

ارایه یک روش سریع و چندگانه جهت ردیابی و شناسایی رخدادهای ذرت تراریخته

Providing a Fast and Multiple Method for Detection and Identification of Transgenic Maize Events

سمیرا کهک^۱، بهزاد قره‌یاضی^۲، حبیب‌الله سمیع‌زاده‌لاهیجی^۱، مطهره محسن‌پور^{۲*}، الهه معتمد^۲، نسرین
سلطانی‌نژاد^۲

۱- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، اصلاح نباتات
دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲- به‌ترتیب استاد، استادیار، دانش‌آموختگان کارشناسی‌ارشد، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان
تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

Kahak S¹, Ghareyazie B², Samizadeh Lahiji H¹, Mohsenpour M^{*2}, Motamed E²,
Soltaninejad N²

1- PhD Student, Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of
Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran
2- Professor, Assistant Professor, Graduated MSc Students, Agricultural
Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research Education
and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mthrh@yaho.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۸)

چکیده

با توجه به پیشرفت‌های روزافزون در زمینه مهندسی ژنتیک، اثبات نقش بی‌بدیل آن در تأمین امنیت غذایی کشورهای جهان و نیز افزایش حجم مبادلات جهانی محصولات حاصل از آن، همچون سایر فناوری‌های روز دنیا ملاحظاتی نیز درباره محصولات حاصل از آن ابراز شده است. از این‌رو ضوابطی همچون پروتکل ایمنی زیستی کارتاها در سطح بین‌المللی و قانون ایمنی زیستی جمهوری اسلامی ایران در سطح ملی جهت پاسخگویی به این ملاحظات و جلب اعتماد مصرف‌کنندگان تدوین و تصویب شده‌اند. بر اساس این ضوابط، محصولات حاوی موجودات زنده تعبیر یافته ژنتیکی (تراریخته) جهت آگاهی‌بخشی به مصرف‌کنندگان و اعطای قدرت تصمیم‌گیری به آن‌ها برچسب‌گذاری می‌شوند. جهت برچسب‌گذاری این محصولات نیز نیازمند توانمندی در حوزه ردیابی و شناسایی موجودات زنده تغییر یافته ژنتیکی هستیم. از این رو، در این پژوهش، روشی سریع جهت ردیابی و شناسایی ۱۴ رخداد ذرت تراریخته در ۴ محموله ذرت دامی وارداتی از کشور برزیل ارایه شده است. از میان این ۱۴ رخداد، ۱۲ رخداد دارای مجوز از وزارت جهاد کشاورزی هستند. دو رخداد دیگر تا کنون مجوزهای لازم را دریافت نکرده‌اند و به‌عنوان رخداد فرضی غیرمجاز در نظر گرفته شده‌اند. ردیابی و شناسایی این ۱۴ رخداد با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز چندگانه با استفاده از ۷ واکنش با برنامه یکسان بهینه‌سازی شد، به‌طوری‌که در هر واکنش دو رخداد مورد ردیابی قرار گرفت. این روش دارای مزایایی همچون صرفه‌جویی در زمان و هزینه‌ها است. نتایج ردیابی در چهار محموله وارداتی نشان داد که هر چهار محموله فاقد رخداد های فرضی غیرمجاز بوده‌اند و محتوای همه محموله‌های مورد آزمایش، دارای ترکیبات متفاوتی از رخداد های مجاز بودند. این نتایج در تطابق کامل با اطلاعات مندرج در اتاق تهاتر ایمنی زیستی کشورمان هستند.

واژه‌های کلیدی

تراریخته
خوراک دام
ذرت تراریخته
ردیابی و شناسایی
PCR چندگانه

تأمین امنیت غذایی جمعیت رو به رشد جهان از معضلات اصلی جامعه بشری است که تا حدودی با استفاده از فناوری‌های نو از جمله فناوری زیستی جدید و مهندسی ژنتیک محقق شده است (Park et al. 2011). محصول فناوری زیستی جدید در بخش کشاورزی، محصولات تراریخته هستند که از سال ۱۹۹۶ تولید تجاری آن‌ها آغاز و بر اساس آخرین آمارهای رسمی تا انتهای سال ۲۰۱۹ به ۱۹۰/۴ میلیون هکتار رسیده است. بر اساس آمار ارایه شده توسط سرویس بین‌المللی دستیابی به و استفاده از بیوتکنولوژی کشاورزی در سال ۲۰۱۹، کشورهای عمده تولید کننده محصولات تراریخته در جهان ایالات متحده آمریکا، برزیل، آرژانتین، کانادا و هند هستند و در حدود ۱۹۰ کشور جهان از جمله جمهوری اسلامی ایران وارد کننده و مصرف‌کننده این محصولات هستند. عمده محصولات تراریخته‌ای که در بازار تجارت جهانی وجود دارند مشتمل بر کلزا، سویا، ذرت و پنبه هستند (James 2019).

