J TOLOO E BEHDASHT, School of Public Health, Yazd Shahid Sadoughi Univ Med Sci

ORIGINAL ARTICLE

Received:2018/12/12 *Accepted:2019/02/05*

Study and Comparison of Genetically and Non-Genetically Modified Rice from View Point of Possibility of Gene Transferring in Blood of Labouraty Animal

Bahador Haji Mohammadi (Ph.D.)[1],Gilda Eslami (Ph.D.)[2], Mahsa Aalaei (M.Sc.)[3], Mohammad Hassan EhramPoush (Ph.D.)[4], Mohammad Ebrahim Rezvani (Ph.D.)[5], Hossein Fallahzadeh (Ph.D.)[6], Mehrnooush Shirdeli (M.Sc.)[7]

1.Assistant Professor, Research Center for Health and Food Safety, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
2.Associate Professor, Research Center for Health and Food Safety, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
3.Corresponding Author: M.Sc. Student of Hygien and Food Safety, Research Center for Health and Food Safety, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran. Email: aalaeimahsa@gmail.com Tel: 09137494179
4.Professor, Department of Environmental Health, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
5.Associate Professor, Department of Medical Physiology, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
6.Professor, Research center of prevention and Epidemiology of non-communicable disease, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
7.M.Sc. Student of Hygien and Food Safety, Research Center for Health and Food Safety, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

Abstract

Introduction: Genetically modified plants species of plants are produced by the genetic engineering of agricultural science and the addition of specific genes in their genetic sequences with the aim of optimizing the product and creating desirable traits. This study examined the remains of *Cry1A(b)* and P35 genes in blood of rats fed with genetically modified rice.

Methods: This study was experimental and interventional and the study population included male and female rats Sprague Dawley (SD), which were divided into two treatment and control groups according to the type of food received. The first group consisted of 50% of the genetically modified rice and second group consisted of 50% of non-genetically modified rice. sampling and DNA extraction from the blood was done after 90 days of feeding the rats with the nutritional pattern using a kit. Quantitative and qualitative study of extracted DNA was performed using agarose gel electrophoresis and spectrophotometry, respectively.

Results: Amplification product with targets P35, *Cry1A(b)* and T35 was studied using agarose gel electrophoresis 1.5%, which showed that blood samples were negative for the presence of transgenic genes.

Conclusion: The results showed no significant difference in the presence of transgenic genes of p35 and *Cry1A(b)* in the blood tissue of the treatment and control groups of rats. Therefore, the results of this study reject the possibility of gene transfer to the existing organs of the consumers. Results of this study showed that there is no difference between safety of genetically and non-genetically modified rice from viewpoint of gen transferring.

Keywords: Transgenic Rice, Rat Sprague Dawley, Blood, *Cry1A (b)*, P35

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

[Downloaded from tbj.ssu.ac.ir on 2024-10-19]

[DOI: 10.18502/tbj.v17i7.854]

This Paper Should be Cited as:
Author : Bahador Haji Mohammadi,Gilda EIslami, Mahsa Aalaei, Mohammad Hassan EhramPoush, Mohammad Ebrahim Rezvani, Hossein Fallahzadeh, Mehrnooush Shirdeli. Study and Comparison of Genetically and Non-Genetically Modified Rice from …Tolooebehdasht Journal.2019;18(1):58- 70.[Persian]

طلوع بهداشت

دو ماهنامه علمی پژوهشی
دانشکده بهداشت یزد
سال هیجدهم
شماره اول
فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸
شماره مسلسل: ۷۳

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۰۹/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۱۶

بررسی و مقایسه ایمنی برنج تراریخته و غیر تراریخته از نظر امکان انتقال ژن به خون حیوان آزمایشگاهی

نویسندگان: بهادر حاجی محمدی[۱]، گیلدا اسلامی[۲]، مهسا اعلایی[۳]، محمد حسن احرام پوش[۴]، محمدابراهیم رضوانی[۵]، حسین فلاح زاده[۶]، مهرنوش شیردلی[۷]

۱. استادیار مرکز تحقیقات سلامت و ایمنی غذا، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد،ایران.

۲.دانشیار مرکز تحقیقات سلامت و ایمنی غذا، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی ، یزد،ایران.

۳. نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی، مرکز تحقیقات سلامت و ایمنی غذا، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی ،یزد، ایران. تلفن تماس: ۰۹۱۳۷۴۹۴۱۷۹ Email:aalaeimahsa@gmail.com

۴. استاد گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران.

۵. دانشیار گروه فیزیولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد،ایران.

۶. اســـــتاد مرکز تحقیقات پیشگیری و اپیدمیولوژی بیماری‌های غیر واگیر،دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی ، یزد،ایران.

۷. دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی، مرکز تحقیقات سلامت و ایمنی غذا، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی ، یزد، ایران.

چکیده

مقدمه: گیاهان تراریخته یا اصلاح ژنتیک شده انواعی از گیاهان هستند که با اهداف افزایش راندمان تولید محصول و ایجاد صفات مطلوب مانند مقاومت به آفات و بیماری‌ها و... از طریق علم مهندسی ژنتیک کشاورزی و افزودن ژن‌هایی خاص در توالی ژنوم آنها تولید می‌شود. در این تحقیق به بررسی بقایای ژن cryIA(b) و P35 در خون رت‌های تغذیه شده با برنج تراریخته پرداخته شد.

