مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۱۰، شماره ۲، پاییز وزمستان ۱۴۰۰
صفحه ۲۹۸-۲۸۶

https://dorl.net/dor/20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5

DOR:20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 10, Number 2
2022

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

بررسی تراریخته بودن محصولات کشاورزی مختلف در شمال غرب ایران

A Survey on Transgenicity of various agricultural products in North-west of Iran

نیلوفر داداش زاده، مقصود پژوهنده*، رعنا ولیزاده کامران

Niloofar Dadashzadeh, Maghsoud Pazhouhandeh*, Rana Valizadeh-Kamran

گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

Biotechnology Dept., Agriculture Fac., Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: *Corresponding Author, Email:
pazhouhandeh@gmail.com
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۴)

چکیده

تامین نیاز غذای مردم و افزایش بهره وری در کشاورزی و کسب عملکرد بالای محصول از زمینهای موجود قابل کشت همزمان با مبارزه با آفات و بیماریها در کشاورزی، باعث شده است تا متخصصان به اصلاح محصولات کشاورزی بپردازند و چون روشهای اصلاح سنتی گیاهان زمانبر است بنابراین با کمک مهندسی ژنتیک درصدد انتقال ژن به گیاهان شده‌اند تا عملکرد محصول را با ایجاد مقاومت به آفات و بیماریها و انواع تنشهای غیرزیستی افزایش دهند. گیاهان مهندسی شده به اصطلاح گیاهان تراریخته یا ترانسژنیک یا نوترکیب یا Genetically Modified Organism (GMO) نامیده می‌شوند. از سوی دیگر عده‌ای معتقدند که گیاهان تراریخته دست ساز بشر ممکن است برای انسان مضر و مشکل‌ساز باشند و در این خصوص نگرانی‌هایی در جامعه وجود دارد. در بسیاری از موارد بدون دلیل کافی محصولات موجود در بازار تراریخته خطاب می‌شوند. بدیهی است که امکان به کار بردن مهندسی ژنتیک برای ایجاد گیاهان تراریخته با ژنهای مضر و خطرناک برای انسان با هدف بیوتروریسم نیز وجود دارد. لذا بررسی میدانی و تراریخته بودن محصولات مختلف موجود در بازار با روشهای بیوتکنولوژیکی و دقیق مولکولی ضروری به نظر می‌رسد. برای این منظور نمونه برداری (بیش از ۱۰۰ نمونه) از محصولات مختلف کشاورزی از بازارها و میادین میوه و سبزی شهرهای مختلف استان آذربایجان شرقی و غربی انجام شد. پس از استخراج DNA با بافر CTAB، کمیت و کیفیت آنها بررسی و عملکرد آنها با تست روی ژن خانه‌دار حفاظت‌شده Actin تایید شد. چهار ژن، یک پروموتور و یک ترمیناتور رایج در انتقال ژنهای گیاهی انتخاب و توالی های آنها از NCBI دریافت و آغازگرهای اختصاصی برای آنها طراحی شد. DNAها برای انجام PCR برای ژنهای هدف مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج PCR آنها نشان داد که ژن *Cry*، *Hyg* و *Bar* و توالی پروموتور 35S و توالی ترمیناتور *Nos* در هیچ یک از نمونه ها وجود ندارد. در بین ۱۱۲ نمونه تست شده فقط ژن *Npt*II در ۱۳ نمونه تشخیص داده شد. این تشخیص نمی-تواند به تنهایی دلیل بر تراریخت بودن این نمونه‌ها باشد زیرا این ژن در *E. coli* هم وجود دارد و اگر نمونه‌ای با آن آلوده بوده هنگام استخراجDNA مواد ژنتیکی آن هم استخراج شده و در تست PCR از روی DNA باکتری مثبت نشان می‌دهد. نتایج این تحقیق نشان داد که بر خلاف گفتگوهای عامیانه بین مردم، محصولات تست شده در بازار تراریخته نیستند.

واژه‌های کلیدی

تراریزش،
گیاه تراریخته،
مهندسی ژنتیک،
PCR

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 10, Number 2, 2022

Abstract

In order to provide the nutritional needs of the people and increase productivity in agriculture and gain high crop yields from existing cultivable lands while controlling pests and diseases, has led agricultural experts to use plant breeding methods and as the traditional methods are time consuming, therefore, with the help of genetic engineering, they have sought to transfer genes to plants to increase crop yield by creating resistance to pests and diseases and a variety of abiotic stresses. The engineered plants are called Genetically Modified Organisms (GMOs) or recombinant plants. On the other hand, some believe that man-made transgenic plants may be harmful and problematic for humans, and there are concerns in this regard in society. In many cases, products on the market are considered transgenic without sufficient reason. Obviously, it is possible to use genetic engineering to create transgenic plants with genes that are harmful and dangerous to humans for the purpose of bioterrorism. Therefore, field study and transgenicity of various products available in the market is necessary with the help of biotechnological and precise molecular methods. For this purpose, sampling (more than 100 samples) of different agricultural products from markets, fruit gardens and vegetable fields of different cities of East and West Azerbaijan in Iran was performed. After DNA extraction with CTAB buffer, their quantity and quality were evaluated and their functionality was confirmed by testing on the conserved house-keeping Actin gene. Four genes, a promoter and a terminator, common in plant transformation, were selected and their sequences were obtained from the NCBI and specific primers were designed for them. DNAs were used for PCR on these target genes. Their PCR results showed that the *Cry*, *Hyg* and *Bar* genes and the 35S promoter sequence and the *Nos* terminator sequence were not present in any of the samples. Among 112 tested samples, *NptII* gene was detected in 13 samples. This diagnosis alone cannot be a reason for the transgenicity of these samples, because this gene is also present in *E. coli*, and if a sample is infected or contaminated with it, when DNA is extracted, its genetic material is also extracted and shows positive in PCR test on bacterial DNA. The results of this study showed that, contrary to popular belief, the products on the market are not transgenic and people can consume them safely.

Keywords: Genetic Engineering, PCR, Transformation, Transgenic plant

مقدمه

تامین غذای ۷/٦ میلیارد نفر جمعیت امروز که در ۲۰۵۰ به ۹/۸ میلیارد نفر و در سال ۲۱۰۰ به ۱۱/۲ میلیارد نفر خواهد رسید متخصصان کشاورزی را به چالش بزرگی کشیده است تا با نامساعد شدن شرایط کشت و کاهش زمین‌های قابل کشت بخاطر کمبود آب برای کشاورزی، شور شدن آب وخاک، گرم شدن کره زمین و تغییر کاربری زمین‌ها توسط انسان، بتوانند پاسخگوی این نیاز تامین غذا باشند. سازمان غذا و کشاورزی (FAO) تخمین زده است که تولید غذا در ۲۵ سال آینده باید ٦۰٪ افزایش یابد تا با تقاضا هماهنگ باشد. در این راستا برای افزایش بهره‌وری در کشاورزی و کسب عملکرد بالای محصول از زمینهای موجود قابل کشت و مبارزه با آفات و بیماریها در کشاورزی، متخصصان به روشهای به نژادی محصولات کشاورزی پرداخته‌اند. چون روشهای سنتی اصلاح گیاهان زمانبر می‌باشد بنابراین با کمک مهندسی ژنتیک درصدد انتقال ژن به گیاهان شده‌اند تا عملکرد محصول را با ایجاد مقاومت به آفات و بیماریها و انواع تنشهای غیرزیستی افزایش دهند. این گیاهان مهندسی شده اصطلاحا گیاهان تراریخته یا ترانسژنیک یا نوترکیب یا Genetically Modified Organism (GMO) نامیده می‌شوند. در فرآیند تراریختی، موجودی با ویژگی‌های جدید ایجاد می‌شود و ژن یا ژن‌هایی از یک موجود به موجود دیگر منتقل می‌شود که با انتقال ژن جدید ویژگی جدیدی در آن موجود ایجاد می‌شود. تولید یک ارگانیسم و بخصوص گیاه تراریخته با استفاده از مهندسی ژنتیک بطور معمول طی مراحل زیر انجام می‌شود: ۱-انتخاب و جداسازی ژن مورد نظر، برش DNA در مکان‌های مشخص با

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5]

استفاده از آنزیم‌های محدودکننده ۲-تهیه یک کاست ژنی نوترکیب برای وارد کردن و قابل بیان بودن داخل ژنوم میزبان ۳-وارد کردن ژن نوترکیب در پلاسمید مورد نظر و انتقال به سلول میزبان با روش‌های مناسب ٤-تکثیر سلول هدف با کشت بافت و بدست آوردن گیاه دارای ژن مورد نظر ٥-بررسی گیاه دارای ژن نوترکیب از نظر وجود ژن و ایجاد صفت مورد نظر در آن و جداسازی لاین‌های دارای خصوصیت مورد نظر ٦-بررسی موجود تراریخته از نظر قابلیت رشد و سایر خصوصیات آن و تولید انبوه محصول دارای صفت مورد نظر ۷-آنالیز مولکولی و بررسی ترکیبات نوین در موجود جدید از نظرتغییرات احتمالی بوجود آمده در ژنوم موجود ۸-ارزیابی ریسک و ایمنی محصول بدست آمده براساس منابع معتبر (Songstad et al., 2017; Lin and Pan, 2016; khosravi and Tohidfar, 2015).

