ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის
სახელმწიფო უნივერსიტეტი

საბაკალავრო ნაშრომი

საქართველოში წარმოებული და იმპორტული სიმინდის სათესი მასალის შემოწმება გენმოდიფიცირებაზე

ქეთი ხახვიაშვილი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნირებათა ფაკულტეტი
ბიოლოგიის დეპარტამენტი
საბაკალავრო პროგრამა
გამოყენებითი ბიომეცნიერებები და ბიოტექნოლოგიები

თემის ხელმძღვანელი : ასისტენტ პროფესორი ზურაბ ქუჩუკაშვილი

თბილისი
2015

სარჩევი

ანოტაცია 2
Annotation 3
შესავალი 4
1. ლიტერატურული მიმოხილვა 4
1.1. სიმინდი 5
1.2. ჰიბრიდული სიმინდის თესლის წარმოება 6
1.3. გენმოდიფიცირებული სიმინდი 7
1.3.1. გენმოდიფიცირების მეთოდები 9
1.4. გენმოდიფიცირებული ორგანიზმებით დეტექცია 10
1.4.1. გმო სპეციფიური ცილის იდენტიფიცირება იმუნოფერმეტული მეთოდი (ELISA) 10
1.4.2. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (PCR) 11
2. მეთოდები 16
2.1 ცდის ობიექტი 16
2.2. ცდის მსვლელობა 17
2.2.1 ნიმუშის მომზადება და დნმ-ს გამოყოფა (დღე 1) 18
2.2.2. პოლიმერაზული ჯაჭვური რიაქცია (დღე 2) 19
2.2.3 ელექტროფორეზი 20
შედეგები 22
დასკვნა 25
გამოყენებული ლიტერატურა 26

ანოტაცია

2014 წლამდე საქართველოში არ არსებობდა გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების კონტროლის მექანიზმები და არ ხდებოდა იმპორტული სათესლე მასალის შემოწმება გენმოდიფიცირებულობაზე. საქართველოში წლების განმავლობაში აკულტივირებდნენ და შესაბამისად ფართოდ არის გავრცელებული სიმინდის სხვადასხვა ჰიბრიდული ხაზები, მათ შორის მრავალი იყო იმპორტირებული, მაგრამ არასდროს მომხდარა აღნიშნული ჰიბრიდების შემოწმება გენმოდიფიცირებაზე. არადა ყოველწლიურად იზრდება გმო კულტურების ფართობი, 2014 წლისთვის მან 181 მილიონი ჰექტარს მიაღწიადა ხოლო გმო სიმინდი მსოფლიოში გავრცელების მიხედვით მეორე ადგილზეა. აქედან გამომდინარე დიდი ალბათობაა, რომ ჰიბრიდების მშობელი ხაზები აღმოჩნდეს გენმოდიფიცირებული.

საბაკალავრო ნაშრომში მიზნად დავისახეთ საქართველოში წარმოებული სიმინდის ჰიბრიდული ხაზების და გავრცელებული სათესლე მასალის შემოწმება გენმოდიფიცირებულბაზე. 3 ჰიბრიდული თესლის ნიმუში ავიღეთ შპს „ლომთაგორა“-დან, რომელიც საქართველოში ჰიბრიდული სიმინდის სათესლე მასალის ერთადერთი მწარმოებელია, დამატებით ავიღეთ აგრალურ ბაზრზე გავრცელლლებული და გლეხურ მეურნეობებში წარმოებული სიმინდის 3 სხვადასხვა ნიმუში.

გმო-ს დეტექციისთვის გამოვიყენეთ პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდი. ნიმუშები შევამოწმეთ ხშირად გამოყენებული, გმო-მარკერების: P35S პრომოტორის და TNOS ტერმინატორის არსებობაზე.

აღნიშნული 6 ნიმუშიდან არცერთმა არ მოგვცა დადებითი რეაქცია შერჩეულ გმო-მარკერებზე.

Annotation

In Georgia there were no regulation mechanisms to control genetically modified organisms untill 2014 and imported seed were not tested for gen modification. There are varieties of widely spread corn hybrids in Georgia, including imported hybrids. However neither locally produced nor imported corns have been tested for gen modification so far. Taking into consideration the fact that area of GMO crops in is increasing every year and in 2014 it reached 181 million hectares and also gmo corn is on second place among major gmo plants, there is a high risk that currently existed hybrid breeds in Georgia may have genetically modified origins.

We selected 3 most popular and widely spread corn seed, produced by Lomtagora. Currently Lomtagora Ltd is only company in Georgia, which produces corn hybrid strains for commercial purposes. In addition we took 3 different samples produced by local farmers and available in open markets of Georgia.

We used PCR method to detect genetically modified fragments through identification of the most widely used promotor P35S and the terminator TNOS.