با توجه به افزایش تولید محصولات تراریخته و ورود این محصولات به بازار تجارت جهانی، ضوابطی جهت تسهیل نظارت بر تولید و استفاده از این محصولات تدوین شد و برچسب گذاری این محصولات در بسیاری از کشورها الزام شد (Aduagna and Mesfin 2008). یکی از این ضوابط که در سطح بین‌المللی مورد پذیرش بسیاری از کشورهای جهان قرارداد، "پروتکل ایمنی زیستی کارتاگنا" است که ضوابط مربوط به تبادلات بین‌المللی محصولات تراریخته را تبیین می‌کند (Cartagena Protocol on Biosafety 2000). یکی از الزامات این پروتکل، اعلام نوع رخداد و مشخصات محصول تراریخته توسط کشور صادر کننده است. کشور واردکننده نیز می‌تواند بر اساس مصالح ملی خود، رخدادهای مجاز کشورش را تعیین کرده و از سوی دیگر ادعای صادر کننده را راستی‌آزمایی کند. با توجه به حجم عظیم واردات این محصولات و نیازمندی کشور به یک روش سریع و با کارایی بالا که بتواند در کمترین زمان ممکن و با بیشترین دقت وجود رخدادهای تراریخته را در محموله‌های وارداتی ردیابی و شناسایی کند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در واقع با توجه به اینکه هر کشوری حق خود می‌داند که از نوع رخداد وارداتی اطمینان

حاصل کند، لزوم ردیابی و شناسایی رخدادهای محصولات تراریخته از اهمیت بسزایی برخوردار است (Wei et al. 2018). شناسایی و ردیابی محصولات تراریخته هم می‌تواند بر اساس شناسایی تراژن (مشتمل بر توالی الحاق شده به ژنوم) باشد و هم می‌تواند بر اساس شناسایی محصول تراژن یا پروتئینی باشد که در گیاه تراریخته تولید می‌شود (Kamle and Ali 2013). روش مبتنی بر پروتئین دشوار و با حساسیت کمتری هستند و به‌طور معمول برای محصولاتی که فرآوری شده و ممکن است در آن‌ها پروتئین مورد نظر تخریب شده باشد، مناسب نیستند (Pobozy et al. 2013). در حالی که روش‌های مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و دی.ان.آ بسیار کاربردی‌تر هستند. روش‌های متعددی برای شناسایی و ردیابی محصولات تراریخته بر اساس دی.ان.آ تعریف شده‌اند. یکی از انواع روش‌های پی.سی.آر، پی.سی.آر چندگانه^۱ است که بر مبنای تکثیر همزمان چندین توالی مختص رخداد با بیش از یک جفت آغازگر است که یک روش استاندارد قابل اعتماد و کم‌هزینه با صرفه‌جویی در زمان و هزینه برای تشخیص محصولات تراریخته است. (Chaouachi et al. 2008; Forte et al. 2005; Hernandez et al. 2004; Nikolic et al. 2009; Shrestha et al. 2010). روش پی.سی.آر چندگانه که می‌تواند چندین قطعه دی.ان.آی هدف را در یک واکنش و به‌طور هم‌زمان شناسایی کند، یک روش پایه برای شناسایی محتوای چندگانه محصول تراریخته است (Germini et al. 2004; James et al. 2003).

جمهوری اسلامی ایران نیز همانند بسیاری از کشورهای جهان از بیش از ۱۵ سال گذشته وارد کننده محصولات تراریخته به‌ویژه ذرت و سویای تراریخته برای خوراک دام و روغن کنسروی است (Sarmadi et al. 2013). از این‌رو، توانمندی کشور در زمینه ردیابی و شناسایی این محصولات از اهمیت بسزایی برخوردار است. در این پژوهش یک روش سریع بر مبنای پی.سی.آر چندگانه جهت ردیابی و شناسایی رخدادهای موجود در محموله‌های ذرت دامی وارداتی به کشور ارایه شده است که ضمن صرفه‌جویی در هزینه‌ها، موجبات ردیابی سریع‌تر رخدادهای موجود در محموله‌های وارداتی را فراهم می‌کند.

