فصلنامه (علمی)

زیست شناسی تکوینی

سال شانزدهم، شماره ۲، بهار ۱۴۰۳ ص. ۵۷-۶۹

مقاله پژوهشی

تشخیص سویای تراریخته از طریق ژن‌های *Nos terminator*و *Round up ready* در نمونه‌های غذای کودک

مهسا کاوسی*، فاطمه طایفه خانی

گروه زیست شناسی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* (نویسنده مسئول مکاتبات): mkavoosi@iauet.ac.ir

تاریخ دریافت: اسفند ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۳

چکیده

مقدار زیادی از سویای مصرفی در ایران، وارداتی و از نوع تراریخته است اما سیستمی برای برچسب گذاری بر روی محصولات تراریخته حتی غذای کودک وجود ندارد. در این مطالعه برای شناسایی سویای تراریخته مقاوم به رانداپ در غذای کودک، از روش PCR ژن آغازگر *NOS Terminator* و ژن شاخص تراریختگی *Roundup Ready* استفاده شده است. ۲۵ نمونه سویا و ۲۵ نمونه غذای کودک به طور تصادفی جمع‌آوری گردید. بعد از استخراج DNA با کیت استخراج بافت با برند TLAB و بررسی غلظت و کیفت DNA،PCR انجام شد. نتایج نشان داد که با ۹۵ درصد اطمینان می‌توان گفت که رابطه معناداری بین وجود *NOS Terminator* در سویا و غذای کودک وجود ندارد. در حالی که با ۹۵ درصد اطمینان می‌توان گفت که رابطه معناداری بین وجود *Roundup Ready* در سویا و غذای کودک وجود دارد. میزان سویای تراریخته مورد استفاده در غذای کودک کمتر از سویای تراریخته بررسی شده در این پژوهش است. می توان نتیجه گرفت که میزان تراریختگی در نمونه‌های مورد آزمون به صورت قابل توجهی زیاد است. هیچ یک از این محصولات دارای برچسب تراریختگی نبودند.

کلیدواژه‌ها: تراریخته، سویا، غذای کودک، *NOS Terminator*، *Roundup Ready*.

مقدمه

سازمان بهداشت جهانی (WHO) اصطلاح GMO یا موجودات تراریخته را زمانی به کار می‌برد که مادهٔ ژنتیکی، تغییر یابد و به طور طبیعی وجود نداشته باشد [۱۵]. گیاه تراریخته دارای مجموعه‌ای از ویتامین‌ها و مواد معدنی است که در گونهٔ طبیعی گیاه وجود ندارد. در گیاهان تراریخته از ژن‌ها استفاده می‌شود و این باعث افزایش سلامتی این گیاهان می‌شود [۴]. آزادی در انتخاب غذا، حق طبیعی انسان‌ها است، هر شخص باید بتواند با توجه به سلیقه، افکار و اعتقادات خود، غذای مورد نیازش را انتخاب کند. بنابراین مشخصات کامل در مورد هر محصول باید روی آن ثبت شده باشد. در اتحادیهٔ اروپا، آستانهٔ برچسب زدن به مواد غذایی دارای GMOs با مجوز تولید، ۰/۹درصد تعیین شده

است. بنابراین کنترل دقیق وجود و مقدار مواد تراریخته، بسیار مهم است. ژن‌های انتخاب‌گر یک ابزار مهم در تولید گیاهان تراریخته هستند و می‌توانند در مراحل شناسایی، استخراج و انتقال ژن استفاده شوند. تاکنون ۵۰ نوع از ژن‌های انتخاب‌گر، شناخته شده است. ژن‌های انتخاب‌گر، نقشی کلیدی در توسعهٔ روش‌های تراریخته کردن موجودات بر عهده دارند [۳۱.] دستورالعمل اجرایی حداقل ضوابط برچسب‌گذاری فرآورده‌های غذایی و آشامیدنی در شهریور ۱۳۹۳ در وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی مورد بازنگری و تصویب قرار گرفت. بزرگترین ایراد موجود در دستورالعمل، این است که برچسب‌گذاری فقط برای موجودات زنده تراریخته در نظر گرفته شده است. در حالی که بیشتر مواد غذایی به شکل فرآوری شده و غیر زنده هستند و عدم برچسب‌گذاری این نوع از محصولات، نقص قانون و دستورالعمل را نشان می‌دهد. اگرچه در این ضابطه به موضوع برچسب‌گذاری و بسته‌بندی محصولات تراریخته پرداخته شده است، اما کامل و واضح نیست و بیشتر از آن که اجرایی باشد، حالت توصیفی دارد. به نظر می‌رسد بررسی بیشتر در مورد آن به پس از تأیید تراریخته بودن محصولات توسط مراجع مسئول و تدوین ضوابط محصولات تراریخته در کشور موکول شده و به دلیل تأخیری که در تصویب آیین‌نامه اجرایی وجود داشته، این بحث مسکوت مانده است و دستورالعمل‌های مربوط به نحوه کنترل و نظارت بر اجرای مقررات تا کنون اجرا نشده است [۲۵].

سویا پرچم‌دار محصولات تراریخته است و با اشغال ۴۷ درصد از زمین‌های زیر کشت محصولات تراریخته هم چنان رتبه اول را در بین گیاهان زراعی حاصل از زیست فناوری به خود اختصاص داده است [۲۹ و ۲۶]. ۹۸ درصد از دانهٔ سویای آمریکا برای خوراک دام مورد استفاده قرار می‌گیرد و دو درصد باقیمانده بیشتر به محصولات سویا با میزان پروتئین‌های بالا تبدیل می‌شوند که در انواع غذاها مانند سس سالاد، سوپ، آنالوگ گوشت، پودر نوشیدنی، پنیر، خامهٔ غیر لبنی، دسر یخ‌زده، غذای کودک، نان، غلات صبحانه، پاستا و غذای حیوان خانگی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۱]. پروتئین سویای پردازش شده به سه شکل در غذاهای مختلف حضور دارد: آرد سویا، پروتئین سویای جدا شده و پروتئین سویای غنی شده [۳۳]. حدود ۹۰ درصد از سویای کشت شده در ایالات متحده تراریخته است. سویای تراریخته فراوان‌ترین محصول زراعی تراریخته است [۹].

اولین محصول تراریختهٔ آمادهٔ فروش در ایالات متحده در سال ۱۹۹۴، گوجه فرنگی FlavrSavr بود. این گوجه فرنگی تراریخته ماندگاری بیشتری در مقایسه با انواع ارگانیگ و غیرتراریخته داشت [۹]. در همان سال، اتحادیهٔ اروپا، اولین تنباکوی تراریخته را روانهٔ بازار مصرف اروپا کرد [۲۰]. پس از آن در سال ۱۹۹۵، سیب زمینیBt و در سال ۲۰۰۰، برنج طلایی غنی شده با ویتامینA معرفی شدند [۱۹]. ایالات متحدهٔ آمریکا از سال ۱۹۹۶ با تولید محصولات تراریخته مانند پنبهٔ مقاوم به آفات بال پولکدار، ذرت مقاوم به علف‌کش و سویای مقاوم به علف‌کش وارد این عرصه شد و در حال حاضر با تولید انواع محصولات تراریخته، بزرگترین تولید کننده و مصرف کنندهٔ این محصولات در جهان است. با این وجود، کاربرد محصولات تراریخته به کشاورزی مدرن منحصر نشده و امروزه تولید و استفاده از گیاهان تراریخته در صنعت داروسازی برای تولید صنعتی برخی ترکیبات دارویی یا ترکیبات دارای کاربرد پزشکی مورد توجه است [۱۳ و ۱۰]. امروزه تولید گیاهان تراریختهٔ زینتی رواج دارد [۱۸].

