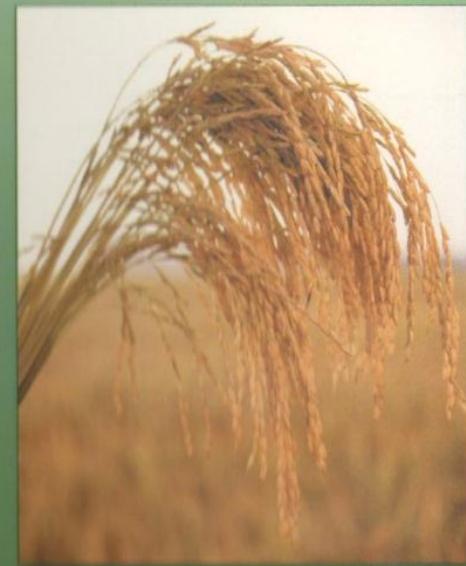
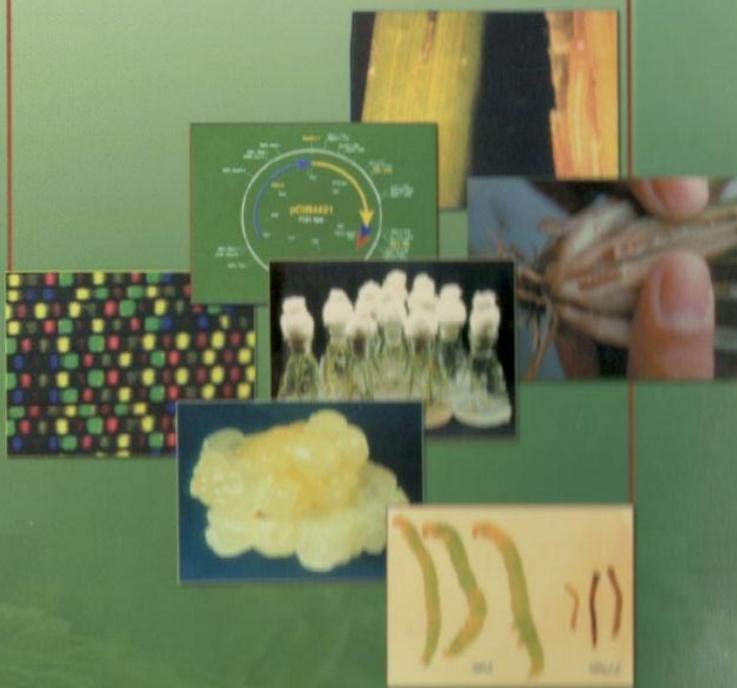


«یک مورد کاوی»

بررسی رهاسازی پرچ ژراریخته طارم مولایی مقاوم به آفات



نشانی دبیرخانه انجمن ها، تهران - خلیابان انقلاب - خلیابان قدس - گوشه شهید عقیل شفیعی - پلاک ۱۹

تلفن و پست: ۰۲۶۵-۷۷۷۷

هر ارجان فارغروزه مدنظر انجمن های زندگی، بیونکنولوژی و اینستی زیستی
ذاریستان ۱۴۸۴

"حـلـةـ مـهـمـيـ"