از اولین کشت محصولات تراریخته در کره زمین بیش از ۲۵ سال می‌گذرد و محصولات تراریخته برای اولین بار درسال ۱۹۹٦ کشت شدند (ISAAA 2021). از بین محصولات کشاورزی به ترتیب سویا، ذرت، پنبه، کلزا و یونجه بیشترین سطح زیر کشت را در دنیا به خود اختصاص می‌دهند و گیاهان تراریخته دیگر زیر کشت شامل چغندر قند، اسکواش، پاپایا، بادمجان، سیب زمینی و سیب هستند.

شش کشور در دنیا بیشترین سود اقتصادی را از تجاری سازی محصولات تراریخته برده اند، که از سال ۱۹۹٦ تا ۲۰۲۱ شامل: آمریکا، آرژانتین، هند، برزیل، چین و کانادا بود. از مجموع ٢٤ کشور، ۱۹کشور درحال توسعه و ۵ کشور صنعتی دارای سطح زیر کشت برای گیاهان تراریخته از مجموع جهانی ۲۰۰ میلیون هکتار هستند. آمریکا (٤۰ درصد از کل جهان)، برزیل (۲۱٪) ،آرژانتین (۱۲٪)، کانادا (۷٪)، هند (٦٪)، پرتغال (۲٪)، چین، آفریقای جنوبی، و ۱۵ کشور دیگر حدود یک درصد زمین زیر کشت تراریخته دارند که برای مصارف خوراکی، خوراک دام و پوشاک در خود این کشورها و صادرات آنها به جهان کشت می‌شوند (ISAAA 2021).

کشور ما نیز یکی از مقصدهای واردات محصولات مختلف تراریخته چه بصورت بذر و چه بصورت فرآورده گیاهی خصوصا برای تهیه روغن، خوراک دام و پوشاک می باشد. از طرفی عده‌ای معتقدند که گیاهان تراریخته دست ساز بشر ممکن است مضر بوده و برای انسان مشکل ساز باشند، در این خصوص نگرانی-هایی در جامعه وجود دارد. در بسیاری از موارد بدون سند و مدرک محصولات موجود در بازار متهم به تراریخته بودن می-شوند. بدیهی است که امکان به‌کار بردن مهندسی ژنتیک برای ایجاد گیاهان تراریخته با ژنهای مضر و خطرناک برای انسان با هدف بیوتروریسم نیز وجود دارد. لذا بررسی میدانی تراریخته بودن محصولات مختلف موجود در بازار با روشهای بیوتکنولوژیکی و مولکولی ضروری به نظر می‌رسد.

فواید و کاربردهای محصولات تراریخته: مهمترین صفاتی که تاکنون از تولید گیاهان تراریخته مورد نظر بوده است عبارتند از: ۱- مقاومت به علف‌کش: امروزه تعداد زیادی از گیاهان تراریخته مقاوم به علف‌کش ایجاد شده است که به کشاورزان امکان مبارزه با علف‌های هرز را در سطح وسیع می‌دهد. از جمله این گیاهان می‌توان به گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی، پنبه، ذرت، کلزا، گل اطلسی و ... اشاره کرد. از سال ۱۹۹٦ تا ۲۰۱۷ مقاومت به علف‌کش مهمترین صفت در گیاهان تراریخته بوده است و ٤۷٪ از سطح زیرکشت محصولات تراریخته جهان به گیاهان تراریخته مقاوم به علف‌کش اختصاص یافته است (ISAAA 2021). علف‌کش گلایفوسیت یکی از علف‌کش‌های عمومی است که از طریق بلوکه کردن آنزیم EPSPS که در بیوسنتز اسیدهای آمینه نقش دارد باعث ازبین رفتن علف‌های هرز می‌شود. گیاهان تراریخته مقاوم به گلایفوسیت، با انتقال ژن EPSPS ایجاد شده‌اند که در آن‌ها این آنزیم به مقدار زیادی تولید شده و در نتیجه اثر کشندگی گلایفوسیت را خنثی می‌کند. این گیاهان تراریخته باعث کاهش هزینه‌های کارگری برای وجین کردن، افزایش عملکرد محصول و افزایش درآمد زارعین می‌گردد.

۲-مقاومت به آفات و بیماری‌های گیاهی: به علت آثار زیان‌بار سموم شیمیایی بر سلامت انسان و محیط زیست و هزینه‌ی زیاد و تاثیر ناپایدار آن، دانشمندان زیست فناوری با انتقال ژن دلتا اندوتوکسین Cry از باکتری *Bacillus thuringiensis* به برخی گیاهان از جمله پنبه، سویا، برنج و ذرت باعث مقاومت آن‌ها به

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5]

حشرات آفت شده‌اند (Trapero et al., 2016). همچنین برای ایجاد مقاومت به بیماری‌های گیاهی گندم مقاوم به بیماری زنگ تولید شده است و خصوصا ویروسها بیشتر مورد نظر بوده‌اند، انتقال ژن پروتئین پوششی ویروس به گیاه یا خاموش کردن ژن ممانعت کننده از RNA Silencing ویروس در گیاه یا انتقال قطعات دیگری از ویروس به گیاه باعث تولید گیاهان تراریخته مقاوم به ویروس در توتون وسیب‌زمینی و خیارو سایر محصولات شده است (Fateri Rezvani et al., 2016; Sajadi-Fard et al., 2016; Rahnama et al., 2020).

۳- مقاومت به تنش‌های غیرزیستی: ایجاد مقاومت در برابر تنش‌های محیطی ازجمله تنش خشکی، سرما، گرما، شوری خاک، فلزات سنگین نیز از طریق زیست فناوری به انجام رسیده است. مقاومت به سرما از طریق انتقال ژن مربوط به آنزیم گلیسرول فسفات اسیل ترانسفراز از گیاه آرابیدوپسیس حاصل شد، انتقال ژن باکتریایی سنتز مانیتول نیز موجب مقاومت به خشکی در گیاهان شد.

٤- بهبود کیفی محصولات: افزایش مواد مغذی و ویتامین‌ها، همچنین حفظ کیفیت محصولات در حین حمل و نقل نیز در ایجاد گیاهان تراریخته مورد نظر بوده است. کاهش سنتز اتیلن در گوجه‌فرنگی تراریخته با استفاده از RNA آنتی‌سنس که بر علیه آنزیم ACC سینتاز عمل می‌کند باعث شد گوجه‌فرنگی‌های تراریخته علاوه بر اینکه می‌تواند زمان بیشتری بر روی بوته بماند و مواد بیشتری جذب کند، پس از برداشت نیز در انبار عمر بیشتری دارند. همچنین برنج تراریخته‌ای که بتاکاروتن و آهن بیشتری داشته باشد، نقش بسزایی در بهبود جیره‌ی غذایی انسان داشت (Norouzi et al., 2012; Songstad et al., 2017).

