

بررسی وضعیت تراریختگی برنج در بازار مصرف شیراز با استفاده از PCR

Investigation on transgenic rice status in Shiraz consumer market using PCR

الهام اشرفی دهکردی^{۱*}، کبری مقصودی^۱، سیاوش باباجعفری^۲، سید محمد مظلومی^۳

Elham Ashrafi-Dehkordi^{1*}, Kobra Maghsoudi¹, Siavash Babajafari², Seyed
Mohammad Mazloomi³

۱-پژوهشگر، مرکز تحقیقات تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۲-دانشیار، گروه تغذیه، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۳-استاد، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم

پزشکی شیراز، شیراز، ایران

1. Nutrition Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

2. Associate Professor, Department of Clinical Nutrition, School of Nutrition and
Food Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

3. Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control,
School of Nutrition and Food Sciences, Shiraz University of Medical Sciences,
Shiraz, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: elhamashrafi@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۹/۱۱/۱۲ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۲۱)

چکیده

افزایش جمعیت جهان و به دنبال آن افزایش تقاضا برای غذا موجب به کارگیری روش‌های نوین بیوتکنولوژی در تولید محصولات غذایی شده است. گیاهان تراریخته یکی از دستاوردهای مهم زیست فناوری در زمینه کشاورزی هستند که در سال‌های اخیر بخشی از بازارهای غذایی دنیا را تسخیر نموده اند و به طور مداوم بر سطح زیر کشت این گیاهان افزوده می‌شود. نیازمندی بشر به افزایش تولید محصولات کشاورزی و امنیت غذایی، استفاده از زیست فناوری را ناگزیر ساخته و از سوی دیگر مخاطرات احتمالی تولید این محصولات، نگرانی‌هایی را برای سلامتی انسان‌ها و حقوق مصرف کنندگان ایجاد کرده است. یکی از این نگرانی‌ها وارد کردن این محصولات بدون هیچ نوع برجسب گذاری می‌باشد. اولین قدم برجسب گذاری، شناسایی محصولات تراریخته می‌باشد. به همین منظور در این پژوهش ۳۰ نمونه برنج خارجی و داخلی از بازار شهر شیراز به طور تصادفی خریداری شد. استخراج DNA به روش استاندارد CTAB صورت گرفت. PCR برای ژن *EPSPS* (Sucrose Phosphate Synthase) به منظور اثبات حضور ژنوم برنج انجام شد. برای ژن *EPSPS*، نواحی پشیر 35S و پایان دهنده NOS واکنش زنجیره‌ای پلیمرز جهت شناسایی برنج تراریخته انجام شد. نتیجه PCR همه نمونه‌ها برای ژن *SPS* مثبت بود. اما نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی نشان داد که هیچ کدام از نمونه‌های برنج خریداری شده از بازار شهر شیراز دارای ژن *EPSPS*، نواحی پشیر 35S *CaMV* و پایان دهنده NOS نیستند. این پژوهش نشان می‌دهد که برنج‌های مصرفی در بازار شیراز بر اساس نتایج بدست آمده تراریخته نیستند.