دانشمندان در دههٔ ۱۹۸۰ میلادی موفق به کشف شیوه‌ای در جهت تغییر DNA در گیاهان زراعی شدند، به طوری که مقاوم به گلیفوسیت باشند. به چنین گیاهانی، "راندآپ‌پذیر" (Roundup ready) می‌گویند. گلیفوسیت از جمله علف‌کش‌های رایج است که سنتز آنزیم EPSPS را محدود می‌کند. این آنزیم مسئول بیوسنتز آمینواسیدهای آروماتیک (معطر) در گیاهان است. بنابراین وجود گلیفوسیت می‌تواند باعث فقدان آمینواسیدهای آروماتیک در داخل سلول‌ها شده و تولید پروتئین‌ها را مختل کند. چنین سویاهایی با نام‌های تجارتی"GTS 40-3-2 "و MON "04032-6 " از ارقام حاصل از مهندسی ژنتیک هستند که توسط شرکت "مونسانتو" در برابر علف‌کش راندآپ (گلیفوسیت) مقاوم شده‌اند [۲۸]. در سال ۱۹۹۶، سویای تراریختهٔ Roundup Ready (RRTM) به عنوان اولین محصول مورد تأیید برای تولید غذا معرفی شد که در حال حاضر شایع‌ترین تراریختهٔ سویا است [۸]. امروزه دانه‌های گراس‌های تراریختهٔ

مقاوم به گلیفوسیت در دسترس هستند و برای ایجاد فضای سبز و میدان‌های ورزشی عاری از علف‌های هرز استفاده می‌شوند [۶]. ساختار ژن نوترکیب وارد شده در سویای تراریخته cp4 epsps 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate sintase از سویهٔ (*Agrobacterium tumefaciens* CP4) است. این ژن خارجی توسط پیشبر ویروس موزاییک گل کلم (*CaMV35S*) و ترمینال *A. tumefaciens* نوپالین سنتاز(*NOS*) تنظیم می‌شود [۲۴].

برای شناسایی گیاهان تراریخته از انواع ژن‌های Universal و Specified استفاده می‌شود. در این مطالعه از ژن *NOS* از گروه Universal استفاده شده است. راهبرد کلی برای غربالگری تراریخته‌ها، ردیابی توالی‌های هدف است. توالی‌های هدف، به طور معمول عوامل ژنتیکی هستند که در بیشتر گیاهان تراریخته وجود دارند. این توالی‌ها بیشتر شامل پیشبر *35S* ویروس موزاییک گل کلم و یک ناحیه خاتمه دهندهٔ نوپالین سنتاز (*NOS*) گرفته شده از آگروباکتریوم تومفاسیانس هستند، که در اغلب گیاهان تراریخته، وجود دارند [۲۲]. بنابراین، با یک PCR ساده می‌توان درصد بالایی از محصولات تراریخته را ردیابی کرد (۱۶). به منظور بالا بردن احتمال ردیابی، می‌توان از سایر توالی‌هایی که در گیاهان تراریخته به کار می‌رود، نیز استفاده کرد. یکی از این موارد، توالی‌های مربوط به ژن‌های مارکر، مثل ژن‌های مقاومت به آنتی بیوتیک است [۱۰]. برای شناسایی گیاهان تراریخته از ردیابی توالی‌های معتبر (*P35S, NOS, nptII T*) می‌توان استفاده کرد که در بیشتر تراریخته‌ها استفاده می‌شود (۲). در مهندسی ژنتیک از خاتمه دهندهٔ نوپالین سنتاز برای خاتمه دادن به رونویسی یک ژن استفاده می‌شود. پیشبر *CaMV35S*- و خاتمه دهندهٔ *NOS*- توالی‌های تنظیمی و تشخیصی هستند که در نمونهٔ تراریخته حضور دارند [۱۲].

در کشورهای در حال توسعه، سوء تغذیه در دوران جنینی، نوزادی و کودکی بسیار شایع است. از آنجا که سرعت زیاد رشد در دورهٔ شیرخوارگی با تغییرات مشخص در عملکرد و ترکیب ارگان‌ها همراه است، نقص در تأمین مواد غذایی کافی در این دوره می‌تواند بسیار مخرب باشد. بنابراین تغذیهٔ کافی کودک ارتباط مهمی با سلامتی کامل وی در تمام طول زندگی دارد. در میان مواد غذایی، شیر مادر تا پایان شش ماهگی به تنهایی برای رشد طبیعی شیرخوار کافی است. اما بعد از آن نیازهای غذایی شیرخوار فقط با شیر مادر برآورده نشده و باید غذاهای نیمه جامد برای تغذیهٔ کودک شروع شود [۱۴]. لکتین‌ها پروتئین‌هایی حاوی کربوهیدرات هستند. لکتین‌ها در بسیاری از غذاها یافت می‌شوند. برای کاهش محتوای لکتین بعضی از مواد غذایی مانند لوبیا و غلات باید پخته یا تخمیر شوند. برخی لکتین‌ها مفید هستند مانند CLEC11A که رشد استخوان را تقویت می‌کنند، در حالی که برخی دیگر ممکن است سموم قدرتمندی مانند ریچین باشند [۷].

پیشبر *Camv 35S* ویروس موزاییک گل کلم، دارای ۳۴۳ جفت باز، منطقه معرفی CAAT و جعبه TATA مانند است. این پیشبر برای انتقال ژن استفاده می‌شود و در کلیهٔ محصولات GMOوجود دارد. وجود پیشبر *Camv 35S* در محصولات GMO با استفاده از روش PCR بررسی می‌شود. برای تجزیه و تحلیل GMO از PCR معمولی،RT-PCR ، سیمپلکس و Multiplex PCR استفاده می‌شود (۱). در بین روش‌های مختلفی کهDNA را هدف ارزیابی قرار می‌دهند، PCR به دلیل سرعت بالا، قیمت پایین و دسترسی مناسب بیشتر مورد استفاده است [۳۳].

هدف از این پژوهش، بررسی میزان تراریخته بودن غذای کودک در محصولات فاقد برچسب تراریختگی است که با انجام واکنش PCR وجود ژن‌های *Lectin* به عنوان ژن کنترل داخلی و ژن پیشبر*Camv 35S* به عنوان ژن گزینشگر بررسی شوند.

مواد و روش‌ها

۲۵ نمونه‌ی سویا و ۲۵ نمونه غذای کودک که فاقد برچسب ایمنی زیستی گیاهان تراریخته بودند، خریداری و با نام‌های (A-W) نامگذاری شدند.

استخراج DNA از نمونه‌های سویا

ابتدا نمونه‌های سویا با استفاده از هاون به طور کامل کوبیده و سپس با دستگاه مخلوط‌کن برقی آسیاب شدند. برای استخراجDNA از کیت TLAB استفاده شد. ۵۰ میلی‌گرم از بافت گیاهی درون میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتر ریخته و پس از افزودن ۵۰۰ میکرولیتر از محلول A ورتکس شد.

میکروتیوپ‌های حاوی نمونه به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. در طول این مدت نمونه‌ها سه بار ورتکس شدند. ۵۰۰ میکرولیتر از محلول B به میکروتیوپ حاوی نمونه اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس و بعد به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ rpm میکروفیوژ شد. با دقت ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رویی برداشته و به درون میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتر دیگر ریخته شد. ۳۰۰ میکرولیتر از محلول C به میکروتیوپ حاوی نمونه اضافه و میکروتیوپ ۱۵ بار سر و ته شد. میکروتیوپ حاوی نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در فریزر ۲۰ -درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس میکروتیوپ به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۳۰۰۰ rpm میکروفیوژ شد. محلول رویی خالی شد. ۷۰۰ میکرولیتر از اتانول مطلق به میکروتیوپ اضافه و ۱۰ بار میکروتیوپ سر و ته شد و به مدت ۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ rpm میکروفیوژ شد. محلول رویی خالی شد. دوباره ۷۰۰ میکرولیتر از اتانل اضافه و مراحل قبل تکرار شد.