شـعـشـهـ حـلـةـ رـشـاـبـ

رـتـسـيـنـ رـنـمـيـاـ حـلـهـاـهـنـتـهـيـ دـتـيـتـهـ حـلـهـنـمـجـاـ

هـتـخـيـ اـهـ دـنـبـاـ رـحـلـلـهـ رـسـبـاـ تـلـفـ آـ بـعـلـقـهـ رـيـاـمـهـ لـكـ

حـلـهـ رـلـفـدـاـ

- (حـلـهـ رـاعـهـسـهـ) رـيـبـلـهـ رـلـهـ نـمـعـهـ يـتـهـ
- (نـاـبـاـ سـتـيـتـهـ نـمـجـاـهـ مـنـيـلـمـ) سـنـمـشـهـ حـلـهـسـهـ يـتـهـ
- (نـاـبـاـ سـتـيـتـهـ نـمـجـاـهـ مـنـيـلـمـ) رـيـبـلـهـ يـعـنـهـ يـتـهـ
- (رـتـسـيـنـ رـنـمـيـاـ نـمـجـاـهـ مـنـيـلـمـ) رـيـانـيـهـ مـمـهـ يـتـهـ
- (رـتـسـيـنـ رـنـمـيـاـ نـمـجـاـهـ مـنـيـلـمـ) رـنـكـاهـهـ هـمـمـهـ يـتـهـ
- (رـحـهـاـهـنـتـهـيـ نـمـجـاـهـ مـنـيـلـمـ) رـيـسـ رـمـشـلـهـ مـالـهـ يـتـهـ
- (رـحـهـاـهـنـتـهـيـ نـمـجـاـهـ مـنـيـلـمـ) مـاـنـلـبـوـشـ حـلـكـاهـ يـتـهـ
- (تـشـاشـيـوـتـ اـنـعـ زـاـ وـلـلـهـ بـهـ نـاهـنـدـ بـهـ) رـحـاءـ بـعـسـهـ يـتـهـ
- (نـاـبـاـ سـتـيـتـهـ نـمـجـاـهـ مـنـيـلـمـ) رـحـهـهـ يـيـهـ يـتـهـ
- (حـلـهـ رـلـلـيـعـمـسـاـنـ بـيـسـهـ)

“”**କୁଣ୍ଡଳ** ପାଦର୍ଥ ନିର୍ମାଣ କରିବାକୁ ଆଶି ହେଲା ତାଙ୍କ ଫୁଲରେ ଏବଂ ଏହା
ମଧ୍ୟରେ କୁଣ୍ଡଳ ପାଦର୍ଥ ନିର୍ମାଣ କରିବାକୁ ଆଶି ହେଲା ତାଙ୍କ ଫୁଲରେ ଏବଂ
ଅଗ୍ରରେ ଆଶି ହେଲା ତାଙ୍କ ଫୁଲରେ ଏବଂ କୁଣ୍ଡଳ ପାଦର୍ଥ ନିର୍ମାଣ କରିବାକୁ
ଆଶି ହେଲା ତାଙ୍କ ଫୁଲରେ ଏବଂ କୁଣ୍ଡଳ ପାଦର୍ଥ ନିର୍ମାଣ କରିବାକୁ ଆଶି
ହେଲା ତାଙ୍କ ଫୁଲରେ ଏବଂ କୁଣ୍ଡଳ ପାଦର୍ଥ ନିର୍ମାଣ କରିବାକୁ ଆଶି
ହେଲା ତାଙ୍କ ଫୁଲରେ ଏବଂ କୁଣ୍ଡଳ ପାଦର୍ଥ ନିର୍ମାଣ କରିବାକୁ ଆଶି

٣٥

၁။	အောင်	၂။
၃။	အောင်	၄။
၅။	အောင်	၆။
၇။	အောင်	၈။
၉။	အောင်	၁၀။
၁၁။	အောင်	၁၂။
၁၃။	အောင်	၁၄။
၁၅။	အောင်	၁၆။
၁၇။	အောင်	၁၈။
၁၉။	အောင်	၂၀။
၂၁။	အောင်	၂၂။
၂၃။	အောင်	၂၄။
၂၅။	အောင်	၂၆။
၂၇။	အောင်	၂၈။
၂၉။	အောင်	၃၀။