¹ Multiplex PCR (mPCR)

مواد و روش‌ها

نمونه‌های مورد ارزیابی از ۴ محموله ذرت وارداتی به کشور (از کشور برزیل) با ادعای تراریختگی از سازمان دامپزشکی کشور دریافت شد. نمونه‌برداری با استفاده استاندارد ملی نمونه‌برداری خوراک دام به شماره ۷۵۷۰ توسط سازمان دامپزشکی کشور انجام شد (INSO-7570, 2020). هر محموله حاوی حدود ۷۰۰۰۰ تن دانه ذرت دامی بوده است. این پژوهش در پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی انجام شد.

بر اساس اطلاعات رسمی مندرج در پروفایل جمهوری اسلامی ایران در اتاق تهاتر ایمنی زیستی در زمان انجام این پژوهش، ۱۲ رخداد منفرد دارای مجوز از وزارت جهاد کشاورزی جهت استفاده به‌عنوان خوراک دام بودند (bch.cbd.int). در این پژوهش، روش ردیابی و شناسایی سریع و چندگانه ۱۴ رخداد ذرت تراریخته (۱۲ رخداد به‌عنوان رخداد مجاز و دو رخداد به‌عنوان رخداد فرضی غیرمجاز) مورد ارزیابی قرار گرفت. لیست

رخدادهای مورد ارزیابی در جدول شماره یک ارایه شده است. دوازده ردیف اول جدول مربوط به رخدادهای مجاز و دو ردیف آخر جدول مربوط به رخدادهای فرضی غیرمجاز هستند. استخراج دی.ان.آ از محموله‌های وارداتی با استفاده از روش دلاپورتا پس از آسیاب کردن دانه‌های ذرت انجام شد (Li et al. 2001). در نهایت غلظت نمونه‌های دی.ان.آ استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ اندازه‌گیری شد و پی.سی.آر با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن Zein ذرت با توالی آغازگرهای ارایه شده در جدول ۲ انجام گرفت. مواد و شرایط واکنش پی.سی.آر مورد استفاده برای آغازگرهای مختص رخداد این رخدادها به‌ترتیب در جداول ۳ و ۴ ارایه شده است. در انتها نتایج حاصل از واکنش پی.سی.آر بروی ژل آگارز یک درصد بارگذاری شدند. جهت مشخص شدن اندازه باندهای نمایش داده شده در ژل آگارز، از 1Kb Ladder Plus استفاده شد.

جدول ۱- لیست رخدادهای مورد ارزیابی در پژوهش (bch.cbd.int)

ردیف	رخداد / event	صفت تراریخته / LMO identification
1	MON-00810-6	Resistance to diseases and pests - Insects - Lepidoptera (butterflies and moths)
2	ACS-ZM003-2	Resistance to antibiotics - Ampicillin / Resistance to herbicides - Glufosinate
3	SYN-BT011-1	Resistance to diseases and pests - Insects - Lepidoptera (butterflies and moths) / Resistance to herbicides - Glufosinate
4	MON-00603-6	Resistance to herbicides - Glyphosate
5	MON-00021-9	Resistance to herbicides - Glyphosate
6	DAS-01507-1	Resistance to diseases and pests - Insects - Lepidoptera (butterflies and moths) / Resistance to herbicides - Glufosinate
7	SYN-IR162-4	Mannose tolerance / Resistance to diseases and pests - Insects - Lepidoptera (butterflies and moths)
8	MON-89034-3	Resistance to diseases and pests - Insects - Lepidoptera (butterflies and moths)
9	MON-88017-3	Resistance to diseases and pests - Insects - Coleoptera (beetles) / Resistance to herbicides - Glyphosate
10	DAS-59122-7	Resistance to diseases and pests - Insects - Coleoptera (beetles) / Resistance to herbicides - Glufosinate
11	MON-87460-4	Resistance to antibiotics - Kanamycin / Tolerance to abiotic stress - Cold, Heat, Drought
12	SYN-IR604-5	Mannose tolerance / Resistance to diseases and pests - Insects - Coleoptera (beetles) - Western corn rootworm (Diabrotica virgifera)
13	SYN-EV176-9	Resistance to antibiotics - Ampicillin Resistance to diseases and pests - Insects - Lepidoptera (butterflies and moths) and European corn borer (Ostrinia nubilalis)
14	MON-00863-5	Resistance to herbicides - Glufosinate Resistance to antibiotics - Kanamycin Resistance to diseases and pests - Insects - Coleoptera (beetles)