The data obtained showed that our 6 sample did not give positive results for GMO markers,

შესავალი

საქართველოს კანონმდებლობის „ცოცხალი გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების შესახებ“ თანახმად, რომელიც ძალაში 2014 წლის ოქტომბრიდან შევიდა, „საქართველოს ტერიტორიაზე აკრძალულია გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების გარემოში ინტროდუცირება“[1], ასევე „აკრძალულია გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების იმპორტირება მისი საქართველოს ტერიტორიაზე გარემოში ინტროდუცირებისათვის“[2] [1] ასევე საქართველოს სოფლის მეურნეობის მინისტრის N2-231[3] ბრძანების მიხედვით - „თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის გამოყენებით დამზადებული სურსათი, რომლის შემადგენლობაში გენეტიკურად მოდიფიცირებული კომპონენტები სურსათის საერთო მასის 0,9% - ზე მეტია, ექვემდებარება ეტიკეტზე სავალდებულო აღნიშვნას.“[2] აღნიშნული კანონები მნიშვნელოვანი პუნქტია ღრმა და ყოვლისმომცველი ასოცირების ხელშეკრულებაში ევროკავშირის და საქართვლეოს კონონმდებლობების ჰარმონიზაციისათვის, მათ ძალაში შესვლასთან ერთად აუცილებელი გახდა გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების დეტექციის მეთოდების დანერგვა საქართველოში, ასევე აქტუალურია საქართველოში უკვე არსებული და წარმოებული სათესლე მასალის გამოკვლევა გენმოდიფიცირებულობაზე. სიმინდი საქართველოში ყველაზე პოპულარული მარცვლოვანი კულტურაა. ბოლო წლების მონაცემებით საქართველოში წარმოებული სიმინდი 6-ჯერ აღემატება სხვა მარცვლეულ კულტურებს. [4] სათეს მასალად ყველაზე ხშირად იყენებენ საქართველოში ფართოდ გავცელებულ სიმინდის ჰიბრიდულ ხაზებს, მაგრამ არასდროს მომხდარა მათი მშობელი ფორმების შემოწმება გენმოდიფიცირებულობაზე, არადა მსოფლიოში გენმოდიფიცირებული სიმინდი 19 წლეზე მეტია იწარმოება, აქედან გამომდინარე დიდია ალბათობა რომ არსებულ ჰიბრიდებში უნებლიედ მომხდარიყო გენმოდიფიცირებული გენების გაჟონვა.

საბაკალავრო ნაშრომში მიზნად დავისახეთ საქართველოში წარმოებული სიმინდის ჰიბრიდული ხაზების და გავრცელებული სათესლე მასალის შემოწმება გენმოდიფიცირებულბაზე. კვლევის ამოცანაა: საქართველოში წარმოებული სიმინდის ჰიბრიდული ხაზების მოძიება, აგრალურ ბაზარზე გავრცელებული ჯიშების შერჩევა და შერჩეული ნიმუშების კვლევა გენმოდიფიცირებულობაზე.

[1] II თავი, მე-7 მუხლი, 1 პუნქტი
[2] V თავი 22-ე მუხლი 1 პუნქტი
[3] სსმ III, 18.12.2009 N 154 მუხ.1817

საკვლავად შევარჩიეთ საქართველოში ჰიბრიდული სათესლე მასალის ერთადერთი მწარმოებლის შპს „ლომთაგორას“ მიერ წარმოებული 3 ჰიბრიდული თესლი, ასევე 3 ნიმუში ავიღეთ აგრალური ბაზრიდან.

1. ლიტერატურული მიმოხილვა

1.1. სიმინდი

სიმინდი (Zea Mays) - მარცვლოვანთა ოჯახის წარმომადგენელი, ერთწლიანი, ერთსახლიანი, გაყოფილ სქესიანი, ბალახოვანი კულტურაა. იზრდება თბილ და ტენიან კლიმატში, მისი სამშობლოა ცენტრალური და სამხრეთ ამერიკა. საქართველოში პირველად XVII საუკუნეში შემოიტანეს. მაღალი მოსავლის უნარიანობის და გვალვა ამტანიანობის გამო მას მარცვლეულის მსოფლიო წარმოებაში ხორბლის შემდეგ მეორე ადგილი უკავია. 2013 წლის მონაცემებით მსოფლიოში წრმოებული იქნა 1.02 მილიარდი მეტრული ტონა სიმინდი.[3] ყოველწლიურად საქართველოში 100 ათას ტონაზე მეტი სიმინდის მარცვლის იმპორტირდება, ადგილობრივი წარმოების კი მხოლოდ 336 ტონაა.[4] სიმინდს დიდი ადგილი უკავია ადამიანის კვების პირამიდაში, წარმოადგენს რა ნახშირწყლების ძირითად წყაროს. მარცვალში 65-70% ნახშირწყლებია, 10-12% ცილა, 4-6% ცხიმი. მარცვალი ასევე შეიცავს მცირე რაოდენობით წყალს, ეთერზეთებს, ქლოროფილს, ასკორბინის მჟავას, ვიტამინებს: K, B_1, B_2, B_6 , D , E.

