

بیوتکنولوژی مدیریت نماتدهای انگل گیاهی

Biotechnology for control of Plant Parasitic Nematodes

Genetic Engineering and Biosafety
Journal
Volume 7, Number 2

شلاله مصلحی

Shalaleh Moslehi

استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan
Shahid Madani University, Tabriz, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: sh.moslehi@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۱)

چکیده

واژه‌های کلیدی

نماتدهای انگل گیاهی جزو پاتوژنهایی محسوب می شوند که خسارت اقتصادی فراوانی به محصولات کشاورزی وارد می کنند. استفاده از ارقام مقاوم، تناوب زراعی، کنترل شیمیایی، موجودات آنتاگونیست و کنترل زیستی از اصلی ترین روش های کنترل نماتدها هستند. ژن های طبیعی مقاومت به نماتدها در ژنوم گونه های گیاهی و امکان انتقال این ژن ها به ارقام زراعی که فاقد چنین مقاومتی هستند بسیار حائز اهمیت است. زیست فناوری از طریق انتخاب بر پایه نشانگرها می تواند در ردیابی بهترین ژن های مقاومت به نماتدها و ارائه اطلاعات مفید مربوط به آن ها از لحاظ پتانسیل کاربرد برای مهندسی ژنتیک گیاهان نقش داشته باشد. بنابراین پیشرفت های اخیر، سبب بهره برداری از جنبه های اختصاصی برهم کنش های نماتد-میزبان برای طراحی راهکارهای کنترلی شده اند تا از این طریق گیاهان را قادر به جلوگیری از حمله و حرکت نماتدها در داخل بافت ها، تولیدمثل و رشد و تمایز موفقیت آمیز آن ها سازد. بهره گیری از RNAi، ایجاد نماتدکش های شیمیایی جدید مبتنی بر زیست فناوری و برخی راهکارهای جدید دیگر، از روش های نوین کنترل نماتدها هستند. ژن ها و صفات مقاومتی جدید بهتر است به ژنوتیپ هایی اضافه گردد که از قبل مقاومت طبیعی خوبی دارا هستند تا از این طریق تاثیر و ماندگاری مقاومت در آن ها بیشتر شود. از طرفی به لحاظ تاثیر غالب نماتدها از طریق خاک بهتر است بیان ژن های مقاومت جدید محدود به ریشه باشد تا توده پروتئینی بخش های هوایی قابل برداشت گیاه همانند گیاهان معمولی باشند.

بیمارگر،

تراریخته،

کنترل تلفیقی،

کنترل زیستی،

مقاومت

مقدمه

آگاهی در مورد برهم کنش های مولکولی نماتد-میزبان سبب پیشرفت در روش های نوین کنترل نماتدها شده و می تواند به راهکارهای موفق رابطه انگلی نماتدها با میزبان غلبه کند. امروزه پیشرفت های علمی در دانشگاه ها چشمگیر بوده و پژوهش های با کیفیت بالا می تواند در فهم نحوه برهم کنش نماتد-گیاه مفید باشد. چنین پژوهش هایی می تواند منجر به شناسایی افکتورهایی شود که نماتدها برای چیره شدن بر دفاع گیاه میزبان ترشح می کنند. هم چنین در مورد سازوکار حرکت نماتد در ریشه و در مورد برخی گونه ها اطلاعاتی در مورد مکان های تغذیه ای اختصاصی در اختیار پژوهشگر قرار دهد (جدول ۱). اما هنوز فاصله زیادی بین این اطلاعات پایه و کاربرد این روش ها در کنترل نماتدها وجود دارد. بنابراین نماتدشناسان باید دنبال ارائه راهکارهای کاربردی برای کشاورزان و تلفیق مدیریت سنتی و نوین علیه نماتدهای انگل گیاهی باشند (Scoobar and Fennol 2015). اولین گزارش ها از انتخاب گیاهان حساس و مقاوم به نماتدها به اواخر قرن نوزدهم برمی گردد که انتخاب فوتیپی (تعداد گره در ریشه) مبنای انتخاب گیاهان حساس و مقاوم به نماتد گره ریشه بود. پس از آن مقاومت برخی ارقام گیاهانی چون لوبیا چشم بلبلی، چغندرقد، پنبه و قهوه نیز در برابر نماتدهای گره ریشه بررسی شد (Wilfarth 1900؛ Webber and Orton 1902). امروزه با آگاهی بیشتر در مورد برهم کنش های نماتد-گیاه، مشخص شده است که گیاهانی که اجازه تولیدمثل به نماتدها را می دهند با نماتدها رابطه سازگار دارند اما در رابطه ناسازگار بین گیاه میزبان و نماتد، گیاه در برابر نماتد مقاومت نشان می دهد. در هنگام اعمال روش های کنترل، هدف کاهش تولیدمثل نماتد و در نتیجه کاهش سطح آلودگی است. برخی از راهکارهای مبتنی بر زیست فناوری در کنترل نماتدهای انگل گیاهی در این مقاله به طور خلاصه مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

پژوهش در مورد رویکردهای زیست فناوریانه در کنترل نماتدهای انگل گیاهی هم به بهره برداری از مقاومت طبیعی موجود در

ذخایر ژنی گونه های گیاهی کمک می کند و هم در مورد نقش آن ها در تخریب سلول های تغذیه ای، بیان پروتئین ها و پپتیدهای اختصاصی، خاموشی RNA (RNAi) و یا رهاسازی اجزای سمی بازدارنده علیه نماتدها اطلاعاتی در اختیار ما قرار می دهد. برای بهره برداری از تنوع موجود در مقاومت طبیعی گیاهان، از غربال های وسیع ژرم پلاسماها، بهره گیری از نشانگرهای مولکولی و همسان سازی برای شناسایی ژن های مقاومت یا متابولیت هایی که سبب مقاومت در برخی گونه های گیاهی می شوند استفاده می گردد. پس از آن، منابع ژنی شناخته شده به ژرم پلاسماهای مطلوب منتقل می گردند. اهداف زیست فناوری در کنترل نماتدها از روابط بین نماتد و میزبان گیاهی بهره می برد و می تواند نماتدها را از ایجاد اختلال در جهت گیری مراحل آلوده کننده به منظور مختل کردن میزبان یابی، کاهش حرکت موثر در داخل بافت های گیاهی، کاهش استقرار موفق در سلول های گیاهی یا کاهش توانایی تغذیه و باروری در گیاه حساس یا متحمل مورد هدف قرار دهد.

