

ارزیابی جنبه‌های ایمنی زیستی سیس ژنسیس و اینتراژنسیس در مقایسه با ترانس ژنسیس

Evaluation of Biosafety Aspects of Cisgenesis and Intragenesis in Comparison with Transgenesis

سمیرا کهاک^{۱*}، بهزاد قره‌یاضی^۲، حبیب‌الله سمیع‌زاده‌لاهیجی^۱ و مطهره محسن‌پور^۲

Samira Kahak^{1*}, Behzad Ghareyazie², Habibollah Samizadeh¹, Motahhareh Mohsenpour²

۱- دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، ایران، ۲- پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج

1- Agriculture Faculty, Guilan University, Iran

2- Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO)

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: s.kahak@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۱۶)

چکیده

سیس ژنسیس و اینتراژنسیس به فناوری‌های انتقال ژن‌های مفید از گونه‌های قابل تلاقی با استفاده از روش مهندسی ژنتیک اطلاق می‌شود. این دو فناوری جهت پاسخ‌گویی به ملاحظات ابراز شده در مورد ترانس ژنسیس توسعه یافته و در مقایسه با ترانس ژنسیس محدودیت‌هایی برای خود قابل شده‌اند. در این دو فناوری نمی‌توان از گونه‌های غیرخویشاوند که تلاقی آن‌ها در طبیعت نادر است، ژنی به موجود گیرنده منتقل کرد. سیس ژنسیس و اینتراژنسیس از جنبه‌هایی مانند حذف ایترون‌ها و الحاق پیش‌ر و پای‌نبر از ژن‌های دیگر، با یکدیگر متفاوت هستند. تقبل محدودیت‌های این دو فناوری در مقایسه با ترانس ژنسیس، به امید معافیت از مقررات سخت‌گیرانه مرسوم ایمنی زیستی انجام گرفته است. موضوع ارزیابی‌های کاهش یافته در مورد این فناوری‌ها در کشورهای مختلف به بحث گذاشته شده و برخی آن را پذیرفته و برخی نیز به دلایلی آن را رد کرده‌اند. با توجه به اینکه تعریف موجودات تغییر یافته ژنتیکی حاصل از سیس ژنسیس و اینتراژنسیس همانند ترانس ژنسیس در تطابق کامل با تعریف ارایه شده در پروتکل ایمنی زیستی کارتاها است، مستثنی شدن محصولات این فناوری‌ها در سطح بین‌المللی و در تبادلات تجاری بین کشورها نمی‌تواند موضوعیت داشته باشد. از سوی دیگر مطالعات متعددی نشان داده‌اند که امکان انتقال ژن از گونه‌های دور در طبیعت وجود دارد و با توجه به اینکه ملاحظات ابراز شده متعدد دیگری در مورد موجودات سیس ژنیک و اینتراژنیک همچنان باقی مانده‌اند، مستثنی کردن این محصولات از ضوابط ایمنی زیستی بعید به نظر می‌رسد. جایگزینی آن‌ها به جای ترانس ژنسیس نه تنها مفید فایده نخواهد بود، بلکه از مزایای ترانس ژنسیس چشم‌پوشی می‌کنند.

واژه‌های کلیدی

ایمنی زیستی،
سیس ژنسیس،
اینتراژنسیس،
ترانس ژنسیس،
مهندسی ژنتیک

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 10, Number 1, 2021

Abstract

Using genetic engineering for gene transformation through crossable species is known as Cisgenesis and Intragenesis. These two technologies have been developed to respond to the considerations expressed in relation to Transgenesis. These technologies have technical limitations compared with Transgenesis. In these technologies, it is not possible to transfer a gene to the recipient organism from species that their crosses are rare in nature. Cisgenesis and intragenesis are different in some aspects such as the removal of introns and the selection of promoters and terminators from other genes. These restrictions have been met in comparison to transgenesis, in the hope of exempting from biosafety regulations. The issue of reduced biosafety evaluations of these technologies has been debated in various countries. Some countries accepting the reduced biosafety evaluations and others rejecting it for some reasons. Considering that definition of Living Modified Organisms (LMOs) produced in Cisgenesis and Intragenesis such as transgenesis is in full compliance with the definition of LMOs in Cartagena Biosafety Protocol, products of these technologies would not be exempted from Biosafety regulations in international level. In addition, several studies have shown that gene transfer from distant species is possible in nature, and also some other concerns remained unanswered, exempting these products from biosafety regulations is not advisable.

Key words: Biosafety, Cisgenesis, Intragenesis, Transgenesis, Genetic Engineering

مقدمه

پیشینه کشاورزی نشان می‌دهد که انسان همواره به دنبال تولید ارقام گیاهی و نژادهای حیوانی دارای صفات کیفی و کمی بهتر جهت دستیابی به محصول باکیفیت برتر و عملکرد بیشتر بوده است. در اصلاح گیاه و دام کلاسیک می‌توان با استفاده از روش‌های مختلف، تنوع در بین موجودات زنده ایجاد کرده و یا از تنوع موجود استفاده کرد تا پس از کاربرد روش‌های انتخاب، مناسب‌ترین ژنوتیپ‌ها برای محل کشت و اهداف موردنظر برگزیده و در کشاورزی به کار روند. در واقع متخصصین ژنتیک و به‌نژادی، ژن‌ها و یا ال‌های کنترل‌کننده صفات مطلوب را از طریق روش‌هایی همچون تلاقی و یا جهش‌زایی به موجودات هدف منتقل می‌کنند و با استفاده از تغییرات ژنتیکی حاصله، صفات مطلوب را در فنوتیپ نمایان می‌کنند (Farsi and Bagheri, 2008). اصلاح نباتات سنتی به فرآیندی زمان‌بر (اغلب ده ساله و یا بیشتر) جهت توسعه یک واریته جدید نیاز دارد. در نتیجه یک نیاز فوری جهت به کارگیری ابزارهای زیست‌فناوری جهت مقابله با تنش‌های زیستی و غیرزیستی جهت توسعه واریته‌های دارای صفات مطلوب وجود دارد. در واقع در جهان

امروز جهت تامین غذای با کیفیت و افزایش کمیت غذا برای جامعه بشری رو به رشد، توسعه روش‌های نوین زیست‌فناوری ضروری است (Dudziak et al., 2019). پیشرفت زیست‌فناوری موجبات توسعه روش‌هایی کارا همچون مهندسی ژنتیک در اصلاح گیاهان را فراهم آورده است. این روش‌ها نیز بر پایه تغییرات ژنتیکی هستند (Jacobsen & Schouten, 2009).

یکی از ملاحظات که در مورد موجودات و محصولات تراریخته حاصل از مهندسی ژنتیک ابراز شده است، انتقال ژن از گونه‌هایی است که امکان تلاقی آن‌ها در طبیعت وجود ندارد. این که طبیعت چیست و طبیعی کدام است، آیا اصولاً در حال حاضر چیزی طبیعی داریم یا خیر و اینکه آیا اصلاح نباتات ولو از نوع کلاسیک آن طبیعی محسوب می‌شود یا نه موضوع این پژوهش نیست و پاسخ به این سوالات و پرسش‌های بیشتر به فرصتی دیگر موکول می‌شود. به هر حال در تلاش برای ایجاد پذیرش عمومی فناوری جدیدی به نام سیس ژنسیس (Cisgenesis) تعریف شده است که در آن ژن منتقل شده و تمام اجزای تنظیم‌کننده آن متعلق به یک گونه و یا متعلق به گونه‌های خویشاوند آن موجود است که قابلیت تلاقی طبیعی با گیرنده ژن را دارند. اما انتقال آن‌ها با استفاده از

روش مهندسی ژنتیک صورت می‌پذیرد. دلیل انتقال ژن در این روش همان دلایلی است که در به‌نژادی کلاسیک تلاقی بر اساس آن صورت می‌گیرد. به‌عنوان مثال ال‌های مختلف یک ژن که در خزانه ژنی موجود هستند و یا ژن‌هایی که صفات مطلوب موردنظر به‌نژادگر را کد می‌کنند، از همان گونه و یا از خویشاوندان آن گونه به محصول موردنظر منتقل می‌شوند (Telem et al., 2013). فناوری دیگری به نام ایتراژنسیس (Intragenesis) نیز توسعه یافته که در این روش کاست‌های ژنی دربردارنده توالی ژنتیکی خاص از موجودات متعلق به خزانه ژنی قابل تلاقی با ژنوم میزبان انتقال داده می‌شوند. در این حالت، توالی‌های کدگذاری ژن (با یا بدون ایترون) توسط پیشبرها و پایانبرهای ژن‌های مختلف تنظیم می‌شوند و این اجزای تنظیمی نیز از ژن‌های خزانه ژنی قابل تلاقی با ژنوم گونه میزبان انتخاب می‌شوند (Espinoza et al., 2013).