სიმინდისგან აწარმოებენ ფქვილს, სახამებელს, ბადაგს, ვაჟინებს, კრისტალურ გლუკოზას, ფანტელებს და ბურღულეულს. სიმინდის მწვანე მასა ძვირფასი სასილოსე მასალაა. ასევე იყენებენ საფურაჟედ.

საქართველოში სიმინდს ძირითადად სამარცვლედ თესავენ, ასევ გამოიყენებენ სასილოსედ და მწვანე საკვებად. თესვას იწყებენ მაისის შუა რიცხვებში როდესაც ნიადაგის ტემპერატურა 10სმ სიღრმეზე 10-11˚C, თესავენ ფართო მწკრივებად ან კვადრატულ-ბუდობრივად. ძირითადად გამოიყენება როგორც მონოკულტურა, ასევე თესავენ ლობიოს, სოიოს და გოგრასთან ერთად. თესლბრუნვაში თესავენ თავთავიანი კულტურების აღების შემდეგ. სიმინდის დათესვისას აუცილებელია რიგი აგროსამეურნეო ღონისძიებების გატარება. [6;7]

საქართველოში რეგიონების მიხედვით ფართოდ გავრცელებული სიმინდის ხაზებია: აბაშური ყვითელი, აჯამეთის თეთრი, ქართული კრუგი, გუგუთის ყვითელი, ადგილობრივი კაჟოვანა თეთრი, ქართული 52, ენგური, ვირ 42, კრასნოდარის 5, ივერია 503 და სხვა. [8]

სტატისტიკის დეპარტამენტის მონაცემების მიხედვით საქართველოში წლიურად იწარმოება 350 ტონა სიმინდი, ხოლო 100 ათასი ტონა სიმინდის მარცვალი იმპორტირდება სხვადასხვა ქვეყნებიდან. [4]

სიმინდის სათესლე მასალად მიღების რამდენიმე გზა არსებობს: ბუნებრივი შეჯვარება, ჰიბრიდული ტექნოლოგიები, გენმოდიფიცირება.

1.2. ჰიბრიდული სიმინდის თესლის წარმოება

დღეისათვის საქართველოში სათესლე სიმინდის მარცვალს კომერციული მიზნებისთვის ერთადერთი კომპანია შპს „ლომთაგორა“ აწარმოებს. ის 2000 წელს დაარსდა და ხანგრძლივი მუშაობის შედეგად აგრო-სამეცნიერო ჯგუფმა გამოიყვანა უხვმოსავლიანი სიმინდის 5 ჰიბრიდი.

ჰიბრიდული ჯიშები მიიღება სელექციური მეთოდების გამოყენებით. ხელოვნური დამტვერვით ხდება სასურველი ჯიშების შეჯვარება , შედეგად მიიღება ახალი ჰიბრიდული ხაზი ჰეტეროზისული თვისებებით, რომელსაც გააჩნია ორივე მშობლის გაუმჯობესებული, გაძლიერებული ნიშან-თვისებები. [8;9]

ჰიბრიდული სიმინდის გამოსაყვანად საჭიროა ხანგრძლივი და შრომატევადი სამუშაოების გატარება. ჰიბრიდული თესლის მიღების შემდეგ აუცილებელია მისი საველე პირობებში გამოცდა, ნიშან-თვისებების დასადგენად. ასევე აუცილებელია თესლის გამოცდა ადგილობრივ კლიმატურ პირობებში, შესაძლებელია უხვმოსავლიანი ამერიკული ჰიბრიდი ვერ შეეგუოს საქართველოს კლიმატურ პირობებს და მოგვცეს ძალიან მცირე მოსავალი, ან თუნდაც აღმოსავლეთ საქართველოში გავრცელებული ჰიბრიდი ვერ განვითარდეს დასავლეთ საქართველოში.

შპს „ლომთაგორაში“ ჰიბრიდული ჯიშების გამოყვანა ხდება სპეციალურად გამოყოფილ სასელექციო ნაკვეთზე, ნახევარ ჰექტარზე. ნაკვეთზე თესავენ საკვლევი

სიმინდის ხაზებს, ბუტონიზაციის პერიოდში ყვავილს პარკებში ფუთავენ და ხელით ამტვერიანებენ სასურველ ჯიშებს შორის. მიღებულ ჰიბრიდულ მასალაში, პირველ და მეორე თაობაში ისწავლება აღმოცენება, ბარტყობა, აღერება, თავთავობა და სიმწიფე. მშობელ ფორმებში და ჰიბრიდებში ფასდება ჩაწოლისადმი და დაავადებებისადმი გამძლეობა. საბოლოოდ სხვადასხვა გამოყვანილი ჰიბრიდებიდან ამოირჩევა სასურველი ნიშანთვისებების მქონე ხაზები და იწყება მათი კომერციული წარმოება.