مقاومت طبیعی در کنترل نماتدهای انگل گیاهی

مقاومت موثر در برابر نماتدهای انگل گیاهی در مورد تمام محصولات زراعی مهم در دسترس نیست. از طرفی، منابع مقاومت طبیعی مقرون به صرفه ترین و پایدارترین روش در کاهش خسارات ناشی از آفات و بیماری ها است. بنابراین برای شناسایی منابع طبیعی مقاومت، تلاش های بسیاری با استفاده از روش های اصلاح بر مبنای نشانگرها انجام گرفته است. این روش ها معمولاً شامل انجام غربال های وسیع برای شناسایی مقاومت در گیاهان وحشی خویشاوند با محصولات زراعی و ارقام خاص، نقشه برداری از مکان های

نماتدهای انگل گیاهی اساس و پایه اصلاح گیاهان است. از آنجایی که نماتدهای مولد سیست و گره ریشه در سراسر دنیا خسارات شدیدی به محصولات مهم کشاورزی وارد می‌کنند، تلاش‌های زیادی در زمینه شناسایی منابع مقاومت در برابر گونه‌ها و تیپ‌های انگلی این نماتدها انجام شده است (جدول ۲).

ژنی مربوط به صفات کمی (QTLs)، همسانه‌سازی موقعیتی و خالص‌سازی و تعیین ویژگی ژن‌های مسئول در بروز مقاومت است. روش‌های مولکولی به‌کار رفته در نقشه‌برداری از جمعیت‌ها شامل روش‌های مبتنی بر RFLP، AFLP، RAPD، SCAR، STS و برخی روش‌های نوین دیگر است. انتخاب بر مبنای نشانگر در مورد مقاومت به

جدول ۱- راهکارهای مبتنی بر زیست‌فناوری در کنترل نماتدهای انگل گیاهی (برگرفته از Fosu-Nyarko and Jones 2015)

Table 1- Biotechnology-based strategies for nematode control (Fosu-Nyarko and Jones 2015)

هدف مورد استفاده در کنترل	ملاحظات	پیشرفت‌ها، موفقیت‌ها یا مثال‌های مهم
ژن‌های مقاومت جزئی و کامل	انتقال ژن‌های مقاومت طبیعی از گونه‌های وحشی و نزدیک، اساس راهکارهای اصلاح است.	- اصلاح بر پایه نشانگرها برای ایجاد مقاومت علیه نماتدها - ژن‌های موثر کافی برای تمام گیاهان هنوز یافت نشده است.
مهاجرت نماتد در ریزوسفر و ورود به ریشه	تخریب فعالیت‌های عصبی نماتد می‌تواند در این مورد اختلال ایجاد کند.	بهره‌گیری از پپتیدهایی که درک شیب‌های مواد به وسیله آمفید را مختل می‌کنند.
مهاجرت در داخل ریشه	برخی آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی برای مهاجرت نماتدهای انگل داخلی لازم هستند.	به کارگیری RNAi برای ایجاد اختلال در فعالیت آمفیدها به کارگیری RNAi در کاهش بیان آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی در نماتدها
سرکوب دفاع گیاهی	افکتورهایی در نماتدها وجود دارند که آن‌ها را قادر می‌سازد دفاع گیاهی را خنثی کنند.	به کارگیری RNAi در کاهش بیان افکتورهایی که در سرکوب دفاع گیاهی نقش دارند.
تخریب تشکیل یا فعالیت مکان تغذیه‌ای	افکتورهایی وجود دارند که نماتدهای انگل داخلی ساکن را قادر به تشکیل مکان‌های تغذیه‌ای اختصاصی می‌کنند.	به کارگیری RNAi در کاهش بیان افکتورهای کلیدی مورد نیاز برای تشکیل مکان‌های تغذیه‌ای
تخریب ژن‌های حیاتی	مختل کردن بیان ژن‌های حیاتی در چرخه زندگی نماتد.	به کارگیری RNAi در کاهش بیان ژن‌های حیاتی نماتدها
بیان بالای ژن‌های میزبان با بیان تغییر یافته در مکان‌های تغذیه‌ای	بسیاری از ژن‌ها در سلول‌های تغذیه‌ای نماتدها بیانشان کم یا زیاد می‌شود.	بیان بالای برخی ژن‌های میزبان که تغییر بیانشان در مکان‌های تغذیه‌ای نماتد ایجاد رابطه انگلی توسط نماتد را کاهش می‌دهد.
تغییر ژن‌هایی که سبب حساسیت میزبان به نماتدها می‌شوند.	روش‌های جدید در ویرایش ژن امروزه در دسترس هستند.	ایجاد تغییرات ژنتیکی با استفاده از روش‌های نوین
قرار دادن مواد سمی در معرض نماتد	استفاده از مطالعات پایه در مورد افکتورهای نماتد و ژن‌های حیاتی برای زنده‌مانی نماتد در اهداف کنترلی جدید	به کارگیری فیلترهای بیوانفورماتیک برای شناسایی اهداف جدید در کنترل شیمیایی و طراحی نماتدکش‌های جدید بر اساس این اهداف
ساخت نماتدکش‌های جدید و نحوه به کارگیری متفاوت. به کارگیری عوامل کنترل زیستی	ایجاد شکل‌های جدید از سموم شیمیایی که مقدار مصرف کمتر داشته و برای محیط زیست امن‌تر باشند و هم‌چنین استفاده از شکل‌های جدیدی از عوامل کنترل زیستی.	یک سری از نماتدکش‌های جدید امروزه به صورت تجاری در دسترس هستند که مبنای کنترل زیستی و شیمیایی دارند و نحوه مصرف آن‌ها بیشتر از طریق آغشته‌سازی بذور و یا همراه با آبیاری قطره‌ای است.