گفته می‌شود که ممکن است سیس ژنسیس به‌طور معنی‌داری بیشتر از ترانس ژنسیس مورد پذیرش عموم مردم قرار بگیرد (Edenbrandt et al., 2018). در واقع این موضوع بیشتر به جنبه‌های روانی پذیرش فناوری در عموم مردم ارتباط دارد تا به ماهیت فناوری مورد استفاده در این روش (Dudziak et al., 2019). ارزیابی جنبه‌های ایمنی و ماهیت این روش‌ها در مقایسه با روش ترانس ژنسیس و همین‌طور به‌نژادی کلاسیک از اهمیت بسزایی برخوردار است که در این نوشتار به این موضوع پرداخته خواهد شد.

مهندسی ژنتیک و تولید موجودات زنده تغییر یافته ژنتیکی (ترا ریخته)

بر اساس تعریف ارایه شده در پروتکل ایمنی زیستی کارتاها، فناوری زیستی جدید یا همان مهندسی ژنتیک به فناوری استفاده از روش‌های زیست شناسی مولکولی جهت ترکیب و الحاق مستقیم اسیدهای نوکلئیک به داخل سلول‌ها یا اندامک‌ها اطلاق می‌شود. موجودات تولید شده از این طریق، موجودات زنده تغییر یافته ژنتیکی (Living Modified Organisms (LMO)) یا ترا ریخته نامیده می‌شوند. مهندسی ژنتیک گیاهان جهت دستیابی به محصولات با صفات برتر زراعی در سال ۱۹۸۳ با انتقال ژن

باکتریایی به توتون آغاز شد (Fraley et al., 1983) و اولین محصول غذایی ترا ریخته یعنی گوجه‌فرنگی فلاور ساور در سال ۱۹۹۴ تولید شد (Bruening and Lyons, 2000). این گوجه‌فرنگی‌ها از طریق بیان آر.ان.ای آنتی‌سنس برای تنظیم سطح بیان آنزیم پلی‌گالاکتوروناز درگیر در رسیدن میوه، ماندگاری طولانی‌تری داشتند (Kramer and Redenbaugh, 1994). امروزه محصولات ترا ریخته شامل صفات مختلفی از جمله مقاومت به یا تحمل تنش‌های زیستی و غیرزیستی، تحمل به علف‌کش‌ها و نیز بهبود صفات تغذیه‌ای کاربرد دارند. بر اساس آخرین گزارش سرویس بین‌المللی دستیابی به و استفاده از زیست فناوری کشاورزی در سال ۲۰۱۹ بیست و نه کشور محصولات ترا ریخته را در سطح گسترده به‌صورت تجاری کشت می‌کنند و سطح زیر کشت این محصولات در سال ۲۰۱۹، پس از ۲۴ سال از آغاز کشت تجاری این محصولات در جهان، به ۱۹۰/۴ میلیون هکتار رسیده است. چهار محصول سویا، ذرت، پنبه و کلزا بیشترین سطح زیر کشت این محصولات را به خود اختصاص داده‌اند. پنج کشوری که بیشترین سطح زیر کشت این محصولات را دارند عبارتند از ایالات متحده آمریکا، برزیل، آرژانتین، کانادا و هند (James, 2019).

استفاده از مهندسی ژنتیک و تولید محصولات ترا ریخته می‌تواند پاسخ بسیاری از مشکلات مرتبط با تولید محصولات در کشاورزی از جمله تنش‌های زیستی و غیرزیستی باشد. با این وجود، از زمان معرفی آن‌ها در دهه ۱۹۹۰ ملاحظات در مورد مصرف آن‌ها در افکار عمومی مطرح شده است. از این رو محصولات حاصل از مهندسی ژنتیک یا همان زیست فناوری جدید، بر اساس پروتکل ایمنی زیستی کارتاها، پس از تولید، مستلزم طی مراحل ارزیابی‌های ایمنی زیستی هستند. از سوی دیگر مراجع ذی‌صلاح تعریف شده در قانون ایمنی زیستی جمهوری اسلامی ایران که مسئولیت بررسی ارزیابی‌های ایمنی زیستی را بر عهده دارند، مشتمل بر وزارت جهاد کشاورزی، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و سازمان حفاظت محیط زیست هستند (Islamic Republic of Iran National Biosafety Law, 2009 & Kahak et al., 2019). این امر در مورد هیچ یک از محصولات غذایی دیگر از جمله محصولات ارگانیک،

محصولاتی که با استفاده از سموم شیمیایی تولید می‌شوند و سایر محصولات متداول از جمله محصولات حاصل از جهش‌زایی سابقه ندارد و اعمال نمی‌شود. از سوی دیگر متخصصین ژنتیک و به‌نژادی، ژن‌های کنترل‌کننده صفات مطلوب را از طریق روش‌هایی همچون تلاقی به موجودات هدف منتقل می‌کنند و با استفاده از تغییرات ژنتیک صفات مطلوب را ایجاد می‌کنند، اما موجودات و محصولات حاصل از به‌نژادی کلاسیک در بین عوام "تغییر یافته ژنتیکی" محسوب نمی‌شوند و از طی مراحل کسب مجوز به نحوی که در مورد موجودات تراریخته الزام‌آور است، معاف هستند. گفته می‌شود یکی از دلایل و ملاحظات ابراز شده در مورد محصولات حاصل از مهندسی ژنتیک این است که ژن‌های منتقل شده و اجزای تنظیم‌کننده آن‌ها متعلق به همان جنس موجود میزبان و یا خویشاندان نزدیک آن که قابلیت تلاقی با آنها را دارند، نیستند. به عبارت دیگر یکی از ملاحظات ابراز شده در مورد محصولات تراریخته مربوط به ورود عناصر ژنتیکی از گونه‌های دوری است که ادعا شده است در طبیعت با هم تلاقی نمی‌یابند (Bauer and Gaskell, 2002; Gaskell and Bauer, 2001; Lassen et al., 2002). وجود نشانگرهای انتخابی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها از دیگر ملاحظات ابراز شده است (Purchase, 2005). البته توجه به این موضوع با احترامی که افکار عمومی برای طبیعت قائل است در ارتباط بوده و می‌تواند صحیح و یا اشتباه باشد (Holme, 2013). با توجه به اینکه پذیرش عمومی یک عامل مهم برای پیشرفت موفق یک فناوری است، دانشمندان جهت پاسخگویی به این ملاحظات، تغییراتی در روش تولید موجودات تغییر یافته ژنتیکی یا تراریخته با استفاده از مهندسی ژنتیک اعمال کرده و فناوری‌هایی را توسعه داده‌اند که از آن جمله می‌توان به سیس ژنسیس و اینتراژنسیس اشاره کرد.

فناوری‌های سیس ژنسیس و اینتراژنسیس

جهت پاسخ به ملاحظات ابراز شده در خصوص انتقال ژن از گونه‌های دور و وجود نشانگرهای مولکولی در موجودات زنده تغییر یافته ژنتیکی، روشی جدید ابداع شده است که در آن ژن منتقل شده از طریق مهندسی ژنتیک و تمام اجزای تنظیم‌کننده آن متعلق به یک گونه و یا متعلق به گونه‌های خویشاند آن موجود

است که قابلیت تلاقی طبیعی دارند. موجودات حاصل از این روش سیس ژنتیک نامیده می‌شوند. در این فناوری، ژن مورد نظر باید یک نسخه مشابه از ژن بومی گونه میزبان به همراه اجزای تنظیمی ژن و در جهت متداول خود (سنس) باشد (Espinoza et al., 2013). از سوی دیگر اینتراژنسیس، به فناوری انتقال کاست‌های ژنی دربردارنده توالی ژنتیک خاصی از موجودات متعلق به خزانه ژنی قابل تلاقی با ژنوم میزبان اطلاق می‌شود. اما در این روش، توالی‌های کدگذاری ژن (با یا بدون اینترون) توسط پیشبرها و پایانبرهای ژن‌های مختلف تنظیم می‌شوند. این اجزای تنظیمی نیز از ژن‌های خزانه ژنی قابل تلاقی با ژنوم میزبان تامین می‌شوند (Holme et al., 2013). در واقع در اینتراژنسیس می‌توان از عناصر ژنتیکی گونه‌های خویشاوند و یا سایر مکان‌های ژنی همان گونه استفاده کرد و به عبارت دیگر به جای استفاده از همان توالی ژن که در گیاه میزبان بوده است، تغییراتی از جمله حذف اینترون‌ها و یا تغییر پیشبر و یا پایانبر ژن با استفاده از توالی‌های تنظیمی موجود در خزانه ژنی موجود اعمال کرد (Rommens et al., 2007).