روش بررسی: این مطالعه از نوع تجربی مداخله‌ای و جمعیت مورد مطالعه شامل رت‌های نر و ماده (SD) Sprague Dawley بودند که از نظر نوع غذای دریافتی به ۲ گروه تیمار و شاهد تقسیم شدند. گروه اول شامل ۱۰ رت (۵ نر و ۵ ماده) با مصرف غذایی ۵۰ درصد برنج تراریخته طارم مولایی از کل کربوهیدرات مورد نیاز و گروه دوم شامل ۱۰ رت (۵ نر و ۵ ماده) با مصرف غذایی ۵۰ درصد برنج غیر تراریخته طارم مولایی از کل کربوهیدرات مورد نیاز بودند. پس از ۹۰ روز از خوراندن رت‌ها با الگوی تغذیه مزبور، نمونه گیری از خون صورت پذیرفت. استخراج DNA از خون با استفاده از کیت و بر اساس دستورالعمل همراه انجام شد. بررسی کیفی و کمی DNA استخراج شده به ترتیب با استفاده از آگارز ژل الکتروفورز و اسپکتروفتومتری انجام گرفت. وجود ژن تراریختگی در خون با استفاده از پرایمرهای اختصاصی cryIA(b)، T35 و P35 مورد بررسی قرار گرفت و محصول تکثیر شده با استفاده از آگارز ژل الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: با استفاده از آگارز ژل الکتروفورز نتایج تکثیر مشخص شد که ژن تراریختگی در نمونه‌های خون رت‌های مورد بررسی در این مطالعه یافت نشد.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج، هیچ تفاوت معناداری از نظر حضور ژن تراریختگی در خون گروه‌های شاهد و مداخله رت‌ها مشاهده نشد. لذا نتایج این تحقیق احتمال انتقال ژن به خون موجود مصرف‌کننده برنج تراریخته را رد می‌کند. یافته های این پژوهش نشان داد که هیچ گونه تفاوتی بین ایمنی برنج تراریخته و غیر تراریخته از نظر امکان انتقال ژن وجود ندارد.

واژه‌های کلیدی: برنج تراریخته، رت Sprague Dawley، خون، Cry IA(b)، P35

این مقاله بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بهداشت و ایمنی مواد غذایی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد می‌باشد.

[Downloaded from tbj.ssu.ac.ir on 2024-10-19]

[DOI: 10.18502/tbj.v17i7.854]

مقدمه

طبق تعریف سازمان جهانی بهداشت (WHO)، تراریخته به گیاهان، جانوران یا موجودات میکروسکوپی گفته می‌شود که ترکیب ژنتیکی آنها به طریقی اصلاح شده که در طبیعت از راه جفت‌گیری یا نوترکیبی طبیعی اتفاق نمی‌افتد. گیاهان تراریخته یا اصلاح ژنتیکی شده انواعی از گیاهان هستند که با اهداف بهینه سازی محصول و ایجاد صفات مطلوب مانند مقاومت به آفات و بیماری‌ها و نیز تحمل شرایط خشکی یا کیفیت برتر محصول از طریق علم مهندسی ژنتیک کشاورزی و افزودن ژن هایی خاص، با استفاده از ارگانیسم های دهنده متفاوتی از جمله باکتری Bacillus thurigiensis در توالی ژنتیک آن ها تولید می‌شود. این اهداف عمدتاً شامل افزایش بازدهی اقتصادی تولید محصول، مقاومت به علف کش‌ها، مقاومت به آفات و کاهش استفاده از سموم شیمیایی مصنوعی در مزارع کشاورزی است (۳-۱). هم چنین برخی از گزارشات حاکی از آن است که خطر وجود انواع سموم قارچی نظیر آفلاتوکسین در غلات تراریخته در مقایسه با انواع رایج و غیرتراریخته آن به طور قابل توجهی کمتر است (۹-۴).

تولید مواد غذایی تراریخته از نظر تاریخچه قدمت زیادی ندارد و اولین گیاه تراریخته در سال ۱۹۹۶ تولید شد. با این حال، به دلیل تأثیر شگرف این فناوری جدید در بازار تجارت مواد غذایی کشاورزی، تولید این محصولات به سرعت در سرتاسر جهان گسترش یافت. بر اساس آخرین گزارشات موجود در سال ۲۰۱۴، تعداد ۱۸ میلیون نفر کشاورز در ۲۸ کشور دنیا مساحتی درحدود ۱۸۱/۵ میلیون هکتار را به کشت محصولات غذایی تراریخته اختصاص داده‌اند که سطح زیر کشت در مقایسه با سال ۱۹۹۶ بیش از ۱۰۰ درصد افزایش یافته است. آمریکا، برزیل، آرژانتین، هند، کانادا و چین به ترتیب بزرگترین کشورهای تولید کننده مواد غذایی تراریخته هستند (۱۰، ۱۱).

همگام با تولید انبوه و روزافزون انواع محصولات غذایی تراریخته، نگرانی‌هایی در مورد ایمنی و خطرات ناخواسته ناشی از مصرف آنها در سلامت انسان ابراز شده است، بطوری که طی دهه اخیر همواره موضوع ایمنی غذای تراریخته در کانون توجهات نه تنها جامعه علمی بلکه افکار عمومی قرار داشته است (۱۳-۱۰). انتشار نظراتی در مورد خطرات مهلک مصرف مواد غذایی تراریخته از جمله تولید سموم جدید و ناشناخته، سرطانزایی، ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بدن و آلرژی‌زایی شبهاتی نزد برخی از گروه‌های مصرف کنندگان در برخی از کشورها ایجاد کرده است (۳،۱۴). استدلالی که در این خصوص به طور عمده توسط گروه‌های مخالف تولید مواد غذایی تراریخته مطرح می‌شود بر این پایه است که ورود ژن بیگانه به گیاه هدف شاید به علت تداخل DNA خارجی با DNAسلول بدن، واکنش‌های ناخواسته‌ای ایجاد کند و با فعال کردن ژن‌های خاموش و یا کاهش فعالیت ژن‌های فعال، موجب اختلال در متابولیسم بدن و یا تولید سموم پروتئینی نوظهور شود (۱۷- ۱۵). البته تاکنون هیچ یک از خطرات مورد اشاره از نظر علمی به اثبات نرسیده است و اظهار نظر دقیق تر نیاز به تحقیقات تکمیلی بیشتری دارد.