واژه‌های کلیدی

برنج،
بررسی مولکولی،
PCR،
تراریخته

<https://dorl.net/dor/20.1001.1.25885073.1399.9.2.14.9>

DOR: 20.1001.1.25885073.1399.9.2.14.9

Genetic Engineering and Biosafety
Journal
Volume 9, Number 2
2021

<http://gebsj.ir/>

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

مقدمه

افزایش روز افزون جمعیت جهان و به دنبال آن افزایش تقاضا برای غذای بیشتر و بهتر بدون شک در سال‌های آینده تهدیدهای اقتصادی، اجتماعی و سیاسی را موجب خواهد شد. بنابراین برای رفع فوری نیازهای کشاورزی در جهان لازم است برنامه ریزی های جامعی در جهت رفع نیازهای رو به رشد جمعیت جهان با هدف حفاظت از سلامت انسان‌ها انجام شود (Zhang et al., 2016). استفاده از زیست فناوری در کنار سایر پیشرفت‌های مهم علمی ضروری است تا از این طریق ضمن افزایش تولید محصولات غذایی اصلی و افزایش بازده تولید، مشکلات زیست محیطی کاهش پیدا کرده و دسترسی انسان‌ها به مواد غذایی تسهیل شود (James, 2011; Bawa and Anilakumar, 2013; Oliver, 2014). یکی از کاربردهای مهم بیوتکنولوژی تولید محصولات تراریخته است که در سال‌های اخیر بخشی از بازارهای غذایی دنیا را تسخیر نموده‌اند و به طور مداوم بر سطح زیر کشت این گیاهان و همچنین تعداد کشاورزانی که به کشت این محصولات می‌پردازند، افزوده می‌شود، به طوری که کشت گیاهان تراریخته با سطح زیر کشت در حدود ۱/۷ میلیون هکتار در سال ۱۹۹۶ بلافاصله بعد از تولید آنها آغاز شد. سطح زیر کشت این گیاهان به ۱۴۸ میلیون هکتار در سال ۲۰۱۰ و به ۱۸۵/۱ میلیون هکتار در سال ۲۰۱۶ و به ۱۹۱/۷ میلیون هکتار در سال ۲۰۱۸ رسیده است. در سال ۲۰۱۸ چهار محصول تراریخته اصلی شامل سویا (۷۷ درصد)، ذرت (۳۲ درصد)، پنبه (۸۰ درصد) و کلزا (۳۰ درصد) بیشترین سطح زیر کشت را به خود اختصاص داده‌اند که بیش از ۹۸ درصد آن‌ها برای دو صفت مقاومت به آفات و مقاومت به علف کش تراریخته شده‌اند. سایر گیاهان تراریخته شامل یونجه، چغندر قند، پاپایا، ذرت شیرین، کدو، صنوبر، سیب زمینی و بادمجان در مجموع نزدیک به یک درصد سطح زیرکشت جهانی محصولات تراریخته را به خود اختصاص داده‌اند. همچنین پنج کشور برتر تولید کننده محصولات تراریخته به ترتیب آمریکا، برزیل، آرژانتین، کانادا و هند می‌باشند (ISAAA, 2018). مزایای زیادی از کشت این گیاهان نصیب کشاورزان می‌شود، که از آن جمله می‌توان به بهبود در عملکرد، کنترل آفات و بیماری‌های

گیاهی، استفاده از گیاهان تراریخته به عنوان کارخانه زیستی تولید مواد خام برای مصارف صنعتی، کاربرد سازواره‌های تراریخته در تولید دارو، افزایش سود اقتصادی و مزایای زیست محیطی اشاره کرد (Zhang et al., 2016). با وجود این منافع، نگران‌هایی در خصوص اینگونه محصولات وجود دارد. احتمال تأثیرات منفی گیاهان تراریخته روی سلامتی مصرف کنندگان و موجودات غیرهدف، خطرات محیطی، انتقال افقی ژن، احتمال فرار ژن تراریخته و ایجاد علفهای هرز مقاوم به علفکش و کاهش تنوع زیستی از جمله ریسک‌های مربوطه می‌باشند (Bawa and Anilakumar, 2013). همچنین استفاده از ژن‌های مقاومت به آنتی بیوتیک در گیاهان تراریخته منجر به ملاحظاتی در مصرف کنندگان در رابطه با احتمال انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی به میکروارگانیسم‌های داخلی بدن، دستگاه گوارش و احتمال جذب آن‌ها شده است (Yuan et al., 2013). اگرچه زیست فناوری به عنوان یکی از راه‌های تولید محصولاتی که کاربردهای گسترده‌ای در پزشکی، کشاورزی و صنعت دارد، مورد قبول واقع شده است ولی در نظر گرفتن جنبه‌های ایمنی موجودات تراریخته و فرآورده‌های حاصل از آن‌ها نیز باید قبل از استفاده دقیقاً مورد بررسی قرار گیرد. ارزیابی خطرات احتمالی ناشی از موجودات زنده تراریخته با خطرات ناشی از مواد شیمیایی بسیار متفاوت می‌باشد (Sarmadi et al., 2016). موجودات تراریخته زنده بوده و برخلاف مواد شیمیایی به هیچ عنوان قابل رقیق شدن نیستند و از سویی دیگر قابلیت پخش شدن در محیط‌های جدید و تکثیر را دارند. تولید محصولات متابولیکی، آنزیم و توکسین توسط موجود زنده تراریخته تا زمانی که از نظر متابولیکی فعال است، ادامه دارد. از این رو، ضمن تأکید بر اهمیت توسعه فعالیت‌های زیست فناوری و مهندسی ژنتیک در همه ابعاد، لازم است ضوابطی برای انجام ایمن این گونه فعالیت‌ها تهیه و تدوین گردد تا بر اساس آن بتوان کنترل و نظارت را به درستی انجام داد. هدف نهایی این ضوابط باید تضمین حفظ سلامتی انسان‌ها و محیط زیست و تنوع زیستی باشد (Andow and Claudia, 2006). با توجه به موارد اشاره شده و با توجه به این نگرانی‌ها، بررسی‌های علمی و کارشناسانه این موضوع برای مسئولین نظارتی لازم و مفید می‌باشد. یکی دیگر از نگرانی‌ها وارد کردن این محصولات بدون هیچ نوع برچسب