مقدمه

پس از اعلام رهاسازی برنج تاریخته مقاوم به آفات و در پی نگرانی‌های ایجاد شده در سطح جامعه، هیئت مدیره‌های سه انجمن تخصصی بیوتکنولوژی، ژنتیک و اینمی زیستی در تاریخ ۸۳/۷/۱ جلسه‌ای مشترک برگزار نمودند. پس از بحث و بررسی جواب مختلف موضوع، این سه هیئت مدیره بیانیه‌ای مشترک صادر نمودند که در قسمت ضمائم آمده است. در بند ۸ این بیانیه **تشکیل یک کارگروه برای بررسی مخاطرات احتمالی برنج تاریخته مقاوم به کرم ساقه‌خوار در نظر گرفته شد** تا با بررسی اسناد ارائه شده و در نظر گرفتن مسائل مختلف زراعی، غذایی، بهداشتی و محیط زیستی با توجه به شرایط داخلی و مقررات بین‌المللی نظر خود را نسبت به رهاسازی این گیاه و استفاده از آن در مزارع کشور اعلام کند و شباهات مطروحه در سطح جامعه، روشن و رفع گردد.

پس از صدور احکام اعضای کارگروه توسط رؤسای سه انجمن، به عنوان اولین قدم، طی نامه‌ای از افراد صاحب‌نظر و همچنین دستگاه‌های مربوط از جمله وزارت جهاد کشاورزی و سازمان حفاظت محیط زیست خواسته شد مدارک و شواهد خود مبنی بر اینم بودن و یا مخاطره‌آمیز بودن محصول مذبور را در اختیار دبیرخانه‌های یکی از این سه انجمن قرار دهند تا در کارگروه مذکور مورد استفاده قرار گیرد.

با دریافت اسناد و مدارک و همچنین نامه‌هایی از متخصصین کشور، اولین جلسه آن در تاریخ ۸۳/۸/۱۰ تشکیل شد. جمع‌بندی اولین جلسه که نقش مهمی در نحوه فعالیت کارگروه داشت، به شرح زیر است:

- ۱- کارگروه منتظر اعلام رسمیت از سوی سازمان‌های اجرایی نباشد، بلکه به عنوان انجمن علمی - تخصصی وظیفه خود را انجام دهد. با توجه به ماهیت فراسازمانی و تخصصی انجمن‌ها، نتایج بدست آمده قطعاً مورد استفاده دستگاه‌های مربوط واقع خواهد شد.

حملات حشرات گروه بالپولکداران (مانند کرم ساقه‌خوار) مشاهده می‌شود که در نتیجه، ضمن آن که مصرف سmom ضدحشره در مزارع برنج تاریخت مذبور به صفر می‌رسد، احتمال شکستن مقاومت را نیز به شدت کاهش می‌دهد. تغذیه حشرات گروه بالپولکداران منجر به مرگ حشره می‌شود ولی سایر حشرات، پرنده‌گان و پستانداران از تغذیه این گیاه آسیبی نمی‌بینند.

از نظر بهداشتی و غذایی، هر دو ژن cry1Ab و hpt مورد بررسی‌های متعددی در جهان قرار گرفته‌اند و اثر سوئی برای آنها مشاهده نشده است. تغذیه موش، مرغ، بذر چین و رت (Rat) توسط فراورده‌های گیاهان تاریخته بیان کننده cry1Ab تأثیر معنی دار بر شاخص‌های تغذیه‌ای آنها (مانند وزن اندام‌ها و آنزیمهای کبدی)، آرژیک و یا سمتی نسبت به موجودات شاهدی نداشت.

بهطور کلی، این بررسی اسنادی نشان می‌دهد برنج تاریخته ۸۲۷ مشابهت عمده‌ای با برنج طارم مولایی دارد و شواهدی مبنی بر اثبات نگرانی احتمالی برای رهاسازی آن بدست نیامده است. با این حال، صدور مجوز رسمی رهاسازی، مستلزم راهاندازی تشکیلات ناظر بر اینمی زیستی و تصویب قوانین و مقررات مربوط می‌باشد.

۲- بررسی کارگروه صرفاً فنی و علمی و بر اساس استناد معتبر تسليم شده و یا تهیه شده توسط کارگروه باشد.

۳- تا صدور گزارش نهایی، هیچگونه اطلاعاتی از این کارگروه بیرون نرود مگر از طریق بیانیه رسمی کارگروه و به صورت مکتوب.