جدول ۲- برخی ژن‌های مقاومت طبیعی مهم گیاهان در برابر نماتدهای گره ریشه و سیست (برگرفته از Fosu-Nyarko and Jones 2015)

Table 2- Some natural resistance genes of plants against cyst and root knot nematodes (Fosu-Nyarko and Jones 2015)

منابع مهم	ژن‌های مقاومت (گیاه یا منبع مقاومت)	گونه‌های نماتد
Leister et al. 1996 Niewohner et al. 1995 Ganal et al. 1995	<i>Gro1</i> (سیب‌زمینی) <i>H1</i> (سیب‌زمینی) <i>Hero</i> (گوجه‌فرنگی)	<i>Globodera rostochiensis</i>
van der Voort et al. 1997	<i>Gpa2</i> (سیب‌زمینی)	<i>Globodera pallida</i>
Concibido et al. 2004	<i>Rhg4</i> , <i>Rhg1</i> (سویا)	<i>Heterodera glycines</i>
Lewis et al. 2009	<i>Ha4</i> , <i>Ha3</i> , <i>Ha2</i> (جو) <i>Cre8</i> , <i>Cre3</i> , <i>Cre1</i> (گندم) <i>Hs2</i> , <i>Hs1^{pro-1}</i> (چغندر قند)	<i>Heterodera avenae</i>
Heller et al. 1996		<i>Heterodera schachtii</i>
Chu et al. 2011	<i>Rma</i> , <i>Mag</i> , <i>Mae</i> (بادام زمینی)	<i>Meloidogyne arenaria</i>
Djian-Caporalino et al. 2007	<i>Mi-9</i> , <i>Mi-3</i> , <i>Mi-1</i> (<i>Solanum peruvianum</i>) <i>Mi-9</i> , <i>Mi-1</i> (کروموزوم شماره ۶ گوجه‌فرنگی) <i>Me3</i> (کروموزوم P9 فلفل)	<i>Meloidogyne incognita</i>

به‌عنوان مثال در مورد مقاومت سیب‌زمینی به نماتد سیست سیب‌زمینی مقاومت‌های تک‌ژنی و چندژنی شناسایی شده‌اند و نشانگرهای متصل به این ال‌ها برای برنامه‌های اصلاح گیاهان جهت مقاومت در برابر این نماتد نیز توسعه یافته‌اند (Niewohner et al. 1995). به طور مشابه، چندین نوع از ژن‌های مقاومت از گیاهان میزبان با مقاومت کامل یا نسبی در برابر نماتد سیست سویا (*Heterodera glycines*) و نماتد سیست چغندر قند (*H. schachtii*) شناسایی، نقشه‌برداری و همسانه‌سازی شده‌اند. به‌عنوان مثال در استرالیا از آن‌جایی که گندم و جو توسط نماتد سیست غلات (*H. avenae*) خسارت می‌بینند، شناسایی و تعیین ویژگی ژن‌های مقاومت *Ha1* و *Ha2* (کروموزوم شماره ۲) و ژن *Ha4* (کروموزوم ۵) در جو و مکان ژنی *Cre1* (کروموزوم 2B) و *Cre3* در گندم و سایر ژن‌های *Cre* به طور وسیعی در برنامه‌های اصلاح غلات کاربرد دارند (Williams et al. 1996). در مورد نماتدهای گره ریشه، چند ژن مقاومت شناسایی شده است. مهمترین و رایج‌ترین آن‌ها ژن *Mi* است که از خویشاوند وحشی گوجه‌فرنگی (*Solanum peruvianum*) جداسازی گردیده است. این ژن واکنش فوق حساسیت در آلودگی گیاه با گونه‌های *M. arenaria* و *M. javanica*، *Meloidogyne incognita* القا کرده و سبب مرگ لاروهای نماتد می‌گردد. *Mi* از این جهت که علاوه بر مقاومت به نماتد، در برابر شته سیب‌زمینی و سفید بالک نیز سبب بروز مقاومت می‌شود ژن منحصر به فردی است (Rossi et al. 1998). در استرالیا که نماتدهای زخم (*Pratylenchus* spp.) خسارات زیادی به گندم وارد می‌کنند در بین ارقام گندم برخی ارقام مقاوم و متحمل در برابر برخی گونه‌های این نماتد شناسایی شده‌اند. هم‌چنین مکان‌های ژنی صفات کمی در مورد گونه‌هایی مثل *P. thornei*، *P. penetrans* و *P. neglectus* برای انتخاب مقاومت به این نماتدها در برنامه‌های اصلاح گندم در استرالیا و CIMMYT (مرکز بین‌المللی تحقیقات ذرت و گندم) به کار رفته‌اند (Williams et al. 2002). مثال‌های دیگری نیز موجود هستند اما هنوز هم در مورد گیاهان مختلف، شناسایی منابع جدید مقاومت در برابر نماتدهای خسارت‌زا مورد نیاز است.

به‌عنوان مثال در مورد مقاومت سیب‌زمینی به نماتد سیست سیب‌زمینی مقاومت‌های تک‌ژنی و چندژنی شناسایی شده‌اند و نشانگرهای متصل به این ال‌ها برای برنامه‌های اصلاح گیاهان جهت مقاومت در برابر این نماتد نیز توسعه یافته‌اند (Niewohner et al. 1995). به طور مشابه، چندین نوع از ژن‌های مقاومت از گیاهان میزبان با مقاومت کامل یا نسبی در برابر نماتد سیست سویا (*Heterodera glycines*) و نماتد سیست چغندر قند (*H. schachtii*) شناسایی، نقشه‌برداری و همسانه‌سازی شده‌اند. به‌عنوان مثال در استرالیا از آن‌جایی که گندم و جو توسط نماتد سیست غلات (*H. avenae*) خسارت می‌بینند، شناسایی و تعیین ویژگی ژن‌های مقاومت *Ha1* و *Ha2* (کروموزوم شماره ۲) و ژن *Ha4* (کروموزوم ۵) در جو و مکان ژنی *Cre1* (کروموزوم 2B) و *Cre3* در گندم و سایر ژن‌های *Cre* به طور وسیعی در برنامه‌های اصلاح غلات کاربرد دارند (Williams et al. 1996). در مورد نماتدهای گره ریشه، چند ژن مقاومت شناسایی شده است. مهمترین و رایج‌ترین آن‌ها ژن *Mi* است که از خویشاوند وحشی گوجه‌فرنگی

توانایی نماد را در ایجاد مکان‌های تغذیه‌ای مورد هدف قرار می‌دهد مطرح نمود. موفقیت چنین روش‌هایی به شناسایی پیش‌برهای گیاهی که به طور اختصاصی یا به فراوانی در مکان‌های تغذیه‌ای بیان می‌شوند بستگی دارد. این پیش‌برها می‌توانند به ژن‌های کشنده که هنگام بیان داخل سلول‌های تغذیه‌ای سبب مرگ یا ایجاد نقص در سلول می‌شوند متصل شوند. اولین مثال از این راهکار چنین گزارش شد که پیش‌بر کوتاه شده پروتئین کانال آبی (TobRB7) به طور اختصاصی در داخل سلول‌های غول‌آسای اختصاصی نماد گره ریشه در گیاه بیان می‌شود و زمانی که به ریبونوکلوئاز کشنده سلول (Barnase) متصل می‌شود سبب مرگ سلول می‌گردد (Opperman et al. 1994). اما بیان ناخواسته چنین ژن کشنده‌ای در سایر سلول‌های گیاهی می‌تواند یک ایراد جدی برای این راهکار باشد که با برخی روش‌ها اصلاح می‌شود. اگرچه گروهی از ژن‌ها شناسایی شده‌اند که در سلول‌های تغذیه‌ای نمادها بیانشان کم یا زیاد می‌شود اما باید پیش‌برهایی استفاده گردد تا علاوه بر بیان بالا در مکان‌های تغذیه‌ای، بدون ایجاد عوارض جانبی ناخواسته برای گیاهان عمل نماید.