در واقع هنگامی که یک ژن جدید به ژنوم گیاهی منتقل می‌شود، به طور معمول نتیجه نهایی آن تولید یک یا چند پروتئین جدید است. گاهی اوقات پروتئین‌های بیان شده در

[Downloaded from tbj.ssu.ac.ir on 2024-10-19]

[DOI: 10.18502/tbj.v17i7.854]

گیاهان تراریخته می‌توانند در رژیم غذایی انسان کاملاً جدید باشند. بنابراین بررسی پایداری و انتقال DNA تراریخته و یا قطعات حاصل از تجزیه آن‌ها در دستگاه گوارش و بافت‌های انسان و حیوانات مصرف کننده مسئله بسیار مهمی در ایمنی غذای تراریخته می‌باشد. در برنج تراریخته طارم مولایی، ژن cry1A(b) از باکتری Basillus turingiensis گرفته شده است که مولد پروتئینی است که باعث ایجاد مقاومت برنج علیه کرم ساقه خوار می‌گردد.

از نظر علوم پایه پزشکی، پیش نیاز آسیب زایی هر ماده خوراکی، جذب آن از طریق روده و حضور متابولیت‌های آن به ویژه متابولیت‌های ژنومی یا پروتئینی در خون و بافت‌های مختلف بدن است. همچنین با توجه به مصرف بالای برنج به عنوان قوت غالب در کشورمان و نیز بدلیل اهمیت تجاری و اقتصادی این محصول، اقدام برای افزایش راندمان و کیفیت آن ضروری می‌باشد، لذا برنج تراریخته طارم مولایی با همین هدف تولید شده است. در این تحقیق برای اولین مرتبه در ایران، به بررسی بقایای ژن‌های cry1A(b) و P35 در خون رت‌های تغذیه شده با برنج تراریخته پرداخته شد.

روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی مداخله‌ای و جمعیت مورد مطالعه شامل ۲۰ قطعه رت نر و ماده Sprague Dawley (SD) ۴ تا ۵ هفته‌ای با وزن تقریبی ۲۰۰ گرم بودند که از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی تهیه شد. جهت کاهش استرس محیطی رت‌ها ۵ روز قبل از آغاز آزمایش در حیوان‌خانه نگهداری شدند. طی این مدت ازجیره غذایی معمولی برای همه رت ها استفاده شد.

رت‌ها از نظر نوع غذای دریافتی به ۲ گروه تیمار و شاهد تقسیم شدند. گروه اول دارای مصرف غذایی ۵۰ درصد برنج تراریخته (طارم مولایی) و گروه دوم دارای مصرف غذایی ۵۰ درصد برنج غیر تراریخته (طارم مولایی) بودند. همچنین رت‌های هر گروه شاهد و تیمار خود به دو گروه نر و ماده تقسیم شدند که در هر گروه ۵ رت قرار داشت.

جیره غذایی رت ها توسط موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به صورتی تهیه و آماده‌سازی شد که از مجموع جیره کربوهیدرات که به صورت استاندارد برای رت‌ها تهیه می‌شود، ۵۰ درصد برنج تراریخته برای گروه‌های تیمار و همین مقادیر برنج غیرتراریخته برای گروه‌های شاهد در نظر گرفته شده بود. انواع برنج تراریخته و غیر تراریخته از نوع برنج طارم مولایی شمال ایران بود که از پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران تهیه شد. برنج تراریخته دارای ژن مقاوم به آفات بود که از باکتری Bacillus turingiensis دریافت شده بود. هم چنین تغذیه رت‌ها به صورت آزاد و ad libitum بود. طی ۹۰ روز این رژیم برای همه گروه‌ها در نظر گرفته شد. رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد و دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتیگراد در تمامی مدت انجام تحقیق در حیوان خانه ثابت نگه داشته شد. سیکل نور به صورت ۱۲ ساعت روشن و ۱۲ ساعت خاموش تنظیم شد. رت‌ها به صورت روزانه از نظر بالینی مورد بررسی قرار می‌گرفتند. پس از ۹۰ روز از خوراندن رت‌ها با الگوی تغذیه عنوان شده در بالا، نمونه از خون آنها گرفته شد. به طوری که ابتدا موش‌ها با داروی کتامین هیدروکلراید بیهوش شدند و پس از بیهوشی عمیق، خونگیری از قلب انجام شد و نمونه‌های خون جهت انجام آزمایشات بعدی در فریزر۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره و

[Downloaded from tbj.ssu.ac.ir on 2024-10-19]

[DOI: 10.18502/tbj.v17i7.854]

نگهداری شد. کلیه مراحل آزمایشات طبق پروتوکل استاندارد اخلاق در پژوهش و بر اساس موازین اخلاقی کار روی حیوانات آزمایشگاهی صورت پذیرفت. طراحی و انجام آزمایشات به صورت دو سوکور (double blind) انجام شد.

استخراج DNA از خون با استفاده از کیت (Biotech, Korea Exgene Cell SV (#106-101, GeneAll و بر اساس دستورالعمل همراه انجام گرفت. بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده به ترتیب با استفاده از آگارز ژل الکتروفورز و اسپکتروفتومتری انجام شد.