კომერციული წარმოებისთვის სიმინდის დედა და მამა ხაზებს თესავენ რიგებში, დედა ფორმას დათესვიდან 60-62 დღეში, ყვავილების წარმოქმნამდე, აჭრიან მამრობითი გამრავლების ორგანოს, ქოჩოჩოს. დედა ფორმა კარგავს თვითდამტვერვის უნარს და ქარის მეშვეობით მისი დამტვერვა ხდება მამა ფორმის ყვავილებიდან. არასასურველი, უცხო, მეზობელი ხაზებიდან დამტვერვის გამოსარიცხად კომერციული ნაკვეთის გარშემო 300 მეტრში არ უნდა იყოს დათესილი სიმინდის სხვა კულტურები. შემოდგომაზე დედა ფორმებიდან იღებენ სასურველ ჰიბრიდულ თესლს. [8;9]

ბოლო წლების მონაცემებით საქართველოში ჰექტარზე საშუალოდ 1 ტონა სიმინდი მოჰყავთ. ლომთაგორას ჰიბრიდული სიმინდის მოსავალი კი 1 ჰექტარზე 6-8 ტონაა.

1.3. გენმოდიფიცირებული სიმინდი

გენური ინჟინერია წარმოადგენს რეკომბინანტული დნმ-ს ტექნოლოგიაზე დაფუძნებული ექსპერიმენტული პროცედურების ერთობლიობას, რის საშუალებითაც ხდება საინტერესო გენის შეყვანა ან გადატანა დონორი ორგანიზმიდან მეორე ორგანიზმში და ამ ორგანიზმში უცხო გენის ექსპრესია.

საქართველოს კანონმდებლობის თანახმად, ცოცხალი გენმოდიფიცირებული ორგანიზმი არის (შემდგომ გენმოდიფიცირებული ორგანიზმი - გმო) „ნებისმიერი ორგანიზმი (ადამიანის გარდა), რომლის გენეტიკური მასალა შეცვლილია არაბუნებრივი (თანამედროვე ბიოტექნოლოგიური) მეთოდების გამოყენებით, რაც ნიშნავს ორგანიზმის გენეტიკური მასალის შეცვლას ხელოვნურ (ინ ვიტრო) პირობებში ნუკლეინის მჟავების ორგანიზმის უჯრედებში ან ორგანიზმში პირდაპირი ინექციის მეთოდის ან/და სხვადასხვა ტაქსონომიური სტატუსის მქონე ორგანიზმების უჯრედების შერწყმის მეთოდების გამოყენებით. ეს მეთოდები საშუალებას იძლევა, გადაილახოს ბუნებრივი,

ფიზიოლოგიურირი, რეპროდუქციული ან რეკომბინანციული ბარიერები; ამავე დროს, ისინი არ განეკუთნებიან ტრადიციულ სელექტიურ და ჯიშთა გამოყვანის მეთოდებს;“[1]

1996 წლიდან 2014 წლამდე გენმოდიფიცირებული მარცვლეულის ნათესი 100-ჯერ გაიზარდა, 1.7 მილიონი ჰექტრიდან - 181.5 მილიონ ჰექტრამდე, 2013 წლიდან 6.5 მილიონი ჰექტარით მოიმატა.[4] გენმოდიფიცირებულ სურსათს კომერციულად 28 ქვეყანა აწარმოებს, პირველი 5 ადგილი უკავია აშშ-ს (73.1მლნ ჰა), ბრაზილიას (42.3 მლნ ჰა), არგენტინას (24.4 მლნ ჰა), ინდოეთს (11.6 მლნ ჰა) და კანადას (11.6 მლნ ჰა). გენმოდიფიცირებული სიმინდი მსოფლიოში მეორე ადგილზეა გმო სოიოს მერე, ყოველწლიური ფართობის ზრდის ტენდენციით კი მესამეზე გმო კანოლასა და ბამბის მერე (51 მილიონ ჰექტარი) ამერიკაში წარმოებული სიმინდის 93% გენმოდიფიცირებულია და უკავია 21.2 მილიონი ჰექტარი. [5]

სიმინდის გენმოდიფიცირებას ახდენენ სხვადასხვა მიზნებისთვის. კომერციულად იწარმოება: მავნებელი მწერების მიმართ მდგრადი Bt სიმინდი. მასში გადატანილია bacillus thuringiensis-ის Cry1ab გენი, რომელიც წარმოქნის Bt ცილას, ეს ცილა კი მწერის მატლში უკავშირდება ნაწლავის რეცეპტორს და ხელს უშლის ნორმალურ მონელებას. ჰერბიციდებისადმი მდგრადი სიმინდი, რომელსაც არასელექტიური ჰერბიციდებისადმი მდგრადობა გააჩნია, ჰერბიციდის ფესვიდან შეთვისების მერე ხდება მისი მალევე დაშლა, გაუვნებელყოფა. სიმინდ LY038 აქვს ლიზინის, სიმინდისთვის მალიმიტირებელი ამინომჟავის წარმოქმნის უნარი. პირველი გვალვაგამძლე სიმინდი 2013 წელს იქნა კომერციულად დათესილი, აშშ-ში 2014 წელს მისი გავრცელების ფართობი 5.5 ჯერ გაიზარდა (50 000 ჰა-დან 275 000 ჰა-მდე). გვალვაგამძლე სიმინდის მწარმოებელი მონსანტო[5] იმედოვნებს, რომ სიმინდის ეს ხაზი შეძლებს აფრიკაში შიმშილის პრობლემის დაძლევას. ასევე ახდენენ გენმოდიფიცრებას სიმინდის მოსავლიანობის გასაზრდელად.[5;10]