۵- نمایندگان هر انجمن می‌توانند مطالب مطرح شده را در انجمن خود مطرح سازند بدون آنکه به جزئیات نظرات اعضای کارگروه اشاره کنند.

۶- تصمیم‌گیری به صورت اجماع باشد و اگر به صورت اجماع توافق حاصل نشد، دو سوم آراء در نظر گرفته شود.

برای عمیق‌تر شدن این بررسی مقرر شد افراد کارگروه به سه گروه تقسیم شوند و هر گروه روی یک موضوع فعالیت نمایند:

مسائل زراعی: آقای دکتر امیدی و خانم دکتر هاشمی

مسائل محیط زیستی: آقایان دکتر میرزائی و دکتر تولائی

مسائل بهداشتی: آقایان دکتر هوشمند، دکتر سرداری و دکتر شهر باززاده

از تاریخ ۸۳/۸/۱۰ تا تاریخ ۸۴/۵/۲ این کارگروه مجموعاً ۱۲ جلسه رسمی و تعداد زیادی جلسات زیر کارگروه‌های فوق را برگزار نمود. البته با توجه به سفر آقای دکتر ملبوی به مدت یک ماه، ریاست جلسات بر عهده آقای دکتر سرداری بود. در سه جلسه آخر از آقای دکتر امیر موسوی نیز به عنوان جایگزین آقای دکتر امیدی دعوت شده بود.

در طی این جلسات، با بررسی استناد ارائه شده و همچنین بررسی روال‌های ارزیابی مخاطرات در جهان (از جمله ضمیمه III پروتوكل کارتاها و دستورالعمل بررسی استاندارد مواد غذایی حاصل از گیاهان تاریخته کدکس)، کارگروه تصمیم به طبقه‌بندی مسائل مورد ارزیابی در

۴ بخش زیر نمود:

الف) بررسی تغییرات ژنتیکی گیاه تاریخته معرفی شده

ب) بررسی مخاطرات زراعی

ج) بررسی مخاطرات اکولوژی

د) بررسی مخاطرات بهداشتی و غذایی

با تقسیم‌بندی فوق، اعضای کارگروه تصمیم گرفتند مطالب مورد بررسی خود را به شکل سؤال مطرح نمایند. پس از طرح سؤالات، نظرخواهی و تصویب، سؤالات برای هیئت مدیره انجمن‌ها و سازمان حفاظت محیط زیست ارسال گردید. سازمان حفاظت محیط زیست در تنها اظهار نظر رسمی خود (طی نامه شماره ۱۳۳۶/پ مورخ ۸۳/۹/۱۱) موارد زیر را اعلام کرد:

«جهت ارزیابی خطرات احتمالی برنج تاریخته Bt موارد زیر باید در ارزیابی خطر مورد بررسی قرار گیرند.

برابری بنیادین یا جایگزینی معادل Substantial Equivalence. هدف اصلی بررسی وجود خطر در فراورده‌های تاریخته و مقایسه آن با فراورده‌های سنتی مشابه است. برابری بنیادی شامل:

— توصیف جزء به جزء خصوصیات مولکولی گیاهی که [انتقال] ژن در آن صورت گرفته است.

— توصیف ژن انتقال یافته.

— توصیف حامل مورد استفاده.

ویژگی‌هایی در طول فرایند انتقال ژن، به ژنوم ذرت [برنج] منتقل گردیده است که باید مشخص گردد. به طور خاص:

— تعداد مکان‌هایی در ژنوم برنج که اختلاط در آنها صورت گرفته است.

— تعداد کپی‌های تولید شده و میزان اختلاط هر ژن باید بررسی گردد.

— پایداری ژنتیکی ژن انتقال یافته به برنج».