به منظور اطمینان از حضور یا عدم حضور پروموتر P35 و T35، به ترتیب از پرایمرهای P35، T35، T35S و با استفاده از واکنش Conventional PCR صورت پذیرفت. هم چنین جهت بررسی حضور(Cry IA(b، از پرایمر CryIA(b) I و CryIA (b)II به روش nested-PCR و از پرایمر CryIA(b)III به روش Conventional PCR استفاده شد که توالی پرایمرهای مربوطه در جدول (۱) نشان داده شده است. هم چنین برنامه‌های تکثیر در جدول (۲) نشان داده شده است. جهت بررسی محصولات تکثیر از آگارز ژل الکتروفورز ۱ تا ۲ درصد استفاده شد و مشاهده قطعات با دستگاه ژل داک انجام گرفت.

این مطالعه با اخذ مجوز از کمیته سازمانی اخلاق در پژوهش دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد با شماره کد اخلاق IR.SSU.SPH.REC.1395.70 انجام شد.

جدول ۱: اطلاعات مربوط به جفت پرایمرهای مورد استفاده در بررسی الگوی بیان ژن‌های تراریختگی و کنترل

نام آغازگر	توالی آغازگر('3 → '5)	ژن هدف	طول محصول PCR (bp)	منبع
CryIA(b)-FI	CGGCCCCGAGTTCACCTT	CryIA(b)	189	Opara et al., (2016)
CryIA(b)-RI	CAACAACATCATCCCCAGCAG			
CryIA (b)-FII	CCGCACCCTGAGCAGCAC	CryIA(b)	420	Zaulet et al., (2009)
CryIA(b)-RII	CCCCTCAGAACAACAACGTGCCACC			
T35-F	CGGGGGATCTGGATTTTAGTA	35S terminator	137	Debode et al., (2013)
T35-R	AGGGTTCCTATAGGGTTTCGCTC			
T35S-F	AGGGTTTCTTATATGCTCAACACATG	35S terminator	118	Debode et al., (2013)
T35S-R	CACCAGTCTCTCTCTACAAATCTATCAC			
P35-F	GCTCCTACAAATGCCATCA	35S promotor	194	Iso 2156:2005
P35-R	GATAGTGGGATTGTGCGTCA			
CryIA(b)-FIII	ACCGGTTACACTCCCATCGA	CryIA*(b)*	1400	Ghareyazie, (1997)
CryIA(b)-RIII	CAGCACCTGGCACGAACTC			

[Downloaded from tbj.ssu.ac.ir on 2024-10-19]

[DOI: 10.18502/tbj.v17i7.854]

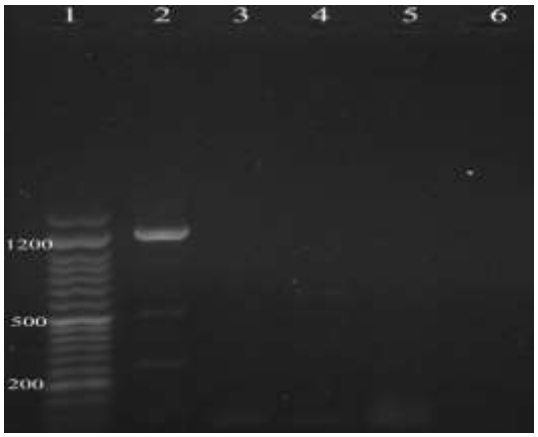
جدول ۲: زمان و دمای استفاده شده واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای آغازگرهای اختصاصی و کنترل داخلی

ژن هدف	واسرشت‌سازی اولیه	واسرشت سازی	اتصال آغازگر	گسترش	گسترش نهایی	تعداد سیکل
CryIA(b)I	۵ min at ۹۴ °C	۳۰sec at ۹۴ °C	۳۰sec at ۶۲/۵ °C	۳۰sec at ۷۲ °C	۵ min at ۷۲ °C	۳۲
CryIA(b)II	۵ min at ۹۴ °C	۳۰sec at ۹۴ °C	۳۰sec at ۶۰ °C	۳۰sec at ۷۲ °C	۵ min at ۷۲ °C	۳۲
T35	۵ min at ۹۴ °C	۳۰sec at ۹۴ °C	۳۰sec at ۵۸ °C	۳۰sec at ۷۲ °C	۵ min at ۷۲ °C	۳۲
T35S	۵ min at ۹۴ °C	۳۰sec at ۹۴ °C	۳۰sec at ۵۹/۳ °C	۳۰sec at ۷۲ °C	۵ min at ۷۲ °C	۳۲
P35	۵ min at ۹۴ °C	۳۰sec at ۹۴ °C	۳۰sec at ۵۵ °C	۳۰sec at ۷۲ °C	۵ min at ۷۲ °C	۳۲
CryIA(b)III	۵ min at ۹۴ °C	۳۰sec at ۹۴ °C	۳۰sec at ۶۰/۵ °C	۳۰sec at ۷۲ °C	۵ min at ۷۲ °C	۳۲

یافته‌ها

رت‌ها به طور روزانه از نظر بالینی مورد بررسی قرار می‌گرفتند که طی این مدت علایم بالینی غیر طبیعی و متفاوتی در هیچ یک از گروه‌ها مشاهده نشد. همچنین طی دوره ۹۰ روزه تحقیق، هیچ مورد مرگ یا بیماری در هیچ یک از رت های گروه های شاهد و مداخله دیده نشد. بررسی کیفی آگارز ژل الکتروفورز ۰/۸ درصد نشان داد که همه نمونه‌ها دارای یک باند مشخص بوده و هیچ شکستگی در DNA استخراج شده وجود ندارد. بررسی کمی، بوسیله روش اسپکتروفتومتری در طول موج‌های ۲۶۰nm و ۲۸۰nm انجام شد که میانگین غلظت DNAاستخراج شده معادل ۳۳/۶۷±۳ ng/µl و میانگین خلوص آن معادل ۱/۶۷±۰/۲۶ بود.