جدول ۲- توالی آغازگرها به همراه اندازه باند مورد انتظار برای ژن Zein ذرت

اندازه باند مورد انتظار bp	توالی پرایمر 5' to 3'	ژن داخلی
500	F: CTAGAATGCAGCACCAACAAA R: CCTCAGTCGCACATATCTACTATACT	Zein

جدول ۳- اجزا و مقادیر واکنش پی.سی.آر مورد استفاده برای ژن Zein ذرت

مقادیر	اجزای واکنش
10 µl	PCR Master Mix (2X)
1 µl	Forward primer (10 pmol)
1 µl	Reverse primer (10 pmol)
1 µl	DNA Template (100 ng/µl)
7 µl	Water

جدول ۴- شرایط دمایی واکنش پی.سی.آر مورد استفاده برای ژن Zein ذرت

مدت زمان	دما (درجه سانتی گراد)	مرحله واکنش	
5 min	95	Initial denaturation	35 Cycles
30 sec	95	Denaturation	
30 sec	58	Annealing	
30 sec	72	Extention	
3 min	72	Final extention	

جدول ۶- اجزا و مقادیر واکنش پی.سی.آر چندگانه مورد استفاده برای

رخدادها

مقادیر	اجزای واکنش
10 µl	PCR Master Mix (2X)
1 µl	Forward primer- event 1 (10 pmol)
1 µl	Reverse primer- event 1 (10 pmol)
1 µl	Forward primer- event 2 (10 pmol)
1 µl	Reverse primer- event 2 (10 pmol)
1 µl	DNA Template (100 ng/µl)
5 µl	Water

جدول ۷- شرایط دمایی واکنش پی.سی.آر مورد استفاده برای رخدادها

مدت زمان	دما (درجه سانتی گراد)	مرحله واکنش	
5 min	95	Initial denaturation	35 Cycles
30 sec	95	Denaturation	
30 sec	63	Annealing	
30 sec	72	Extention	
3 min	72	Final extention	

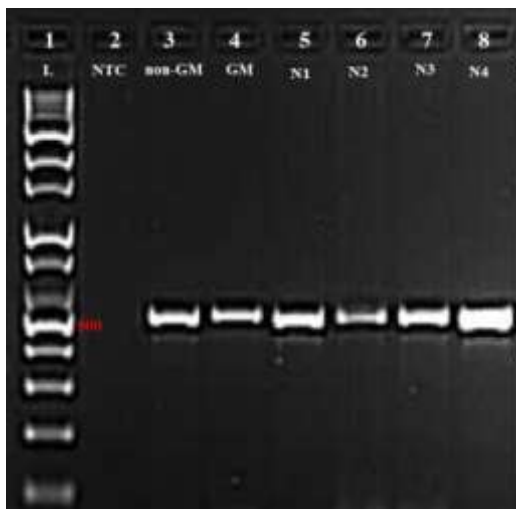
جهت حصول سریع تر به نتایج، برنامه پی.سی.آر یکسانی برای رخدادها در نظر گرفته شد که در سازگاری با آغازگرهای مورد استفاده برای همه رخدادها باشد. اندازه باند مورد انتظار حاصل از واکنش با استفاده از آغازگرهای مورد نظر در جدول شماره ۵ ارایه شده است. جهت پیش بینی رخدادهایی که شرایط مناسبی برای استفاده در یک آزمون پی.سی.آر چندگانه را دارند از نرم افزار Vector NTI استفاده شد. مواد و شرایط واکنش پی.سی.آر نیز به ترتیب در جداول ۶ و ۷ ارایه شده است.

جدول ۵- اندازه باند مورد انتظار برای آغازگرهای مختص رخدادهای مورد آزمون

رخداده	اندازه باند مورد انتظار bp
SYN-BT011-1	190
ACS-ZM003-2	210
MON-00810-6	300
MON-00603-6	220
MON-00021-9	270
DAS-01507-1	340
SYN-IR162-4	140
MON-89034-3	210
MON-88017-3	200
SYN-IR604-5	130
SYN-EV176-9	570
DAS-59122-7	290
MON-00863-5	280
MON-87460-4	210