منابع غذایی انسان است که تقریباً ۵۰٪ مردم جهان برای تامین کالری مورد نیاز بدن خود به برنج وابسته هستند (Valluru et al., 2015). در ایران نیز برنج غذای اصلی مردم می باشد و علاوه بر کاشت برنج در کشور، در سالهای کم بارش سالانه تقریباً یک میلیون تن برنج وارد می شود. لذا هدف انجام این پژوهش بررسی وضعیت تراریختگی برنج در بازار مصرف شهر شیراز با استفاده از روش PCR می باشد.

مواد و روش ها

نمونه برداری: به منظور ارزیابی وضعیت تراریختگی برنج های موجود در بازار مصرف شهر شیراز، ۳۰ نمونه برنج داخلی و خارجی که ۹ نمونه به صورت فله ای و ۲۱ نمونه به صورت بسته بندی، به صورت تصادفی از مراکز خرید و سوپرمارکت های مناطق مختلف سطح شهر شیراز خریداری شد.

استخراج و خالص سازی DNA برنج: استخراج DNA ژنومی برنج بر اساس پروتکل CTAB (ستیل تری متیل آمونیوم بروماید) از دانه های برنج پودر شده طبق مراحل زیر انجام شد (Saghai Maroof et al., 1984). سپس DNA استخراج شده با استفاده از اتانول رسوب داده شد.

۱۰۰ میلی گرم نمونه برنج پودر شده در میکروتیوپ ۱/۵ حاوی ۷۵۰ میکرولیتر بافر استخراج اضافه شد و در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری قرار داده شد. سپس سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. مایع رویی به میکروتیوب جدید انتقال داده شد و سپس ۰/۷ حجم کلروفرم به میکروتیوب اضافه شد و بعد از چندین بار سر و ته کردن میکروتیوب سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. پس از انتقال مایع رویی به میکروتیوب جدید، ۶۵۰ میکرولیتر ایزوپروپانل سرد به آن اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد قرار داده شد، بعد از آن سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و مایع رویی دور ریخته شد و به رسوب ۵۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه شد و بعد از چند بار سر و ته

گذاری و اطلاعی از تراریخته بودن آن ها می باشد. در گیاهان تراریخته با ردیابی توالی های معتبر (P35S, NOS, nptII) که برای بیشتر دستورزی های ژنتیکی استفاده می شوند، می توان وضعیت تراریختگی را مورد بررسی قرار داد (Lin et al., 2000). CaMV35S یک پیشبر قوی برای بیان ژن های مورد نظر در گیاهان تراریخته محسوب می شود. نوپالین سنتاز (NOS) یک ناحیه خاتمه دهنده گرفته شده از آگروباکتریوم تومفاسینس است که در اغلب گیاهانی که مهندسی ژنتیک شده اند وجود دارد. نوامایسین فسفوترانسفراز (nptII) ژن مقاومت به آنتی بیوتیک به عنوان نشانگر که در اغلب گیاهان تراریخته وجود دارد (Gurel et al., 2011). یک ژن داخلی مرجع به عنوان استاندارد برای تعیین کیفیت DNA کل ژنومی نیز استفاده می شود. به عنوان مثال در برنج از یکی ژن های SPS, Oryzain β , Gos9, ppi-PPF استفاده شده است (Hernández et al., 2005; Chaouachi et al., 2007). روش واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) به عنوان استاندارد طلایی جهت شناسایی و تعیین تراریختگی از طرف اتحادیه اروپا مورد قبول است و ثابت شده که یک روش حساس، دقیق و ساده است که امروزه به طور گسترده ای برای تشخیص وجود تراریختگی مورد استفاده قرار می گیرد (Marmiroli et al., 2008). با توجه به این مهم که ایران از واردکنندگان محصولات کشاورزی از کشورهایی است که بیشترین سطح زیر کشت محصولات تراریخته را دارند و یکی از بزرگترین واردکننده های ذرت و سویای تراریخته است. در سبد مصرفی مردم و همچنین در محصولات غذایی آماده محصولات تراریخته وجود دارد. از ۹ میلیون تن ذرت دامی وارد شده به کشور در سال ۹۷، هفت و نیم میلیون تن بنا به اعلام مستقیم وارد کنندگان و نتایج آزمایش های انجام شده تراریخته بودند (Agbiotech, 1397). همچنین به علت غیر قابل پیش بینی بودن جایگاه استقرار ژن در ژنوم موجود دریافت کننده و بوجود آمدن رویدادهای متفاوت در یک فرآیند انتقال ژن، نتیجه ارزیابی سلامت و ایمنی هر رویداد قابل تعمیم به تمامی رویدادهای همان محصول نیست. بنابراین بررسی مداوم تک تک رویدادها در طیف های مختلف مصرف کنندگان اجتناب ناپذیر است. اولین قدم در این راه، شناسایی محصولات تراریخته و برچسب گذاری آن ها می باشد. برنج پس از گندم از مهمترین