نتیجه تکثیر با اهداف P35، CryIA(b) و T35 توسط پرایمرهای P35، CryIA(b)I، CryIA(b)II، T35 و T35Sو با استفاده از ژل آگارز الکتروفورز ۱/۵ درصد انجام گرفت و نتایج حاصل مشخص کرد که هیچ‌کدام از پرایمرها دارای تکثیر نبودند.محصول تکثیر توسط پرایمر CryIA(b)III، با استفاده از ژل آگارز الکتروفورز ۱/۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاصل در تصویر (۱) آمده است و نشان از منفی بودن نمونه‌های خون از نظر حضور ژن‌های تراریختگی بود.



تصویر ۱: آگارز ژل الکتروفورز جهت بررسی نتایج تکثیر با استفاده از پرایمر CryIA(b) III. ستون ۱: 50 bp DNAladder، ستون ۲: نمونه حاوی ژن CryIA(b) III، ستون ۶-۳: نمونه‌های DNA، ستون ۷: نمونه منفی (آب مقطر)، قطعه مورد انتظار ۱۴۰۰ bp بود.

[Downloaded from tbj.ssu.ac.ir on 2024-10-19]

[DOI: 10.18502/tbj.v17i7.854]

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر که بر روی رت‌های نژاد SD با هدف بررسی بقایای ژن‌های تراریختگی ناشی از مصرف برنج تراریخته طارم مولایی انجام گرفت نشان داد هیچ تفاوت معناداری از نظر باقی ماندن و حضور ژن‌های تراریختگی p35 و cry1A(b) در بافت خون گروه‌های شاهد و مداخله رت‌ها وجود ندارد. در سال ۲۰۰۳، پژوهشی به بررسی حضور DNA گیاهان تراریخته در بافت‌های شکمبه، دوازدهه، شیر، مدفوع و خون گاوهای شیرده تغذیه شده با کنجاله سویا و دانه ذرت تراریخته پرداختند که نتایج نشان داد، ژن‌های تراریختگی (cp4epsp & cry1a[b]) تنها در فاز جامد شکمبه و دوازدهه وجود دارد، اما در هیچ یک از نمونه‌های خون مورد بررسی یافت نشد که با یافته های مطالعه حاضر و نیز پژوهش انجام شده توسط Einspanier و همکاران (۲۰۰۱) هم خوانی دارد (۲۳). در حالیکه قطعات ژن Rubisco در اکثر نمونه‌های مورد بررسی در هر دو فاز مایع و جامد از شکمبه، دوازدهه، شیر، مدفوع و به ندرت در خون تشخیص داده شد. همچنین اندازه قطعات ژن Rubisco از ۱۱۷۶ جفت باز (bp) درشکمبه و دوازدهه تا ۳۵۱ جفت باز (bp) در نمونه‌های مدفوع، کاهش یافت. به گفته محققان این پژوهش، علت عدم حضور قطعات DNA ۱۱۷۶ جفت باز (bt) در نمونه های مدفوع ممکن است ناشی از تخریب DNA ماده غذایی در دستگاه گوارش باشد به طوریکه تنها قطعات با اندازه کوچک حضور داشتند که این نتایج در تضاد با نتایج مطالعه Einspanier و همکاران (۲۰۰۱) است. در واقع تشخیص هر DNA گیاهی در مدفوع به احتمال زیاد تحت تأثیر تعدادی از عوامل، از جمله فرم تغذیه رژیم غذایی (به عنوان مثال، دانه کامل یا خوراک پردازش شده) و نیز تعداد نسخه و میزان تکثیر قطعات DNA می‌باشد که گاهی به دلیل تعداد کم قطعات تکثیر شده، تشخیص داده نمی شوند (۲۴).

طی تحقیق Artim و همکاران (۲۰۰۴)، بر روی بافت‌های مختلف حیوانات از جمله گاو، جوجه‌های گوشتی، گوساله و خوک‌های تغذیه شده با ذرت تراریخته (MON810)، حضور ژن چند نسخه‌ای (rbcl) Rubisco را در نمونه‌های عضله گاوهای پرواری، جوجه‌های گوشتی و خوک‌ها و هم چنین در نمونه‌های شیر گاوهای شیری گزارش کردند. در صورتیکه قطعات DNA تراریخته تک نسخه‌ای *P35* در هیچ کدام از نمونه‌های بافت حیوانی مورد بررسی از جمله شیر و نمونه‌های ماهیچه جوجه‌ها و گاو مشخص نشد که با نتایج پژوهش ما مطابقت دارد. همچنین بررسی‌ها نشان داد تعداد نسخه‌های ژن می‌تواند به عنوان عامل مهمی در شناسایی و تشخیص توالی DNA گیاهی در بافت‌های حیوانی باشد و تفاوت در تشخیص ژن‌های هدف چند نسخه‌ای و نیز عدم تشخیص ژن‌های هدف تک نسخه‌ای، حاکی از تخریب سریع آنها در دستگاه گوارش حیوانات است که مشابه با نتایج مطالعه Phipps و همکاران (۲۰۰۳) می‌باشد (۲۴،۲۵). در توافق با پژوهش Aritm و همکاران (۲۰۰۴) و Phipps و همکاران (۲۰۰۳)، نتایج تحقیقی که به بررسی سرنوشت هضم DNA و پروتئین دانه‌های ذرت تراریخته (MON810) و نیز بقایای آن در نمونه عضله جوجه‌ها پرداختند، حاکی از عدم وجود بقایای پروتئین‌ها و ژن‌های تراریخته (*Cry1A*[*b*] و sh2) در عضله سینه جوجه‌ها بود و به گفته پژوهشگران این تحقیق علت این موضوع، می تواند مربوط به تخریب سریع آن ها در دستگاه گوارش حیوان باشد (۲۶).