استخراج DNA از غذای کودک

برای استخراج نمونه‌ها از کیت TLAB استفاده شد. ۰/۲ گرم از غذای کودک با ترازو وزن و درون میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد. پس از افزودن۵۰۰ تا ۷۰۰ میکرولیتر از آب مقطر دیونیزه و استریل دو بار تقطیر به میکروتیوپ ورتکس و سپس به مدت پنج دقیقه با ۱۰۰۰۰ rpm میکروفیوژ انجام شد. ۱۰۰ تا ۲۰۰ میکرولیتر از محلول رویی برداشته و به میکروتیوپ جدید منتقل شد. ۵۰۰ میکرولیتر از محلول A را به میکروتیوپ حاوی نمونه اضافه و ورتکس شد. سپس همانند روش استخراج DNA از نمونه‌های سویا عمل شد.

تجزیه و تحلیل DNA استخراج شده

تمامی نمونه‌های استخراج شده به وسیله دستگاه نانودراپ در دو طول موج ۲۳۰/۲۶۰ و ۲۶۰/۲۸۰ مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج به دست آمده ثبت شد. برای این که اطمینان بیشتری از کیفیت DNA حاصل شود، به صورت تصادفی شش نمونه از DNA استخراج شده روی ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد. بعد از این که از کیفیت و کمیتDNAهای استخراج شده اطمینان حاصل شد، مراحل آماده‌سازی واکنش PCR انجام گرفت.

مراحل آماده‌سازی ژن‌های *NOS Terminator* و *Roundup Ready*

به ازای هر نمونه مقدار ۱۲/۵ میکرولیتر از 2X PCR Master mix و ۸/۵ میکرولیتر DDW به میکروتیوپ اضافه و به طور مختصر ورتکس شد. سپس به مدت ۳۰ ثانیه با ۱۰۰۰ rpm میکروفیوژ گردید. مقدار ۲۴ میکرولیتر از مستر میکس تهیه شده مورد استفاده قرار گرفت. ۱ میکرولیتر از نمونه‌های استخراج شده، ۱ میکرولیتر کنترل مثبت و ۲ میکرولیتر کنترل منفی (آب مقطر دو بار تقطیر دیونیزه و استریل)به میکروتیوپ‌های ml ۰/۵ که حاوی مستر میکس بودند، اضافه گردید. به این ترتیب نمونه‌ها برای واکنش PCR آماده شدند و با برنامه دمایی-زمانی مربوط به خود در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفتند (جداول ۳-۱).

جهت مشاهده باندهای حاصل از تکثیر قطعات در واکنش PCR ظرف قالب ژل به تانک الکتروفورز انتقال داده شد و ml ۹۰۰ از بافر TBE 1X به درون تانک الکتروفورز اضافه شد. ۵ میکرولیتر از محصول PCR در چاهک ژل آگارز ۱/۵ درصد تخلیه گردید. همچنین سایز مارکر ۱۰۰bp جهت تخمین اندازه باندهای تکثیر شده در یک چاهک کنار نمونه‌ها تخلیه گردید. ژل به مدت ۲۵ دقیقه در میدان الکتریکی با ولتاژ ۱۰۰ ولت الکتروفورز شد. سپس در دستگاه Gel Document تحت اشعه ماوراء بنفش با طول موج ۳۵۱ نانومتر عکس‌برداری شد.

جدول ۱- برنامه دمایی واکنش PCR ژن *NOS Terminator*

Cycle PCR	Temperatue (^{o}C)	Time	Cycle
Initialization	۹۵	۳ دقیقه	۱
Denaturation	۹۵	۳۰ ثانیه	۴۰
Annealing	۵۴	۶۰ ثانیه	
Extension	۷۲	۶۰ ثانیه	
Final elongation	۷۲	۳ دقیقه	۱

جدول ۲- برنامه دمایی واکنش PCR ژن ***Roundup Ready***

Cycle PCR	Temperature (^oC)	Time	Cycle
Initialization	۹۵	دقیقه ۵	۱
Denaturation	۹۵	۱۵ ثانیه	۳۵
Annealing	۶۰	۱۵ ثانیه	
Extension	۷۲	۱۵ ثانیه	
Final Extension	۷۲	دقیقه ۵	۱

جدول ۳- برنامه دمایی واکنش PCR ژن پیشبر *CAMV 35S*

Cycle PCR	Temperature (^oC)	Time	Cycle
Initialization	۹۵	دقیقه ۵	۱
Denaturation	۹۵	۱۵ ثانیه	۳۵
Annealing	۴۹	۱۵ ثانیه	
Extension	۷۲	۱۵ ثانیه	
Final elongation	۷۲	دقیقه ۵	۱

نتایج

بررسی کیفیت DNA استخراج شده به وسیله نانو دراپ

نتایج بررسی خلوص DNAاستخراجی از نمونه‌های سویا و غذای کودک به وسیله روش اسپکتروفوتومتری توسط دستگاه نانودراپ در دو طول موج ۲۶۰/۲۸۰ و ۲۳۰/۲۶۰ بررسی شدند. در صورتی که طول موج ۲۶۰/۲۸۰ کمتر از ۱/۸ باشد نشان دهنده آلودگی با پروتئین است. مقادیر کمتر از ۱/۵ باید مجدد استخراج شوند. اگر طول موج ۲۳۰/۲۶۰ کمتر از ۱ باشد نشان دهنده آلودگی با فنول، اتانول و ایزوپروپانول است و باید مجدد استخراج شوند.

بررسی کیفیت DNA استخراج شده به وسیله الکتروفورز

به صورت تصادفی شش نمونه بر روی ژل آگارز ۱درصد لود شد و صحت و کیفیت DNA استخراج شده بررسی شد. وجود باندهای واضح بیانگر کیفیت مطلوب نمونه‌های استخراج شده بود.

غربالگری نمونه‌ها

واکنش PCR جهت اثبات حضور ژن داخلی *Lectin* انجام شد. نتایج به دست آمده روی ژل آگارز ۱/۵درصد در عکس ۱ مشخص است. چاهک شماره‌ی ۶ کنترل مثبت است. چون مواد لود شده در این چاهک غلیظ هستند، انتظار می‌رفت که باند تشکیل شود. اگر در چاهک شماره ۵ باند تشکیل نمی‌شد، عدم موفقیت در خالص‌سازی DNA را نشان می‌داد و نیاز بود که نمونه دوباره تخلیص شود. در چاهک شماره‌ی۵ مواد کنترل منفی لود شده بود و انتظار می‌رفت که باندی تشکیل نشود. عدم تشکیل باند در این چاهک نشان می‌دهدکه تخلیص DNA و PCR بدون آلودگی انجام شده است.

بررسی کیفیتDNA استخراج شده به وسیله الکتروفورز

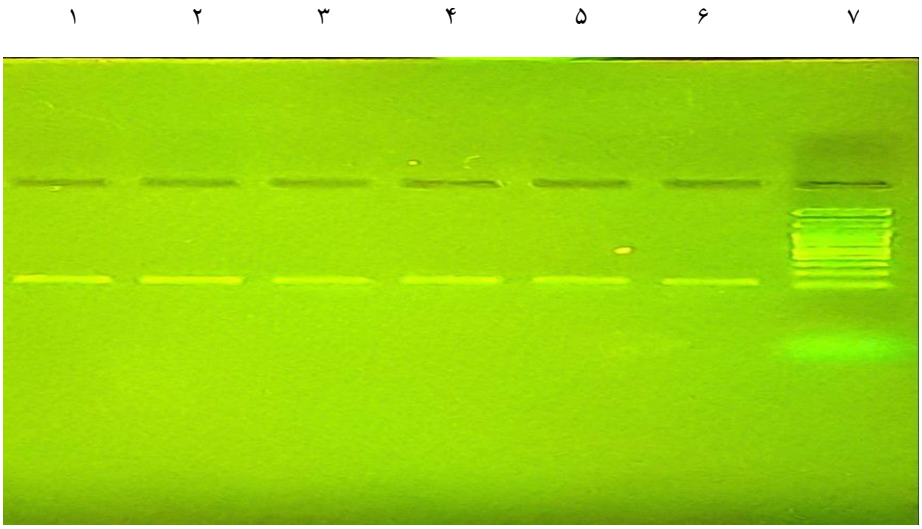
به صورت تصادفی شش نمونه بر روی ژل آگارز۱درصد لود شد. عکس زیر صحت و کیفیتDNA استخراج شده را نشان می‌دهد. وجود باندهای واضح بیانگر کیفیت نمونه‌های استخراج شده می‌باشد.