(GMO-F , GMO-R) تحت چرخه حرارتی، واسرشت سازی اولیه ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۵۷ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه انجام شد. ۳۵ بار چرخه‌ها تکرار شد و بعد از آن قطعات برای تکثیر نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. از الکتروفورز برای مشاهده محصول PCR استفاده شد.

نتایج و بحث

در این پژوهش با بکارگیری آغازگرهای اختصاصی وضعیت تراریختگی دانه‌های برنج با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز که روشی با دقت و سرعت بالا برای شناسایی گیاهان تراریخته است بررسی شد (Giovannini and Concilio, 2002; Peano et al., 2005; Stefanova et al., 2015). با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی به منظور تکثیر ژن رمز کننده SPS به عنوان کنترل داخلی یک قطعه ۸۱ جفت بازی از ژنوم برنج-های مورد آزمایش تکثیر شد (شکل ۱).

در بررسی وضعیت تراریختگی دانه‌های برنج با استفاده از آغازگرهای اختصاصی برای دو ناحیه پیشبر 35S و پایان دهنده NOS و ژن EPSPS طی واکنش پی.سی.آر اقدام به تکثیر قطعاتی از این نواحی شد. این نشانگرها از نشانگرهای مفید برای غربالگری محصولات تراریخته می‌باشند و در مطالعات بسیاری برای شناسایی محصولات تراریخته مورد استفاده قرار گرفته‌اند. به عنوان مثال، از آغازگرهای 35S و NOS جهت شناسایی سویا و ذرت‌های تراریخته استفاده شده‌است (Tengel et al., 2001; Ashrafi et al., 2020). همچنین حضور ذرت‌های تراریخته در غذاهای فرآوری شده که به طور تجاری در ایران عرضه می‌شود به وسیله‌ی آغازگر CaMv35S تایید شده‌است (Rabiei et al., 2013). نتایج این پژوهش نشان داد که هیچ کدام از نمونه برنج‌های خریداری شده از بازار مصرف شهر شیراز تراریخته نیستند و هیچ قطعه‌ای با آغازگرهای مذکور تکثیر نشد (شکل ۲). اما در پژوهشی دیگر گزارش شده است که ۲/۴ درصد

کردن میکروتیوب، سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد و مایع رویی دور ریخته شد و میکروتیوب‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا خشک شوند و بعد از آن ۵۰ میکرولیتر آب مقطر استریل اضافه شد. DNA استخراج شده در دمای ۲۰- نگهداری شد.

آغازگرها و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز: به منظور شناسایی تراریختگی نمونه‌ها، برای نواحی تنظیمی پیشبر CaMV 35S و پایان دهنده NOS که در بیشتر گیاهان تراریخته وجود دارد و برای ژن EPSPS از آغازگرهای اختصاصی استفاده شد. از آغازگرهای (SPS-F , SPS-R) برای تکثیر ژن (sucrose SPS(phosphate synthase) نیز به عنوان ژن کنترل داخلی جهت شناسایی ژنوم برنج استفاده شد (جدول ۱).