[Downloaded from tbj.ssu.ac.ir on 2024-10-19]

[DOI: 10.18502/tbj.v17i7.854]

پژوهشی که در سال ۲۰۰۵ بر روی جوجه‌های مصرف کننده ذرت و سویای تراریخته پرداختند، نشان داد هیچ یک از ژن‌های تک نسخه‌ای تراریخته در نمونه‌های خون یا بافت حیوان وجود نداشت. که این یافته‌ها مشابه با نتایج تحقیق حاضر و نیز مطالعات مشابه می‌باشد (۲۸، ۲۷، ۲۶، ۲۴). با این حال، مطابق با یافته های پژوهش دیگری ژن چند نسخه‌ای Rubisco در بخشی از نمونه بافت‌ها (۲۳ درصد از کل بافت‌های مورد مطالعه) و به تعداد کمی در خون تشخیص داده شد (۲۹). که به گفته برخی محققان، قابلیت شناسایی قطعات ژن چند نسخه‌ای گیاهی مانند Rubisco تابع تعداد نسخه آنهاست (۳۰). همچنین DNA حاصل از رژیم غذایی مصرفی، از تخریب کامل در روده بزرگ مقاومت کرد که این یافته در توافق با مطالعه Tony و همکاران است و نشان دادند DNA ذرت مصرف شده نسبت به تخریب کامل در دستگاه گوارش جوجه‌ها مقاوم است و جذب ضعیفی دارد (۳۱). همچنین ژن‌های تراریخته (cry1a[b] و cp4epsps) ۹۶ ساعت پس از آخرین تغذیه با رژیم غذایی درمانی حاوی ذرت و کنجاله سویای تراریخته، در سنگدان یافت شد، اما در نمونه دوازدهه تشخیص داده نشد. به عقیده پژوهشگران تحقیق یاد شده، تعیین سرنوشت DNA تحت تأثیر تعدادی از عوامل از جمله تعداد نسخه ژن، میزان قطعه قطعه شدن DNA، روش استخراج، نوع نمونه و نیز حضور مهار کننده‌ها در آزمون PCR قرار می‌گیرد (۳۲).

قطعات نسبتاً کوچکی از ژن‌های تراریخته در سویای GM همانند DNA بومی سویا، در دستگاه گوارش فوقانی بدن انسان زنده می‌ماند اما تا زمان رسیدن به روده بزرگ به طور کامل تجزیه می‌شود. لذا بعید به نظر می‌رسد که این ژن‌ها عملکرد طبیعی دستگاه گوارش را تغییر دهد یا خطری برای سلامتی انسان ایجاد کند (۳۳). هم چنین Świątkiewicz و همکاران در پژوهشی قطعات نسبتاً کوچک ژنهای تک نسخه‌ای RR و Bt را در تمام نمونه‌های محصولات گیاهی و محتویات سنگدان جوجه‌ها کشف کردند، اما در هیچ یک از نمونه‌های دوازدهه، ژژنوم، ایلئوم، سکوم، مدفوع و بافت‌هایی از جمله (خون، کبد، طحال و سینه) جوجه‌های مصرف کننده سویا و ذرت تراریخته را شناسایی نکردند که تا حدودی با نتایج حاصل از پژوهش ما مشابهت دارد (۳۴).

بر اساس یافته های حاصل از مطالعه Oraby و همکاران (۲۰۱۴)، که به ارزیابی احتمال انتقال افقی ژن تراریختگی از کلم (caMVP35S) حاوی قطعات DNA از پروموتور S ۳۵ ویروس موزاییک کلم (caMVP35S) به سلول‌های بافت‌های خون، کبد و مغز رت‌ها به مدت ۳ ماه پرداختند، قطعات ژن تراریخته وارد بافت‌های خون، کبد و مغز رت‌های آزمایشی شدند که بر خلاف نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر می‌باشد و ممکن است ناشی از احتمال وجود آلودگی در طی انجام آزمایش، نوع رژیم غذایی مورد مصرف رت‌ها و یا نژاد رت-های مورد بررسی در این تحقیق باشد. همچنین با افزایش طول دوره زمانی تغذیه، مقدار حضور این ژن‌ها افزایش یافت به طوریکه فراوانی کل انتقال توالی DNA هدف به نمونه‌های DNA مورد بررسی از خون، کبد و مغز در رت‌های تغذیه شده پس از ۳۰ و ۶۰ روز، به ترتیب از ۳۳/۳ به ۳۷ درصد افزایش یافته است و به بالاترین سطح ۵۲/۸ درصد پس از ۹۰ روز از تغذیه با رژیم غذایی تراریخته رسید (۳۵). به گفته محققان پژوهش یاد شده این نتایج حاکی از اثرات تجمعی بافت‌های خون، کبد و

[Downloaded from tbj.ssu.ac.ir on 2024-10-19]

[DOI: 10.18502/tbj.v17i7.854]

مغز می‌باشد و بر خلاف نتایج مطالعه Mazza و همکاران (۲۰۰۵) می‌باشد که یک کاهش تصاعدی در تشخیص DNA در بافت‌های هدف را گزارش کردند (۳۶). بنابراین، احتمال اینکه اندام‌هایی مانند کبد، کلیه و طحال، اثرات تجمعی را به وجود آورند، وجود ندارد. همچنین نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده خطرات بهداشتی همراه با مصرف رژیم‌های غذایی حاوی پروموتر ۳۵S ویروس موزائیک گل کلم می‌باشد، زیرا ویروس موزائیک گل کلم ارتباط نزدیکی با ویروس هپاتیت B دارد. در طول زمان انجام این تحقیق (۹۰ روز)، با مقایسه انتخابی بافت از سه بافت (خون، کبد و مغز)، تفاوت معنی‌داری در میزان انتقال DNA تراریخته به این بافت‌ها مشاهده نشد. در یک تحقیق انجام شده توسط Mazza و همکاران (۲۰۰۵) خون به عنوان بافتی با بیشترین میزان انتقال، همراه با بافت‌های غنی از رگ‌های خونی و درگیر در فیلتراسیون، مانند کبد و کلیه، شناسایی شد. در واقع آنها نتیجه گرفتند که خون، بافت اصلی در جذب قطعات کوتاه DNA است، زیرا ماکرومولکول‌هایی که به طور مستقیم توسط اپیتلیوم روده و سلول‌های سیستم ایمنی جذب می‌شوند را جمع‌آوری می‌کند و مولکول‌های DNA می‌توانند از طریق گردش خون به اندام‌های بدن انتقال یابند. همچنین نتایج نشان داد که فراوانی جذب قطعات بزرگتر DNA هدف بیشتر از قطعات کوچکتر بود (۳۶).