غربالگری نمونه‌ها

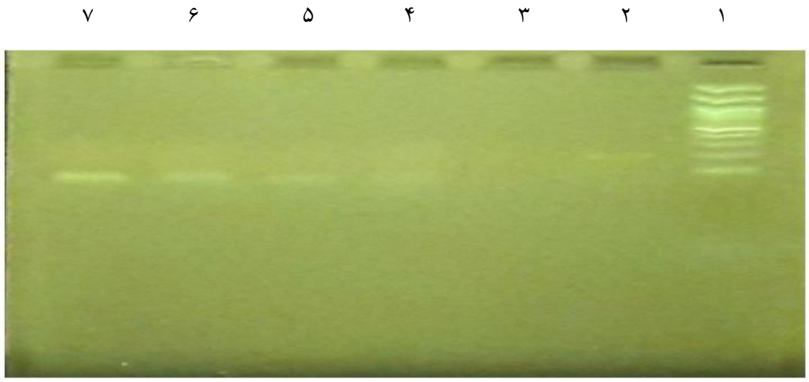
جهت اثبات حضور ژن سویای تراریخته، ژن خاتمه دهنده *NOS Terminator* و ژن *Roundup Ready* توسط واکنش PCR بررسی و نتایج به دست آمده روی ژل ۱/۵ درصد آگارز مشاهده شد (شکل ۲ و ۳).

چاهک شماره ۲کنترل مثبت است چون موارد لود شده در این چاهک دارای غلظت بالایی هستند. انتظار تشکیل باند در این چاهک می‌رفت در صورتی که در این چاهک باند تشکیل نمی‌شد نشان دهنده‌ی موفق نبودن روش خالص‌سازی DNA بود

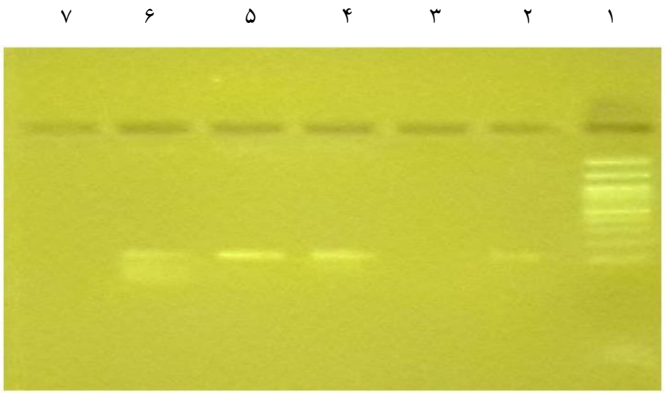
که نیاز دوباره به تخلیص نمونه می‌شد. چاهک شماره۳ باند نداده است. در این چاهک مواد کنترل منفی لود شده است. عدم تشکیل باند در این چاهک نشان می‌دهد که تخلیص DNA وPCR بدون آلودگی انجام شده است.



شکل۱- نتایج مربوط به بررسی کیفیت DNAاستخراج شده بر روی ژل آگارز یک درصد چاهک‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ نمونه و چاهک ۷ سایز مارکر ۱۰۰bp



شکل۲- نتایج مربوط به PCR ژن *NOS Terminator* بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. شماره ۱ سایز مارکر ۱۰۰bp، شماره ۲ کنترل مثبت، شماره ۳ کنترل منفی، شماره ۴، ۵، ۶ و۷ نمونه تراریخته.



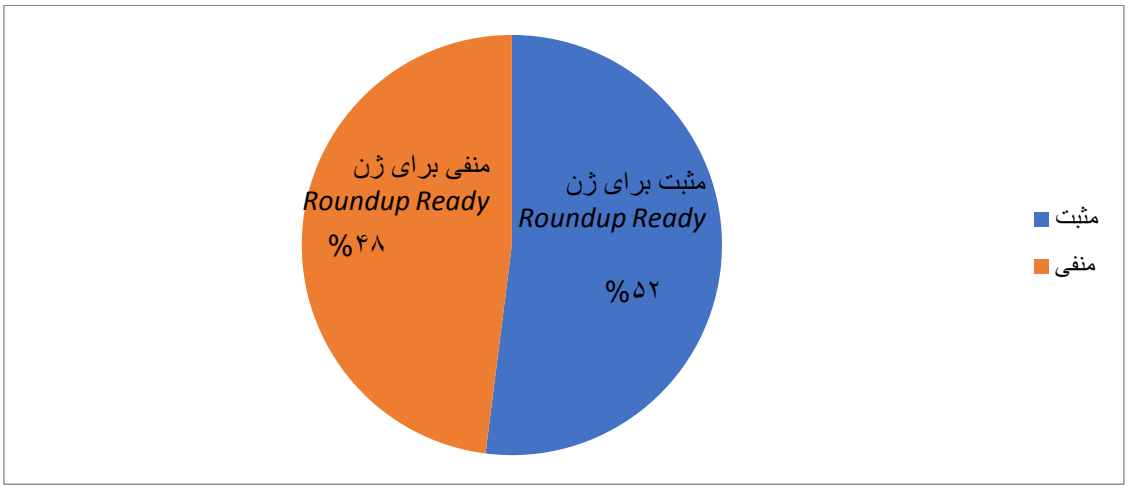
شکل۳- نتایج مربوط به PCR ژن *Roundup Ready* بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد

شماره۱ سایزمارکر۱۰۰bp. شماره ۲کنترل مثبت. شماره ۳کنترل منفی. شماره ۴، ۵ و ۶ نمونه تراریخته. شماره ۷ نمونه غیر تراریخته.

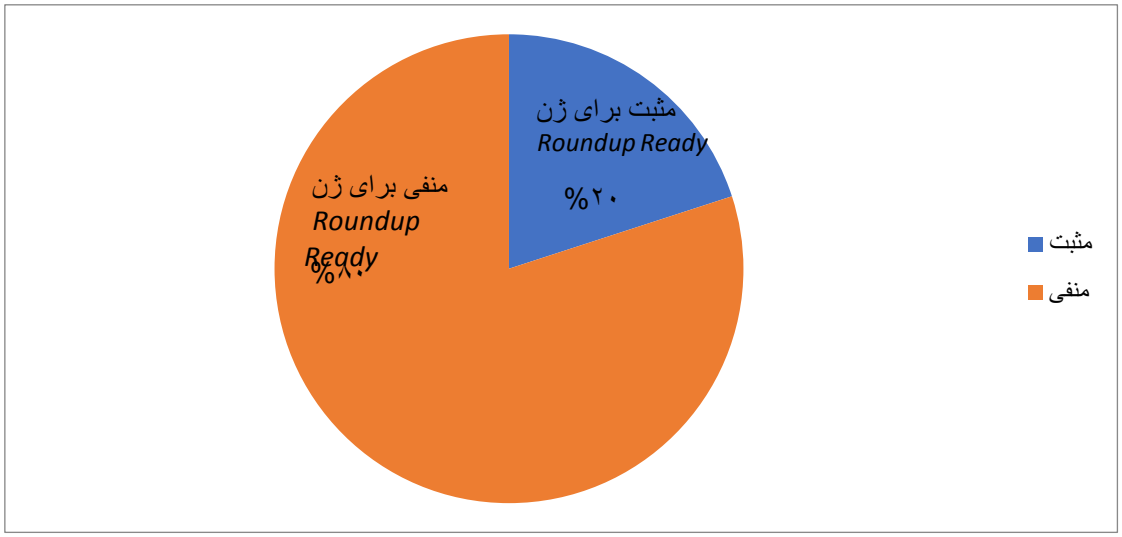
چاهک شماره ۲کنترل مثبت است. چون مواد لود شده در این چاهک دارای غلظت بالایی هستند، تشکیل باند در این چاهک قابل انتظار بود. در صورتی که در این چاهک باند تشکیل نمی‌شد نیاز بود که خالص‌سازی DNA دوباره انجام شود. در چاهک شماره ۳ باند تشکیل نشده است. در این چاهک مواد کنترل منفی لود شده بود (به جای استفاده از DNA الگو از آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شده و ژن تراریخته وجود نداشت). عدم تشکیل باند در این چاهک نشان می‌دهد که تخلیص DNA و مراحلPCR بدون آلودگی انجام شده است. در چاهک شماره ۷ باند تشکیل نشده است. چون ژن تراریخته *Roundup Ready* در نمونه وجود ندارد.