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز: عمل تکثیر با استفاده از آغازگرهای نام برده شده در حجم ۲۰ میکرولیتر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر x ۱۰، یک میکرولیتر از هر کدام از آغازگرها با غلظت ۱۰ میکرو مولار، ۱ میکرولیتر dNTP ۰/۵ میلی مولار، ۰/۵ میکرولیتر کلرید منیزیم ۱/۵ میلی مولار، ۰/۳ میکرولیتر آنزیم Taq پلی مرز (5u/μl)، ۱ میکرولیتر دی.ان.ای (۱۰۰ ng/μl) الگو و باقی مانده حجم واکنش آب مقطر استریل اضافه شد. بعد از تایید ژنوم برنج با استفاده از آغازگرهای (SPS-F , SPS-R) تحت چرخه حرارتی، واسرشت سازی اولیه ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، برای آغازگرهای (35SF-1, 35SR-1) تحت چرخه حرارتی، واسرشت سازی اولیه ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۵۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه واکنش زنجیره‌ای پلیمرز انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای آغازگر (nos-F, nos-R) تحت چرخه حرارتی، واسرشت سازی اولیه ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۶۱ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه انجام شد. همچنین واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای آغازگر

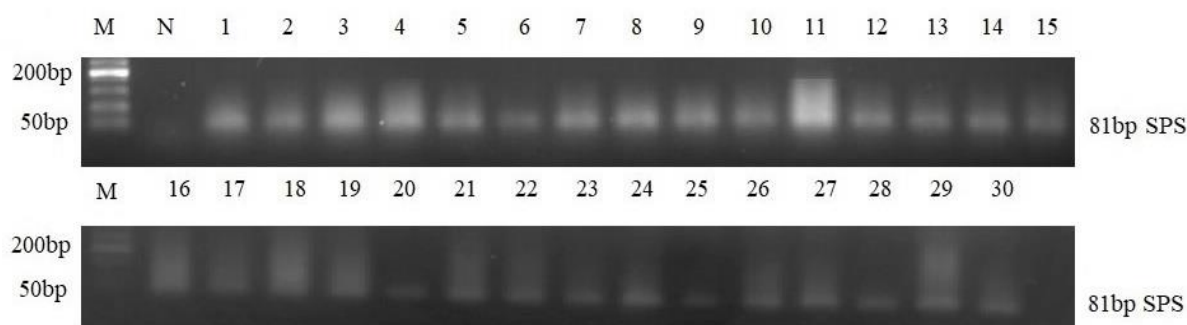
از برنج‌های جمع آوری شده از بازار تهران تراریخته هستند (Safaei *et al.*, 2019). همچنین در پژوهش‌های دیگر نشان داده شده است که درصد بالایی از محصولات دیگر از جمله سویا و ذرت وارداتی تراریخته می‌باشند (Sarmadi *et al.*, 2016; Safaei *et al.*, 2020). با توجه به اینکه ایران به پروتکل ایمنی زیستی کارتاها پیوسته است، وضعیت تراریختگی آن‌ها باید در برگه ثبت

مشخصات مواد گیاهی وارداتی مشخص شود اما در اسناد همراه با ذرت‌های وارداتی هیچ گونه اظهاریه در مورد تراریخته بودن این دانه‌ها در برگه های ثبت مشخصات آن‌ها وجود ندارد (Sarmadi *et al.*, 2016).

جدول ۱- آغازگرهای اختصاصی استفاده شده به همراه دمای اتصال و طول قطعه‌ای که در PCR تکثیر می شود.

Table1. The specific primers with their annealing temperature and the length of the PCR product.

منبع	اندازه تکثیر (جفت باز)	دمای اتصال آغازگر (سانتیگراد)	5'-3' توالی	توالی دی.ان.ای. هدف	آغازگر
Cardarelli <i>et al.</i> , 2005	195	52	GCTCCTACAAATGCCATCA GATAGTGGGATTGTGCGTCA	P-35S	35SF-1 35SR-1
Cardarelli <i>et al.</i> , 2005	118	61	GCATGACGTTATTTATGAGATGGG GACACCGCGCGCGATAATTTATCC	T-NOS	nos-F nos-R
Chaouachi <i>et al.</i> , 2007	81	50	TTGCGCCTGAACGGATAT CGGTTGATCTTTTCGGGATG	SPS gene	SPS-F SPS-R
Cardarelli <i>et al.</i> , 2005	169	57	ATCCCACTATCCTTCGCAAGA TGGGGTTTATGGAAATTGGAA	EPSPS gene	GMO-F GMO-R



شکل ۱- نتیجه پی.سی.آر ژن SPS بروی ژل آگاروز ۱٪، M، مارکر، N، کنترل منفی و ۱ تا ۳۰ نمونه‌های برنج.