آزمون پی.سی.آر با استفاده از دستگاه BioRad انجام گرفت. در هر واکنش پی.سی.آر برای رخدادهای CRM های استاندارد به عنوان کنترل مثبت و از نمونه شاهد غیرتراریخته به عنوان کنترل منفی استفاده شد. یک نمونه فاقد الگوی دی.ان.ای نیز برای اطمینان از عدم آلودگی آغازگرها و سایر مواد پی.سی.آر نیز استفاده شد. در انتها نتایج حاصل از واکنش پی.سی.آر بروی ژل آگارز دو درصد بارگذاری شدند. جهت مشخص شدن اندازه

نتایج انواع رخدادهای موجود در محموله‌های اول تا چهارم در جدول شماره ۹ نمایش داده شده است. همان‌طور که در جدول ۹ و نیز شکل ۲ مشخص است، نتایج نشان دادند همان‌طور که در پروفایل جمهوری اسلامی ایران در اتاق تهاثر ایمنی زیستی اعلام شده است، ترکیبات متفاوتی از رخدادهای مجاز در محموله‌های مورد آزمایش حضور داشتند (bch.cbd.int). رخدادهای MON-ØØ863-5 و SYN-EV176-9 که تاکنون مجوزهای لازم را از مرجع ذیصلاح مربوطه (وزارت جهاد کشاورزی در مورد خوراک دام) دریافت نکرده‌اند و در این پژوهش به‌عنوان رخدادهای فرضی غیرمجاز در نظر گرفته شده بودند، در هیچ‌کدام از محموله‌های مورد آزمایش حضور نداشتند.



شکل ۱- نتایج واکنش پی.سی.آر ژن Zein ذرت ران شده بروی ژل آگارز دو درصد

چاهک‌ها به‌ترتیب از سمت چپ به راست: ۱- 1Kb Ladder Plus، ۲- کنترل بدون الگوی دی.ان.ای یا آب، ۳- نتیجه پی.سی.آر شاهد، ۴- نتیجه پی.سی.آر برای یک نمونه تراریخته و ۵ الی ۸- نتایج پی.سی.آر برای نمونه‌های وارداتی یک تا چهار