نیلسن اولین فردی بود که طبقه‌بندی‌های مختلف موجودات زنده تغییر یافته ژنتیکی را بر اساس فاصله فیلوژنتیک میان منبع اهدا کننده تراژن و موجود گیرنده انجام داد. گروهی که کمترین فاصله فیلوژنتیک را داشتند و موجود دهنده ژن و گیرنده ژن در یک گروه بوده و سازگاری جنسی داشتند، "اینتراژنتیک" نامیده شد (Nielsen, 2003). اولین بار جوچکسن و چوتن "سیس ژنسیس" را در کتاب خود تعریف کردند. در این تعریف تنها به موضوع الزام به استفاده از ژن‌ها از گونه‌های سازگار جنسی پرداخته شده بود و صحبتی از الزام عدم استفاده از پیشبر و پایانبر سایر ژن‌ها و نیز عدم حذف اینترون‌ها نبود (Jochemsen and Schouten, 2000). تا اینکه در سال ۲۰۰۶ چوتن تعریف کنونی از سیس ژنسیس را ارائه داد و به یک مفهوم پذیرفته شده، تبدیل شد (Schouten, 2006). از آن تاریخ مفاهیم سیس ژنسیس و اینتراژنسیس به عنوان ابزار جدیدی در مهندسی ژنتیک و به‌نژادی مطرح شده‌اند. در واقع اصطلاح موجود سیس ژنتیک به "موجودی که با یک یا چند ژن (حاوی اینترون‌ها و نواحی همسایه مانند پیشبر بومی و مناطق پایانبر با جهت‌گیری متداول یا سنس) جدا

(وکتور) متفاوت، این دو ژن در یک لوکوس وارد می‌شوند (Ghareyazie, unpublished data). به‌طور کلی گفته می‌شود، تولید گیاهان تغییر یافته ژنتیکی بدون نشانگر یا پس از حذف نشانگر می‌توانند پذیرش عمومی بیشتری نسبت به گیاهان ترانس ژنیک حاوی نشانگر داشته باشند. وتن و همکاران در سال ۲۰۰۳، روشی را ارائه دادند که در آن امکان شناسایی گیاهان تراریخته بدون استفاده از نشانگرهای انتخابی را فراهم کرده بود (de Vetten et al., 2003).

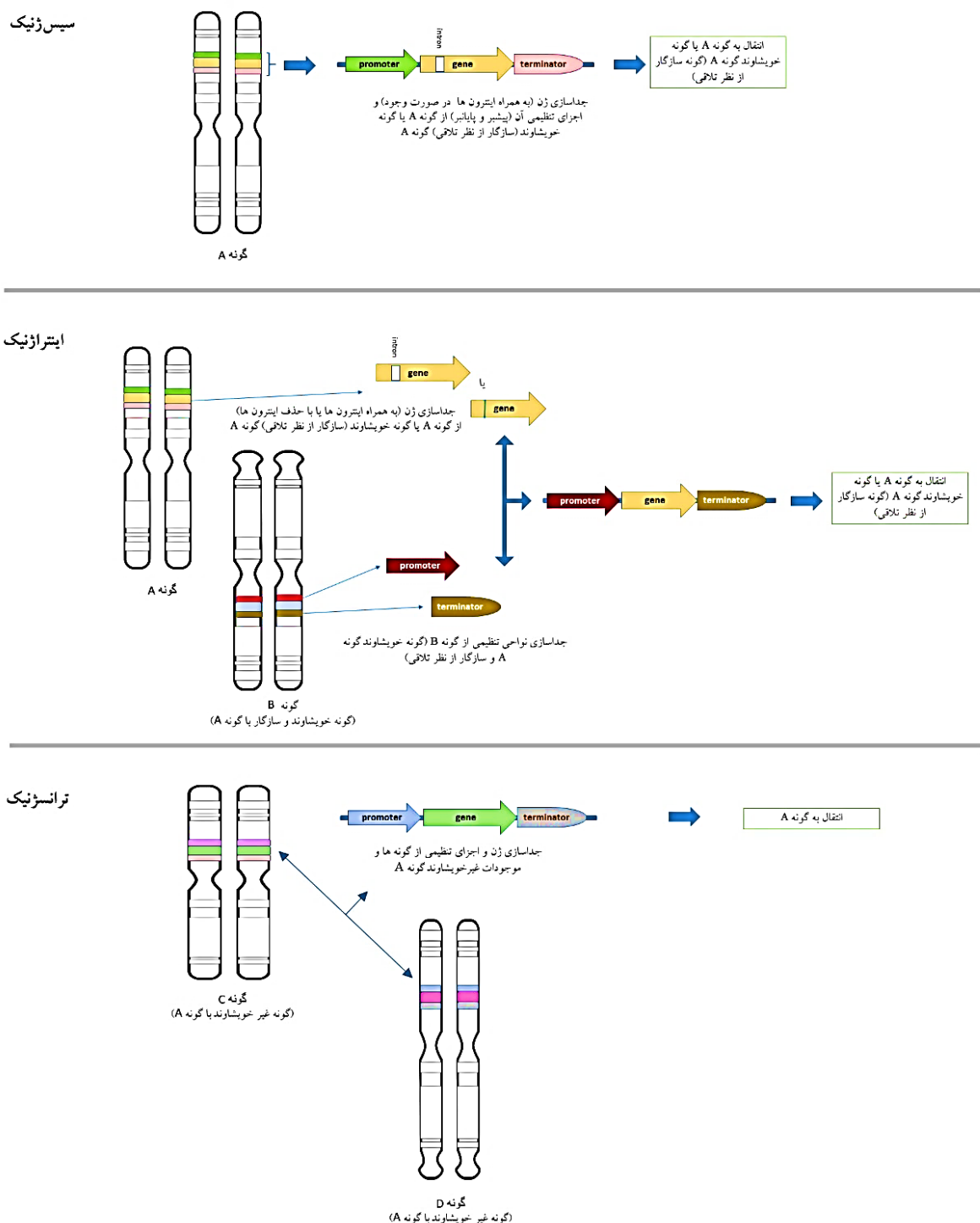
کاربرد سیس ژنسیس و ایتراژنسیس جهت بهبود صفات محصولات کشاورزی

همانطور که در جدول یک نشان داده شده است، صفات متعددی با روش سیس ژنسیس و ایتراژنسیس به گونه‌های مختلف محصولات کشاورزی منتقل شده‌اند. این گونه‌ها شامل سیب‌زمینی، سیب، یونجه، جو و گندم دوروم هستند (Espinoza et al., 2013 & Cardi, 2016). اطلاعات دقیقی در رابطه با تجاری سازی این محصولات وجود ندارد اما به نظر می‌رسد این محصولات در مرحله تحقیقاتی بوده و تا کنون تجاری سازی نشده‌اند.

اولین سیب‌زمینی که به‌عنوان ایتراژنیک رهاسازی شد، به‌منظور تولید مقدار آمیلوپکتین بالا تولید شده بود (de Vetten et al., 2003). روش تولید این سیب‌زمینی بر اساس خاموشی ژنی بود که مسئول سنتز آمیلوز در سیب‌زمینی است. ترکیب نشاسته در سیب‌زمینی یک ویژگی مهم است و در حال حاضر به‌دست آوردن سیب‌زمینی تتراپلوئید کشت شده با محتوای مطلوب آمیلوز و آمیلوپکتین دشوار است. بنابراین، استراتژی‌هایی برای خاموش کردن ژن‌های آمیلوز یا آمیلوپکتین امکان به‌دست آوردن ارقام تتراپلوئید که شامل تمام صفات مورد نظر موجود در ارقام کشاورزی هستند را فراهم می‌کند (Holme et al., 2013). این سیب‌زمینی در سال ۲۰۰۷ در اتحادیه اروپا توسط شرکت آوبه مجوز رهاسازی دریافت کرد که حاوی مرزهای تی-دی.ان.ای و یک پایانبر ژن سنتز نشاسته از سیب‌زمینی و یک پایانبر ژن نوپالین سنتاز از اگروباکتريوم برای تنظیم ژن بود.