[4] ISAAA-ს (საერთაშორისო სერვისი აგრო-ბიოტექნოლოგიების დანერგვა გაცნობისთვის) 2014 წლის ანგარიში- Global Status of Commercialized Biotech/GM Corps -„კომერციული ბიოტექნოლოგიების, გმო მარცვლეულის გლობალური სტატუსი“

[5] მსოფლიოში გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების ერთ-ერთი ყველაზე დიდი მწარმოებელი ორგანიზაცია.

1.3.1. გენმოდიფიცირების მეთოდები

მცენარეთა გენმოდიფიცირების მეთოდებიდან, სიმინდში ერთ-ერთი ყველაზე ხშირად გამოყენებული ტრანსფორმაცია Agrobacterium Tumefaciens-ის მეშვეობით ხდება. მეთოდი დაფუძნებულია Ti-პლაზმიდების ბუნებრივ უნარზე მოახდინონ მცენარეთა გენეტიკური ტრანსფორმაცია. T დნმ-ში ხდება სასურველი თანმიმდევრობის ჩაშენებეა, შემდგომ კი Ti-პლაზმიდების და A. Tumefaciens-ის გამოყენებით ხდება მისი ჩამაგრება საკვლევი მცენარის გენომში. Ti-პლაზმიდების საფუძველზე ყველა ვექტორი მსგავსადაა ორგანიზებული და გაჩნია შემდეგი ელემენტები:

- ✓ ინტროდუცირებული გენი - აკოდირებს ახალი ტიპის ცილას. ეს გენი შეიძლება იყოს ბუნებრივი (ცოცხალი ორგანიზმიდან) ან ხელოვნური (in vitro) გზით მიღებული.
- ✓ პრომოტორული თანმიმდევრობა-გამოიყენება სასტარტო სიგნალი გენის ექსპრესიის ჩასართავად და ცილის დასასინთეზირებლად. მრავალ ნებადართულ გმო მცენარეში გამოიყენება 35S პრომოტორი, რომელიც მიიღება ყვავილოვანი კომბოტოს მოზაიკური ვირუსიდან (CaMV)
- ✓ ტერმინატორული თანმიმდევრობა - იგივე შემაჩერებელი სიგნალი. ყველაზე ხშირად გამოიყენებენ Agrobacterium Tumefaciens-ის ნოპალინის მასინთეზირებელი გენიდან გამოყოფილ ტერმინატორს NOS ან TNOS
- ✓ მარკერული გენი - მაგალითად ნეომიცინფოსფატტრანსფერაზას გენი რომელიც უზრუნველყოფს ტრანსფორმირებული მცენარის უჯრედის მდგრადობას კანამიცინისადმი. მისი მეშვეობით ადგენენ სწორად მოხდა თუ არა სასურველი გენის ჩაშენება.

ტრანსფორმაციისათვის სიმინდის მოუმწიფებელ ჩანასახს რამდენიმე წუთით ათავსებენ A. Tumefaciens-ის უჯრედების სუსპენზიაში. შემდგომ ხდება სიმინდის ინკუბირება რამდენიმე დღით სელექტიური ზეწოლის გარეშე, რის შემდეგაც ჩანასახი გადააქვთ ანტიბიოტიკებიან არეში, სადაც ზრდა მხოლოდ ტრანსფორმირებულ მცენარეულ უჯრედებს შეუძლიათ. რამდენიმე დღე სიბნელეში ინკუბირების შემდეგ, გენმოდიფიცირებული სიმინდის უჯრედები გადააქვთ სხვა საკვებ არეში და ხდება მათი ინკუბირება სინათლეზე ტრანსგენული მცენარის მთლიანი რეგენერაციისათვის. [11]

არსებობს მცენარეთა ტრანსფორმაციის სხვა მეთოდებიც: მიკრონაწილაკებით ბომბადირება, მიკროინექცია, ელექტროფორაცია, ტრანსფექცია და სხვა.