Fig1. Validation of the specific sequences of endogenous rice reference gene. The image shows 1.0% agarose gel electrophoresis of the amplification products obtained via PCR. Analysis of SPS gene, M, 50bp DNA ladder; N, negative control; 1-30 rice samples.

طبق اطلاعات ثبت شده در اتاق تهاتر ایمنی زیستی Biosafety Clearing-House (BCH)، ۷۹ کد شناسه محصول تراریخته در ایران وجود دارد. به جز برنج تراریخته طارم مولایی، ۲۴ کد

شناسه مربوط به سویا و ۵۴ کد شناسه مربوط به ذرت تراریخته از سایر کشورها وارد ایران شده‌اند و به عنوان غذای انسان و دام مورد استفاده قرار گرفته‌اند، اما برنج تراریخته تولید داخل تولید

از نظر زیست محیطی، مقاومت کامل نسبت به حملات حشرات گروه بالپولکداران (مانند کرم ساقه خوار) مشاهده شده است که باعث کاهش مصرف سموم ضد حشره در مزارع برنج تراریخت مزبور در حد صفر می‌شود، احتمال شکستن مقاومت را نیز به شدت کاهش می‌دهد. تغذیه حشرات گروه بالپولکداران منجر به مرگ حشره می‌شود ولی سایر حشرات، پرندگان 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. تغذیه‌ی موش، مرغ، بلدرچین و موش صحرایی توسط فرآورده‌های گیاهان تراریخته بیان کننده *cry1Ab* تأثیر معنی دار بر شاخص‌هایی مانند وزن اندام‌ها و آنزیم‌های کبدی، آلرژیک و یا سمیت نسبت به موجودات شاهد نداشته است (Alinia et al., 2000; Ghareyazie, 2008; Kiani et al., 2009; Kiani et al., 2010). پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهند که مردم استان‌های مختلف ایران نسبت به این محصولات نظر مثبتی دارند و علت مخالفت بعضی از افراد با محصولات تراریخته عدم آشنایی با این محصولات می‌باشد (Khosravi et al., 2008; Gomrok et al., 2009; Ashrafi et al., 2010).

سپاسگزاری: این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی مصوب (کد طرح: ۱۵۲۵۷-۲۱-۰۱-۱۳۹۶) و با حمایت مرکز تحقیقات تغذیه دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شده است.

منابع

- Alinia F, Ghareyazie B, Rubia LG, Bennett J, Cohen MB. 2000. Effect of plant age, larval age, and fertilizer treatment on resistance of a Cry IA (b) transformed aromatic rice to lepidopterous stem borers and foliage feeders. *Journal of Economic Entomology* 93(2): 484-493.
- Andow DA, Claudia Z. 2006. Assessing environmental risks of transgenic plants. *Ecology Letters* 9: 196-214.
- Ashrafi-Dehkordi E, Alemzadeh A, Khosravi A. 2010. People attitudes towards genetically modified organism and biosafety in Chahar Mahal va Bakhtiary Province. *Journal of Biosafety* 2(3): 73-85. (In Farsi with English abstract).

انبوه برای مصرف تجاری ندارد. با توجه به این که ایران یکی از بزرگترین واردکننده‌های سویا و ذرت از کشورهای تولیدکننده تراریخته است، بررسی تراریخته بودن محصولات وارداتی با یک روش شناسایی دقیق، قابل اعتماد و سریع حائز اهمیت است. با توجه به آمار مستند و پژوهش‌های به عمل آمده در رابطه با سلامت و سودمندی این محصولات، عدم تولید این گیاهان در کشور از اهمیت خاصی برخوردار می‌شود. تا امروز میلیون‌ها هکتار زمین زیر کشت محصولات تراریخته رفته و هیچ نوع مشکل سلامتی ناشی از مصرف محصولات تراریخته و یا فرآورده‌های آن‌ها در انسان مشاهده نشده است و بارها سلامت و کیفیت آنها به اثبات رسیده است به عنوان مثال برنج تراریخته مقاوم به آفات در اثر انتقال ژن به روش زیست پرتابی تولید شده است (Ghareyazie et al., 1997) حاوی سه نسخه از ژن *cry1Ab* در کروموزم شماره ۶ برنج مزبور است و پایداری آن در طی ۱۲ نسل به اثبات رسیده است. ژن انتخابگر همراه آن (*hpt*) باعث ایجاد مقاومت به آنتی بیوتیک هایگرومایسین می‌شود. پیشبر کنترل کننده بیان ژن *cry1Ab* از گیاه ذرت منشأ گرفته و باعث بیان این ژن تنها در بافت سبز می‌شود. از نظر زراعی، ۴۰ شاخص زراعی آن مورد مطالعه قرار گرفته است و نتایج نشان داده است که برنج تراریخته به طور عمده‌ای مشابه گیاه والد می‌باشد و به دلیل عدم شناسایی خویشاوند وحشی و خودگشن بودن برنج، احتمال فرار ژن از این گیاه به گیاهان دیگر بسیار ناچیز و در حد صفر است.