در بررسی حاضر هیچ تفاوت معناداری از نظر باقی ماندن و حضور ژن‌های تراریختگی *p35* و cry1A(b) در بافت خون گروه‌های شاهد و مداخله رت‌ها مشاهده نشد. لذا نتایج این پژوهش احتمال انتقال ژن به اندام‌های موجود مصرف‌کننده تراریخته را رد می‌کند. یافته های این تحقیق نشان داد که هیچگونه تفاوتی بین ایمنی برنج ترایخته و غیر تراریخته از نظر امکان انتقال ژن وجود ندارد.

با این‌حال با توجه به اهمیت این موضوع، لزوم انجام تحقیقات مشابه دیگر ضروری است. چراکه محصولات تراریخته اکنون در اکثر نقاط جهان در حال مصرف است و لذا آزمایشات ارزیابی ایمنی این محصولات باید به طور دقیق و مستمر انجام شود.

اگرچه یافته های این مطالعه نشان داد که ژن تراریختگی برنج تراریخته طارم مولایی به خون حیوان آزمایشگاهی منتقل نمی-شود اما برای هر شناسه ژنتیکی منحصر به فرد یا رخداد (event) تراریخته، باید تحقیق دیگری به طور جداگانه انجام گردد. زیرا به طور کلی در مورد ارزیابی ایمنی محصولات تراریخته، باید ایمنی به صورت مورد به مورد(case by case assessment) ارزیابی شود و ایمن بودن یک رخداد یا نوع خاص محصول تراریخته به هیچ وجه قابل تعمیم به سایر محصولات نیست.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می دارند که در این تحقیق هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله نویسندگان مراتب تشکر و امتنان خود را از مسئولان محترم این دانشگاه بابت حمایت مالی از انجام این تحقیق اعلام می کنند. هم چنین از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی برای تهیه و فرمولاسیون جیره غذای حیوانات آزمایشگاهی سپاسگزاری می شود. از پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی برای در اختیار قرار دادن محصول طارم مولایی سپاسگزاری می شود.

[Downloaded from tbj.ssu.ac.ir on 2024-10-19]

[DOI: 10.18502/tbj.v17i7.854]

References

1-Snell C, Bernheim A, Berge JB, Kuntz M, Pascal G, Paris A, et al. Assessment of the health impact of GM plant diets in long-term and multigenerational animal feeding trials: a literature review. Food and Chemical Toxicology. 2012; 50(3):1134-48.

2-Nicolia A, Manzo A, Veronesi F, Rosellini D. An overview of the last 10 years of genetically engineered crop safety research. Critical Reviews in Biotechnology.2014; 34(1):77-88.

3-Kramkowska M, Grzelak T, Czyzewska K. Benefits and risks associated with genetically modified food products. Annals of Agricultural and Environmental Medicine.2013; 20(3):413-19.

4-Wu F. Mycotoxin reduction in Bt corn: potential economic, health, and regulatory impacts. Transgenic Research.2006;15(3):277-89.

5-Wu F,Miller JD,Casman EA. The economic impact of Bt corn resulting from mycotoxin reduction. Journal of Toxicology: Toxin Reviews.2004;23(2-3):397-424.

6-Williams WP, Windham GL, Buckley PM, Daves CA. Aflatoxin accumulation in conventional and transgenic corn hybrids infested with southwestern corn borer (Lepidoptera: Crambidae). J Agric Urban Entomol.2002;19(4):227-36.

7- Munkvold GP, Hellmich RL, Rice LG. Comparison of fumonisin concentrations in kernels of transgenic Bt maize hybrids and nontransgenic hybrids. Plant Disease.1999; 83(2):130-8.

8- Hammond BG, Campbell KW, Pilcher CD, Degooyer TA, Robinson AE, McMillen BL, et al. Lower fumonisin mycotoxin levels in the grain of Bt corn grown in the United States in 2000-2002. Journal of Agricultural and Food Chemistry.2004; 52(5):1390-7.

9- Bakan B, Melcion D, Richard-Molard D, Cahagnier, B. Fungal growth and Fusarium mycotoxin content in isogenic traditional maize and genetically modified maize grown in France and Spain. Journal of Agricultural and Food Chemistry.2012; 50(4):728-31.

10- Bawa AS, Anilakumar KR. Genetically modified foods: safety, risks and public concerns- a review. Journal of Food Science and Technology.2013; 50(6):1035-46.

11- Mchughen A. GM crops and foods: what do consumers want to know? GM Crops & Food. 2013;4:172-82.

12- Prakash CS. A look at the recent news from around the world on genetically modified food and crops. GM Crops & Food.2014; 5(1):1-3.

[Downloaded from tbj.ssu.ac.ir on 2024-10-19]

[DOI: 10.18502/tbj.v17i7.854]

13-Domingo JL, Bordonaba JG. A literature review on the safety assessment of genetically modified plants. Environment International.2011; 37(4):734-42.