نتایج به دست آمده از واکنش PCR ژن *Roundup Ready*

نمودار ۱ و ۲ مربوط به نتایج به دست آمده از مقایسه نمونه‌های سویا و غذای کودک از نظر حضور ژن *Roundup Ready* است. از ۲۵ نمونه سویا، ۱۳ نمونه (۵۲ درصد) از نظر حضور شاخص تراریختگی *Roundup Ready* مثبت بوده و جزء محصولات تراریخته طبقه بندی می‌شوند. همچنین از میان ۲۵ نمونه غذای کودک، تعداد ۵ نمونه (۲۰درصد) از نظر حضور ژن *Roundup Ready* مثبت هستند و دارای تراریختگی می‌باشند که از نظر آماری حضور ژن معنی‌دار است (جدول ۴).



نمودار ۱- نتایج مربوط به PCR ژن *Roundup Ready* در نمونه‌های سویا



نمودار ۲- نتایج مربوط به PCR ژن *Roundup Ready* در نمونه‌های غذای کودک

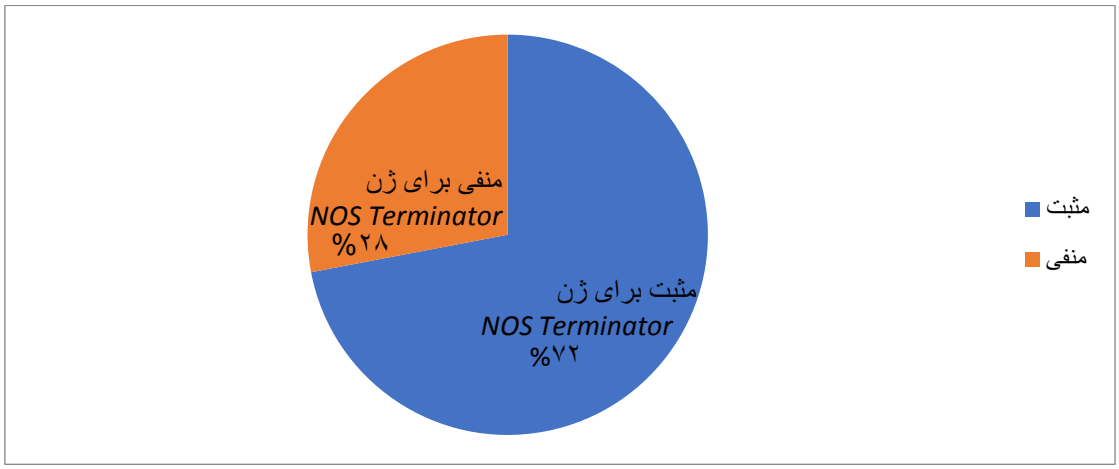
مقدار آماره کااسکور برابر با ۵/۵۵۶ و سطح معنی‌داری آن ۰/۰۱۸ است یعنی کمتر از ۰/۰۵ است. بنابراین با اطمینان ۰/۹۵ فرض صفر آماری مبنی بر عدم وجود رابطه میان *RoundupReady* مثبت و منفی با سویا و غذای کودکان رد می‌شود.

نتایج به‌دست آمده از واکنش PCR ژن *NOS Terminator*

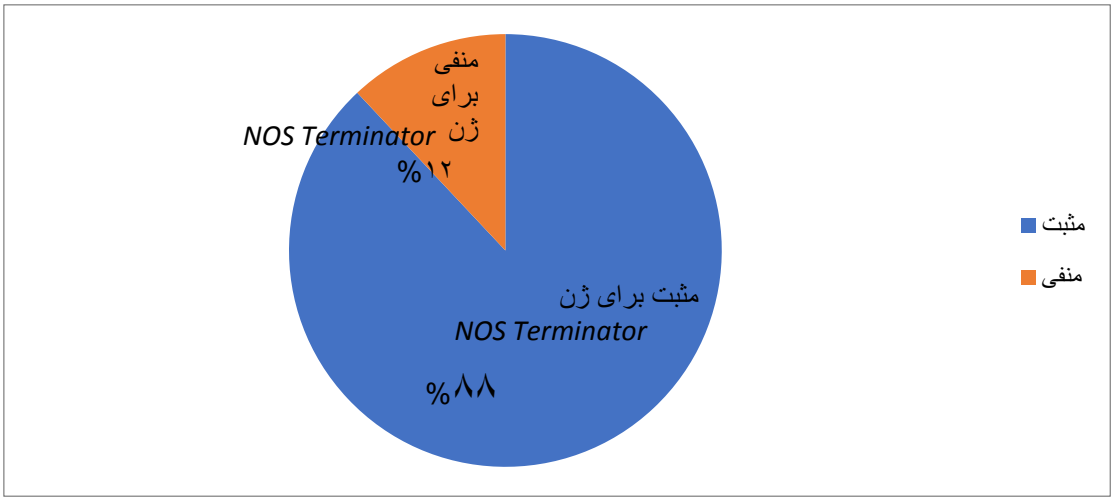
نمودار ۳ و ۴ نتایج به دست آمده مربوط به مقایسه نمونه سویا و غذای کودک برای ژن *NOS Terminator* است. از ۲۵ نمونه سویا، ۱۸ نمونه (۷۲ درصد) و از ۲۵ نمونه غذای کودک، ۲۲ نمونه (۸۸ درصد) از نظر حضور ژن شاخص تراریختگی *NOS Terminator* مثبت بودند که با توجه به نتایج آزمون کااسکور از نظر آماری معنی‌دار نیستند (جدول ۵).

جدول ۴- آزمون کااسکور برای مقایسه *RoundupReady* مثبت و منفی برای سویا و غذای کودک

	مقدار	درجه ازادی	سطح معنی داری
کااسکور پیرسون	۵۵۶/۵	۱	۰۱۸/۰
تصحیح پیوستگی	۲۵۳/۴	۱	۰۳۹/۰
نسبت درست نمایی	۷۰۴/۵	۱	۰۱۷/۰
خط به خط	۴۴۴/۵	۱	۰۲۰/۰
حجم نمونه	۵۰		



نمودار ۳- نتایج مربوط به *PCR* ژن *NOS Terminator* در نمونه‌های سویا



نمودار ۴- نتایج مربوط به *PCR* ژن *NOS Terminator* در نمونه‌های غذای کودک

جدول ۵- آزمون کااسکور برای مقایسه *NOS Terminator* مثبت و منفی برای سویا و غذای کودک

	مقدار	درجه آزادی	سطح معنی داری
کااسکور پیرسون	۲/۰۰۰	۱	۰/۱۵۷
تصحیح پیوستگی	۱/۱۲۵	۱	۰/۲۸۹
نسبت درست نمایی	۲/۰۴۶	۱	۰/۱۵۳
خط به خط	۱/۹۶۰	۱	۰/۱۶۲
حجم نمونه	۵۰		

بر اساس جدول ۵ مقدار آماره کااسکور برابر با ۲/۰۰۰ و سطح معنی‌داری آن۰/۱۵۷ که بیشتر از ۰/۰۵ است. بنابراین با اطمینان ۰/۹۵ فرض صفر آماری مبنی بر عدم وجود رابطه میان*NOS Terminator* مثبت و منفی با سویا و غذای کودکان تایید می‌شود. بنابراین رابطه میان غذای کودکان و سویا با *NOS Terminator* مثبت و منفی وجود ندارد و در غذای کودکان نسبت به سویا*NOS Terminator* مثبت و منفی یکسان است.