1.4. გენმოდიფიცირებული ორგანიზმებით დეტექცია

გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების იდენტიფიცირებისთვის გამოიყენებენ ორ ძირითად მეთოდს გმო სპეციფიკური დნმ-ს უბნის დეტექცია პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით (PCR- პჯრ) და გმო სპეციფიური ცილის იდენტიფიცირება იმუნოფერმეტული მეთოდით. (ELISA- Enzyme-Linked Immune-Sorbent Assay)

1.4.1. გმო სპეციფიური ცილის იდენტიფიცირება იმუნოფერმეტული მეთოდი (ELISA)

გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების თვისობრივი ანალიზის იმუნოფერმენტული მეთოდი ეფუძნება გმო სპეციფიკური ცილის დეტქციას საკვლევ პროდუქტში და ემყარება ანტიგენ ანტისხეულის ურთიერთქმედების პრინციპს. ანალიზი ტარდება იმუნო ფერმენტული რეაქციების მთვლელზე - ELISA - Microplate Reader. აპარატში თავსდება სპეციალურ მიკრო პლანშეტები რომელშიც მიმდინარეობს რეაქცია. სარეაქციო პლანშეტი, შეიცავს 96 ფოსოს, თითოეული ფოსოს ძირზე მიმაგრებულია გმო სპეციფიკური ცილის ანტისხეული, რომელსაც პირველად ანტისხეულებს უწოდებენ. აღნიშნული ანტისხეულები პლანშეტზე წინასწარ დატანილია ქარხნული წესით, ან ლაბორატორიულ პირობებში დაგვაქვს ჩვენთვითონ. პლანშეტის ფოსოში მოთავსებული საანალიზო არე, რეაქციის შედეგად იღებს გარკვეულ შეფერილობას, რომელის შეფერვის ინტენსივობის ხარისხს, სინათლის გარკვეულ ტალღის სიგრძეზე, ვსაზღვრავთ აპარატზე. შეფერვის არსებობა არ არსებობით შეგვიძლია ვიმსჯელოთ საკვლევ ნიმუშში გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების არსებობაზე.[12]

მიუხედავად მეთოდის მაღალ სპეციფიკურობისა, გმო - ორგანიზმების და პროდუქტების იდენტიფიცირება ამ მეთოდით გარკვეულ სირთულეებთან არის დაკავშირებული. კერძოდ სხვადასხა გენმოდიფიცირებული ორგანიზმი სხვადასხვა, მისთვის სპეციფიკურ ცილას ასინთეზირებს. აქედან გამომდინარე, ყოველ კონკრეტულ შემთხვევაში, ანალიზისთვის საჭიროა სპეციფიკური ანტისხეულის გამოყენება. რაც გმო ორგანიზმების დეტექცია - სკრინინგის გაძვირებას იწვევს. ასევე გასათვალისწინებელია ის ფაქტი, რომ ბევრი გმო სპეციფიკური ცილა ორგანიზმში განიცდის გარდაქმნებს, რაც მათ იდენტიფიცირებას აძნელებს. დეტექცია უფრო რთულდება როდესაც საქმე გვაქვს გმო შემცველ სასურსათო პროდუქტების კვლევასთან, რადგან ბევრი პროდუქტის მომზადებისას ცილები დენატურირდებიან, იშლებიან, გარდაიქმნებიან ან ზოგიერთი პროდუქტი საერთოდ არ შეიცავს მას, რაც აღნიშნულ მეთოდს გამოუსადეგარს ქმნის. აღნიშნული მიზეზების გამო

გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების დეტექციისათვის უმეტესად გამოიყენება პოლიმერაზული ჯაჭვური რიაქციების მეთოდი.

1.4.2. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (PCR)

გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების თვისობრივი ანალიზი, პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდი, წარმოადგენს საკმაოდ ზუსტ და მგრძნობიარე მეთოდს. იგი ეფუძნება გმო სპეციფიკური დნმ-ს უბნის (სპეციფიკური მარკერი, პრომოტორი ან/და ტერმინატორი) ან თვითონ მოდიფიცირებული გენის იდენტიფიკაციას საკვლევ ობიექტში. PCR - მოლეკულური ბიოლოგიის მეთოდია, რომელიც გამოიყენება დნმ-ს ფერმენტული რეპლიკაციისთვის ცოცხალი ორგანიზმების დახმარების გარეშე. ეს მეთოდი დნმ მოლეკულების მცირე რაოდენობის ექსპონენციალური ამპლიფიცირების საშუალებას იძლევა. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდი დაფუძნებულია დნმ-ს კონკრეტული უბნის მრავალჯერად კოპირებაზე ფერმენტ პოლიმერაზას საშუალებით. გმოს დეტექციას ახდენენ გენმოდიფიცირებისთვის აუცილებელი და ყველაზე ხშირად გამოყენებული P35S პრომოტორის – TNOS ტერმინატორის მეშვეობით, აღნიშნული რეგულატორები არა-გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების დნმ-ს შემადგენლობაში არ გვხვდება, შესაბამისად თუ საკვლევი ობიექტის დნმ-ს შემადგენლობაში მოხდა მათი დაფიქსირება შეგვიძლია ვიმსჯელოთ მათ გენმოდიფიცირებაზე. გარდა აღნიშნული პრომოტორის და ტერმინატორისა შეიძლება გამოყენებული იქნას სხვა რეგულატორი თუმცა ყველაზე ხშირად (75-85%) სწორედ ისინი გამოიყენებიან. იმის დასადასტურებლად რომ მცენარეული დნმ-ს ფრაგმენტების გამრავლება მოხდა და ადგილი არ ქონდა ბაქტერიული გენებით დაბინძურებას იყენებენ მცენარეულ პრომოტორებს, ფოტოსისტემა II-ის შესაბამის თანმიმდევრობას.