ژن‌های گزارشگر و گزینشگر مورداستفاده در گیاهان تراریخته

ژن‌های گزارشگر، ژن‌های متصل به توالی ژن خارجی هستند که باعث تشخیص بیان ژن خارجی و همچنین مکان پروتئین‌های بیان شده می‌شود (Seymour and Sander, 2007). ژن‌های گزارشگر پروتئین‌هایی را تولید می‌کنند که تشخیص سلول‌هایی که ژن خارجی را دریافت کرده‌اند را تسریع می‌کند. ژن‌های گزارشگر مورد استفاده برای ردیابی بیان ژن خارجی در گیاهان شامل Green Fluorescent Protein (GFP) ، Luciferase (Luc)، Beta-Glucuronidase (GUS)، Chloramphenicol Acetyl-Transferase (CAT) و Beta Galactosidase هستند Matsuo et al., 2001; Koo et al., 2007). درمقابل، ژن‌های گزینشگر مانند ژن‌های مقاومت به آنتی بیوتیک (عمدتا کانامایسین)، ژن‌های مقاومت به علف کش (عمدتا بستا) و ژن‌های ضد متابولیک، مقاومت به مواد شیمیایی خاصی را ایجاد می‌کنند که مانع رشد گیاه غیرتراریخته در جریان تحقیق و تولید می‌شوند (Ziemienowicz, 2001). ژن‌های گزینشگر ایده آل باید بسیار حساس، پایدار و قابل اعتماد برای تشخیص در طیف وسیعی از سلول‌ها و بافت‌ها باشند (Santi et al., 2003). بنابراین، با توجه به ماهیت مطالعه، باید یک ژن گزینشگر مناسب در مرحله ایجاد گیاه تراریخته انتخاب کرد.

با توجه به اینکه نگرانی‌های زیادی در جامعه نسبت به مصرف گیاهان تراریخته وجود دارد و اطلاعات تراریختگی آنها روی محصولات مشخص نیست بررسی میدانی تراریختگی محصولات موجود در بازار از چهار نظر حایز اهمیت است: اول اینکه اگر نتایج بررسی میدانی روی محصولات مختلف و مشکوک به تراریخته نشان دهد که این محصولات تراریخته نیستند گمانه زنی‌های عوامانه در این خصوص با دلایل مستند مولکولی محکوم شده و مردم با خیال آسوده محصولات را مصرف خواهند کرد. دوم اینکه چون گیاهان تراریخته پس از طی سالها و انجام آزمایشات مختلف و اطمینان از سالم بودن آنها به انسان و محیط زیست به منظور کشت گسترده و مصرف آزاد سازی می‌شوند و سلامت آنها قبل از رهاسازی توسط سازمان بهداشت جهانی World Health Organization (WHO) و همچنین Food and Agriculture Organization (FAO) تایید می‌شود بنابراین اگر بررسی‌ها نشان دهند که برخی از محصولاتی که مردم آنها را بطور معمول مصرف می‌کنند تراریخته هستند از نظر روانی نگرانی آنها تا حدودی نسبت به گیاهان تراریخته برطرف خواهد شد چراکه خواهند دید که گیاهان تراریخته را سالهاست که مصرف کرده‌اند و مشکلی برای آنها ایجاد نشده است. سوم اینکه درصورت تراریخته تشخیص دادن برخی محصولات منشا کشت و واردات آنها ردیابی و الزام نشانه گذاری روی آنها صورت

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5]

خواهد گرفت. چهارم اینکه درصورت تراریخته بودن محصولی، ژن انتقال یافته مشخص و شناسنامه آن بررسی شده و درصورت شناسنامه دار نبودن آن، به مراجع ذی صلاح اطلاع رسانی خواهد شد.

ردیابی و شناسایی ارگانیسم‌های تراریخته

برای تشخیص و ردیابی ارگانیسم‌های تراریخته روش‌های متعددی شامل ردیابی ژن تغییر یافته، پروتئین‌های جدید و نیز سایر متابولیت‌های تغییر یافته وجود دارد، که از این میان به علت کارایی و قابلیت اعتماد، روش‌های مبتنی بر ژنتیک بیشترین کاربرد را دارد. استانداردهای روش‌های ردیابی و تعیین ارگانیسم‌های تراریخته توسط International Organization for Standardization (ISO) تدوین شده، که بسیاری از آنها با تغییرات جزئی به استاندارد ملی ایران تبدیل شده است. در استانداردهای ملی ایران ۹۶۱۳، ۹۶۱۷، ۱۰۷۶۳، ۱۱۷۸۶ روش‌های ردیابی کیفی و کمّی، استخراج اسید نوکلئیک و اصول کلی برای اجرای این روش‌ها شرح داده شده است. در حال حاضر، این استانداردها، تنها منابع معتبر موجود برای ردیابی ارگانیسم‌های تراریخته در غذا هستند. با گسترش محصولات تراریخته در جهان، و بحث در مورد واردات این محصولات، بخصوص دانه‌های روغنی و اقلامی که به مصرف خوراک دام می‌رسند، در ایران طی دهه اخیر مطالعات گسترده‌ای در زمینه بررسی وجود موجودات تراریخته در میان محصولات وارداتی انجام شده است. در روش تشخیص بر اساس DNA با استخراج و تکثیر DNA نمونه به روش واکنش زنجیره ای پلیمراز می‌توان ژن مربوط به محصولات تراریخته را شناسایی نمود. برای شناسایی و ردیابی آن‌ها از پرایمرهای CaMV 35s، NOS و NPT II که در اغلب محصولات تراریخته وجود دارد، استفاده می‌شود. تشخیص براساس DNA دارای دقت و حساسیت زیادی بوده و همچنین دارای قابلیت کمّی‌سازی نیز می‌باشد. از روش‌های دیگر تشخیص محصولات تراریخته می توان به Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) کرد اشاره که مبتنی بر تشخیص پروتئین با استفاده از آنتی بادی اختصاصی است. در روش تشخیص براساس ذرات مغناطیسی نیز پروتئین‌ها با استفاده از ذرات فلزی که دارای پوشش از آنتی‌بادی‌ها می‌باشند، هدف-گیری شده و در نهایت توسط یک آهن‌ربا ازداخل محلول جداسازی می‌گردند. مقالات زیادی در مورد روشهای تشخیص گیاهان و محصولات تراریخته وجود دارد (Miraglia et al.,2004; Deisingh and Badrie, 2005; Grohmann et al., 2009; Holst-Jensen, 2009; Barbau-Piednoir et al., 2010; Bahrdt et al., 2010; Herzallah, 2012; Li et al., 2012; Arun et al., 2013; Datukishvili et al., 2015; Gardner et al., 2018)

موجودات تراریخته مختلف دارای ژن‌های متفاوتی هستند که با روش‌های مختلفی منتقل شده‌اند این امر به این مفهوم است که ایمنی غذاهای ناشی از هر یک از موجودات تراریخته باید به صورت مورد به مورد ارزیابی شود و امکان اظهار نظر کلی در مورد تمام موجودات تراریخته و سلامت غذاهای ناشی از آن‌ها وجود ندارد.

هدف این تحقیق پاسخ دهی به چندین سوال مهم است: ۱- آیا در محصولات مختلف کشاورزی موجود در بازار گیاهان تراریخته وجود دارند؟ درصورت وجود آیا اتیکت دارند؟ یا بدون نشان تراریخته در مزارع کشاورزی ما کشت می‌شوند؟ ۲- آیا جو روانی و گمانه زنی‌های عوام موجود در جامعه نسبت به اینکه فلان گیاه تراریخته است اساسا درست است یا فقط یک شایعه بی اساس می‌باشد؟ ۳- آیا ما بدون اطلاع محصولات تراریخته را مصرف می‌کنیم؟ هدف از این تحقیق بررسی تراریخته و یا غیر تراریخته بودن محصولات مختلف کشاورزی موجود در بازار مصرف در شمالغرب کشور است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: برای استخراج و انجام آزمایشات مربوطه به میادین تره بار استانهای شمال غرب کشور مراجعه شد. از تمامی محصولات موجود در تره بار که قابلیت استخراج DNA از آنها وجود داشت نمونه برداشت و برای انجام آزمایشات مربوطه به آزمایشگاه منتقل شد. لیست محصولات جمع آوری شده به شرح جدول ۱ است.