با انجام Chi-Square Tests و بررسی نتایج آن با ۹۵ درصد اطمینان می‌توان گفت که رابطه معناداری بین وجود *NOS Terminator* در سویا و غذای کودک وجود ندارد. از ۲۵ نمونه سویا، ۱۳ نمونه (۵۲ درصد) از نظر حضور ژن شاخص تراریختگی *Roundyup Ready* مثبت بوده و جزء محصولات تراریخته طبقه‌بندی می‌شوند. همچنین از ۲۵ نمونه غذای کودک، ۵ نمونه (۲۰ درصد) از نظر حضور ژن*Roundup Ready* مثبت بودند و تراریخته هستند. با ۹۵ درصد اطمینان می‌توان گفت که رابطه معنی‌داری بین وجود *NOS Terminator* در سویا و غذای کودک وجود دارد و میزان سویای تراریخته مورد استفاده در غذای کودک کمتر از نمونه‌های سویای تراریخته بررسی شده در این پژوهش است. نتایج پژوهش حاضر و مطالعات آماری مربوطه نشان داد که ۵۲ درصد از نمونه‌های سویای بررسی شده در این پژوهش تراریخته هستند. اما رابطه معنی‌داری بین وجود سویای تراریخته در غذای کودک مشاهده نشد.

بحث

در مورد مضرات و فواید استفاده از گیاهان تراریخته نظرات مختلف و گاه متضادی وجود دارد. از سوی دیگر شاید با توجه به افزایش جمعیت جهان استفاده از گیاهان تراریخته اجتناب ناپذیر باشد. اما مصرف کننده حق دارد که با توجه به افکار، اعتقادات و سلیقه خود غذایش را انتخاب کند. بنابراین درج مشخصات بر روی محصولات امری ضروری است. در پژوهش حاضر ۲۵ نمونه سویا و ۲۵ نمونه غذای کودک، که هیچ یک برچسب تراریختگی نداشتند، به طور تصادفی جمع‌آوری شده و وجود ژن تراریختگی در آن‌ها بررسی شد. در ابتدا اثرات اقتصادی کشت گیاهان تراریخته بررسی می‌شود. زکوی و همکاران در سال ۲۰۱۹ مطالعه‌ای در زمینه جنبه‌های اقتصاد جهانی و تجاری محصولات تراریخته انجام دادند. اگرچه سطح زیر کشت گیاهان تراریخته به بیش از ۱۸۰ میلیون هکتار می‌رسد اما ملاحظاتی در مورد آن مطرح است. مطالعات انجام شده بر روی گیاهان تراریخته نشان می‌دهد که فناوری تولید گیاهان تراریخته برای کشاورزان و مصرف کنندگان مفید بوده و علاوه بر سود جهانی، اثر زیست محیطی مثبتی برای سلامت انسان به همراه دارد. افزایش تولید محصولات تراریخته می تواند به طور قابل توجهی به امنیت غذایی جهانی و کاهش فقر کمک کند. با این حال، ملاحظات وسیع در مورد گیاهان تراریخته باعث ایجاد سیستم پیچیده‌ای از مقررات شده است که منجر به تهدید واقعی برای توسعه تولیدات و استفاده بیشتر از محصولات تراریخته شده است. محصولات تراریخته بخش وسیعی از چشم انداز بیست ساله‌ی آتی صنعت کشاورزی در دنیا را به خود اختصاص داده اند و در حال حاضر سطح زیر کشت تراریخته در کشورهای توسعه یافته ۴۷ درصد و در کشورهای در حال توسعه ۱۷ میلیارد دلار بوده و در حدود ۵۳٪ درصد است. سود خالص جهانی تولید محصولات تراریخته در سال ۱۹۹۶ تا ۲۰۰۶ به ۳/۱۵۰ میلیون دلار افزایش یافته است [۳۲].

در سال ۱۳۹۲ ستارزاده و همکاران اثر مصرف خوراکی گیاهان تراریخته که دارای ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک بودند را بررسی کردند. برای این مطالعه از مدل حیوانی موش صحرایی استفاده شد. پس از اتمام یک دوره خوراک‌دهی ۹۰ روزه

موش‌های صحرایی ، با سیب‌زمینی تراریخته، نمونه‌هایی از دستگاه گوارش، خون و سایر بافت‌ها برداشته شد. پس از استخراج DNA و بررسی کمیت و کیفیت آن، اقدام به شناسایی و ردیابی قطعات مختلف تراژن با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کردند. بر اساس نتایج به دست آمده، در گروه تیمار، پیشبر *Nos* و ژن *NptII* در تعدادی از نمونه‌های دستگاه گوارش تشخیص داده شد، در حالی که در بافت‌ها و خون گروه کنترل هیچ قطعه‌ای مشاهده نشد. نتایج این پژوهش نشان داد که قطعات ژن داخلی سیب‌زمینی و مولکول DNA تراژن در دستگاه گوارش به طور کامل تخریب نشده و قطعاتی از آن در دستگاه گوارش قابل تشخیص است. آنچه مسلم است DNA موجود در یک ماده غذایی و یا DNA منتقل شده در دستگاه گوارش ساختار یکسانی دارند. بنابراین، حضور قطعاتی از این ژن‌ها در بخش‌های مختلف دستگاه گوارش موش طبیعی است [۲۷].

در مقایسه نتیجه این پژوهش با پژوهش ها پیشین به مطالعه‌ای اشاره می‌شود که با یک همکاری مشترک در ۲۹ مرکز پژوهشی واقع در ۱۳ کشور جهان برای شناسایی سویا و ذرت تراریخته بر پایه آغازگرهای *P35S* و *Nos* انجام شده است (۱). در این مطالعه نیز جهت تکثیر و تشخیص سویاها و مواد غذایی کودک تراریخته از این روش با استفاده از ژن*NOS Terminator* و *Roundup Ready* استفاده شده است.

مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۰ منتشر شده است که نمونه‌های سویا، کنجاله سویا و برنج را برای یافتن تراریختگی بررسی کرده اند. مطالعه در مورد ژن‌های *CaMV-35S promoter* و *Nos terminator*انجام شد. نتایج نشان داد که نمونه‌های برنج غیر تراریخته و نمونه‌های سویا تراریخته بودند (۱۷). با مقایسه نتایج مطالعه جیسر و همکاران با مطالعه حاضر می‌توان گفت که نمونه‌های پژوهش حاضر نیز تراریخته بودند. نتایج نشان دادند که ۵۲ درصد از نمونه‌های سویا و ۲۰ درصد از نمونه‌های غذای کودک بررسی شده در این پژوهش تراریخته هستند.