شده از یک موجود اهدا کننده با سازگاری جنسی با موجود هدف اصلاح ژنتیکی شده است" اطلاق می‌شود (Schouten et al., 2006). این بدان معناست که محصول اصلاح شده ژنتیکی حاصل، حاوی ژن‌هایی است که ساختمان ژنتیک متداول آن‌ها (پیشبر- ایترون-ردیف کد کننده-پایانبر) حفظ شده است و به عبارت دیگر یک نسخه کامل از یک ژن با تمام اجزای تنظیمی آن است. منبع تراژن یک موجود سیس ژنیک همان گونه موجود یا یک گونه سازگار جنسی است که برای به‌نژادی کلاسیک مورد استفاده قرار می‌گیرد. بر خلاف به‌نژادی کلاسیک، در روش سیس ژنیک تنها ژن یا ژن‌های مورد نظر منتقل شده و عناصر ژنتیک ناخواسته حاصل از لینکاژ دراگ (Linkage drag) در آن‌ها حضور ندارند و تنها ژن هدف در زمانی کوتاه‌تر و بدون همراهی ژن‌های نامطلوب به موجود مورد نظر منتقل شده است (Holme et al., 2012a).

چندین روش برای حذف ژن‌های نشانگر وجود دارد. در روش حذف نشانگر مبتنی بر نو ترکیبی مختص جایگاه، ژن‌های نشانگر انتخابی به مکان‌های نو ترکیبی خاص متصل شده و سپس زمانی که گیاهانی که انتقال ژن به آن‌ها صورت گرفته، انتخاب می‌شوند، حذف ژن نشانگر القا می‌شود. حذف نشانگر با روش‌های زیست‌شناسی مولکولی تأیید می‌شود. سیب‌های سیس ژنیک و ایتراژنیک (Vanblaere et al., 2011; Joshi et al., 2011) و همچنین توت فرنگی‌های ایتراژنیک (Schaart et al., 2004) با استفاده از فناوری حذف نشانگر بدست آمده‌اند. انتقال ژن همزمان (co-transformation) روش دیگری برای تولید گیاهان عاری از نشانگر است. این روش مبتنی بر الحاق ژن نشانگر و تراژن مورد نظر در موقعیت‌های مختلف ژنوم گیاه است که امکان تفکیک هر دو ژن را فراهم می‌آورد. در این روش از دو وکتور استفاده می‌شود که یکی شامل ژن مورد نظر و دیگری شامل ژن نشانگر انتخابی است. از این روش برای تولید برنج تراریخته مقاوم به آفت (Bennett et al., 1997)، (Ghareyazie et al., 1997)، گیاهان جو سیس ژنیک (Holme et al., 2012b) و گندم دوروم استفاده شده است (Gadaleta et al., 2008). اما گزارشی در مورد موفقیت این ایده به دست نیامد. مکانیزم نامعلومی موجب می‌شود که با وجود استقرار ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک و ژن‌های دارای ارزش زراعی بر روی دو پلاسמיד



شکل ۱- انتقال ژن به صورت سیس ژنسیس، ایتراژنسیس و ترانژنسیس.

Figure 1- Gene transformation in the Cisgenesis, Intragenesis and Transgenesis

مهم‌ترین بیماری سیب، بیماری لکه سیاه است که به دلیل قارچی از رده آسکومایسیت به نام *Venturia inaequalis* ایجاد می‌شود. تمام سیب‌های کشت شده مستعد آلودگی به این پاتوژن هستند. ژن *HcrVf2* موجود در لوکوس مقاومت به رقم سیب گالا (Gala)

با این وجود به نظر می‌رسد که این سیب‌زمینی فاقد استانداردهای لازم به عنوان یک گیاه ایتراژنیک بوده است زیرا حاوی قطعاتی از ژنوم باکتری بوده است.

منتقل شده است. ژن منتقل شده حاوی اجزای تنظیمی یعنی پیشبر و پایانبر خود است و در واقع، این مطالعه ادعا می‌کند که اولین گزارش از تولید یک "گیاه واقعی سیس‌ژنیک" است (Vanblaere et al., 2011). به‌طور کلی فناوری‌های سیس‌ژنسیس و ایتراژنسیس عموماً برای توسعه کولتوارهای مقاوم به بیماری

همانند مقاومت به بیماری بلایت سیب‌زمینی با استفاده از انتقال ژن‌های *Rpi-sto1* و *Rpi-vnt-1* استفاده شده است و همین‌طور کولتوار سیب مقاوم به گال نیز با استفاده از این روش‌ها توسعه یافته است (Singh et al., 2018).

جدول ۱- تعدادی از صفات تغییر یافته با استفاده از سیس‌ژنسیس و ایتراژنسیس

Table 1- Number of traits modified using cisgenesis and intragenesis

گونه	صفت	ژن	فناوری مورد استفاده	منبع
یونجه	محتوای لگنین	<i>Comt</i>	ایتراژنسیس	Weeks et al., 2008
سیب	مقاومت به گال، مقاومت به آتشک	<i>Rvi6 (HcrVf2)</i> <i>FB_MR5</i>	سیس‌ژنسیس، ایتراژنسیس	Joshi et al., 2011; Vanblaere et al., 2014; Wurdig et al., 2015; Kost et al., 2015
جو	فعالیت فیتازی دانه افزایش عملکرد دانه و کارایی استفاده از نیترژن	<i>HvPAPhy_a</i> <i>HvGS1-1</i>	سیس‌ژنسیس	Holme et al., 2012 Gao et al., 2019
گندم دوروم	کیفیت پخت	<i>IDy10</i>	سیس‌ژنسیس	Gadaleta et al., 2008
صنوبر	ساختار و رشد گیاه، خصوصیات چوب	<i>PtGA20ox7</i> , <i>PtGA2ox2</i> , <i>PtRGL1_1</i> , <i>PtRGL1_2</i> , <i>PtGAI1</i>	سیس‌ژنسیس	Han et al., 2011
سیب‌زمینی	سفیدک دروغی، آمیلوپکتین بالا، بهبود خصوصیات نگهداری و فراوری، کاهش میزان آکریل‌آمید	13 R genes, <i>Rpi-sto1</i> , <i>Rpi-vnt1.1</i> <i>GBSS</i>	سیس‌ژنسیس ایتراژنسیس	Haverkort et al., 2016; Jo et al., 2014 de Vetten et al., 2003
توت فرنگی	مقاومت به کپک خاکستری	<i>Ppo</i> , <i>R1</i> , <i>PhL</i> , <i>StAs1</i> , <i>StAs2</i>	ایتراژنسیس	Rommens et al., 2006; Rommens et al., 2008
گندم نان	مقاومت به بیماری	<i>PGIP</i> <i>Class I</i> <i>chitinase</i>	ایتراژنسیس سیس‌ژنسیس	Schaart, 2004 Maltseva et al., 2021

مقایسه سیس‌ژنسیس، ایتراژنسیس و ترانس‌ژنسیس

بدیهی است که ایتراژنسیس و سیس‌ژنسیس نسبت به ترانس‌ژنسیس با محدودیت‌های بیشتری برای ایجاد صفات برتر در به‌نژادی مواجهند، از جمله اینکه خزانه ژنی مورد استفاده، محدود به ژن‌های گونه‌های با سازگاری ژنتیک با گیاه مد نظر برای اصلاح شده است، اما نسبت به به‌نژادی کلاسیک برتری‌هایی از جمله سرعت بالاتر دستیابی به گیاه اصلاح شده ژنتیکی، غلبه بر لینکاژ دراگ و حفظ آرایش اصلی ژنتیکی موجود میزبان را دارد (Telem et al., 2013). در اصلاح نباتات انتقال اطلاعات ژنتیکی از گونه‌های خویشاوند یا غیرخویشاوند از طریق تلاقی

برگشتی نیازمند حدود ده سال است. در حین تلاقی برگشتی نیز این احتمال وجود دارد که ژن‌های کنترل‌کننده صفات نامطلوب که با الل مطلوب ژن موردنظر پیوستگی (لینکاژ) دارد، نیز منتقل شوند (Mujjassim et al., 2019). قابل ذکر است که این مزایا دقیقاً مزایای کاربرد مهندسی ژنتیک در تولید محصولات ترانس‌ژنیک در مقایسه با به‌نژادی کلاسیک گیاه و دام هستند. با این تفاوت که در سیس‌ژنسیس خزانه ژنی محدود شده و برخلاف ترانس‌ژنسیس، حذف نشانگرهای انتخابی که نیاز به تخصص و زمان بیشتری دارد، الزامی است. در مقابل ادعا شده است که در مورد موجودات سیس‌ژنیک نیازی به ارزیابی‌های

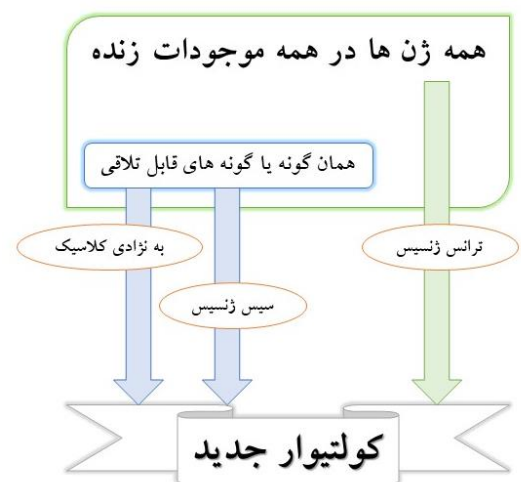
ترانس ژنسیس نسبت به سیس ژنسیس و یا محدودیت‌های سیس ژنسیس نسبت به ترانس ژنسیس را به شرح زیر به صورت خلاصه بیان کرد (Dudziak et al., 2019).