استخراج DNA از بافت گیاه: استخراج DNA ژنومی برگ‌ها به روش CTAB انجام شد (Doyle and Doyle, 1987; Clarke

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5]

(2009. برای این‌کارحدود ۲۰۰ میلی‌گرم از برگ‌ها با اسکالپل استریل جدا شد و درون میکروتیوب‌های ۱/۵میلی‌لیتری ریخته شد. از ازت مایع برای فریز کردن، خرد و همگن‌سازی بافت برگ استفاده شد (بعد از اضافه کردن ۱۵-۱۰ میکروتیله شیشه‌ای به هر تیوب، داخل ازت مایع فرو رفت و سریعاً در دستگاه آمالگاماتور به مدت ۱۰ ثانیه خرد شد و داخل یخ قرار گرفت) سپس حدود ۳۰۰ میکرولیتر از بافر CTAB به هر یک از تیوب‌ها اضافه شد و در ادامه تیوب‌ها حدود ۲۰-۱۵ دقیقه در دمای ۶۵-۶۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه ترمومیکسر قرار گرفتند. یک حجم از فنل کلروفرم به نمونه‌ها اضافه و به مدت ۵ دقیقه ورتکس شدند و بعد از اینکه ۵ دقیقه در دمای اتاق ماندند، ۵ دقیقه در دمای ۴°C با سرعت ۱۴۰۰۰rpm سانتریفیوژ شدند. فاز رویی را به تیوب‌های جدید منتقل کرده و دو برابر حجم آن اتانول سرد اضافه و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت باقی ماندند. حدود ۱۵ دقیقه با همان سرعت قبلی و در دمای°C ٤ سانتریفیوژ انجام گرفت تا DNA رسوب کند. سپس اتانول را خالی کرده و رسوب‌ها با اتانول ۷۰ درصد شستشو شدند (حدود ۲۵۰ میکرولیتر به هر تیوب اضافه و به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند). سپس اتانول را خالی کرده و رسوب‌ها خشک شدند و به‌مقدار ۲۰-۳۰ میکرولیتر آب استریل دو بار تقطیر اضافه کرده و در °C ۲۰- نگهداری شدند.

تعیین کمیت و کیفیت اسیدهای نوکلئیک: غلظت اسیدهای نوکلئیک از طریق اندازه‌گیری چگالی نوری (OD) در طول موج ۲٦۰ نانومتر تعیین شد. نسبت ۲٦۰/۲۸۰ نانومتر میزان خلوص نمونه‌ها را نشان می‌دهد. برای بررسی کیفیت DNA استخراج شده، نمونه‌ها روی ژل آگارز ۱٪ بارگذاری شدند. نمونه‌های DNA بارگذاری شده، در ولتاژ ۹۰-۷۰ ولت و در بافر TAE ×۱ از هم تفکیک شدند و توسط ژل داک (Biometra) تصویر برداری شد.

واکنش PCR: واکنش های PCR با پرایمرهای اختصاصی در حجم ۲۰ میکرولیتر با استفاده از آنزیم Mag *Taq* DNA Polymerase تهیه و با شرایط دمایی C °٩٤ به مدت ۳ دقیقه و ۳۵ چرخه با ٩٤°C به مدت ۲۵ ثانیه، ۵۰°C به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲°C به مدت ٤۰ ثانیه و در پایان ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. ۳ میکرولیتر از محصول PCR در ترکیب با ۲ میکرولیتر بافر بارگذاری Dye روی ژل آگارز با استفاده از دستگاه الکتروفورز آنالیز شد.

طراحی پرایمر: آغازگرهای مناسب برای انجام PCR در این پژوهش به صورت زیر طراحی شد. ۱) ابتدا توالی ژن‌های مورد نظر از سایت NCBI دانلود شد.۲) سپس رایجترین از بین آن‌ها که در اکثر پلاسمیدها یافت می‌شود انتخاب شد. ۳) سپس در نرم افزار APE توالی آنها بررسی و بهترین پرایمر پیشنهادی با دماهای ذوب تقریبا ۵۵ تا ٦۰ درجه انتخاب و طراحی شد (جدول ۲).

جدول ۱- لیست نمونه های جمع آوری شده و محل جمع آوری آنها

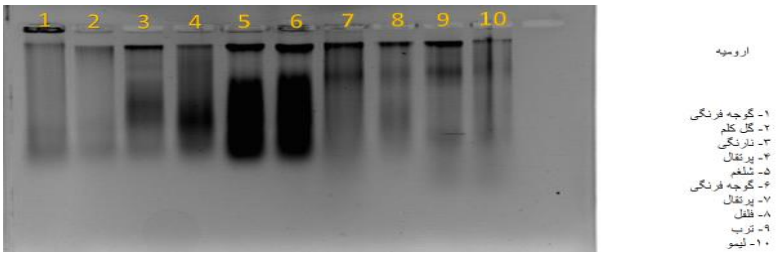
Table 1. List of collected samples and place of collection

اسامی شهر City	نام محصولات crops
ارومیه	گوجه فرنگی- گل کلم- نارنگی -پرتقال- شلغم- فلفل- ترب- لیمو
میاندوآب	ذرت- گریپ فروت- اسفناج- هویج سیاه- به- خرمالو- کرفس- کلم بروکلی- نارنج- لوبیا- سیب زمینی- پیاز- نارنگی
آذرشهر	نارنگی- اسفناج- گل کلم- کرفس- کاهو- لیمو ترش- کلم بروکلی- گوجه فرنگی- توت فرنگی- کاهو چینی- ذرت- ترب سفید- پیاز- سیب زمینی
تبریز	کلم بروکلی- نارنگی یافا- ترب سفید- گوجه فرنگی- به- خرمالو- لوبیا- ترب قرمز- لیمو- نارنج- هویج سیاه- شلغم- ترب سیاه- گریپ فروت- ذرت- لیمو ترش- اسفناج- کلم- نارنگی- پرتقال- هویج-

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5]

جدول۲- لیست آغازگرهای استفاده شده در این پژوهش **Table 2**. Primers list used in this study

Gene ژن یا توالی مورد نظر	Primerتوالی آغازگر
AtACTIN Product 200 bp	ATACT F: ACTGCTGAGCGTGAGATTGTC ATACT R: TCAGAAGCACTTCCTGTGGAC
AtRPL4 Product 200 bp	RPL4 F: GTGATAGGTCAGGTCAGGGAACAAC RPL4 R: CCACCCAACCACGAACTTCACCGCGAGTC
Cry Product 500 bp	CRY F: ATGGATAACAATCCGAACATCAATGA CRY R: AAATTTGCAGCTTGAACATATACTGA
NPTII PCR Product 800 bp	NPT2 F: ATGATTGAACAAGATGGATTGCA NPT2 R: TCAGAAGAACTCGTCAAGAAGG
Hyg T2 PCR Product 1000 bp	HYG F: ATGAAAAAGCCTGAACTCACC HYG R: CTATTTCTTTGCCCTCGGACG
Bar PCR Product 550 bp	BAR F: ATGAGCCCAGAACGACGCCC BAR R: TTAGATCTCGGTGACGGGCAG
TerNos PCR Product 250 bp	TerNos F: GAATTTCCCCGATCGTTCAAAC TerNos R: AACATAGATGACACCGCGCG
35SPro PCR Product 330 bp	35S F: AACATGGTGGAGCACGACACA 35S R: ATCACATCAATCCACTTGCTT



شکل۱- تصویر ژل الکتروفورز DNA استخراج شده از برخی نمونه‌ها (نمونه‌های ارومیه)

Fig 1. Gel electrophoresis of DNA Extracted from some samples (Urmia samples)

نتایج و بحث

هدف از این تحقیق بررسی تراریخته و یا غیر تراریخته بودن محصولات مختلف کشاورزی موجود در بازار مصرف در شمالغرب کشور است.