همه موارد درخواست شده در این نامه و نظرات دریافتی از انجمن‌ها

الف) بررسی تغییرات ژنتیکی گیاه تاریخته معرفی شده

۱- گونه مورد استفاده در رهاسازی چه می‌باشد؟ تاکسونومی و نام عمومی، آن حست؟

ج: نام عمومی گونه مورد استفاده برج، واریته محلی طارم مولایی می‌باشد. در زبان انگلیسی "Rice" نام عمومی این گونه است. تاکسونومی برج به شرح زیر است:

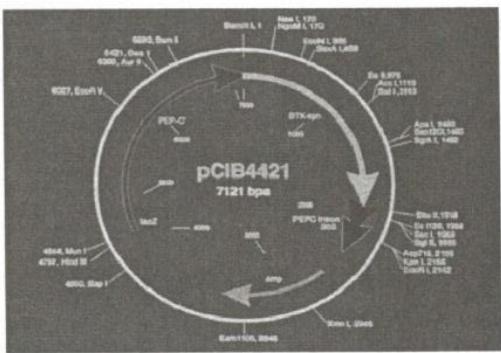
- *Oryza sativa* (indica cultivar-group)
 - Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
 - Spermatophyta; Magnoliophyta; Liliopsida; Poales; Poaceae;
 - Ehrhartoideae; Oryzeae; *Oryza*.

٢- منشأ DNA الحاقي چیست؟

ج: باکتری *Bacillus turingiensis* Krustaki strain HD-1

۳- کدام ناقل برای انتقال زن استفاده شده است؟ نقشه ساختار زنی نوتوکیپ در حامل را ارائه فرمایید.

ج: ناقل pCIB4421 (شکل ۱) حاوی ژن cry1Ab که به همراه پلاسمید
hygromycin phosphotransferase pChitIHygII
حاوی ژن انتخابگر [hpt] به کار رفته است [منبع ۱]



شکل ۱: نمایی از ناقل CIB4421p که در انتقال ژن به برنج تاریخته ۸۲۷ استفاده شده است [نقل، از منعه (۱)].

و متخصصین مربوط در بازنگری سوالات ارسالی کارگروه لحاظ گردید.
سوالات نهایی شده برای مجری پروژه (آقای دکتر قره‌یاضی) ارسال شد.
سپس جزئیات پاسخ‌های ارسالی از سوی ایشان مورد بررسی قرار گرفت.
بعضی از پاسخ‌ها مورد قبول و بعضی به نظر اعضاء، نیاز به توضیحات
ایشان و یا استعلام از مراجع و متخصصین ذیربُط داشت. از جمله،
پاسخ‌های آقای دکتر قره‌یاضی و سوالات گروه کاری برای سازمان حفاظت
محیط زیست ارسال گردید تا هنگام تهیه این گزارش هیچ‌گونه اظهار نظر
رسمی در مورد این پاسخ‌ها و یا اعلام نظری راجع به مخاطره‌آمیز بودن
برنج تاریخته مزبور برای محیط زیست، تنوع زیستی و یا سلامت انسان
و دام از سازمان حفاظت محیط زیست دریافت نشده است.

در نهایت، پس از سه بار بررسی، آرای کارگروه به شرح زیر اعلام گردید. لازم به ذکر است برای حفظ اصالت نظرات و همچنین سهولت مراجعه مخاطبان، همان الگوی پرسش و پاسخ رعایت شده است. مدارک جمع‌آوری شده نیز نزد مسؤول کمیته نگهداری می‌شود.

کوچک بودن کروموزوم‌های برنج پروتکل *in situ hybridization* در مورد برنج بهینه‌سازی نشده و کسی تاکنون برای این منظور مورد استفاده قرار نداده است. در عوض، یکی از روش‌های دقیق و استاندارد به منظور تعیین محل ژن الحاقی، استفاده از روش تلاقي و جامعه در حال تفرق می‌باشد که مورد استفاده قرار گرفت. به طور خلاصه، یک نشانگر ریز ماهواره (RM225) بر روی بازوی کوچک کروموزوم ۶ بین دو توده DNA الگوی باندی متفاوتی ایجاد کرد. در این جامعه نشانگر مزبور با ژن *cry1Ab* هم‌زمان تفرق یافت و در فاصله ۷ سانتی مورگان با آن پیوستگی نشان داد [منبع ۲].