- ۱- در ترانس ژنسیس، توالی‌های کنترلی و تراژن، خارجی هستند.
- ۲- ترانس ژن عموماً از گونه‌های بیگانه‌ای که از خویشانان نزدیک و قابل تلاقی نیستند، نشأت می‌گیرند.
- ۳- در ترانس ژنسیس ممکن است که ورود توالی‌های سنس و آنتی‌سنس با هم صورت گیرد.
- ۴- در ترانس ژنسیس هرگونه ترکیب مصنوعی از توالی تنظیم کننده و همینطور ژن‌های سنتتیک، قابل استفاده است.
- ۵- ترانس ژن‌ها ممکن است صفات کشاورزی جدیدی همچون تحمل به علف‌کش را کد کنند.
- ۶- ژن‌های منتقله می‌توانند در طول فرآیند انتقال به‌عنوان نشانگر مولکولی (ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک و علف‌کش) مورد استفاده قرار گیرند.

یک نکته اساسی نیز که بایستی مورد توجه قرار گیرد این است که در گیاهان سیس ژنیک و اینتراژنیک نبایستی اجزای ژنتیکی خارجی حضور داشته باشد (Cardi, 2016). برخی معتقدند که ملاحظه‌ای که در مورد گیاهان تراریخته در رابطه با شار ناخواسته ژن‌های جدید از گیاهان کشت شده به خویشاوندان وحشی آن‌ها و تأثیرات بعدی آن که در مورد گیاهان ترانس ژنیک مطرح شده است (den Nijs et al. 2004)، در مورد گیاهان سیس ژنیک مطرح نیست (Jacobsen and Schouten 2009, Schouten et al. 2006). برخی نیز معتقدند که با توجه به اینکه در هر دو روش از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک استفاده می‌شود، هنوز هم ملاحظات مطرح هستند (Hou et al., 2014). این گروه پا را فراتر گذاشته و خواستار بازگشت به عقب و پیگیری روش‌های به‌نژادی به روش‌های کاملاً سنتی هستند (Lusser et al. 2011). در واقع ملاحظات ابراز شده در مورد ترانس ژنسیس محدود به دو ملاحظه یاد شده (یعنی منبع درون گونه‌ای ژن و حذف نشانگرها که ترجمان دیگری است از همان ملاحظه اول)، نیستند. ملاحظات مربوط و نامربوط و مشروع و نامشروع فراوانی در مورد تولید

ایمنی و کسب مجوز نیست و ایمنی این محصولات در حد محصولات حاصل از به‌نژادی کلاسیک است (Telem et al., 2013). در ضمن اینتراژنسیس و سیس ژنسیس می‌توانند به‌عنوان ابزاری سریع برای انتقال ژن بین گیاهان خویشاوند استفاده شوند. علاوه، این دو روش در صورتی که دو ژن مطلوب و نامطلوب با یکدیگر بسیار پیوسته باشند، می‌توانند جایگزین خوبی برای استفاده از تلاقی برگشتی در به‌نژادی کلاسیک باشند (Holme et al., 2013).

در واقع فناوری مهندسی ژنتیک، امکان تغییر گیاهان با یک یا چند ژن برای بیان صفات با ارزش بیشتر و همینطور انتقال آلل در میان گونه‌های دارای قابلیت تلاقی با هم و یا حتی با عدم امکان تلاقی یا تلاقی مشکل را فراهم می‌کند. بسته به اینکه در مهندسی ژنتیک منبع انتقال ژن چه باشد، گیاهان ترانس ژنیک، سیس ژنیک و یا اینتراژنیک بدست خواهد آمد (Lombardo and Zelasco, 2016). تفاوت اساسی میان سیس ژنسیس، ترانس ژنسیس و به‌نژادی کلاسیک که همانا خزانه ژنی مورد استفاده است، به‌صورت شماتیک در شکل دو نشان داده شده است (Dudziak et al., 2019).



شکل ۲- تفاوت اساسی در خزانه ژنی میان سیس ژنسیس، ترانس ژنسیس و به‌نژادی کلاسیک.

Figure 2- Fundamental difference in gene pool between Cisgenesis, Transgenesis and Conventional Breeding.

به بیان روشن‌تر می‌توان گفت که در واقع، روش یکی است و تفاوت‌ها در جزییات است. به بیان ساده‌تر می‌توان برتری‌های

سرمایه فقط از پس شرکت‌های چند ملیتی بزرگ برمی‌آید (Hartung and Schiemann, 2014; Lusser et al., 2012 & Voytas and Gao, 2014).

جهت بررسی موضوع پاسخ به ملاحظات ابراز شده در مورد موجودات حاصل از ترانس ژنسیس در مقایسه با موجودات حاصل از سیس ژنسیس و اینتراژنسیس، برخی از مهمترین ملاحظات ابراز شده و تفاوت روش‌های یاد شده از جنبه رفع ملاحظه یا پاسخ به آن در جدول دو نشان داده می‌شود.

محصولات تراریخته حاصل از مهندسی ژنتیک (اعم از ترانس ژنسیس، اینتراژنسیس و سیس ژنسیس) ابراز شده‌اند. با این حال پژوهشگران انتظار دارند که در آینده، محصولات سیس ژنیک در مقایسه با محصولات ترانس ژنیک تحت اقدامات نظارتی کمتر سختگیرانه قرار گیرند (Holme et al., 2012). این در حالیست که تخمین زده شده است که مبلغی در حدود ۷ تا ۱۵ میلیون یورو و ۴ تا ۷ سال زمان برای برای کسب مجوز کشت و رهاسازی گیاهان تراریخته در محیط زیست مورد نیاز است. تامین این

جدول ۲- مقایسه سیس ژنسیس، اینتراژنسیس و ترانس ژنسیس در پاسخ به ملاحظات ابراز شده

Table 2- Comparison of Cisgenesis, Intragenesis and Transgenesis in response to the raised concerns

Cisgenesis سیس ژنسیس	Intragenesis اینتراژنسیس	Transgenesis ترانس ژنسیس	raised concerns ملاحظات ابراز شده
الف- ملاحظات مربوط به سلامتی انسان (Codex Alimentarius, 2007 & 2009)			
√	√	√	۱- سرطان‌زایی
√	√	√	۲- مسمومیت‌زایی
√	√	√	۳- حساسیت‌زایی
√	√	√	۴- اثر منفی بر کیفیت غذا
√	√	√	۵- اثرات ناشناخته بر نسل‌های بعدی
		√	۶- ایجاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک
ب- ملاحظات مربوط به تنوع زیستی و محیط زیست (Conner et al., 2003; Stewart et al., 2003; De Nijs et al., 2004; Bertolla and Simonet, 1999; Andow, 2001; Tabashnik et al., 2003 & Carpenter et al., 2002)			
√	√	√	۱- انتقال افقی ژن یا شار ژن
√	√	√	۲- اثر منفی بر موجودات غیرهدف
√	√	√	۳- اثر منفی بر فون و فلور خاک
√	√	√	۴- طغیان آفات درجه دوم در مورد گیاهان مقاوم به آفت
پ- ملاحظات مربوط به کشاورزی			
√	√	√	۱- کاهش تنوع ارقام کشاورزی و تک کشتی
√	√	√	۲- اثر سوء تغذیه‌ای بر دام‌های تغذیه کننده از جمله سمیت‌زایی و حساسیت‌زایی
√	√	√	۳- ایجاد گونه‌های مقاوم آفت
ت- ملاحظات مربوط به اجتماع و اقتصاد			
√	√	√	۱- سلطه شرکت‌های چندملیتی
√	√	√	۲- کاهش فرصت‌های شغلی کشاورزان سنتی
√	√	√	۳- ملاحظات مذهبی
√	√	√	۴- ملاحظات اخلاقی

میان گونه‌های خویشاوند در طبیعت رخ نمی‌دهد و حتی گونه‌های دوری همچون گیاهان دولپه‌ای و یا سیب‌زمینی شیرین، می‌توانند از باکتری ژن دریافت کنند. از این رو ملاحظه‌ای که بر اساس آن فناوری سیس‌ژنسیس تعریف شده است، به چالش کشیده می‌شود. علاوه بر اینکه این فناوری باید نسبت به فناوری ترانس‌ژنسیس محدودیت‌های بیشتری را در مرحله پژوهش و کاربرد متحمل شود.