با پیشرفت در زمینه فناوری، تجزیه و تحلیل تغییرات الگوی بیان ژن‌ها در سلول‌های تغذیه‌ای نمادها با جزئیات کامل ممکن شده است. بسیاری از این پژوهش‌ها به خاطر اهمیت اقتصادی بالای آن به کار روی سلول‌های تغذیه‌ای نماد سیستم سویا متمرکز شده است. با به‌کارگیری ریزآرایه‌ها، ۱۰۰ ژن منتخب سویا که در سلول‌های تغذیه‌ای بیان تغییر یافته و متفاوتی دارند شناسایی شده‌اند. بعضی از این ژن‌ها با افزایش بیان سبب کاهش ۵۰ درصدی در تعداد افراد ماده گردیدند و برخی اثر عکس داشتند. بنابراین چالش بعدی، انتخاب ژن‌هایی است که سبب ایجاد مقاومت در گیاه شده و فقط در تشکیل سلول‌های تغذیه‌ای اختلال

اصلی‌ترین هدف شناسایی ژن‌های مقاومت به نمادها وارد کردن آن‌ها به سایر گیاهان حساسی که ارزش اقتصادی بالا دارند تا میزان خسارت آن‌ها را بدون متضرر شدن از معایب کنترل شیمیایی کاهش دهند. اگرچه موفقیت‌هایی در ایجاد محصولات با ژن‌های مقاومت به گیاهان (مثل ارقام گوجه‌فرنگی دارای ژن *Mi*، ارقام سیب‌زمینی دارای ژن *H1*) وجود دارد اما به طور کلی گزارش‌های کمی از انتقال موفق ژن‌های مقاومت در برابر گونه‌های جدید موجود است. در اغلب انتقال‌های موفق انجام شده، ارتباط بین ژن‌های وارد شده به گیاهان و گونه‌های نماد اختصاصی است. مثلاً انتقال ژن *Mi* به بادمجان سبب ایجاد مقاومت به *M. javanica* می‌شود اما در برابر شته مقاومت رخ نمی‌دهد. هم‌چنین انتقال ژن *Hero A* به ارقام گوجه‌فرنگی سطوح قابل قبولی از مقاومت را در برابر نماد سیب‌زمینی بروز می‌دهد، اما انتقال این ژن به سیب‌زمینی سبب مقاومت به این نماد در گیاه سیب‌زمینی نمی‌شود (Sobczak et al. 2005). درک بهتری از سازوکار مقاومت حاصل از این گروه ژن‌های مقاومت سبب انتقال موثرتر آن‌ها به سایر گیاهان خواهد شد.

روش‌های تراریخته در کنترل نمادهای انگل گیاهی

انواع مسیرها برای ایجاد مقاومت به نمادها وجود دارد که به برخی از مهمترین آن‌ها اشاره می‌شود. تولیدمثل نمادهای انگل داخلی مثل گونه‌های مختلف نمادهای مولد سیستم، نمادهای گره ریشه، نماد قلوهای (*Rotylenchulus spp.*)، نماد گره کاذب ریشه (*Nacobbus spp.*) و نماد مرکبات (*Tylenchulus spp.*) وابسته به تشکیل موفق سلول‌های غول‌آسا، سینستیم‌ها، سلول‌های پرستار و سایر مکان‌های تغذیه‌ای اختصاص یافته است. بنابراین راهکارهایی که بتوانند تشکیل این مکان‌های تغذیه‌ای را مختل کنند مورد علاقه پژوهش‌گران قرار گرفته است. به‌عنوان مثال، می‌توان روش‌های مبتنی بر RNAi که

توضیح این روش‌ها در این نوشتار نمی‌گنجد اما این روش‌های پیشرفته ویرایش ژن می‌توانند برای دستکاری ژن‌های گیاه میزبان مثلاً از طریق تخریب یا تغییر بیان ژن‌های اساسی در تشکیل مکان‌های تغذیه‌ای نماتدهای انگل داخلی ساکن به کار روند. با این حال، هنوز در مورد عدم وجود اثرات جانبی ناخواسته برای این فناوری‌ها اطمینان کافی وجود ندارد.

استفاده از محصولات دارای مقاومت به نماتدها از مرحله آزمایش تا تجاری‌سازی

پس از انجام پژوهش‌ها و گرفتن نتیجه رضایت بخش از آزمایش‌های مختلف، قدم‌های بعدی باید برداشته شود. قبل از این که مقاومت به نماتد یا ویژگی دیگری بتواند تجاری شود علاوه بر اینکه بازاریابی و صرفه اقتصادی آن بررسی می‌شود باید ثبت اختراع شود. در سطح دانشگاهی، این کار معمولاً از طریق ثبت موقت در دفاتر دانشگاهی انجام می‌گیرد. سپس مراحل بعدی جهت ثبت کامل محصول پژوهش انجام خواهد گرفت. این مراحل از طریق برخی شرکت‌های خصوصی نیز قابل انجام است. در کل این فرایندها میزان هزینه مورد نیاز برای تجاری‌سازی محصول برآورد شده و با شرکت یا شرکت‌هایی که بتوانند این هزینه‌ها را تقبل کنند مذاکره انجام می‌شود. به طور کلی، کل فرایند تجاری‌سازی یک محصول جدید مقاوم به نماتد را به طور خلاصه چنین می‌توان توصیف کرد: مرحله کشف و شناسایی ژن مقاومت یا عامل مقاومت که شامل انواع روش‌های غربال و آزمون بر روی گیاهان مدل است. پیش‌روی و توسعه کار شامل چندین مرحله است که مهمترین آن انجام بهینه‌سازی ژن و وارد کردن آن به گیاه و انجام تمام آزمایش‌های تکمیلی مربوط به آن می‌باشد تا نتیجه مطلوب از هدف مورد نظر به دست آمده و تایید شود.