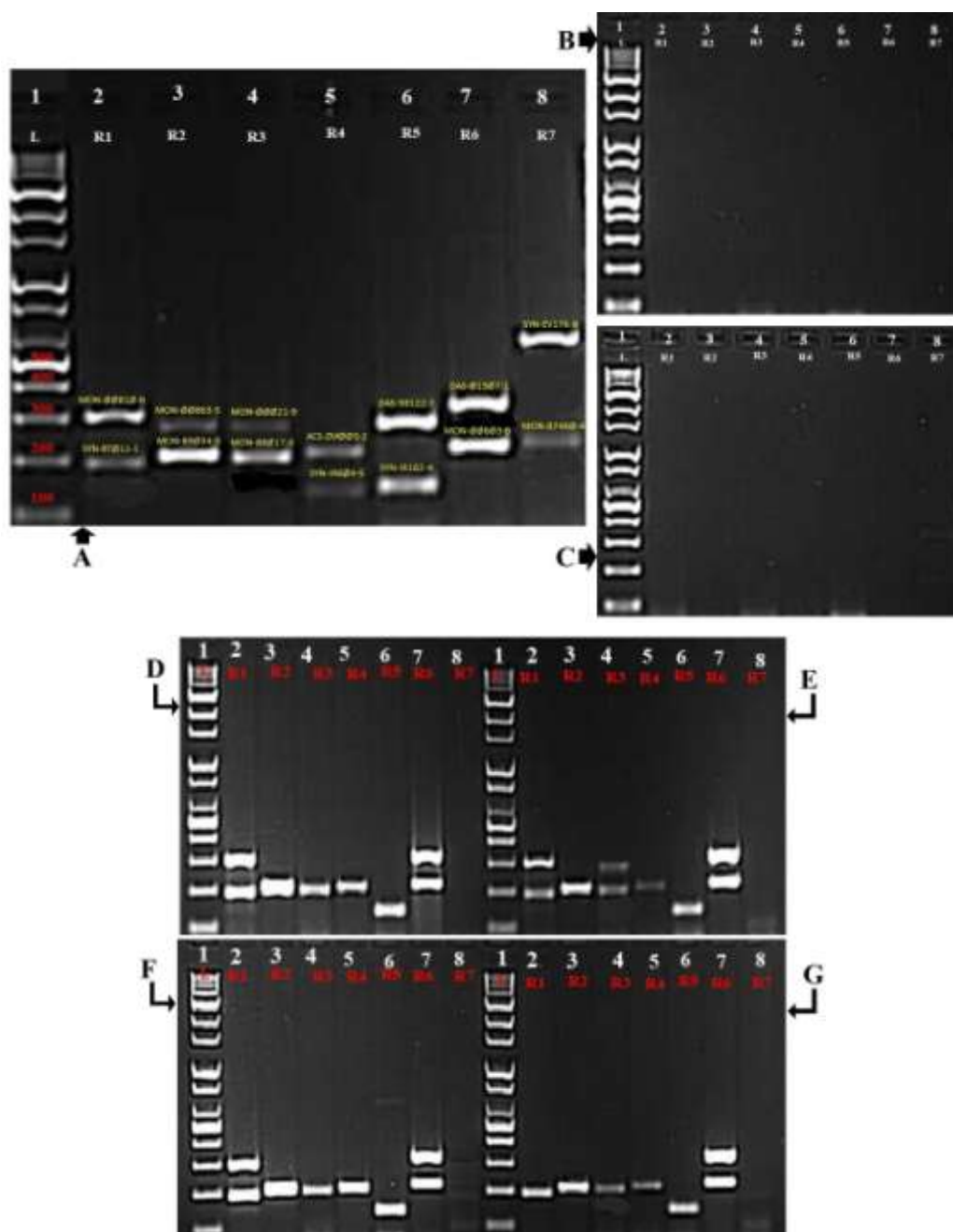
باند‌های نمایش داده شده در ژل آگارز از 1Kb Ladder Plus استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج بررسی نمونه‌های دی.ان.ای استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ نشان داد که دی.ان.ای‌های استخراج شده تا حدودی عاری از آلودگی‌های ناشی از استخراج دی.ان.ای هستند و غلظت تمام نمونه‌ها به میزان ۱۰۰ نانوگرم دی.ان.آ در هر میکرولیتر محلول دی.ان.آ تنظیم شد. سپس جهت اطمینان از کارایی و خلوص دی.ان.آهای استخراج شده، پی.سی.آر با استفاده از ژن Zein ذرت انجام گرفت و نتایج نشان داد که همگی استخراج‌ها دارای دی.ان.آ ذرت و با کارایی بالا در واکنش پی.سی.آر هستند. نتایج در شکل یک ارایه شده است. سپس با استفاده از نرم‌افزار Vector NTI سازگاری آغازگرهای رخدادهای مختلف با هم سنجیده شد. نتایج نهایی این سنجش با توجه به طول باند حاصل از تکثیر قطعات آغازگرهای رخدادهای مختلف صورت گرفت. ترکیب‌های دوتایی و سه‌تایی متفاوتی آزمایش شدند و در نهایت از میان تمام ترکیبات بهترین نتیجه مربوط به ۷ واکنش دوتایی نشان داده شده در جدول ۸ بود. بدین ترتیب با اجرای ۷ واکنش دوتایی پی.سی.آر نتایج ۱۴ رخداد موردنظر قابل ارزیابی است. از سوی دیگر برنامه واکنش پی.سی.آر برای تمامی رخدادهای به‌صورت یکسان بهینه شد. به‌طوری‌که با یک‌بار روشن کردن دستگاه پی.سی.آر تمامی رخدادهای سنجیده شوند. برنامه بهینه شده واکنش پی.سی.آر در جدول ۷ نمایش داده شده است. نتایج پی.سی.آر چندگانه ران شده در بروی ژل آگارز دو درصد در شکل ۲ ارایه شده است. به‌دلیل کوچکی باندهای برخی از رخدادهای، از ژل آگارز دو درصد برای نمایش نتایج استفاده شد.

جدول ۸- رخدادهای مورد ارزیابی در هر واکنش پی.سی.آر چندگانه

واکنش‌های پی.سی.آر چندگانه	رخداد اول مورد ارزیابی در واکنش	رخداد دوم مورد ارزیابی در واکنش
Reaction 1	MON-ØØ81Ø-6	SYN-BTØ11-1
Reaction 2	MON-ØØ863-5	MON-89Ø34-3
Reaction 3	MON-ØØØ21-9	MON-88Ø17-3
Reaction 4	ACS-ZMØØ3-2	SYN-IR6Ø4-5
Reaction 5	SYN-IR162-4	DAS-59122-7
Reaction 6	DAS-Ø15Ø7-1	MON-ØØ6Ø3-6
Reaction 7	SYN-EV176-9	MON-8746Ø-4