ضوابط ایمنی زیستی در سیس‌ژنسیس، اینتراژنسیس و ترانس‌ژنسیس

پروتکل ایمنی زیستی کارتاها مهم‌ترین ابزار تعهدآور بین‌المللی در حوزه محصولات حاصل از فناوری زیستی جدید یا تراریخته است. بر اساس تعریف ارائه شده در این پروتکل، تفاوتی میان موجودات تغییر یافته ژنتیکی حاصل از فناوری‌های سیس‌ژنسیس، اینتراژنسیس و ترانس‌ژنسیس وجود ندارد. بر اساس این تعریف کلیه موجوداتی که با کاربرد فناوری زیستی جدید بدست می‌آیند (خواه تراژن الحاقی از گونه‌های خویشاوند باشد، خواه از گونه‌های بسیار دور) تغییر یافته ژنتیکی نام دارند و تحت نظارت ضوابط ایمنی زیستی قرار می‌گیرند. بر این اساس، مدت زمان مورد نیاز و هزینه تأیید محصولات زراعی سیس‌ژنیک و اینتراژنیک به مقرراتی که در آینده وضع خواهند شد، بستگی دارد. در حال حاضر در اکثر کشورها رهاسازی محصولات سیس‌ژنیک و اینتراژنیک تحت همان قوانین صدور مجوز مانند محصولات ترانس‌ژنیک قرار می‌گیرد. تنها در استرالیا گروه محدودی از محصولات زراعی سیس‌ژنیک با ژن‌هایی که از همان گونه‌ها بدون مرزهای تی-دی.ان.ای و سایر تی-دی.ان.ای‌های خارجی تولید شوند تحت نظر قوانین محصولات تراریخته قرار نمی‌گیرند (Lusser and Cerezo, 2012). برخی از متخصصین نیز معتقدند که با توجه به اینکه برچسب‌گذاری و صدور مجوز به محصولات تراریخته با هدف احترام به حقوق مصرف‌کنندگان انجام می‌گیرد، عدم انجام ارزیابی‌های ایمنی و عدم برچسب‌گذاری محصولات سیس‌ژنیک و اینتراژنیک، حق مصرف‌کنندگان را ضایع می‌کند، زیرا بر اساس بررسی‌های انجام شده (Klumper and Qaim, 2014) تا کنون خطری در مورد

همانطور که در جدول ۲ نیز به خوبی مشهود است، به نظر می‌رسد با توجه به اینکه بخش عمده‌ای از این ملاحظات در مورد سیس‌ژنسیس و اینتراژنسیس نیز مطرح هستند، نمی‌توان این روش‌ها را از قوانین ایمنی زیستی مستثنی کرد. تنها برخی از ملاحظات مربوط به موجودات ترانس‌ژنسیس با استفاده از فناوری‌های سیس‌ژنسیس و اینتراژنسیس پاسخ داده می‌شوند، اما ملاحظات دیگر همچنان بی‌پاسخ باقی می‌مانند که نیازمند پاسخگویی هستند. در نتیجه مستثنی شدن این دو فناوری از قوانین ایمنی زیستی دور از انتظار است. به همین دلیل تا کنون در مذاکرات کنوانسیون تنوع زیستی و پروتکل ایمنی زیستی کارتاها مطرح نشده است.

تلاقی گونه‌ها در طبیعت در مقایسه با سیس‌ژنسیس، اینتراژنسیس و به‌نژادی کلاسیک

در سال ۲۰۱۹ ماتویوا و اوتن حضور تی-دی.ان.ای‌های سلولی را در ۲۳ گونه از ۲۷۵ گونه دولپه‌ای گزارش کردند. تجزیه و تحلیل داده‌های ترانسکریپتوم از ۳۵۶ گونه دولپه‌ای، ۱۶ گونه تراریخته طبیعی دیگر را نشان داد. آن‌ها نتیجه‌گیری کردند که انتقال افقی ژن از اگر وباکتریوم به گونه‌های دولپه‌ای در طبیعت بسیار چشم‌گیر است (Matveeva and Otten, 2019). علاوه بر این پژوهش کیندت و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان داد که سیب‌زمینی شیرین تراریخته در طبیعت تولید شده است (Kyndta et al., 2015). در حقیقت انتقال افقی ژن نقش مهمی را در تکامل ژنوم یوکاریوت داشته است. مستندات زیادی در مورد نقش درون‌همزیستی (Endosymbiosis) در تکامل یوکاریوتی در طول تاریخ وجود دارد. اندامک‌های مشتق شده از اندوسیمبیوز مانند میتوکندری و پلاستیدها ژن‌های زیادی را به هسته منتقل کرده و اندوسیمبیوز متعاقب آن در تکامل پلاستیدی نیز ژن‌ها را قادر به حرکت بین یوکاریوت‌ها کرده است. برخی یافته‌ها نشان می‌دهند که انتقال افقی ژن بین یوکاریوت به یوکاریوت ممکن است بیشتر از آن چیزی باشد که تا کنون تصور می‌شده است. به‌طور ویژه تبادل گسترده اطلاعات ژنتیکی بین ژنوم میتوکندری گیاهان اکنون به خوبی مستند شده است (Keeling and Palmer, 2008). این پژوهش‌ها نشان می‌دهند که برخلاف تفکر رایج، انتقال ژن تنها در

و اضافه کرد که میزان ارزیابی‌های ایمنی زیستی در مورد این دو روش می‌تواند با توجه به اطلاعات موجود در مورد ماهیت صفات و تاریخچه استفاده ایمن از آن‌ها به صورت موردی کاهش یابد (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms, 2012). با این حال تا کنون در اتحادیه اروپایی تغییری در روند تصمیم‌گیری‌ها و صدور مجوز محصولات سیس ژنیک در مقایسه با ترانس ژنیک ایجاد نشده است.

روندهای مشابهی در ایالات متحده در جریان بوده اما تا کنون در این کشور نیز تغییری در قوانین ایجاد نشده است. سازمان حفاظت محیط زیست امریکا پیشنهاد داده است که بررسی‌های کاهش یافته‌ای برای این محصولات در نظر گرفته شود، اما تا کنون وزارت کشاورزی این کشور با این پیشنهاد موافقت نکرده و قانونی نیز در این رابطه به تصویب نرسیده است (Waltz, 2011).

نتیجه گیری کلی: فناوری‌های سیس ژنسیس و اینتراژنسیس با هدف پاسخگویی به ملاحظات ابراز شده در رابطه با فناوری ترانس ژنسیس، توسعه یافتند. در واقع این سه فناوری جملگی تحت تعریف زیست فناوری نوین یا همان مهندسی ژنتیک تعریف شده در پروتکل ایمنی زیستی کارتاگنا در سطح بین‌المللی و قانون و مقررات ایمنی زیستی در سطح ملی قرار دارند. فناوری‌های سیس ژنسیس و اینتراژنسیس قادر به پاسخگویی به کلیه ملاحظات ابراز شده در رابطه با محصولات تراریخته نیستند و تنها بخشی از این ملاحظات را پوشش می‌دهند. به نظر می‌رسد با وجود برتری‌هایی که سیس ژنسیس و اینتراژنسیس نسبت به اصلاح نباتات سنتی دارند، نتوانند به گستردگی مورد استفاده قرار گیرند زیرا با وجود محدودیت‌هایی که نسبت به ترانس ژنسیس برای این دو روش قابل هستیم، نیازمند گذراندن ارزیابی‌های سخت‌گیرانه‌ای هستند که در مورد محصولات تراریخته اعمال می‌شوند.

با وجود اینکه پژوهش‌های متعددی وجود دارند که انتقال ژن در طبیعت از گونه‌های غیرخویشاوند را تایید می‌کنند، در واقع مرز دقیقی در رابطه با عدم امکان تلاقی گونه‌های غیرخویشاوند نمی‌توان قابل شد. افزایش آگاهی در رابطه با روش‌های مدیریت احتمال خطر و ارزیابی‌های ایمنی زیستی، می‌تواند راهکار

محصولات ترانس ژنیک به اثبات نرسیده و انجام ارزیابی‌های ایمنی و برچسب‌گذاری این محصولات جهت پاسخ به ملاحظات مطرح شده و احترام به حقوق مصرف کنندگان صورت می‌گیرد.