ایجاد کرده و تغییر دیگری در متابولیسم و حالت طبیعی رشد گیاه ایجاد نکند. با کشف RNAi در نماتدها، ایجاد گیاهانی با تولید RNAهای دو رشته‌ای که ژن‌های نماتدها را مورد هدف قرار دهند مطرح شد. در حقیقت این روش شامل خاموشی محصول رونویسی ژن‌های خاصی از نماتدها است که برای ایجاد رابطه انگلی مناسب ضروری هستند. نگارنده پیش از این در مورد سازوکار این روش و پیشینه آن به تفصیل بحث نموده است (مصلحی ۱۳۹۷). ژن‌های بسیاری در نماتدهای مختلف با استفاده از این روش خاموش شده‌اند (جداول ۳ و ۴). از آنجایی که RNAi به فراوانی در مطالعات ژنومیک کاربردی افکتورهای نماتد یا ژن‌های حیاتی به کار رفته است، امنیت و سلامت غذایی و تغذیه با محصولات اصلاح شده با این روش نیازمند توجه خاصی است. در این مورد مطالب زیادی نگاشته شده که سلامت انسان و جانوران را مورد توجه قرار داده است. در یک مطالعه مروری، از داده‌هایی در مورد انسان و سایر پستانداران استفاده شده و چنین نتیجه‌گیری شده است که گیاهان حاصل از فناوری RNAi برای مصرف انسان و سایر موجودات ضرری ندارند (Petrick et al. 2013).

برخی از مثال‌های مهم از فناوری‌های نوین شامل Cisgenesis (وارد کردن DNA از یک گونه مشابه یا سازگار)، RNAi (کاهش بیان ژن‌های موجود)، NGS (توالی‌یابی نسل جدید)، اصلاح معکوس، ویرایش ژنوم، اپی‌ژنتیک، انتقال با آگروباکتریوم، خاموشی ژن القا شده با ویروس و... است. با پیشرفت‌ها در زمینه فناوری زیستی، فناوری‌های جدید ویرایش ژن ایجاد شده است که توانایی ایجاد تغییرات مطلوب در توالی ژنومی را فراهم می‌کند. این روش‌ها می‌توانند بیان ژن‌های موجود را تغییر دهند و یا تغییرات مشخص و هدف‌داری را در نوکلئوتیدها ایجاد کنند (مانند جهش‌های ایجاد شده به وسیله الیگونوکلوئوتیدها).

جدول ۳- RNAi راه اندازی شده در گیاه در مورد برخی ژن های اساسی و انگلی نماتدهای گره ریشه (برگرفته از Fosu-Nyarko and Jones 2015)

Table 3- Host-delivered RNAi for parasitism and essential genes of root knot nematodes (Fosu-Nyarko and Jones 2015)

گونه نماتد	ژن خاموش شده (گیاه محصول)	فتوتیپ به دست آمده	منبع
<i>M. incognita</i>	<i>Snfc-5</i> (تنباکو)	کاهش ۹۰ درصدی نماتدها	Yadav et al. 2006
	<i>(prp-21)</i> فاکتور ویرایش پیش - mRNA (تنباکو)	کاهش ۹۰ درصدی نماتدها	
	<i>(16D10)</i> پپتید ترشچی (آرابیدوپسیس)	کاهش ۸۳-۶۹ درصدی تعداد تخم در گره ریشه و بیش از ۶۳ درصد کاهش در اندازه و تعداد گره ها	Huang et al. 2006
	<i>(tnc)</i> ، تروپونین C (گوجه فرنگی)	کاهش ۵۹ درصدی در تفریخ لارو سن دوم	Dubreuil et al. 2009
	<i>(16D10)</i> پپتید ترشچی (انگور)	کاهش کلی تعداد تخم ها در هر گرم از ریشه	Yang et al. 2013
	<i>(ctr)</i> کالرتیکولین (گوجه فرنگی)	کاهش ۸۴ درصدی در گره های ایجاد شده از لاروهای سن دوم حاصل از خاموشی	Dubreuil et al. 2009
	لاکتات دهیدروژناز (سویا)	۵۷ درصد کاهش در تعداد گره ها و کاهش اندازه نماتدها	Ibrahim et al. 2011
	پروتئین شوک -۷۰ میتوکندریایی (سویا)	۹۲ درصد کاهش در تعداد گره ها و کاهش اندازه نماتدها	Ibrahim et al. 2011
	تیروزین فسفات (سویا)	کاهش ۹۵ درصدی گره ها در ریشه و کاهش اندازه نماتد	Ibrahim et al. 2011
	اکسیداز دوگانه (گوجه فرنگی)	کاهش ۶۱ درصدی کل تعداد نماتدها	Charlton et al. 2010
	کمپلکس سیگنال پپتیداز ۳ (گوجه فرنگی)	کاهش ۵۲ درصدی کل تعداد نماتدها	Charlton et al. 2010
<i>M. javanica</i>	<i>(NULG1-a)</i> پروتئین افکتور نماتد (آرابیدوپسیس)	کاهش بیش از ۸۸ درصد در تعداد کل نماتدها	Lin et al. 2013
	<i>(16D10)</i> پپتید ترشچی (آرابیدوپسیس)	کاهش ۹۰-۹۳ تعداد تخم در هر گرم ریشه و بیش از ۶۳ درصد کاهش در تعداد و اندازه گره ها	Huang et al. 2006
<i>M. arenaria</i>	<i>(16D10)</i> پپتید ترشچی (آرابیدوپسیس)	کاهش ۹۲-۸۴ تعداد تخم در هر گرم ریشه و بیش از ۶۳ درصد کاهش در تعداد و اندازه گره ها	Huang et al. 2006
<i>M. hapla</i>	<i>(16D10)</i> پپتید ترشچی (آرابیدوپسیس)	کاهش ۷۳-۶۹ تعداد تخم در هر گرم ریشه و بیش از ۶۳ درصد کاهش در تعداد و اندازه گره ها	Huang et al. 2006
<i>M. chitwoodi</i>	<i>(16D10)</i> پپتید ترشچی (آرابیدوپسیس)	کاهش ۶۷-۵۷ درصد تعداد تخم ها و کیسه های تخم	Dinh et al. 2014
	<i>(16D10)</i> پپتید ترشچی (سیب زمینی)	کاهش ۷۱-۶۳ درصد در تعداد تخم ها و کیسه های تخم	Dinh et al. 2014

بستگی به چند مورد دارد. به عنوان مثال، می توان به ارزش اقتصادی خود گیاه، محلی که کشت می شود (از نظر قوانین حاکم)، سطح زیر کشت، درصد و محدوده منطقه آلوده به نماتد، درصد مقاومتی که به وسیله اعمال ویژگی جدید در گیاهان ایجاد می شود، هزینه روش های جایگزین کنترل، میزان دسترسی و استاندارد محصولات ایجاد شده و قابل عرضه به کاربر و... اشاره نمود (Scobar and Fennol 2015).