نمونه برداری از محصولات کشاورزی: ابتدا نمونه برداری از بازارهای مختلف محصولات کشاورزی و مزارع در شهرهای مختلف صورت گرفت و نمونه‌ها بلافاصله در شرایط خنک به آزمایشگاه منتقل و استخراج DNA روی آنها صورت گرفت. در نمونه برداری سعی شد تا دامنه وسیعی از محصولات پوشش داده شود (جدول ۱) و از طرفی براساس اطلاعات موجود که چند محصول بیشتر از بقیه محصولات مورد مهندسی ژنتیک در دنیا قرارگرفته‌اند توجه خاصی در نمونه برداری ها روی این محصولات انجام شد. تعداد نمونه ها بیش از ۱۱۰ عدد بود اما نمونه های با کیفیت به تعداد ۱۰۰ عدد در این تحقیق بررسی شدند.

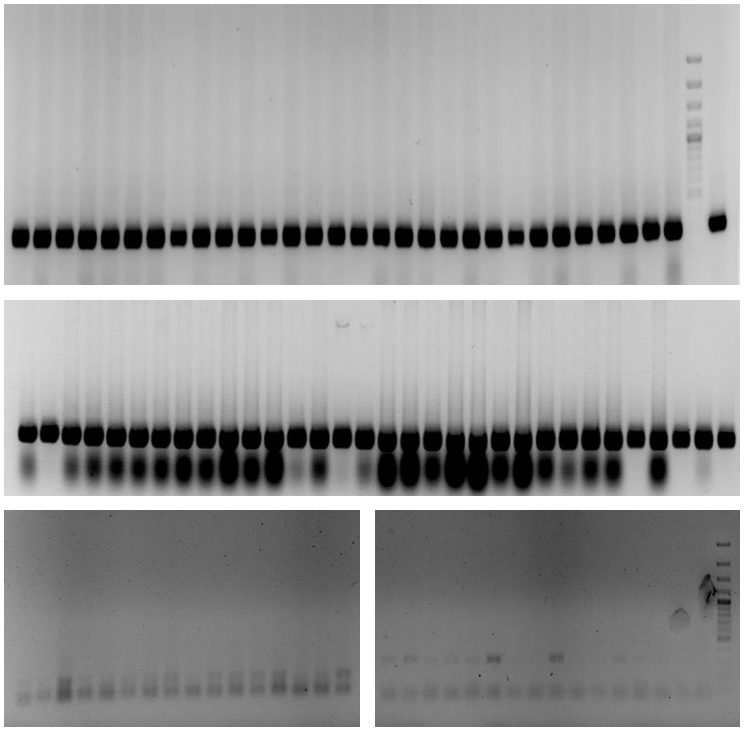
استخراج DNA از نمونه‌ها: پس از استخراج کردن، کمیت DNA با اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد و اغلب غلظت ۱-۲ میکروگرم بر میکرولیتر داشتند و همچنین Ratio 260/280= 1.5-1.9. کیفیت DNAهای استخراج شده با بارگذاری روی ژل الکتروفورز بررسی شد (شکل ۱).

بررسی عملکرد DNA های استخراج شده با استفاده از PCR برای ژن خانه دار *ACTIN*: با توجه به اینکه توالی ژنهای خانه‌دار در تمامی موجودات اعم از گیاهان و جانوران و میکروارگانیسمها حفاظت شده است بنابراین می‌توان با استفاده از برخی از این ژنهای خانه‌دار که حفاظت شدگی بسیار بالایی دارند نمونه های استخراج شده DNA را بررسی کرد. این‌کار بدین جهت انجام

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5]

می‌گیرد که در صورت عدم تکثیر در PCR برای ژنهای هدف بتوانیم نتیجه‌گیری کنیم که کیفیت DNA برای PCR مناسب است چون برای ژن خانه‌دار تکثیر شده است اما بخاطر نبود الگو برای ژن هدف تکثیری برای آن صورت نگرفته است. بدین منظور روی تمامی DNA های استخراج شده ابتدا واکنش PCR با آغازگرهای اختصاصی ژن خانه دار *ACTIN* و برخی موارد *RPL4* مربوط به گیاه آرابیدوپسیس که حفاظت‌شدگی بسیار بالایی دارد انجام گرفت و نتایج نشان داد که DNA ها برای واکنش PCR مشکلی ندارند. در هنگام انجام این PCR ها نمونه هایی که تکثیری برای اکتین نداشتند (شکل۷-۳) ابتدا رقیق سازی شدند و درصورت نیاز خالص‌سازی مجدد با فنل/کلروفورم روی آنها انجام گرفت تا تکثیر برای اکتین را نتیجه بدهند. در برخی از نمونه‌ها نیز دمای آنلیینگ و چسبیدن آغازگرها در PCR تغییر یافت تا تکثیر اکتین را نتیجه بدهند و در آخر نمونه هایی که برای اکتین تکثیری نشان ندادند از ادامه بررسی کنار گذاشته شده یا نتایج بعدی آنها مورد بررسی قرار نگرفت.

PCR برای ژن های مهم در مهندسی ژنتیک: برای تعیین تراریخته بودن یک محصول از لحاظ مولکولی باید ژن انتقال یافته به آن را شناسایی کرد. چون در مورد محصولات مختلف ژن هدف انتقال داده شده برای حصول صفت مرغوب مشخص نیست از ژنهای انتخاب‌گر استفاده شد. معمولا اکثریت تراریختگی‌ها با روش آگروباکتریوم انجام می‌گیرد و ژنها و توالی های روی T-DNA قابلیت بررسی دارند و در سایر موارد انتقال ژن چون معمولا در مهندسی ژنتیک برای انتخاب گیاه تراریخته از غیرتراریخته از ژنهای گزینش‌گر یا انتخاب‌گر مثل ژنهای مقاومت به علف‌کش و آنتی بیوتیک‌ها استفاده می‌شود بنابراین بررسی روی این ژنهای انتخاب‌گر و همچنین توالی های پروموتوری مثل پروموتور 35S که در اکثریت انتقال ژنها از قدیم مورد استفاده بوده است در این تحقیق مورد توجه قرار گرفت و برای تشخیص در PCR برای هرکدام از آنها طراحی پرایمر انجام شد. لیست ژنها یا توالی های مورد مطالعه در جدول ۳ آمده است.



شکل۲- تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR روی DNA های استخراج شده از نمونه های مختلف برای ژن اکتین. با بهینه سازی قطعه ۲۰۰ جفت باز اکتین در ژل بالا و وسط نمونه های DNA با عملکرد خوب جمع شدند و در ژل پایین نمونه های DNA که تکثیر خوبی برای ژن اکتین نداشتند از ادامه بررسی کنار گذاشته شد.

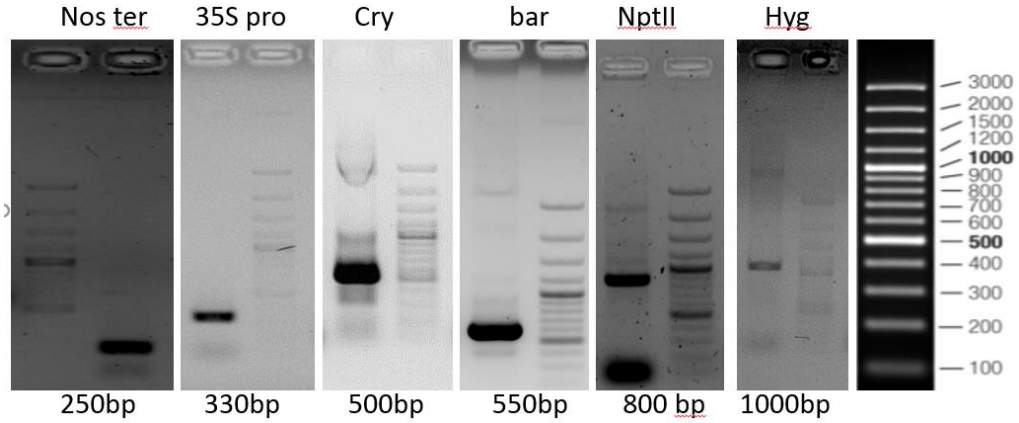
Fig 2. Gel electrophoresis of PCR product on Actin gene in different samples. PCR product 200 bp.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5]

جدول ۳- ژنها یا توالیهای استفاده شده برای ارزیابی تراریخته بودن محصولات با PCR

Table 3. Genes or sequences used for transgenic assay in PCR

Gene	Function وظیفه
Bar	ژن مقاومت به علف کش عمومی بستا Basta Resistance gene
Cry	ژن تولید کننده ماده کریستالی برای ایجاد مقاومت به آفات Crystaline entomocidal protoxin
Hyg	ژن مقاومت به علف کش هیگرومایسین Hygromycin B phosphotransferase gene (hph)
Npt	ژن مقاومت به کانامایسین و نئومایسین Neomycin phosphotransferase
Nos	خاتمه دهنده رونویسی مربوط به ژن نئوپالین Nopaline synthase gene Terminator
35S	پروموتور رونویسی مربوط به ویروس Cauliflower Mosaic virus 35S promoter



شکل۳- تصویر ژل الکتروفورز محصولهای مختلف PCR روی پلاسمیدهای کنترل مثبت به منظور تایید عملکرد آغازگرهای طراحی شده برای ژنهای مختلف.