در اتحادیه اروپا رهاسازی محصولات تراریخته طبق ضابطه 2001/18/EC بررسی می‌شود. با این حال، پیوست IB این ضابطه روش‌هایی را که به دلیل عدم استفاده از دی.ان.ای نو ترکیب (همانند جهش‌زایی یا امتزاج پروتوپلاست) از این ضابطه مستثنی شده‌اند را مشخص کرده است. سه محقق هلندی به نام‌های چوتن، جاکوبسن و کرنس اظهار داشتند که گیاهان بوجود آمده از طریق سیس ژنسیس باید در این پیوست گنجانده شده و از مقررات معاف شوند (Jacobsen and Schouten, 2009). به همین دلیل نیز اتحادیه اروپا در سال ۲۰۰۷ یک گروه کاری [گروه کاری روش‌های جدید (NTWG)] برای ارزیابی روش‌های مختلف جدید اصلاح نباتات و تعیین اینکه آیا آن‌ها را باید به عنوان موجودات زنده تغییر یافته ژنتیکی یا تراریخته در نظر گرفت یا خیر، تشکیل داد. در نهایت این کارگروه لیستی از هفت روش اصلاح ژنتیک گیاهی مشتمل بر سیس ژنسیس و اینتراژنسیس منتشر کرد. سپس اتحادیه اروپا از مرکز تحقیقات مشترک اتحادیه اروپا برای مطالعات فنی آینده‌نگر درخواست کرد تا گزارشی را در رابطه با کاربردهای فعلی این ابزارهای جدید مولکولی در اصلاح گیاهان ارائه دهد. مطالعه آن‌ها نشان داد که با توجه به تعداد انتشارات علمی اخیر و ثبت اختراعات، سیس ژنسیس و اینتراژنسیس به ترتیب در رتبه‌های اول و دوم در میان هفت روش جدید قرار گرفته‌اند (Lusser et al., 2012). همچنین اتحادیه اروپا، از سازمان سلامت و ایمنی غذایی اروپا خواست تا ارزیابی کند که آیا گیاهان حاصل از این روش‌های جدید در محدوده قانون فعلی اتحادیه اروپا در مورد محصولات تراریخته قرار دارند یا خیر. در این گزارش منتشر شده توسط سازمان سلامت و ایمنی غذایی اروپا مخاطرات احتمالی ناشی از محصولات تولید شده از طریق سیس ژنسیس و اینتراژنسیس در مقایسه با ترانس ژنسیس و اصلاح نباتات سنتی ارزیابی شد و اعلام شد که هر چند این دو روش به دلیل استفاده از خراشه ژنی گونه‌های خویشاوند ملاحظات کمتری را دربردارند، اما بایستی تحت همان قانون گیاهان ترانس ژنیک قرار داشته باشند

تغییر در رویکرد محققین و ایجاد محدودیت در استفاده از خزانه ژنی، راهکار مناسبی جهت پاسخگویی به ملاحظات ابراز شده در رابطه با محصولات تراریخته نیست. شاید زمان آن رسیده باشد که دانشمندان حوزه مهندسی ژنتیک، اطلاع‌رسانی صحیح‌تر و دقیق‌تر را سرلوحه فعالیت‌های پژوهشی خود قرار دهند، تا مجبور نباشند جهت پذیرش افکار عمومی، محدودیت‌های بیشتری را در آینده متقبل شوند.

منابع

- Andersson HC, Arpaia S, Bartsch D, Casacuberta J, Davies H, du Jardin P, Flachowsky G, Herman L, Jones H, Kärenlampi S, Kiss J, Kleter G, Kuiper H, Messéan A, Nielsen KM, Perry J, Pöting A, Sweet J, Tebbe C, von Wright AJ, Wal J-M. 2012. Genetically Modified Organisms (GMO)- Scientific opinion addressing the safety assessment of plant developed through cisgenesis and intragenesis. *EFSA Journal*, 10 (12): 2561.
- Andow DA. 2001. Resisting resistance in Bt corn in genetically engineered organisms: assessing environmental and human health effects. CRC press, Boca Raton, Florida, USA. Pp.99-124.
- Bauer M, Gaskell G. 2002. Researching the public sphere of biotechnology. In: *Biotechnology: The Making of a Global Controversy* (Gaskell, G. and Bauer, M., eds), pp. 1-19. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Bennett J, Cohen MB, Katiyar SK, Ghareyazie B, Khush GS. 1997. Enhancing insect resistance in rice through biotechnology. *Advances in insect control*. London (UK): Taylor & Francis. p, 75-93
- Biosafety Law of Islamic Republic of Iran (<https://rc.majlis.ir/fa/law/show/136265>.)
- Bruening G, Lyons JM. 2000. "The case of the FLAVR SAVR tomato". *California Agriculture* 54: 6-7.
- Cardi T. 2016. Cisgenesis and genome editing: combining concepts and effects for a smarter use of genetic resources in crop breeding. *Plant Breeding*, 134, 139-147.
- Carpenter J, Felsot A, Giannesi L, Goode T, Hammig M, Onstad O, Sankula S. 2002. Environmental impacts of crops developed using traditional and modern biotechnology breeding methods: a literature review and comparative analysis for Soybean, Corn and Cotton crops. Council for Agricultural Science and Technology (CAST), Ames, Iowa, USA.
- Codex Alimentarius 2007. Working Principles for Risk Analysis for Food Safety for Application by Governments.
- Codex Alimentarius 2009. Foods Derived from Modern Biotechnology.

مناسب‌تری برای افزایش اعتماد عمومی به فناوری‌های روز دنیا باشد. استفاده از سیس ژنسیس و ایتراژنسیس در زمانی که پیوستگی زیادی میان ژن مطلوب و نامطلوب وجود دارد، راهکاری مناسب جهت دستیابی به کولتیوار مناسب است اما به نظر نمی‌رسد این فناوری‌ها بتوانند جایگزین مناسبی برای ترانس ژنسیس باشند.

- Conner AJ, Glare TR, Nap JP. 2003. The release of Genetically Modified Crops into the environment Part II. Overview of Ecological Assessment 33: 19-46.
- De Vetten N, Wolters AM, Raemakers K, Van Der Meer I, Ter Stege R, Heeres E, Heeres P, Visser R. 2003. A transformation method for obtaining marker-free plants of a cross-pollinating and vegetatively propagated crop. *Nat Biotechnol*, 21, 439-442.
- Den Nijs HCM, Bartsch D, Sweet JB. 2004. Introgression from Genetically Modified plants into wild relatives. CABI publishing wallingford UK.
- Dudziak K, Sozonik M, Kowalczyk K, Nowak M. 2019. Cisgenesis as a novel prospect for crop improvement- a review. *Agronomy Science*, vol. LXXIV (2) 7-14.
- Edenbrant AK, House LA, Gao Z, Olmstead M, Gray D. 2018. Consumer acceptance of cisgenic food and the impact of information and status quo. *Food Qual. Prefer.* 69, 44-52.
- Espinoza C, Schlechter R, Herrera D, Torres E, Serrano A, Medina C, Arce-Johnson P. 2013. Cisgenesis and Intragenesis: New tools For Improving Crops. *Biol Res* 46: 323-331.
- Farsi M., Bagheri A. 2007. Principle of Plants Breeding. Jahad Daneshgahi publication (In Farsi).
- Fraley RT, Rogers SG, Horsch RB, Sanders PR, Flick JS, Adams SP, Bittner ML, Brand LA, Fink CL, Fry JS, Galluppi GR, Goldberg SB, Hoffmann NL, Woo SC. 1983. Expression of bacterial genes in plant cells. *Proc NatL Acad Sci* 80(15): 4803-4807.
- Gadaleta A, Giancaspro A, Blechl AE, Blanco A. 2008. A transgenic durum wheat line that is free of marker genes and expresses 1DY10. *J. Cereal Sci.*, 48, 439-445.
- Gaskell G, Bauer M. 2001. The years of controversy. In: *Biotechnology 1996-1999* (Gaskell, G. and Bauer, M., eds), pp. 3-11. London, UK: Science Museum Press.
- Ghareyazie B, Alinia F, Menguito CA, Rubia LG, de Palma JM, Liwanag EA, Cohen MB, Khush GS, Benett J. 1997. Enhanced resistance to two stem borers in an aromatic rice containing a synthetic *cry1A(b)* gene. *Molecular Breeding*. 3:5, 401-414.
- Han KM, Dharmawardhana P, Arias RS, Ma C, Busov V, Strauss SH. 2011. Gibberellin-associated cisgenes modify