مرحله نهایی شامل تجاری سازی است که شامل تکمیل و جمع بندی مراحل قبلی از جمله آزمون های مزرعه ای و تولید نسل از گیاهان و پیش راه اندازی محصول است. در این مرحله مراحل قانونی، تهیه و تولید بذر محصول و بازاریابی انجام شده و نهایتاً محصول مورد نظر به زارعین و مشتری عرضه می گردد. کل فرایند موفق شروع پژوهش تا پایان آن در شرایط عادی به طور کلی حدوداً شش الی هشت سال زمان صرف می کند که این زمان بسته به شرایط مختلف تاثیر گزار در روند کار می تواند تغییراتی داشته باشد. ارزش تجاری محصولات مقاوم حاصل از زیست فناوری

جدول ۴- RNAi راه اندازی شده در گیاه در مورد برخی ژن های اساسی و انگلی نماتدهای سیست (برگرفته از Fosu-Nyarko and Jones 2015)

Table 4- Host-delivered RNAi for parasitism and essential genes of cyst nematodes (Fosu-Nyarko and Jones 2015)

منبع	فئوتیپ ایجاد شده	ژن خاموش شده و گیاه محصول	گونه نماتد
Steeves et al. 2006	بیش از ۶۸ درصد کاهش در تعداد سیست ها	(MSP) پروتئین بزرگ اسپرم (سویا)	<i>Heterodera glycines</i>
Klink et al. 2009	۸۷ درصد کاهش در تعداد سیست ها	(rps-3a) پروتئین ریبوزومی 3a (سویا)	
Klink et al. 2009	۸۱ درصد کاهش در تعداد سیست ها	(rps-4)، پروتئین ریبوزومی ۴ (سویا)	
Klink et al. 2009	۸۸ درصد کاهش در تعداد سیست ها	(spk-1)، پروتئین SR (سویا)	
Klink et al. 2009	۹۳ درصد کاهش در تعداد سیست ها	(snb-1) سیناپتوبروین (سویا)	
Li et al. 2010	۸۱ درصد کاهش در تعداد سیست ها	(Y25) زیر واحد بتا از کمپلکس COPI (سویا)	
Li et al. 2010	۷۹ درصد کاهش در تعداد نماتدها	(prp-17) فاکتور ویرایش پیش mRNA (سویا)	
Li et al. 2010	۹۵ درصد کاهش در تعداد نماتدها	(cpn-1) پروتئین با نقش ناشناخته (سویا)	
Sindhu et al. 2009	۲۳-۶۴ درصد کاهش در ماده های در حال تشکیل	(4G06) پروتئین مشابه با یوئیکوتین (آراییدوپسیس)	<i>H. schachtii</i>
Sindhu et al. 2009	۱۲-۴۷ درصد کاهش در ماده های در حال تشکیل	(3B05)، پروتئین متصل شونده به سلولز (آراییدوپسیس)	
Sindhu et al. 2009	بیش از ۵۰ درصد کاهش در ماده های در حال تشکیل	(8H07) پروتئین شبه SKP-1 (آراییدوپسیس)	
Sindhu et al. 2009	۴۲ درصد کاهش در ماده های در حال تشکیل	(10A06) پروتئین انگشت روی (آراییدوپسیس)	
Patel et al. 2008	۳۶ درصد کاهش در تعداد سیست ها	(Hssyv46) پپتید ترشحي نماتد (آراییدوپسیس)	
Patel et al. 2008	بیش از ۲۰ درصد کاهش در تعداد سیست ها	(Hs5d08) پپتید ترشحي نماتد (آراییدوپسیس)	
Patel et al. 2008	بیش از ۲۰ درصد کاهش در تعداد سیست ها	(Hs4e02) پپتید ترشحي نماتد (آراییدوپسیس)	
Patel et al. 2008	بیش از ۵۵ درصد کاهش در تعداد سیست ها	(Hs4F01) پپتید ترشحي نماتد (آراییدوپسیس)	
Hamamouch et al. 2012	بیش از ۹۲ درصد کاهش در تعداد سیست ها	پروتئین افکتور 30C02	

ایجاد نماتدکشی های شیمیایی نوین بر مبنای یافته های ژنومی

چنین احتمالی وجود ندارد که یک هدف تراریخته یا رویکرد زیست فناوریانه بتواند تمام محصولات زراعی را در برابر حمله نماتد حفاظت کند. چرا که پیاده سازی این فرایندها و همچنین تامین هزینه آن ها و بازارپسندی و مورد قبول عامه بودن، جزو مشکلات اساسی است. با این حال، اطلاعات در مورد ژن هایی که تولیدات حیاتی برای فعالیت های نماتد، از جمله جهت یابی به سمت ریشه، ورود به ریشه، غلبه بر دفاع میزبان و سایر فعالیت های متابولیکی و نشو و نمایی را دارند و یا ژن هایی که در تشکیل مکان های تغذیه ای دخالت دارند می تواند برای ساخت نماتدکشی های جدید و سازگار با محیط زیست به کار روند (Danchin et al. 2013).

با کاهش یا ممنوعیت استفاده بیش از دو سوم از نماتدکشی های متداول به علت سمیت زیاد آن ها، باقیماندگی در محیط زیست و تاثیر در تخریب لایه ازن، صنایع در پی تولید نسل جدیدی از عوامل کنترل نماتدها هستند. این هدف بیشتر مربوط به گیاهان باغی است؛ چرا که دستکاری ژنتیکی بیشتر در

مورد گیاهان زراعی با وسعت کشت بالا مثل سویا، ذرت و پنبه به کار می رود. از طرفی اگرچه منابع زیادی در مورد به کارگیری مواد شیمیایی گیاهی در کنترل نماتدها وجود دارد اما تعداد کمی از این مواد در سطح کاربردی موفق بوده اند. دلیل این امر می تواند شامل فعالیت کم، گیاهسوزی، ماندگاری کم، شستشو به داخل آب های زیرزمینی، گرانی تولید یا سمیت برای پستانداران باشد. بنابراین صنایع تولید عوامل کنترل، به کنترل تلفیقی آفات علاقه بیشتری دارند. کشف نماتدکشی های شیمیایی جدید معمولاً شامل ساخت مواد جدید، تغییر مواد از قبل موجود و انجام آزمون های مختلف از طریق غربال های با حجم وسیع در گلخانه ها و مزارع است تا میزان کارایی آن ها، جنبه های زیست محیطی، هزینه تولید، میزان تقاضا در بازار فروش و... بررسی گردد. به طور جایگزین، رویکردهای مبتنی بر هدف، می توانند مثلاً داده های حاصل از آزمایش های خاموشی ژن را مورد بررسی قرار دهند تا مولکول هایی را طراحی کنند که در محل های فعال تولیدات ژن های هدف عمل کرده و فعالیت حیاتی آن ها را مختل کنند (Taylor et al. 2014).