شکل ۲- نتایج واکنش پی.سی.آر چندگانه رخدادهای ذرت ران شده بروی ژل آگارز دو درصد

A: با استفاده از CRM های استاندارد به عنوان کنترل مثبت، B: با استفاده از آب به جای دی.ان.ای الگو جهت کنترل آلودگی مواد پی.سی.آر، C: با استفاده از دی.ان.آ شاهد به عنوان کنترل منفی و D، E، F و G: با استفاده از دی.ان.ای استخراج شده از نمونه های مربوط به محموله های ذرت وارداتی (D- برزیل، E- برزیل، F- برزیل و G- برزیل) (چاهک ها به ترتیب از چپ به راست: ۱- 1Kb Ladder Plus، ۲- واکنش اول (R1) حاوی آغازگرهای رخدادهای MON-ØØ81Ø-6 و SYN-BTØ11-1، ۳- واکنش دوم (R2) حاوی آغازگرهای رخدادهای MON-ØØ863-5 و MON-89Ø34-3، ۴- واکنش سوم (R3) حاوی آغازگرهای رخدادهای MON-ØØØ21-9 و MON-88Ø17-3، ۵- واکنش چهارم (R4) حاوی آغازگرهای رخدادهای ACS-ZMØØ3-2 و SYN-IR6Ø4-5، ۶- واکنش پنجم (R5) حاوی آغازگرهای رخدادهای SYN-IR162-4 و DAS-59122-7، ۷- واکنش ششم (R6) حاوی آغازگرهای رخدادهای DAS-Ø15Ø7-1 و MON-ØØ6Ø3-6 و ۸- واکنش هفتم (R7) حاوی آغازگرهای رخدادهای SYN-EV176-9 و MON-8746Ø-4)

جدول ۹- رخدادهای موجود در محموله‌های وارداتی

واکنش‌ها	رخدادهای	محموله اول	محموله دوم	محموله سوم	محموله چهارم
Reaction 1	MON-ØØ81Ø-6	+	+	+	-
	SYN-BTØ11-1	+	+	+	+
Reaction 2	MON-ØØ863-5	-	-	-	-
	MON-89Ø34-3	+	+	+	+
Reaction 3	MON-ØØØ21-9	-	+	-	-
	MON-88Ø17-3	+	+	+	+
Reaction 4	ACS-ZMØØ3-2	+	+	+	+
	SYN-IR6Ø4-5	-	-	-	-
Reaction 5	SYN-IR162-4	+	+	+	+
	DAS-59122-7	-	-	-	-
Reaction 6	DAS-Ø15Ø7-1	+	+	+	+
	MON-ØØ6Ø3-6	+	+	+	+
Reaction 7	SYN-EV176-9	-	-	-	-
	MON-8746Ø-4	-	-	-	-

پایانبر nos و یا پروموتور 35S مثبت بودند. علاوه بر این وجود یا عدم وجود دو رخداد ذرت Bt11 و MON810 را نیز بررسی کردند و نتایج نشان دادند که نمونه‌های مورد بررسی حاوی این دو رخداد بودند (Safaei et al. 2020). بر اساس اطلاعات مندرج در اتاق تهاثر ایمنی زیستی این دو رخداد جزو رخدادهایی هستند که توسط وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی مجوزهای لازم را دریافت کرده‌اند (bch.cbd.int). با توجه به اینکه حد آستانه پذیرش برای رخدادهای مجاز و همینطور حد آستانه تحمل برای رخدادهای غیرمجاز در جمهوری اسلامی ایران هر دو صفر هستند، بررسی صحت ادعای واردکنندگان از لحاظ اطمینان بخشی به مصرف‌کنندگان و برچسب‌گذاری محصولات از اهمیت بالایی برخوردار است. در نتیجه‌ی ردیابی و شناسایی رخدادهای موجود در محصول، می‌توان برچسب‌گذاری را با اطمینان بیشتری انجام داد. در نتیجه توانمندسازی کشور در زمینه ردیابی و شناسایی رخدادهای محصولات تراریخته از اهمیت بالایی برخوردار است.

این موضوع نشان‌دهنده و صحت ادعای وارد کنندگان است. در ضمن هیچ‌کدام از محموله‌های مورد آزمایش حاوی رخدادهای مجاز MON-8746Ø-4، DAS-59122-7 و SYN-IR6Ø4-5 نبودند.