- growth, stature and wood properties in *opulus*. *Plant Biotechnology Journal*. 9: 162-178.
- Hartung F, Schiemann J. 2014.** Precise plant breeding using new genome editing techniques: opportunities safety and regulation in the EU. *Plant Journal*. 78: 742-752.
- Haverkort AJ, Boonekamp PM, Hutten R, Jacobsen E, Lotz LAP, Kessel GJT, Vossen JH, Visser RGF. 2016.** Durable late blight resistance in potato through dynamic varieties obtained by cisgenesis: scientific and societal advances in the DuRPh project. *Potato Research*: 59, 35-66.
- Holme IB, Dionisio G, Brinch-Pedersen H, Wendt T, Madsen CK, Vincze E, Holm PB. 2012b.** Cisgenic barley with improved phytase activity. *Plant Biotechnol J*, 10, 237-247.
- Holme IB, Dionisio G, Brinch-Pedersen H., Wendt T. 2012a.** A cisgenic approach for improving the bioavailability of phosphate in the barley grain. *Isb News Report*, Vol. March, 8-11.
- Holme IB, Wendt T, Holm PB. 2013.** Intragenesis and cisgenesis as alternatives to transgenic crop development. *Plant Biotechnol J*, 11, 395-407.
- Hou H, Atlihan N, Lu ZX. 2014.** New biotechnology enhances the application of cisgenesis in plant breeding. *Front. Plant Science*. 5, 389.
- Jacobsen E, Schouten HJ. 2009.** Cisgenesis: an important sub-invention for traditional breeding companies. *Euphytica* 170, 235-247.
- James C. 2019.** Glonal status of commercialized biotech/gm crops in 2019. *ISAAA*, 55.
- Jo KR, Kim CJ, Kim SJ, Kim TY, Bergervoet M, Jongsma MA, Visser RG, Jacobsen E, Vossen JH. 2014.** Development of late blight resistant potatoes by cisgene stacking. *BMC Biotechnology*. 14: 50.
- Joshi SG, Schaart JG, Groenwold R, Jacobsen E, Schouten HJ, Krens FA. 2011.** Functional analysis and expression profiling of *HcrVf1* and *HcrVf2* for development of scab resistant cisgenic and intragenic apples. *Plant Mol Biol*, 75, 579-591.
- Kahak S, Ghareyazie B, Samizadeh Lahiji H, Mohsenpour M. 2019.** Decision Making and Approval System for Importation of Transgenic Agricultural Commodities in Iran. 3rd International and 11th National Biotechnological Congress of Islamic Republic of Iran, 1-3 September, 2019.
- Keeling PJ, Palmer JD. 2008.** Horizontal gene transfer in eukaryotic evolution. *Nature Reviews- genetics*. Volume 9, August 2008, 605-618.
- Klumper W, Qaim M. 2014.** A Meta-Analysis of the Impacts of Genetically Modified Crops. *Plos One*. November 2014- Volume 9- Issue 11
- Kost TD, Gessler C, Jansch M, Flachowsky H, Patocchi A, Brogini GAL. 2015.** Development of the First Cisgenic Apple with Increased Resistance to Fire Blight. *PLoS One*, 10 (12): e0143980.
- Kramer M, Redenbaugh K. 1994.** Commercialization of a tomato with an antisense polygalacturonase gene: The FLAVR SAVRTM. *Euphytica*, 79, 293-297.
- Kyndta T, Quispea D, Zhaic H, Jarret R, Ghislainb M, Liuc Q, Gheysena G, Kreuzeb JF. 2015.** The genome of cultivated sweet potato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes: An example of a naturally transgenic food crop. *PNAS*: 5;112(18):5844-9.
- Lassen J, Madsen, KH, Sandøe P. 2002.** Ethics and genetic engineering – lessons to be learned from GM foods. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 24, 263-271.
- Lombardo L, Zelasco S. 2016.** Biotech approaches to overcome the limitations of using transgenic plants in organic farming. *Sustainability*, 8 (5): 1-7.
- Lusser M, Cerezo ER. 2012.** Comparative regulatory approaches for new plant breeding techniques. Workshop proceedings. Available at: <http://ftp.jrc.es/EURdoc/JRC68986.pdf>.
- Lusser M, Parisi C, Plan D, Rodríguez-Cerezo E. 2011.** New plant breeding techniques: state-of-the-art and prospects for commercial development (JRC IPTS report EUR 24760 EN).
- Lusser M, Parisi C, Plan D, Rodríguez-Cerezo E. 2012.** Deployment of new biotechnologies in plant breeding. *Nature Biotechnology*. Volume 30, Number 3: 231-239.
- Maltseva E, Iskakova G, Ismagul A, Chirkin A, Naizabayeva D, Ismagulova G, Malakhova N, Aitkhodzina N, Serik Eliby S, Skiba Y. 2021.** A cisgenic approach in the transformation of bread wheat cv. saratovskaya 29 with class I chitinase gene. *The Open Biotechnology Journal*. 15: 29-35.
- Matveeva TV, Otten L. 2019.** Widespread occurrence of natural genetic transformation of plants by *Agrobacterium*. *Plant Molecular Biology*. Published online: 21 September 2019.
- Mujjassim NE, Mallik M, Kumar Rathod, Nitesh SD. 2019.** Cisgenesis and intragenesis a new tool for conventional plant breeding: a review. *Journal of Pharmacognosy*. 2019: 8(1):2485-2489.
- Nielsen KM. 2003.** Transgenic organisms - time for conceptual diversification? *Nat. Biotechnol*. 21, 227-228.
- Purchase I. 2005.** What determines the acceptability of genetically modified food that can improve human nutrition? *Toxicology and Applied Pharmacology* 207, 19-27.
- Rommens CM, Haring MA, Swords K, Davies HV, Belknap WR. 2007.** The intragenic approach as a new extension to traditional plant breeding. *Trends Plant Sci*, 12, 397-403.
- Rommens CM, Yan H, Swords K, Richael C, Ye JS. 2008.** Low-acrylamide French fries and potato chips. *Plant Biotechnology Journal*. 6: 843-853.
- Rommens CM, Ye JS, Richael C, Swords K. 2006.** Improving potato storage and processing characteristics through all-native DNA transformation. *Journal of Agriculture. Food Chamistry*. 54: 9882-9887.
- Schaart JG, Krens FA, Pelgrom KT, Mendes O, Rouwendal GJ. 2004.** Eff ective production of marker-free transgenic strawberry plants using inducible site-specific recombination and a bifunctional selectable marker gene. *Plant Biotechnol J*, 2, 233-240.
- Schaart JG. 2004.** Towards consumer-friendly cisgenic strawberries which are less susceptible to *Botryis cinerea*. PhD thesis, Wageningen University, Wageningen, the Netherlands.

- Schouten HJ, Krens FA, Jacobsen E. 2006.** Do cisgenic plants warrant less stringent oversight? *Nat Biotechnol*, 24, 753.
- Schouten HJ, Krens, FA, Jacobsen E. 2006.** Cisgenic plants are similar to traditionally bred plants. *European Molecular Biology Organization Reports*, 7(8), 750–753.
- Singh V, Singh S, Shikha K, Kumar A. 2018.** Cisgenesis a sustainable approach of gene introgression and its utilization in horticultural crops: a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. ISSN: 2319-7706, Special Issue-7: 5002-5009.
- Stewart CN, Halfhil MD, Warwick SI. 2003.** Transgenic Introgression from Genetically Modified Crops to their wild relatives. *Nature Review Genetics*. 4:806-817.
- Tabashnik BE, Carriere Y, Dennehy TJ, Monin S, Sisterson MS, Roush RT, Shelton AM, Zhao JZ. 2003.** Insect resistance to transgenic Bt crop: Lessons from the laboratory and field. *Journal of economic entomology*. 96:1031-1038.
- Vanblaere T, Flachowsky H, Gessler C, Boggini GAL. 2014.** Molecular characterization of cisgenic lines of apple "Gala" carrying the Rvi6 scab resistance gene. *Plant Biotechnology Journal*. 12: 2-9.
- Vanblaere T, Szankowski I, Schaart J, Schouten H, Flachowsky H, Broggini GA, Gessler C, 2011.** The development of a cisgenic apple plant. *J Biotechnol*, 154, 304-311.
- Voytas DF, Gao C. 2014.** Precision genome engineering and agriculture: opportunities and regulatory challenges. *PLoS Biology*. 12: e1001877.
- Waltz E. 2011.** Cisgenic crop exemption. *Nat. Biotechnol*. 29, 677.
- Weeks JT, Ye J, Rommens CM. 2008.** Development of an in planta method for transformation of alfalfa (*Medicago sativa*). *Transgenic Research*. 17: 587-597.
- Wurdig J, Flachowsky H, SaB A, Peil A, Hanke MV. 2015.** Improving resistance of different apple cultivars using the Rvi6 scab resistance gene in a cisgenic approach based on the Flp/FRT recombinase system. *Molecular Breeding*. 35: 95.