ცოცხალ ორგანიზმში მიმდინარე დნმ-ს ამპლიფიცირების – რეპლიკაციისგან განსხვავებით, PCR-ის საშუალებით ამპლიფიცირდება დნმ-ს მოკლე მონაკვეთები, რომელთა სიგრძე არ აღემატება 3000 ფუძე წყვილს (3Kbp).

PCR-ის ჩატარებისთვის სარეაქციო არეში საჭიროა შემდეგი კომპონენტების არსებობა:[12;13]

1. პრაიმერები_ხელოვნურად სინთეზირებული ოლიგონუკლეოტიდები, რომელთა ზომები, როგორც წესი, არ აღემატება 14 – 35 ფუძე წყვილს. ისინი საკვლევი დნმ-ს შესაბამისი უბნის იდენტურები არიან.

2. ფერმენტი Taq-პოლიმერაზა, რომელიც დნმ-პოლიმერაზას ანალოგიურია. იგი გამოყოფილი იქნა ბაქტერიიდან Thermus aquacus, რომელიც გვხვდება გეიზერებში, 60 °C-ზე მაღალი ტემპერატურის პირობებში.

3. დეზოქსინუკლეოტიდების ნარევი, რომელიც შეიცავს: დეზოქსიადენოზინტრიფოსფატს (dATP), დეზოქსიგუანოზინტრიფოსფატს (dGTP), დეზოქსიციტოზინტრიფოსფატს, (dCTP) და დეზოქსითიმიდინტრიფოსფატს (dTTP). ეს ნივთიერებები შეადგენენ სამშენებლო მასალას ახლადსინთეზირებული დნმ-ს ფრაგმენტებისთვის.

4. Mg+2_ს იონები, რომელიც საჭიროა ნებისმიერი ფერმენტის, მათ შორის taq-პოლიმერაზას მუშაობისთვის.

5. ბუფერი, რომელიც ქმნის PCR რეაქციის მიმდინარეობისათვის ხელსაყრელ პირობებს (pH, იონურ ძალა, იონები, დეტერგენტები).

6. დნმ-მატრიცა, რომელიც შეიცავს დნმ-ს იმ უბანს, რომლის ამპლიფიკაციაც უნდა მოხდეს.

რეაქცია ტარდება მცირე ზომის პოლიპროპილენის სინჯარებში. არსებობს 0,2 მკლ და 0,5 მკლ მოცულობის PCR-ის სინჯარები. აღნიშნულ სინჯარების სარეაქციო არით შევსების შემდეგ საჭიროა მათი ე.წ. ამპლიფიკატორში (თერმოციკლერში) მოთავსება. ეს არის ხელსაწყო, რომელიც ახორციელებს ტემპერატურის რეჟიმის უზრუნველყოფას გაციებითა და გაცხელებით. ტემპერატურული რეჟიმები იყოფა საფეხურებად, რომელთა ერთიანობას ციკლი ეწოდება. თითოეულო ციკლის შემდეგ ხდება ჩვენთვის საინტერესო დნმ-ს მონაკვეთის გაორმაგება.