ارزیابی‌های محموله‌های ذرت تراریخته دامی با استفاده از آغازگر مختص رخداد برای اولین بار در ایران با استفاده از این پژوهش گزارش شده است. علاوه بر این از روش پی.سی.آر چندگانه جهت صرفه‌جویی در زمان و هزینه‌ها نیز از ویژگی‌های نوآورانه این پژوهش بوده است. این در حالی است که پژوهش‌های قبلی با استفاده از آغازگرهای عناصر پروموتور و ترمیناتور (به‌عنوان مثال پایانبر nos و یا پروموتور 35S) تراریختگی یا عدم تراریختگی را اعلام کرده بودند. طی مطالعه‌ای پنج نمونه از محموله‌های وارداتی ذرت را با استفاده از آغازگرهای پایانبر nos و یا پروموتور 35S مورد بررسی قرار گرفت و هر پنج نمونه دارای هر دو عنصر مورد بررسی بودند (Sarmadi et al. 2013). در مطالعه دیگری ذرت‌ها و سویاهای موجود در بازار تهران را بررسی کردند و نشان داد که ۹۵ درصد سویاها و ۶۰ درصد ذرت‌های مورد بررسی برای

منابع

- Chaouachi M, Chupeau G, Berard A, McKhann H, Romaniuk M, Giancola S, Laval V, Bertheau Y and Brunel D (2008) A high-throughput multiplex method adapted for GMO detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56:11596-11606.
- Forte VT, Di Pinto A, Martino C, Tantillo GM, Grasso G and Schena FP (2005) A general multiplex-PCR assay for

- the general detection of genetically modified soya and maize. *Food Control* 16:535-539.
- Hernandez M, Duplan MN, Bertheir G, Vaitilingom M, Hauser W, Feryer R, Pla M and Bertheau Y (2004) Development and comparison of four real-time polymerase chain reaction systems for specific detection and quantification of *Zea mays* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:4632-4637.

- Nikolic Z, Taski-Ajdukovic K, Jevic A and Marinkovic D (2009) Detection of GM soybean in food products by simultaneous employment of three pairs of PCR primers. *Food Research International* 42:349-352.
- Shrestha HK, Hwu K-K and Chang M-Ch (2010) Advances in detection of genetically engineered crops by multiplex polymerase chain reaction methods. *Trends in Food Science and Technology* 21:442-454.
- Park JR, McFarlane I, Phipps RH and Ceddia G (2011) The role of transgenic crops in sustainable development. *Plant Biotechnology Journal* 9:2-21.
- Adugna A and Mesfin T (2008) Detection and quantification of genetically engineered crops. *E-Journal of ICRISAT Agri-Research* 6:1-10.
- James C (2019). Global status of commercialized biotech/gm crops in 2019. *ISAAA* 55.
- Sarmadi L, Alemzadeh A and Ghareyazie B (2013) Monitoring the occurrence of genetically modified maize at a grain receiving port in Iran. *Genetic Engineering and Biosafety Journal* 1:103-112 (In Farsi).
- Wei Sh, Ch Wang, P Zhu, G Zhou, W Fu and X Wu (2018) A high-throughput multiplex tandem PCR assay for the screening of genetically modified maize. *Food Science and Technology*. 87:169e176.
- Germini A, A Zanetti, C Salati, S Rossi, C Forre, S Schmid and et al. (2004) Development of a seven-target multiplex PCR for the simultaneous detection of transgenic soybean and maize in feeds and foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:3275e3280.
- James D, AM Schmidt, E Wall, M Green and S Masri. (2003) Reliable detection and identification of genetically modified maize, soybean, and canola by multiplex PCR analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:5829e5834.
- Kamle S and Ali S (2013) Genetically modified crops: Detection strategies and biosafety issues. *Gene* 522:123e132.
- Pobozy E, M Filaber, A Koc and JF Garcia-Reyes (2013) Application of capillary electrophoretic chips in protein profiling of plant extracts for identification of genetic modifications of maize. *Electrophoresis* 34:2740e2753.
- Stanley K K and E Szewczuk (2005) Multiplexed tandem PCR: Gene profiling from small amounts of RNA using SYBR green detection. *Nucleic Acids Research* 33:e180.
- Iranian National Standardization Organization (INSO). (2020) *Animan feedind stuffs-Sampling, 7570, 1st Revision*.
- Li H, Luo J, Hemphill JK, Wang JT and Gould JH (2001) A rapid and high yielding DNA miniprep for cotton (*Gossypium* spp.). *Plant Molecular Biology Reporter* 19:183-183.
- Safaei P, S Rezaie, M Alimohammadi, Afshari AK S, M Mehdizadeh and EM Aghaee (2020) Qualitative PCR-based detection of genetically modified soy and maize products in Iran. *International Journal of Food Properties* 1:459-469.