14-Yavari B, Sarami S, Shahgaldi S, Athari SS, Sharma A. If there is really a notable concern about allergenicity of genetically modified foods?. Journal of Food Quality and Hazards Control.2016; 3(1):3-9.

15-Zou S, Huang K, Xu W, Luo Y, He X. Safety assessment of lepidopteran insect-protected transgenic rice with cry2A gene. Transgenic Research.2016; 25(2):163-72.

16-Wang Y, Wei B, Tian Y, Wang Z, Tian Y, Tan S, et al. Evaluation of the potential effect of transgenic rice expressing Cry1Ab on the hematology and enzyme activity in organs of female Swiss rats. PloS One.2013;8(11):80424.

17-Blair R, Regenstein JM. Genetic Modification and Food Quality: A Down to Earth Analysis. 2015;1(3).

18-Opara ChN, Elijah AI, Adama LOG, Uzochukwu SVA. Screening for genetically modified maize in raw and processed foods sold commercially in southern nigeria border states. Applied Food Biotechnology.2016;3(3):150-8.

19-Zaulet M, Rusu L, Kevorkian S, Luca C, Mihacea S, Badea EM, et al. Detection and quantification of gmo and sequencing of the DNA amplified products. Romanian Biotechnological Letters.2009; 14(5):4733-46.

20-Debode F, Janssen E, Berben G. Development of 10 new screening PCR assays for GMO detection targeting promoters. Eur Food Res Technol.2013;236(4):659-69.

21-"Foodstuffs-Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products - Qualitative nucleic acid based methods" ISO. 2005; 21569:1-69.

22- Ghareyazie B, Alinia F, Menguito CA, Rubia LG, De Palma JM, Liwanag EA, et al. Enhanced resistance to two stem borers in an aromatic rice containing a synthetic cryIA (b) gene. Molecular Breeding.1997; 3(5):401-14.

23-Einspainer R, Klotz A, Kraft J, Aulrich K, Poser R, Schwagele F,et al. The fate of forage DNA in farm animals: A collaborative case-study investigating cattle and chicken fed recombinant plant material. Europein Food Research and Technology.2001;21(2):129–34.

[Downloaded from tbj.ssu.ac.ir on 2024-10-19]

[DOI: 10.18502/tbj.v17i7.854]

24-Phipps RH, Deaville ER, Maddison BC. Detection of transgenic and endogenous plant DNA in rumen fluid Duodenal digesta, milk, blood, and Feces of lactating dairy cows. Journal of Dairy Science.2003; 86(12): 4070–8.

25-Artim L, Charlton S, Dana G, Glenn K, Hunst P, Jennings J, et al. Sensitive PCR analysis of animal tissue samples for fragments of endogenous and transgenic plant DNA. Journal of Agricultural and Food Chemistry.2004; 52(20): 6129-35.

26-Jennings JC, Albee LD, Kolwyck DC, Surber JB, Taylor ML, Hartnell GF, et al. Attempts to detect transgenic and endogenous plant DNA and transgenic protein in muscle from broilers fed YieldGard corn borer corn. Poultry Science.2003; 82: 373-5.

27-Aeschbacher K, Messikommer R, Meile L,Wenk C. Bt176 corn in poultry nutrition: Physiological characteristics and fate of recombinant plant DNA in chickens. Poultry Science. 2005; 84: 385-94.

28-Klotz A, Meyer J, Einspanier R. Degradation and possible carry over effects of feed DNA monitored in pigs and poultry. Eur. Food Res. Technol. 2002; 214:271-5.

29-Reuter T, Aulrich K. Investigation on genetically modified maize (Bt-maize) in pig nutrition: Fate of feed ingested foreign DNA in pig bodies. Europein Food Research and Technology. 2003; 216: 185-92.

30-Artim L, Charlton S, Dana G, Faust M, Glenn K, Hartnell G, et al. Animal performance trials with bt crops. Biotechnology of Bacillus thuringensis and Its EnVironmental Impact.2001; Australian National University of Canberra: Canberra. S61 (Abstr.); www.animalbiotechnology. org/abstc.org.

31-Tony M, Butschke A, Broll H, Grohmann L, Zagon J, Halle I, et al. Safety assessment of BT 176 maize in broiler nutrition: Degradation of maize- DNA and its metabolic fate. Archives of Animal Nutrition.2003;57(4):235-52.

32-Deaville ER, Maddison BC. Detection of transgenic and endogenous plant DNA fragments in the blood, tissues and digesta of broilers. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2005;53:10268-275.

33-Netherwood T, Martin-Orue SM, ODonnel AG, Gockling S, Graham J, Mathers JC. Assessing the Survival of Transgenic Plant DNA in the Human Gastrointestinal Tract. Nature Biotechnology. 2004; 22: 204-9. http://dx.doi.org/10.1038/nbt934.

[Downloaded from tbj.ssu.ac.ir on 2024-10-19]

[DOI: 10.18502/tbj.v17i7.854]

34-Swiątkiewicz S, Twardowska M, Markowski J, Mazur M,Sieradzki Z, Kwiatek K. Fate of Transgenic DNA from Bt Corn and Roundup Ready Soybean Meal in Broilers Fed GMO Feed. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy. 2010; 54: 237-42.

35-Oraby HAS, Kandil MH, Hassani AM, Al-Sharawi HA .Addressing the issue of horizontal gene transfer from a diet containing genetically modified components into Rat issues. African Journal of Biotechnology.2014;13(48):4410-18.

36-Mazza R,Soave M,Morlacchini M,Piva G,Marocco A.Assessing the transfer of genetically modified DNA from feed to animal tissues. Transg Research.2005;14:775-84.

[Downloaded from tbj.ssu.ac.ir on 2024-10-19]

[DOI: 10.18502/tbj.v17i7.854]