- Ashrafi-Dehkordi E, Mazloomi SM, Hemmati F. 2020. Comparison of DNA extraction methods and PCR-based detection of GMO in *Textured Soy Protein*. *Journal of Consumer Protection and Food Safety* 17:1-7.
- Bawa AS, Anilakumar KR. 2013. Genetically modified foods: safety, risks and public concerns—a review. *Journal of food science and technology* 50(6): 1035-1046.
- Cardarelli P, Branquinho MR, Ferreira, RTB, da Cruz FP, Gemal AL. 2005. Detection of GMO in Food Products in Brazil: The INCQS Experience. *Food Control* 16: 859-866.

- Chaouachi M, Giancola S, Romaniuk M, Laval V, Bertheau Y, Brunel D. 2007.** A strategy for designing multi-taxa specific reference gene systems. Example of application-ppi Phosphofructokinase (ppi-PPF) used for the detection and quantification of three taxa: maize (*Zea mays*), cotton (*Gossypium hirsutum*) and rice (*Oryza sativa*). Journal of Agricultural and Food Chemistry 55: 8003-8010.
- Ghareyazie B 2008.** Environmental safety concerns of releasing insect resistant transgenic rice. In: Proceedings of the 2nd International Student Conference on Biotechnology. 15-17 Nov. University of Tehran, Iran. (In Farsi with English abstract).
- Ghareyazie B, Afraz F, Karimi R, Abdollahi S, Alinia F, Hosseini Salekdeh GH, Towhidfar M. 2005.** Addressing some safety concerns of the first transgenic insect resistant rice in Iran and related issues. 5 th International Rice Genetics Symposium. 19-23 Nov. 2005. Manila, Philippines.
- Ghareyazie B, Aliana F, Menguito CA, Rubia L, de Palma JM, Liwanag EA, Cohen MB, Khush GS, Bennet J. 1997.** Enhanced resistance to two stem borers in an aromatic rice containing a synthetic cry1Ab gene. Molecular Breeding 3: 401-214.
- Giovannini T, Concilio L. 2002.** PCR detection of genetically modified organisms: a review. Starch-Stärke 54(8): 321-327.
- Gomrok S, Alemzadeh A, Izadi M. 2009.** Genetically modified organisms: public acceptance in Yasuj and Dehdasht Province. Journal of Biosafety 1 (3): 19-30. (In Farsi with English abstract).
- Gurel F, Arican E, Gozukirmizi N, Ari S. 2011.** Recent molecular tools for detecting transgenic events in genetically modified (GM) crop products. Scientific Research and Essays. 6: 5091-5099
- Hernández M, Esteve T, Pla M. 2005.** Real-time polymerase chain reaction based assays for quantitative detection of barley, rice, sunflower, and wheat. Journal of agricultural and food chemistry 53 (18):7003-9.
- <http://agbiotech.ir>.** (Accessed 2020).
- <https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/54/executivesummary/default.asp>.** (Accessed 2020).
- James, C. 2011.** Global status of commercialized biotech GM crops: 2011. ISAAA Brief No. 43. ISAAA, Ithaca, NY.
- Khosravi A, Alemzadeh A, Ashrafi-Dehkordi. E. 2008.** Knowledge about genetically modified organisms and the acceptance level of these organisms in Isfahan Province. Journal of Biosafety 2: 9-20. (In Farsi with English abstract).
- Kiani G, Nematzadeh GA, Ghareyazie B, Sattari M. 2009.** Comparing the Agronomic and Grain Quality Characteristics of Transgenic Rice Lines Expressing cry1Ab vs. Non-Transgenic Controls. Asian Journal of Plant Sciences 8: 64-68.
- Kiani G, Nematzadeh GA, Ghareyazie B, Sattari M. 2010.** Evaluation of cry1Ab gene in different segregating populations of rice. Iranian Journal of Field Crop Sciences 41(3): 577-582.
- Lin HY, Chiueh LC, Shih DYC. 2000.** Detection of Genetically Modified Soybeans and Maize by the Polymerase Chain Reaction Method. Journal of Food and Drug Analysis 8: 200-207.
- Marmioli N, Maestri E, Gulli M, Malcevski A, Peano C, Bordoni R, De Bellis G. 2008.** Methods for detection of GMOs in food and feed. Analytical and bio analytical chemistry 392(3): 369.
- Oliver MJ. 2014.** Why we need GMO crops in agriculture. Missouri medicine 111(6), 493.
- Peano C, Bordoni R, Gulli M, Mezzelani A, Samson, M, De Bellis, G, Marmioli, N. 2005.** Multiplex polymerase chain reaction and ligation detection reaction/universal array technology for the traceability of genetically modified organisms in foods. Analytical Biochemistry 346(1): 90-100.
- Rabiei M, Mehdizadeh M, Rastegar H, Vahidi H, Alebouyeh M. 2013.** Detection of genetically modified maize in processed foods sold commercially in Iran by qualitative PCR. Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR 12(1): 25.
- Safaei P, Aghaee EM, Khaniki GJ, Afshari SA, Rezaie S. 2019.** A simple and accurate PCR method for detection of genetically modified rice. Journal of Environmental Health Science and Engineering 17(2): 847-51.
- Safaei P, Rezaie S, Alimohammadi M, Agha Kuchak Afshari S, Mehdizadeh M, Molaee Aghaee E. 2020.** Qualitative PCR-based detection of genetically modified soy and maize products in Iran. International Journal of Food Properties 23(1): 459-69.
- Saghai-Maroo MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW. 1984.** Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences 81(24): 8014-8.
- Sarmadi L, Alemzadeh A, Ghareyazie B. 2016.** PCR-based Detection of Genetically Modified Soybean at a Grain Receiving Port in Iran. Journal of Agricultural Science and Technology 18: 805-815.
- Stefanova P, Angelova G, Georgieva T, Gotcheva, V, Angelov A. 2015.** A novel multiplex PCR method for simultaneous detection of genetically modified soybean events. International Journal Current Microbiology and Applied Science 4: 256-268.