در سال ۲۰۱۴ مطالعه‌ای در ترکیه به منظور شناسایی GMO در محصولات سویا با روش مبتنی بر PCR انجام شد. قطعه DNA 118 bp از ژن لکتین در نمونه‌های گیاه سویا بررسی و غربالگری GMO بر اساس تشخیص پروتئین S۳۵ و توالی ترمیناتور *NOS* انجام شد. نمونه‌های GMO مثبت از نظر وجود *Roundup ReadyTM* بررسی شدند. نتایج نشان داد که در نمونه‌های غذایی مورد آزمایش کمتر از ۰/۱ درصد ژن *EPSPS* وجود دارد [۲۱]. مقایسه نتیجه پژوهش حاضر با نتیجه پژوهش ماندانسی و همکاران نشان می‌دهد که میزان سویای تراریخته در محصولات غذایی ترکیه ناچیز است. در این پژوهش ۵۲ درصد از نمونه‌های سویا و ۲۰ درصد از نمونه‌های غذای کودک بررسی شده تراریخته بودند.

در سال ۲۰۰۶، سیرادزکی و همکاران مطالعه‌ای برای شناسایی ژن‌های تراریختگی انجام دادند. نمونه‌هایی که در آن ژن مرجع، *CaMV 35S*و *NOS* و یا هرگونه ترانس ژن وجود داشت، بررسی شدند. نتایج نشان داد که در کل مقدار خوراک مصرف شده، تنها ۸ درصد ذرت تراریخته وجود دارد [۲۹]. نتایج پژوهش حاضر با نتایج سیرادزکی و همکاران از نظر مقدار حضور ژن تراریختگی در محصولات غذایی موجود در بازار ایران تفاوت زیادی نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که ۵۲ درصد از نمونه‌های سویا و ۲۰ درصد از نمونه‌های غذای کودک بررسی شده در این پژوهش تراریخته هستند.

سرمدی و همکاران در سال ۲۰۱۹ مطالعه‌ای با موضوع تشخیص مبتنی بر PCR سویای تغییریافته ژنتیکی انجام دادند. از این رو، پنج نمونه از سویای وارداتی از گمرک بندر امام خمینی جمع‌آوری شد. برای استخراج DNA از دانه‌های سویا از روش اصلاح شده CTAB استفاده شد. نتایج نشان داد که روش اصلاح شده برای استخراج DNA از دانه‌های سویا مناسب است و می‌تواند برای سایر دانه‌های روغنی نیز استفاده شود. این بررسی با استفاده از آغازگرهای خاص برای پیشبر *CaMV 35S*، ترموستات *NOS* و ژن *EPSPS* انجام شد. نتایج نشان داد که نمونه‌های سویای وارد شده از کشورهای کانادا و پاراگوئه به لحاظ ژنتیکی اصلاح شده هستند و پیشبر *CaMV 35S*، ژن *NOS* و *EPSPS* در ژنوم آن‌ها وجود دارد. این مطالعه اولین گزارش گویا بود که نشان می‌داد که سویاهای GMO وارد شده به ایران بدون استفاده از برچسب "GMO " در اسناد حمل و نقل وجود دارند [۲۶]. نتیجه این پژوهش با پژوهش سرمدی و همکاران به طور کامل هم راستا است.

کربلایی هادی و همکاران در سال ۱۳۹۳ ژن *NPTII* که از شاخص‌های تراریختگی در گیاهان است را بررسی کردند. ۱۷

درصد از نمونه‌های ذرت ژن تراریختگی *NptII* را داشتند [۱۹]. در پژوهش حاضر علاوه بر سویا، برای اولین بار غذای کودک نیز بررسی شد. نتایج نشان داد که ۵۲ درصد از نمونه‌های سویا و ۲۰ درصد از نمونه‌های غذای کودک بررسی شده در این پژوهش تراریخته هستند .

در سال ۲۰۱۷ آسیکیو اوغلی و همکاران در مطالعه‌ای ژن کنترل داخلی *HMG* و ژن‌های شاخص تراریختگی *Camv 35S Promotor* و *tNOS* را در مواد غذایی حاوی ذرت بررسی کردند. نتیجه به دست آمده حاکی از این بود که از ۱۱ نمونه مورد بررسی همگی از نظر ژن کنترل داخلی *HMG* مثبت و از نظر ژن‌های *Camv 35S Promotor* و *tNOS* منفی بودند .به عبارتی هیچ اثری از تراریختگی در محصولات مورد مطالعه وجود نداشت [۳]. در پژوهش حاضر، ژن آغازگر *NOS Terminator* و ژن شاخص تراریختگی *Roundup Ready* در غذای کودک و سویا بررسی شد. ۵۲ درصد از نمونه‌های سویا و ۲۰ درصد از نمونه‌های غذای کودک بررسی شده در این پژوهش تراریخته بودند.

الیوریا و همکاران در سال ۲۰۱۶ ارقام زراعی متداول و تراریخته ذرت را که به طور گسترده در برزیل کاشته شده بود مورد بررسی قرار دادند. با هدف قرار دادن ژن داخلی *HMG* ، نتایج مثبتی از همه نمونه‌هایDNA حاصل شد. هفت نمونه یعنی ۵۳/۸ درصد به عنوان دانه خشک متعارف و شش نمونه ۴۶/۲ درصد به عنوان دانه خشک تراریخته طبقه‌بندی شدند. سه نمونه ۱۱/۱ درصد از نمونه‌ها، گونه‌های متعارف ذرت شناخته شد و ۲۴ نمونه (۸۸/۹ درصد) ذرت تراریخته بودند .این نتایج نشان دهنده‌ی مصرف بالای ذرت تراریخته در محصولات فراوری شده در جنوب برزیل می‌باشد [۲۳]. نتایج پژوهش حاضر مشابه پژوهش الیوریا و همکاران است. نتایج نشان داد که ۵۲ درصد از نمونه‌های سویا و ۲۰ درصد از نمونه‌های غذای کودک بررسی شده در این پژوهش تراریخته هستند.

ویدال و همکاران در سال ۲۰۱۵ در مورد فقدان دانسته ها در مورد ایمنی و اثرات غذاهای اصلاح شده ژنتیکی که نگرانی اصلی در سراسر جهان است مقاله‌ای را ارائه دادند. برای این کار آن‌ها تفاوت‌های پروتئومیک بین دو نوع محصول ذرت را بررسی کردند. محصولاتی که دارای ژن‌های تغییر یافته *MON810* و *Cry1Ab* باشند در برابر حشرات مقاوم هستند. برای این کار از روش 2-D DIGE استفاده شد که ۹۹ جهش نقطه‌ای متفاوت بیان شده را روی ژل 2-D DIGE نشان داد و نمونه‌ها با استفاده از طیف سنجی جرمی (nESI-QTOF MS/MS) شناسایی شدند. با وجود اختلافی که بین نمونه‌ها دیده شد هیچ پروتئین سمی یا آلرژیک در محصولات تراریخته پیدا نشد. پژوهش در مورد عملکرد کیفی در محصولات مختلف ضرورت مهمی برای مصرف صنعتی مصرف‌کنندگان است [۳۰]. در پژوهش حاضر بررسی به کمک DNA و با انتخاب دو ژن آغازگر *NOS Terminator* و ژن شاخص تراریختگی *Roundup Ready* انجام شد. هدف این پژوهش شناسایی تراریختگی در محصولات بدون برچسب بود. از تمامی آنچه که گفته شد می توان نتیجه گرفت که میزان تراریختگی در نمونه‌های مورد آزمون به صورت قابل توجهی زیاد است. تمامی نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش فاقد برچسب تراریختگی بودند.

منابع

[1] Ahmed FE. Detection of genetically modified organisms in foods. Trends Biotechnology, 2002; 20: 215–223.

[2] Ajdukovic T, Nikolic K, Vujakovic Z, Milosevic M. Detection of genetically modified organisms in processed meat products on the Serbian food market. Meat Science, 2009; 81: 230-232.

[3] Asicioglu M, Yalçınkaya B, Akgoz M. Measurement of genetically modified (GM) genes in different corn products. Journal of chemical metrology, 2017; 11(2): 55-60.