۱۰- خصوصیات قابل پیش‌بینی چه می‌باشند؟ چه تغییر ژنتیکی (اولیه و ثانویه) در اثر انتقال ژن در رقم تاریخته مورد نظر بوجود آمده است؟
ج: همانطور که در سؤال ۹ آمد، سه کپی از ژن *cry1Ab* [منبع ۱]، روی کروموزوم شماره ۶ است [منبع ۲]. از نظر صفات ظاهری، بر اساس استناد ارائه شده، بررسی ۱۶ شاخص زراعی هیچ تغییر غیرطبیعی در گیاه تاریخته را نشان نداد ([منبع ۳] جدول ۱، از آنجا که مطالب منبع ۳ هنوز در مجلات علمی چاپ نشده است، بنا به درخواست کارگروه، داده‌های خام دریافت شده و توسط یک متخصص آمار بررسی و تأیید گردید).

۱۱- آیا رقم تاریخته مزبور پتانسیل یک ژنوتیپ ناپایدار را دارد؟
ج: خیر، زیرا طی ۱۲ نسل مشاهده و مطالعه در گلخانه و مزرعه پایداری کامل این لاین تاریخته مشاهده شده است. از نظر آماری و مشاهدات هیچ گونه اختلافی بین آن و والدش دیده نشد [منبع ۳].

۴- نوع پیشبر و میزان بیان ژن الحاقی در گیاه مورد نظر چقدر است؟
ج: نوع پیشبر Maize C₄ PEP Carboxylase که باعث محدود شدن بیان ژن به بافت‌های سبز می‌شود.

۵- کدام روش برای انتقال ژن استفاده شده است؟
ج: زیست پرتابی توسط دستگاه Bio Rad Biolistic Gun- Model He2000.

۶- کدام لاین تاریخته قابل رهاسازی می‌باشد؟ دلایل آن را ارائه فرمایید.
ج: رقم طارم مولایی شماره ۸۲۷ Variety Tarom Molaii Event 827.

دلایل رهاسازی: تظاهر پایدار ژن، high dosage بودن و مقاومت پایدار به کرم ساقه‌خوار، نداشتن تفاوت عمدہ‌ای با والد غیرتاریخته (این موضوع در طول گزارش مورد بررسی قرار گرفته است).

۷- میزان پروتئین بیان شده نسبت به کل پروتئین در بافت‌های مختلف گیاه تاریخته چقدر است؟
ج: پروتئین *Cry1Ab* حدود ۰/۱ درصد کل پروتئین‌های محلول برگ را تشکیل می‌دهد [منبع ۱] ولی در بذر این پروتئین بیان نمی‌شود.

۸- کدام نشانگر قادر خواهد بود رقم تاریخته مورد نظر را شناسایی کند؟
ج: تکثیر ژن *cry1Ab* با PCR و تکنیک ساترن بلات [منبع ۱، شکل ۲ و شکل ۴].

۹- محل ژن الحاقی کجاست و چند کپی در رقم تاریخته مورد نظر وجود دارد؟
ج: سه کپی از ژن *cry1Ab* [منبع ۱]، و محل الحاق ژن‌ها در یک جایگاه و روی کروموزوم شماره ۶ است [منبع ۲]. البته با توجه به

آمینه‌های گیاهان تاریخته و غیر تاریخته [منبع ۵] نیز به جز در مورد اسید آمینه‌های آلتین و والین تفاوت قابل تشخیصی را نشان نداد. (از آنجا که مطالب منبع ۴ و ۵ هنوز در مجلات علمی چاپ نشده است، بنا به درخواست کارگروه داده‌های خام دریافت شده و توسط دو متخصص تغذیه و دو متخصص بیوشیمی پروتئین‌ها مشابهت عمده گیاه تاریخت و والد آن بررسی و تایید گردید).