- Tengel C, Schüßler P, Setzke E, Balles J, Sprenger-Haussels M. 2001.** PCR-based detection of genetically modified soybean and maize in raw and highly processed foodstuffs. *Bio Techniques* 31(2): 426-9.
- Valluru R, Reynolds MP, Lafarge T. 2015.** Food security through translational biology between wheat and rice. *Food and Energy Security* 4(3):203-18.
- Yuan Y, Xu W, He X, Liu H, Cao S, Qi X, Huang K, Luo Y. 2013.** Effects of genetically modified T2A-1 rice on the GI health of rats after 90-day supplement. *Scientific reports* 3(1): 1-9.
- Zhang C, Wohlhueter R, Zhang H. 2016.** Genetically modified foods: A critical review of their promise and problems. *Food Science and Human Wellness* 5(3): 116-123.

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 9, Number 2
2021

Investigation on transgenic rice status in Shiraz consumer market using PCR

Elham Ashrafi-Dehkordi^{*1}, Kobra Maghsoudi¹, Siavash Babajafari², Seyed Mohammad Mazloomi³

1. Nutrition Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

2. Associate Professor, Department of Clinical Nutrition, School of Nutrition and Food Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

3. Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, School of Nutrition and Food Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

*Corresponding Author, Email: elhamashrafi@gmail.com

Abstract

Increasing the world population and subsequently increasing demand for food has led to the use of new biotechnology methods to produce food. Transgenic plants are one of the major biotechnological achievements in agriculture that have gained part of the world food market in recent years and the cultivation area of these plants is constantly increasing. Human needs to increase agricultural production and food security, the use of biotechnology has made it inevitable and on the other hand, the potential dangers of producing these products have raised concerns for human health and consumer rights. One of the concerns expressed by people is transferring unknown genes to plants from other countries and importing these products into the country without using GMO label, that these products may have an impact on human health and other living organisms. Therefore, first step is identifying and labeling transgenic products. In this study, 30 samples of domestic and foreign rice were randomly purchased from Shiraz market. DNA was extracted using the standard CTAB method and the polymerase chain reaction for *SPS* gene was performed to prove the presence of rice genome. The PCR for *EPSPS* gene, 35S promoter and NOS terminator were performed to identify transgenic rice. The results of PCR using specific primers showed that none of the rice samples purchased from Shiraz market were transgenic.

Keyword: Rice, Molecular analysis, PCR, Transgenic