Fig 3. Gel electrophoresis of different PCR Products for different genes and fragments on positive control plasmids to evaluate the accuracy of designed primers

برای اثبات عمکرد آغازگرهای طراحی شده ابتدا PCR روی کنترل مثبت پلاسمیدهای دارای این ژنها و ترمیناتور و پروموتور انجام شد. برای این منظور از پلاسمید pMDC43 که دارای پروموتور 35S و ژن مقاومت به هیگرومایسین و ترمیناتور nos می‌باشد و یا از پلاسمید pbin-Cry که دارای ژن Cry و ژن مقاومت به کانامایسین NptII می‌باشد و همچنین پلاسمید pFGC5941 که دارای ژن bar می‌باشد استفاده شد و با تغییر در دمای آنلیینگ برای برخی از ۵۵ تا ٦٢ درجه سانتیگراد همانطور که در شکل ٤ مشاهده می‌شود آغازگرهای طراحی شده به خوبی قطعات مورد انتظار را تکثیر دادند.

PCR برای ژن Bar مقاومت به علف کش بستا: پس از اطمینان از عملکرد نمونه ها با انجام PCR روی ژن اکتین، نمونه ها با همان مقدار که برای اکتین پاسخ مثبت داده بودند برای ژن مقاومت به بستا ارزیابی شدند. این ژن اولین بار از باکتری *Streptomyces hygroscopicus* جداسازی و در بسیاری از پلاسمیدها هم به عنوان ژن انتخابگر گیاهان تراریخته از غیر تراریخت و هم به عنوان ژن اصلی برای ایجاد مقاومت به علف-کش عمومی بیولافوس یا گلوفوزینات آمونیوم قرارداده شده است. آغازگرهای طراحی شده در صورت وجود این ژن بایستی یک قطعه ۵۵۰ جفت بازی را تکثیر کنند. در هیچ یک از نمونه‌ها قطعه مورد انتظار تکثیر نشد و بخاطر پایین بودن دمای آنلیینگ آغازگرها فقط قطعات کوچکتر غیراختصاصی در برخی ژلها مشاهده شد.

PCR برای ژن Cry مقاومت به آفت کش: ژن Cry متداول‌ترین ژن در انتقال به گیاهان جهت ایجاد مقاومت به آفات جونده وحشرات بوده است و به خیلی از گیاهان انتقال داده شده است.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5]

این ژن اولین بار از باکتری *Bacillus thuringiensis* جداسازی شد و به خاطر کریستالی بودن پروتئین حاصل از آن در قطعات دهانی حشرات موجب زخم و نهایتا نابودی آنها می‌شود. نمونه ها با انجام PCR از لحاظ داشتن ژن Cry بررسی شدند و هیچ یک از نمونه ها برای این ژن مثبت نبود. ابتدا دو نمونه که مربوط به یک ترب و به یک ذرت بود ابتدا یک باند ضعیف حدود ۵۰۰ جفت بازی مورد انتظار را نشان دادند اما با تکرار PCR تکرار پذیر نبودند.

PCR برای ژن Hyg مقاومت به آنتی بیوتیک هیگرومایسین: ژن Hyp یا Hyg یکی از ژنهای انتخابگر در ایجاد گیاهان تراریخته هست. این ژن اولین‌بار از باکتری *Streptomyces hygroscopicus* جداسازی و در پلاسمیدهای مختلف قرار داده شده است. آنتی‌بیوتیک هیگرومایسین از سنتز پروتئین در سلول جلوگیری می‌کند و محصول این ژن باعث فسفریله شدن هیگرومایسین B شده و آن را غیرسمی می‌نماید. روی نمونه های DNA این‌بار با آغازگرهای اختصاصی این ژن PCR صورت گرفت. قطعه ۱۰۰۰ جفت بازی مورد انتظار در هیچ کدام از نمونه ها تکثیر نگردید. در کنترل مثبت باند ۱۰۰۰ جفت بازی قابل مشاهده بود و بخاطر پایین گرفتن دمای آنلیینگ باندهای غیراختصاصی کوچکتر در برخی نمونه ها دیده شد.

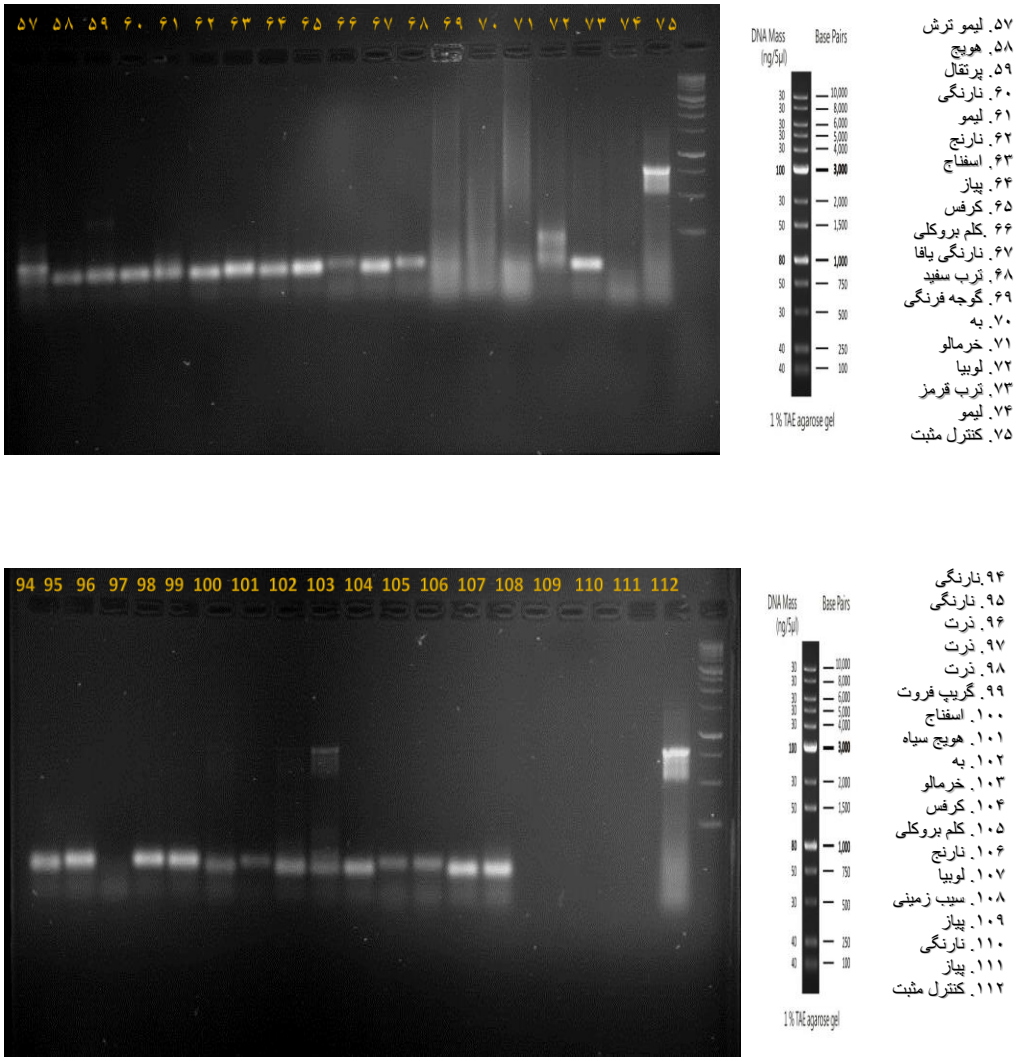
PCR برای ژن *NptII* مقاومت به آنتی بیوتیک کانامایسین: ژن *NptII* یکی از متداول‌ترین ژنهای انتخابگر در ایجاد گیاهان تراریخته هست. ژن Neomycine phosphotransferase اولین بار از باکتری *Escherichia coli* جداسازی و در پلاسمیدهای مختلف قرار داده شده است. محصول این ژن با فسفریله کردن باعث غیرسمی شدن آنتی بیوتیک‌های گروه نئومایسین و همچنین کانامایسین می‌شود. نمونه‌ها برای وجود این ژن با آغازگرهای اختصاصی آن در PCR بررسی شدند و همانطور که در شکل ٤ مشاهده می‌شود در برخی از نمونه‌ها قطعه ۸۰۰ جفت بازی مورد انتظار تکثیر یافته است.

