارآیی لاین‌های تراریخته چغندرقند روی سایر آفات پروانه‌ای چغندرقند (در مراحل مختلف و نسل‌های بعد) و در صورت امکان تحت شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای نیز انجام گیرد. بر اساس یافته‌های این پژوهش احتمالا 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 چغندرقند، 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_1 lines of sugar beet against Rhizomonia. 19th 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 lepidopterans 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.
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 Cry1Ab 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.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.1.7.4]

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 *cry1Ab* 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., Kyozuka, 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 Shimamato, 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 inseeticidal *cry1Ab* 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 Extention 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., Tuvesson, 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. Mannerllof, M., Tuvesson, 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 Rhizomonia resistance in transgenic sugar beet. 11th 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 Extention Organization (in Farsi).
31. Mohammadzadeh R. 2010. Transformation of sugar beet using a polygalacturonidase inhibitor proteins for enhanced fungal disease tolerance. 19th 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.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.1.7.4]

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). Molcular 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.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.1.7.4]