۱۵- آیا هرگونه گواهی مبنی بر بی‌مخاطره بودن این محصول توسط مؤسسه یا سازمانی (داخلی یا خارجی) صادر گردیده است؟
ج: وزیر علوم، تحقیقات و فناوری به عنوان رئیس وقت کمیته ملی ایمنی زیستی (بنا بر حکم ریاست جمهوری) طی نامه شماره ۸۷۳۰/۸۰/۸/۱۲ از وزیر جهاد کشاورزی می‌خواهد
نسبت به تشکیل کمیته وزارتی ایمنی زیستی اقدام نماید. بر اساس بخش‌نامه شماره ۵۵۳۶ مورخه ۲۱/۱۱/۸۱ وزیر جهاد کشاورزی، مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی را مسؤول ایمنی زیستی اعلام نموده و واردات، نقل و انتقال، توزیع، مصرف و رهاسازی هر نوع موجود زنده حاصل از مهندسی ژنتیک بدون کسب مجوز از آن مؤسسه را منوع اعلام می‌دارد. در جلسه ۲۳/۲۴/۸۴ کمیته ایمنی زیستی وزارت جهاد کشاورزی مشابهت عمده برنج تاریخته با برنج غیرتاریخته را به تصویب می‌رساند.
البته تاکنون مقررات اجرایی ترتیبات رهاسازی موجودات تاریخته در کشور تبیین نگردیده است و مجری اعلام می‌دارد "با وجود فقدان مقررات، براساس تعهد علمی و ملی و مسؤولیت سازمانی (ریاست کارگروه ایمنی زیستی وزارت جهاد کشاورزی) ۸ سال آتالیز احتمال خطر را انجام داده" و مدارک و شواهد مربوط را به کارگروه

۱۲- خصوصیات و تاکسونومی موجود دهنده ژن چیست؟

ج: پروتئین cry1Ab از سوبه باکتریایی *Bacillus turingiensis* (این سوبه باکتری در بانک Krustaki HD-1 DSMZ موجود است).

۱۳- آیا پروتئین بیان شده در گیاه تاریخته اصلاحات بعد از ترجمه را دارد؟

ج: تاکنون هیچ شاهدی دال بر تغییرات پس از ترجمه این پروتئین منتشر نشده است.

۱۴- آیا مطالعات ساختاری (ساختمان سه بعدی، ژن غیر واسرشه و ...) بر روی پروتئین بیان شده در این گیاهان کشت شده در مزرعه انجام شده است؟ (الف) نتایج مقایسه‌ای مشخصات پروتئین بیان شده در گیاه با مشخصات پروتئین طبیعی (طبق مقالات) را بیان فرماید.
(ب) نتایج مقایسه‌ای مشخصات پروتئین بیان شده در محصول مزرعه با مشخصات پروتئین بیان شده در سطح آزمایشگاه را بیان فرماید.
(منظور مطالعه پروتئین بیان شده در گیاه مزرعه با روش‌هایی مانند NMR, CD, تداخل یا واکنش با آنتی‌بادی، ژل native و کریستالوگرافی X-ray و مقایسه آن با گیاه آزمایشگاه و پروتئین استاندارد می‌باشد).

ج: اطلاعات ارائه شده نشان می‌دهد تشابه ساختمانی تنها با استفاده از واکنش آنتی‌بادی با پروتئین (وسترن بلات) مورد مقایسه قرار گرفته است [منبع ۱]. البته ضرورتی برای روش‌های کریستالوگرافی وجود ندارد و در آنالیزهای احتمال مخاطرات رهاسازی دیگر گیاهان تاریخته در جهان هم گزارشی در این مورد ارائه نشده است. به علاوه، مقایسه محتوای پروتئینی (پروتئومیکس) از طریق ژل دو بعدی [منبع ۴] و ترکیبات اسید