PCR برای پروموتور 35S و ترمیناتور Nos: با توجه به اینکه در اکثریت ترانسفورماسیون‌ها پلاسمیدهایی استفاده می‌شود که یا برای بیان ژن اصلی یا برای بیان ژن انتخابگر از پروموتور 35S و ترمیناتور Nos استفاده می‌کنند (Wolf et al., 2000) بررسی وجود آنها در گیاهان برای اثبات تراریخته بودن آنها یک ابزار مناسب تلقی میگردد. بدین منظور نمونه ها به کمک آغازگرهای اختصاصی آنها در PCR بررسی شدند و هیچ نمونه مثبتی که بتواند یکی از اینها را تکثیر دهد یافت نشد.

طی دهه اخیر در ایران مطالعات گسترده‌ای در زمینه شناسایی محصولات تراریخته در میان اقلام وارداتی انجام شده است. برای تشخیص و ردیابی گیاهان تراریخته روش‌های متعددی شامل ردیابی ژن تغییر یافته، پروتئین‌های جدید و نیز سایر متابولیت‌های تغییر یافته وجود دارد که از این میان به علت کارایی و قابلیت اعتماد، روش‌های مبتنی بر ژنتیک بیشترین کاربرد را دارد. در این روش تشخیص با استخراج و تکثیر DNA نمونه و تکثیر به کمک روش واکنش زنجیره ای پلیمراز می‌توان ژن مربوط به محصولات تراریخته را شناسایی نمود. برای شناسایی و ردیابی آن‌ها از پرایمرهای CaMV 35s، NOS و NPT II که در اغلب محصولات تراریخته وجود دارد، استفاده می‌شود (Li et al., 2012; Wolf et al. 2000; Deisingh, 2005).

Barbaru و همکاران (۲۰۱۰) در قسمتی از مطالعات خود با استفاده از پروموتور CaM35 و ترمیناتور NOS توانستند تعدادی از گیاهان تراریخته سویا، ذرت، کلزا، برنج، پنبه و گوجه فرنگی را با کارایی ۹۱ تا ۹٦ شناسایی کنند. در مطالعه ای دیگر Datukishvili و همکاران (۲۰۱۵) با استفاده از پرایمرهای پروموتور CaM35 ، ترمیناتور NOS و Cry1 بر روی سویا و ذرت تراریخته نشان دادند که در سویا و ذرت تراریخته باندهای مربوط به CaM35 و NOS وجود دارد و Cry1 فقط در ذرت تراریخته مشاهده شد و در ذرت و سویای غیرتراریخته باندی مشاهده نگردید. ژن bar درتعدادی کلزای تراریخته و غیرتراریخته مورد بررسی قرار گرفته است و احتمال خطای کاذب صفر درصد اعلام شد (Grohmann et al. 2009). در موسسه Joint research اتحادیه اروپا، برای بررسی گیاهان تراریخته و غیرتراریخته از PCR کمی بر روی ژنهای bar، Cry، NptII، Cry1، پروموتور CaM35 و ترمیناتور NOS استفاده کردند و نتایج مثبتی بدست آوردند.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5]



شکل٤– نتیجه الکتروفورز PCR روی DNA های استخراج شده از نمونه‌های مختلف برای ژن NptII.

Fig 4. Gel electrophoresis of PCR product for NptII gene on DNA extracted from different samples.

به منظور بررسی وضعیت تراریختگی پنج نمونه ذرت وارداتی به نام های PREVENTER، INCEILGAZ، IRON LINDREW، AGIOS SOSTIS و MASTROGIORGI از کشور آرژانتین از بندر امام خمینی در ماهشهر از گمرک کشور دریافت شد. با استفاده از آغازگرهای اختصاصی برای نواحی تنظیمی پیشبر CaMV 35S و پایان دهنده nos و ژن اینورتاز به‌عنوان کنترل طی واکنش PCR نشان دادند که دانه های ذرت وارداتی از کشور آرژانتین تراریخته هستند و در ژنوم خود نواحی تنظیمی پیشبر CaMV 35S و پایان دهنده nos را دارند. با توجه به پیوستن ایران به پروتکل ایمنی زیستی کارتاهنا، باید در برگه ثبت مشخصات مواد گیاهی وارداتی، وضعیت تراریختگی آنها مشخص شود اما در اسناد همراه با دانه‌های ذرت وارداتی هیچ گونه اظهاری در مورد تراریخته بودن این دانه‌ها در برگه‌های ثبت مشخصات آنها وجود نداشت (Sarmadi et al. 2012).

در پژوهشی دیگر سه نمونه تراریخته ذرت از گمرک شیراز تهیه و هفت نمونه‌ی ذرت جمع‌آوری شده از بازار مصرف هفت شهر بزرگ و شش نمونه ذرت جهادکشاورزی، بررسی شد. جهت شناسایی ذرت‌های تراریخته آزمون PCR براساس پیشبر CaMV 35S انجام شد و ۲۶ عدد از نمونه‌ها اگزوژن P35S را دارا بودند.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5]

با این وجود هیچ اقدامی جهت برچسب گذاری و آگاهی مصرف‌کننده صورت نگرفته است (Heidari et al. 2013).

درسال ۲۰۱۷ گیاهان زراعی تراریخته سویا، ذرت، پنبه، کلزا، یونجه، چغندرقند، اسکواش، پاپایا، بادمجان، سیب‌زمینی و سیب در ۲٤ کشور به عنوان برترین محصولات تراریخته بودند و سطح زیرکشت جهانی آنها در حال افزایش است (ISAAA 2021) و بنابراین، در این تحقیق سعی شد از گیاهان مذکور بیشتر نمونه برداری گردد.

این تحقیق به منظور بررسی تراریخته بودن نمونه های محصولات زراعی و باغی موجود در بازار شمالغرب کشور انجام شد. ابتدا از شهرهای مختلف نمونه های گیاهی جمع آوری و پس از استخراج DNA و تایید عملکرد آنها برای وجود ژنهای رایج در انتقال ژنهای گیاهی بررسی مولکولی شد. چهار ژن و یک پروموتور و یک ترمیناتور انتخاب و توالی های آنها از NCBI دریافت و پرایمرهای اختصاصی برای آنها طراحی شد. برای تایید عملکرد DNAها از پرایمرهای ژن اکتین حفاظت شده استفاده گردید و پس از تایید، DNAها برای انجام PCR برای ژنهای هدف مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج PCR آنها نشان داد که ژن Cry، Hyg و Bar و توالی پروموتور 35S و توالی ترمیناتور Nos در هیچ یک از نمونه ها وجود ندارد. در بین ۱۱۲ نمونه تست شده ژن NptII در ۱۳ نمونه تشخیص داده شد. این تشخیص نمی‌تواند به تنهایی دلیل بر تراریخت بودن این نمونه‌ها باشد و برای اطمینان تست مجدد روی DNA دیگری از نمونه ها مورد نیاز است زیرا که این ژن در *E. coli* هم وجود دارد و اگر نمونه ای با آن آلوده بوده باشد هنگام استخراجDNA مواد ژنتیکی آن هم استخراج شده و در تست PCR از روی DNA باکتری مثبت نشان داده است.