جمع‌بندی نهایی

بهره‌برداری از ژن‌های مقاومت طبیعی با استفاده از غربال ژنوتیپ‌ها و انتخاب با نشانگرها، به روشی استاندارد برای بهبود مقاومت یا تحمل به نماتدها در بسیاری از محصولات گیاهی تبدیل شده است. با این وجود، در مورد بسیاری از محصولات، این رویکرد بسیار کند بوده و در خیلی از موارد، مقاومت با طیف وسیع ایجاد نمی‌شود. این یکی از دلایل عقب‌ماندگی به کارگیری زیست‌فناوری در ایجاد گیاهانی با ویژگی مقاومت به نماتدها در مقایسه با گیاهانی است که سایر ویژگی‌های زراعی در آن‌ها اصلاح می‌شود. اما با پیشرفت در زمینه‌های زیست‌فناوری، ایجاد ارقام تجاری از محصولات اقتصادی مهم که با روش‌های تراریخته مقاوم شده‌اند رو به افزایش خواهد بود. مثلاً ذرت تراریخته متحمل به علف‌کش‌ها و مقاوم به حشره‌ها در بازار موجود است و چنین ارقامی با مقاومت مشابه در سویا، پنبه و سایر محصولات نیز در حال ایجاد هستند. چنین رویکردهایی از طریق فناوری‌هایی چون RNAi یا بیان ژن‌های مقاومت و ... می‌تواند سبب ایجاد گیاهان مقاوم به نماتد

نیز گردد. علاوه بر این، ژن‌های مقاومت مصنوعی با محل‌های اثر مختلف، می‌توانند برای افزایش کارایی و ماندگاری ویژگی مقاومت به نماتد به کار روند و یا بیان ژن‌های وارد شده را محدود به ریشه‌ها کنند. با این حال بررسی‌ها در مورد امنیت این محصولات برای تغذیه بشر و محیط زیست باید ادامه داشته باشد. دو سوم جمعیت جهان در کشورهایی زندگی می‌کنند که در آن‌ها محصولات دستکاری شده کشت می‌شود و توجه به تامین غذای این جمعیت اهمیت زیادی دارد. بنابراین چنین احتمال می‌رود که استفاده از محصولات تراریخته به عنوان یکی از روش‌های تامین غذای این جمعیت رو به رشد، پس از این بیشتر مورد قبول واقع شده و افزایش یابد. موفقیت‌های فراوانی در زمینه به کارگیری زیست‌فناوری در ایجاد ارقام گیاهی مقاوم به نماتدها انجام گرفته است و هنوز هم پژوهش‌های جدیدتر در حال انجام است. بنابراین ارقام تراریخته مقاوم به نماتدها بی‌شک، برای تامین نیاز غذایی جهان در آینده کمک فراوانی خواهد نمود.

منابع

- Charlton WC, Harel HYM, Bakhetia M, Hibbard JK, Atkinson HJ, McPherson MJ. 2010. Additive effects of plant expressed double-stranded RNAs on root-knot nematode development. *International Journal for Parasitology* 40: 855–864.
- Concibido VC, Diers BW, Arelli PR. 2004. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean. *Crop Science* 44: 1121–1131.
- Chu Y, Wu CL, Holbrook CC, Tillman BL, Person G, Ozias-Akins P. 2011. Marker-assisted selection to pyramid nematode resistance and the high oleic trait in peanut. *The Plant Genome* 4: 110–117.
- Danchin EGJ, Arguel MJ, Campan-Fouriner A, Perfus-Barbeoch L, Magliano M, Rosso MN, Rocha MD, Silva DC, Nottet N, Labadie K, Guy J, Artiguenave F, Abad P. 2013. Identification of novel target genes for safer and more specific control of root-knot nematodes from a pan-genome mining. *PLoS Pathogens* 9(10): e1003745.
- Dinh PTY, Brown CR, Elling AA. 2014. RNA interference of effector gene Mc16D10L confers resistance against *Meloidogyne chitwoodi* in *Arabidopsis* and potato. *Phytopathology* 104: 1098–1106.
- Djian-Caporalino C, Fazari A, Arguel MJ, Vernie T, VandeCastele C, Faure I, et al. 2007. Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) Me resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. *Theoretical and Applied Genetics* 114: 473–486.
- Dubreuil G, Magliano M, Dubrana MP, Lozano K, Lecomte P, Favory B, Abad P, Rosso MN. 2009. Tobacco rattle virus mediates gene silencing in a plant parasitic root-knot nematode. *Journal of Experimental Botany* 60: 4041–4050.
- Fosu-Nyarko J, Jones MJK. 2015. Application of biotechnology for nematode control in crop plants In: Scobar C, Fennol C (Eds.) *Advances in botanical research, Plant nematode interactions: A view on compatible interrelationships*, 339–376.
- Ganal MW, Simon R, Brommonschenkel S, Arndt M, Phillips MS, Tanksley SD, et al. 1995. Genetic mapping of a wide spectrum nematode resistance gene (*Hero*)