[4] Beyer P, Al-Babili S, Ye X, Lucca P, Schaub P, Welsch R, Potrykus I. Golden rice: Introducing the β-carotene biosynthesis pathway into rice endosperm by genetic engineering to defeat vitamin A deficiency. The Journal of nutrition, 2002; 132(3): 506S-510S.

[5] Bruening G, Lyons JM. The case of the FLAVR SAVR tomato. California Agriculture, 2000; 54 (4): 6–7.

[6] Carpenter KJ. The work of Wallace Aykroyd: International nutritionist and author. The Journal of nutrition, 2007; 137(4): 873-878.

[7] Chen YM, Ho SC, Lam SS, Ho SS, Woo JL. Soy isoflavones have a favorable effect on bone loss in Chinese postmenopausal women with lower bone mass: A double-blind, randomized, controlled trial. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2003; 88:4740–4747.

[8] Duke SO, Powles SB. Glyphosate-Resistant Crops and Weeds: Now and in the Future. Ag Bio Forum, 2009; 2: 346-357.
[9] Elsanhoty RM, Al-Turki AI, Ramadan MF. Prevalence of Genetically Modified Rice, Maize, and Soy in Saudi Food Products. Appl Biochem Biotechnol, 2013; 171: 883–899.
[10] Eskandari F, Ebrahimi MA, Naseri HR, Zarinpanjeh N. The Optimized Method of Agrobacterium Mediated Transformation in Nitraria schoberi (Ghar-e-Dagh in Persian). J Genet Resour, 2019; 5(2): 97-103.
[11] Gurel F, Arican E, Gozukirmizi N, Ari S. Recent molecular tools for detecting transgenic events in genetically modified (GM) crop products. Sci. Res. Essays, 2011; 6: 5091-5099.
[12] Hardegger M, Brodmann P, Herrmann A. Quantitative detection of the 35S promoter and the NOS terminator using quantitative competitive PCR. European Food Research and Technology, 1999; 209(2): 83-87.
[13] Hilbeck A, Meier M, Römbke J, Jänsch S, Teichmann H, Tappeser B. Environmental risk assessment of genetically modified plants - concepts and controversies. Environ Sci Eur, 2011; 23, 13.
[14] Hockenberry M, Wilson D, Rodgers C. Wong's Essentials of Pediatric Nursing. Elsevier 3251 Riverport Lane St. Louis, Missouri 63043, 2017.
[15] Holst-Jensen A. Testing for genetically modified organisms (GMOs): past present and future perspectives. Biotechnology Advances, 2009; 27: 1071–1082.
[16] Jamshidi S, Javadi Taklimi SA, Potki P, Seighalani R. Identification of the first Transgenic Aquatic Animal in Iran by PCR-Based Method and Protein Analysis. J Genet Resour, 2017; 2 (2): 93-97.
[17] Jasur BAW, Hussein KA, Ahmed MM. Molecular detection of genetically modified organisms in seeds from local Iraqi markets, OP Conf. Series: Materials Science and Engineering, 928 062002 2nd International Scientific Conference of Al-Ayen University (ISCAU) 2020.
[18] Jonoubi P, Aminsalehi M, Razavi K, Zeinipour M. Propagation of Rosa hybrida L. cv. Coolwater Under Tissue Culture and Transformation of the RhAA Gene via Agrobacterium tumefaciens. J Genet Resour, 2019; 5(1): 38-44.
[19] Karbalee Hadi G, Shah-hosseini M, Salehi Z. Molecular Detection of Genetically Transgenic Maize Based on nptII Gene. First International Congress and 13th Iranian Genetics Congress, Tehran, 2015.
[20] Mackenzie D. Transgenic tobacco is European first. New Scientist, 1994; 41.
[21] Mandaci M, Ozgur C, Neslihan T, Sinan M, Şule A. Detection of genetically modified organisms in soy products sold in Turkish market. Food Sci. Technol, Campinas, 2014; 34(4): 717-722.
[22] Murphy DJ. The status of industrial vegetable oils from genetically modified plants, a background document for an expert meeting organised by the European Chemicals Agency. Biological Research, Universityof Glamorgan, CF37 4AT, United Kingdom, 2012.
[23] Oliveira CAM, Kommers CM, Lehmann FKM, Fonseca ASK, Ikuta N, Lunge VR. Detection of genetically modified maize in processed products, dry grains, and corn ears intended for fresh consumption in South Brazil. Genet. Mol. Res, 15(4): gmr15048818.
[24] Pietsch K, Waiblinger HU, Brodmann P, Wurz A. Deutsche Lebensm Rundsch 93, Screaning methods for identification of genetically-modified food of plant origin, Deut. Lebensm-Rundsch, 1997; 93: 35-38.
[25] Salehi-Jozani GH, Soleymani E. Reviewing the status of laws and regulations in the field of transgenic products and biosafety of the country. Deputy of Infrastructure Research and Production Affairs, 2018; Subject code: 250.
[26] Sarmadi A, Alemzadeh A, Ghareyazie B. PCR-based Detection of Genetically Modified Soybean at a Grain Receiving Port in Iran. J. Agr. Sci. Tech, 2016; 18: 805-815.
[27] Sattarzade A, Rahnema H, Nikmard M, Gareiazi B. Tracing nptII gene and nos promoter in the gastrointestinal tract and tissues of transgenic potato-fed rats. Genetic Engineering and biosafety Journal, 2014; 2 (1): 37-48.
[28] Schutte G, Eckerstorfer M, Rastelli V, Reichenbecher W. Restrepo-Vassalli S. Ruohonen-Lehto M. Herbicide resistance and biodiversity: agronomic and environmental aspectsof genetically modified herbicide-resistant plants. Environ Sci Eur, 2017; 29:5.
[29] Sieradzki Z, Walczak G, Kwlatek K. Occurrence of genetically modified maize and soybean in animal feedingstuffs. Journal of Bull Vet Inst Pulawy, 2006; 51: 567-570.
[30] Vidal N, Barbosa H, Jacob S, Arruda M. Comparative study of transgenic and non-transgenic maize (Zea mays) flours commercialized in Brazil, focusing on proteomic analyses. Food Chemistry, 2015; 180: 288-294.
[31] Wilkinson MJ, Ford CS. Estimating the potential for ecological harm from gene flow to crop wild relatives. Collection of Biosafety Reviews, 2007; 3: 42-63.

[32] Zakavi M, Tohidfar M. An overview of the global economy and the commercial aspects of Genetically Modified crops. Journal of Biosafety, 2017; 10 (2): 73-90.

[33] Zhang L, Cao Y, Liu X, Wu G, Wu Y, Lu C. In-depth analysis of the endogenous reference genes used in the quantitative PCR detection systems for rice. European Food Research Technology, 2012; 234: 981–993.

Detection of transgenic soybeans through *Nos terminator* and *Roundup ready* genes in baby food samples

Kavosi M.*, Tayefekhani F.

Department of Biology, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

* (Corresponding author): mkavosi@yahoo.co.uk

Received: February 2024 Accepted: June 2024

Abstract

A large amount of soy consumed in Iran is imported and transgenic, but there is no system for labeling transgenic products, even baby food. In this study, PCR assay of *NOS Terminator primer* gene and *Roundup Ready* transgenic marker gene was used to identify Randup-resistant transgenic soybean in baby food. 25 samples of soy and 25 samples of baby food were collected randomly. After DNA extraction with TLAB brand tissue extraction kit and DNA concentration and quality, PCR was performed. The results showed that with 95% confidence we can say that there is no significant relationship between the presence of *NOS Terminator* in soy and baby food. While with 95% confidence we can say that there is a significant relationship between the presence of Roundup Ready in soy and baby food. The amount of transgenic soy used in baby food is less than transgenic soy studied in this study. It can be concluded that the rate of transgenics in the tested samples is significantly higher. None of these products had a transgenic label.

Keywords: GMO, Soybean, Baby food, *NOS Terminator*, *Roundup Ready*.