نتایج این تحقیق نشان داد که در محصولات مختلف کشاورزی موجود در بازار شمالغرب کشور گیاهان تراریخته وجود ندارند و جو روانی موجود بین مردم که محصولات را تراریخته تصور می-کنند را باطل می‌کند. نتایج این تحقیق نشان داد که در مزارع کشاورزی ما گیاهان تراریخته کشت نمی‌شوند. جو روانی و گمانه زنی‌های عوام موجود در جامعه نسبت به اینکه فلان گیاه تراریخته است اساسا درست نیست و فقط یک شایعه بی اساس می‌باشد.

یک نقطه قوت این تحقیق استفاده از تکنیک PCR مولکولی برای بررسی وجود ژنها و تراریخته بودن محصولات است. نقطه قوت دیگر استفاده از چهار ژن متفاوت رایج و دو توالی پروموتور و ترمیناتور متداول در انتقال ژنهای گیاهی است. از دیگر نقاط قوت این تحقیق دامنه تقریبا بزرگ نمونه‌ها و نمونه برداری از انواع مختلف گیاهان و محصولات و برداشت نمونه‌ها مستقیما از بازار و از شهرهای مختلف می باشد.

معمولا تراریزش های گیاهی انجام شده حداقل دو مورد از شش مورد تست شده را دارا هستند و در واقع نمونه‌ای که برای دو مورد تست شده مثلا یک ژن با یک پروموتور یا ترمیناتور پاسخ منفی داده است در واقع دوبار تست شده و غیرتراریخت بودن آن حتمی به نظر می‌رسد. بعید به نظر می‌رسد که گیاهی تراریخته باشد و هیچ‌یک از ژنها و توالی‌های تست شده در این تحقیق را نداشته باشد. چون درصورتی‌که گیاه تراریخته‌ای در بازار وجود داشته باشد تحقیقات ایجاد آن سالها قبل انجام شده است که در آن زمان تنها از این موارد تست شده در این تحقیق برای انتقال ژن به گیاهان استفاده می‌شد.

منابع

Arun ÖÖ, Yılmaz F, & Muratoğlu K. 2013. PCR detection of genetically modified maize and soy in mildly and highly processed foods. Food Control, 32(2): 525-531.

Bahrdt C, Krech AB, Wurz A, & Wulff D. 2010. Validation of a newly developed hexaplex real-time PCR assay for screening for presence of GMOs in food, feed and seed. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 396(6): 2103-2112.

Barbau-Piednoir E, Lievens A, Mbongolo-Mbella G, Roosens N, et al. 2010. SYBR® Green qPCR screening methods for the presence of "35S promoter" and "NOS terminator" elements in food and feed products. European Food Research and Technology, 230(3): 383.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5]

Clarke JD. 2009. Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) DNA miniprep for plant DNA isolation. Cold Spring Harbor Protocols, 2009(3), pdb-prot 5177.

Datukishvili N, Kutateladze T, Gabriadze I, Bitskinashvili K, & Vishnepolsky B. 2015. New multiplex PCR methods for rapid screening of genetically modified organisms in foods. Frontiers in microbiology, 6: 757- 761.

Deisingh AK, & Badrie N. 2005. Detection approaches for genetically modified organisms in foods. Food Research International, 38(6): 639-649.

Doyle JJ & Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin, 19: 11-15.

Fateri Rezvani S, Pazhouhandeh M, Shirzad A, Lotfi S. 2016. Production of Potato Resistant Plant to PVX using an RNA Silencing Mechanism. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 5 (1): 1-14.

Gardner CM, Gwin CA, & Gunsch CK. 2018. A survey of crop-derived transgenes in activated and digester sludges in wastewater treatment plants in the United States. Water Science and Technology, 77(7): 1810-1818.

Grohmann L, Brünen-Nieweler C, Nemeth A, & Waiblinger HU. 2009. Collaborative trial validation studies of real-time PCR-based GMO screening methods for detection of the bar gene and the ctp2-cp4epsps construct. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(19): 8913-8920.

Heidari D, Shahhoseini MH, Salehi Z. 2013. PCR detection of transgenic maize in Iran on the basis of P35S. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 2 (2): 111-118.

Herzallah SM. 2012. Detection of genetically modified material in feed and foodstuffs containing soy and maize in Jordan. Journal of Food Composition and Analysis, 26(1-2): 169-172.

Holst-Jensen A. 2009. Testing for genetically modified organisms (GMOs): Past, present and future perspectives. Biotechnology advances, 27(6): 1071-1082.

ISAAA (2021). Global status of commercialized biotech/GM Crops. Available at https://www.isaaa.org/.

Khosravi S, Tohidfar M. 2015. Reduction of applied pesticides and cancer with the cultivation of transgenic crops. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 4 (1): 1-10.

Koo J, Kim Y, Kim J, Yeom M, Lee IC, & Nam HG. 2007. A GUS/luciferase fusion reporter for plant gene trapping and for assay of promoter activity with luciferin-dependent control of the reporter protein stability. Plant and cell physiology, 48(8): 1121-1131.

Li P, Jia J, Jiang L, Zhu H, Bai L, Wang J, et al. 2012. Event-specific qualitative and quantitative PCR detection of the GMO carnation (Dianthus caryophyllus) variety Moonlite based upon the 5′-transgene integration sequence. Genet. Mol. Res. 11: 1117–1129.

Lin CH. & Pan TM. 2016. Perspectives on genetically modified crops and food detection. J. Food Drug Anal, 24 (1): 1–8.

Matsuo N, Minami M, Maeda T, & Hiratsuka K. 2001. Dual luciferase assay for monitoring transient gene expression in higher plants. Plant biotechnology, 18(1): 71-75.

Miraglia M, Berdal KG, Brera C, Corbisier P, Holst-Jensen A, Kok E J, et al. 2004. Detection and traceability of genetically modified organisms in the food production chain. Food and Chemical Toxicology, 42(7): 1157-1180.

Norouzi P, Jaffari M, Ghareyazie B, Malboobi M A, Rezapanah M. 2012. Global status of transgenic sugar beet and its advancement in Iran. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 1 (1): 49-62.

Rahnama H, Ghanbari Jahromi M, Mousavi A, Sohilivand S, Pourrahim R. 2020. Induction of Resistance to Potato Virus Y (PVY) Using Hairpin Construct of Coat Protein. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 9 (2): 94-104.

Sajjadi-Fard M, Pazhouhandeh M, Shirzad A, Mohajjel Shoja H, 2016. Production of Tobacco Plant Resistant to PVX by RNA Silencing Mechanism. Journal of Applied Researches in Plant Protection 5 (1): 103-115.

Santi C, Svistoonoff S, Constans L, Auguy F, Duhoux E, Bogusz D, & Franche C. 2003. Choosing a reporter for gene expression studies in transgenic actinorhizal plants of the Casuarinaceae family. Plant and Soil, 254(1): 229-237.

Sarmadi L, Alemzadeh A, Ghareyazie B. 2012. Monitoring the Occurrence of Genetically Modified Maize at a Grain Receiving Port in Iran. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 1 (2): 103-112.

Seymour PA, & Sander M. 2007. Immunohistochemical Detection of β-Galactosidase or Green Fluorescent Protein on Tissue Sections. In Reporter Genes (pp. 13-23). Humana Press.

Songstad DD, Petolino JF, Voytas DF. & NA, Reichert. 2017. Genome editing of plants. Crit. Rev. In Plant Sci, 36 (1): 1–23.

Trapero C, Wilson IW, Stiller WN, & Wilson LJ. 2016. Enhancing integrated pest management in GM cotton systems using host plant resistance. Frontiers in plant science, 7, 500.

Wolf C, Scherzinger M, Wurz A, Pauli U, Hübner P, & Lüthy J. 2000. Detection of cauliflower mosaic virus by the polymerase chain reaction: testing of food components for false-positive 35S-promoter screening results. European Food Research and Technology, 210(5): 367-372.

Ziemienowicz A. 2001. Plant selectable markers and reporter genes. Acta Physiologiae Plantarum, 23(3): 363-374.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.13.5]