- against *Globodera rostochiensis* in tomato. *Molecular Plant Microbe Interactions* 8: 886–891.
- Hamamouch N, Li C, Hewezi T, Baum TJ, Mitchum MG, Hussey RS, Vodkin LO, Davis EL. 2012.** The interaction of the novel 30C02 cyst nematode effector protein with a plant beta-1,3 endoglucanase may suppress host defence to promote parasitism. *Journal of Experimental Botany* 63: 3683–3695.
- Heller R, Schondelmaier J, Steinrucken G, Jung C. 1996.** Genetic localization of four genes for nematode (*Heterodera schachtii* Schm.) resistance in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 92:991–997.
- Huang G, Allen R, Davis EL, Baum JT, Hussey SR. 2006.** Engineering broad root-knot resistance in transgenic plants by RNAi silencing of a conserved and essential root-knot nematode parasitism gene. *Proceedings of National Academy of Science of the USA* 103: 14302–14306.
- Ibrahim HMM, Hosseini P, Alkharouf NW, Hussein EHA, El Kader A, El-Din G, et al. 2011.** Analysis of gene expression in soybean (*Glycine max*) roots in response to the root knot nematode *Meloidogyne incognita* using microarrays and KEGG pathways. *BMC Genomics* 12: 220.
- Klink VP, Kim KH, Martins V, Macdonald MH, Beard HS, Alkharouf NW, et al. 2009.** A correlation between host-mediated expression of parasite genes as tandem inverted repeats and abrogation of development of female *Heterodera glycines* cyst formation during infection of *Glycine max*. *Planta* 230: 53–71.
- Leister D, Ballvora A, Salamini F, Gebhardt C. 1996.** A PCR based approach for isolating pathogen resistance genes from potato with potential for wide application in plants. *Nature Genetics* 14: 421–429.
- Lewis JG, Matic M, McKay AC. 2009.** Success of cereal cyst nematode resistance in Australia: history and status of resistance screening systems. In: Riley IT, Nicol, JM. Dababat AA (Eds.), *Proceedings of the first workshop of the international cereal cyst nematode initiative: Cereal cyst nematode: Status, research and outlook Turkey, Antalya*, 137–142.
- Li J, Todd TC, Oakley TR, Lee J, Trick HN. 2010.** Host-derived suppression of nematode reproductive and fitness genes decreases fecundity of *Heterodera glycines* Ichinohe. *Planta* 232:775–785.
- Lin B, Zhuo K, Wu P, Cui R, Zhang LH, Liao J. 2013.** A novel effector protein, MJ-NULG1a, targeted to giant cell nuclei plays a role in *Meloidogyne javanica* parasitism. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 26: 55–66.
- Moslehi Sh. 2018.** A review on the application of RNAi technology in Nematology. *Journal of Biosafety* 11 (1): 85-92. (In Farsi with English abstract)
- Niewohner J, Salamini F, Gebhardt C. 1995.** Development of PCR assays diagnostic for FLP marker alleles closely linked to alleles *Gro1* and *H1*, conferring resistance to the root cyst nematode *Globodera rostochiensis* in potato. *Molecular Breeding* 1: 65–67.
- Opperman CH, Taylor CG, Conkling MA. 1994.** Root-knot nematode-directed expression of a plant root-specific gene. *Science* 263: 221–223.
- Patel N, Hamamouch N, Li C, Hussey R, Mitchum M, Baum T, Wang X, Davis EL. 2008.** Similarity and functional analyses of expressed parasitism genes in *Heterodera schachtii* and *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology* 40: 299–310.
- Petrack JS, Brower-Toland B, Jackson AL, Kier LD. 2013.** Safety assessment of food and feed from biotechnology-derived crops employing RNA-mediated gene regulation to achieve desired traits: a scientific review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 66:167–176.
- Rossi M, Goggin FL, Milligan SB, Kaloshian I, Ullman DE, Williamson VM. 1998.** The nematode resistance gene *Mi* of tomato confers resistance against the potato aphid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 95: 9750–9754.
- Scobar C, Fennol C. 2015.** Advances in botanical research, Plant nematode interactions: A view on compatible interrelationships. Academic Press is an imprint of Elsevier, London, UK.
- Sindhu AS, Maier TR, Mitchum MG, Hussey RS, Davis EL. 2009.** Effective and specific in planta RNAi in cyst nematodes: expression interference of four parasitism genes reduces parasitic success. *Journal of Experimental Botany* 60: 315–324.
- Sobczak M, Avrova A, Jupowicz J, Phillips MS, Ernst K, Kumar A. 2005.** Characterization of susceptibility and resistance responses to potato cyst nematode (*Globodera* spp.) infection of tomato lines in the absence and presence of the broad-spectrum nematode resistance *Hero* gene. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18:158–168.
- Steeves RM, Todd TC, Essig JS, Trick HN. 2006.** Transgenic soybeans expressing siRNAs specific to a major sperm protein gene suppress *Heterodera glycines* reproduction. *Functional Plant Biology* 33: 991–999.
- Taylor JRN, Belton PS, Beta T, Duodu KG. 2014.** Increasing the utilisation of sorghum, millets and pseudocereals: developments in the science of their phenolic phytochemicals, biofortification and protein functionality. *Journal of Cereal Science* 59: 257–275.
- van der Voort JR, Wolters P, Folkertsma R, Hutten R, Van Zandvoort P, Vinke H, et al. 1997.** Mapping of the cyst nematode resistance locus *Gpa2* in potato using a strategy based on migrating AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 874–880.

- Webber HJ, Orton WA. 1902.** Some diseases of cowpea. II. A cowpea resistant to root knot nematode. In USDA bureau of plant industry Bulletin no. 17.
- Wilfarth H. 1900.** Ein neuer gesichtspunkt zur bekmpfung der nematoden. Zeitchr. d. verd Deut. Zucker Industrie. Lieferung 529: 195–204.
- Williams, KJ. Fisher JM, Langridge P. 1996.** Development of a PCR-based allele specific assay from an RFLP probe linked to resistance to cereal cyst nematode in wheat. Genome 39:798–801.
- Williams K, Taylor S, Bogacki P, Pallotta M, Bariana H, Wallwork H. 2002.** Mapping of the root lesion nematode (*Pratylenchus neglectus*) resistance gene Rlnn1 in wheat. Theoretical and Applied Genetics 104: 874–879.
- Yadav BC, Veluthambi K, Subramaniam K. 2006.** Host-generated double stranded RNA induces RNAi in plant-parasitic nematodes and protects the host from infection. Molecular and Biochemical Parasitology 148: 219–222.

Genetic Engineering and Biosafety Journal

Volume 7, Number 2

Biotechnology for control of Plant Parasitic Nematodes

Shalaleh Moslehi

Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran Email Corresponding author: sh.moslehi@yahoo.com

Abstract

Plant parasitic nematodes are amongst the most economically important groups of pathogens. The use of resistant cultivar, crop rotation, chemical control, antagonistic organisms and biocontrol agents are the principal methods for management of the nematodes. Natural nematode resistance genes present in gene pools of crop species and their relatives have been used with the aim of transferring such traits into economically important plants where effective resistance is lacking. Biotechnology contributes to this process via marker-assisted selection to identify the best nematode resistance genes, and increasingly in providing new knowledge of target genes, and the potential to exploit this knowledge using transgenic technology. Thus recent advances make it possible to exploit specific aspects of nematode-host plant interactions to design control strategies that include enabling plants to prevent nematode invasion, migration through tissues and reducing feeding ability or nematode fecundity. Application of RNAi, new biotechnology-based chemical nematicides and some other methods are amongst the modern strategies of control. New traits would be added to existing crop genotypes with the best conventional or natural nematode resistance to increase the effectiveness and durability of the nematode resistance trait. Biotech trait expression could also be limited to roots to minimize expression in harvested parts.

Key words: Biological control, Integrated management, Pathogen, Resistance, Transgenic.