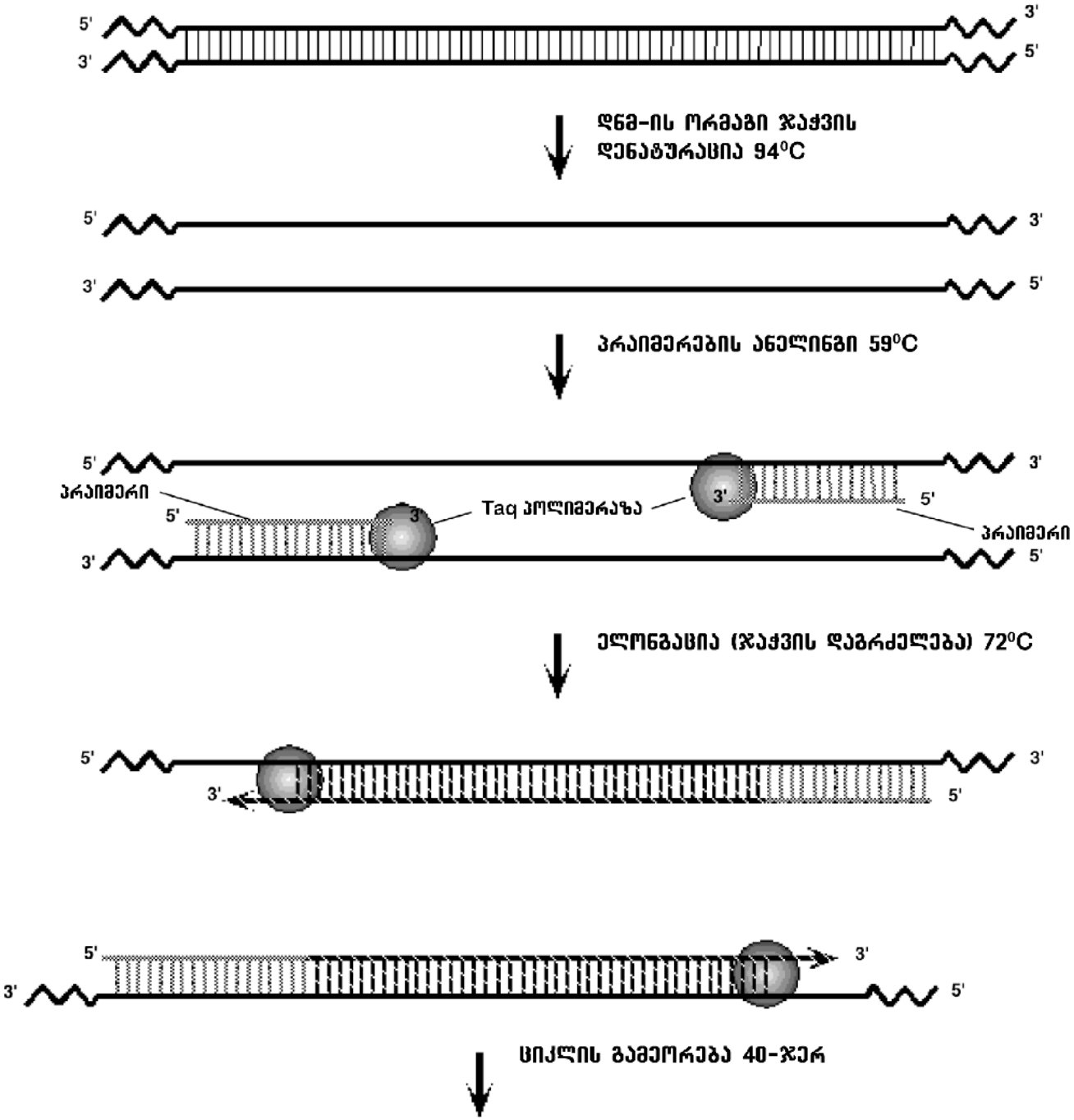
PCR-ის ციკლის თითოეული საფეხური:

1. **დენატურაცია** - ციკლის ამ ეტაპზე ახდენენ სარეაქციო არეში არსებული დნმ-ის ორმაგი ჯაჭვის დაცალკევებას. ამ პროცესისათვის საჭიროა მაღალი ტემპერატურა – 94-96°C. აღნიშნულ ტემპერატურაზე სარეაქციო ნიმუშის ინკუბირების შედეგად მიიღება დნმ-ს ორი

ერთჯაჭვიანი მოლეკულა. ეტაპის ხანგრძლივობა შეადგენს 0,5-2 წუთს. რიგ შემთხვევებში, ციკლის დაწყებას წინ უსწრებს სარეაქციო ნარევის წინასწარი გაცხელება 95-96°C-ზე 2-5 წუთის განმავლობაში, დნმ-ს მოლეკულისა და პრაიმერების სრული დენატურაციის მიზნით. ამ მოვლენას ეწოდება „ცხელი სტარტი" და ხელს უშლის არასპეციფიკური პროდუქტების წარმოქმნას.[12;13]

2. **ანელინგი** - ანელინგის სტადიაზე ხდება პირველ სტადიაზე მიღებული დნმ-ს ერთმაგ ჯაჭვებთან პრაიმერების დაკავშირება. ერთი პრაიმერი უკავშირდება ერჯაჭვიანი დნმ-ს შესაბამის უბანს, ხოლო მეორე პრაიმერი ასევე უკავშირდება მეორე ერჯაჭვიანი დნმ-ს შესაბამს უბანს. ამგვარად პრაიმერები შემოსაზღვრავენ დნმ-ს ამპლიფიცირებად მონაკვეთს. დაკავშირება ხდება კომპლემენტარულად, ჩარგაფის წესის მიხედვით, რაც ნიშნავს, რომ ორმაგჯაჭვიან დნმ-ში ადენინის საპირისპიროდ აუცილებლად არის თიმინი, ხოლო გუანინი მუდამ უწყვილდება ციტოზინს. თუ აღნიშნული პირობები არ იქნება დაცული, მაშინ ანელინგი არ განხორციელდება. ტემპერატურა დამოკიდებულია პრაიმერის შემადგენლობაზე და თითქმის უტოლდება პრაიმერის ლღობის ტემპერატურას (Tm). ლღობის ტემპერატურის გამოთვლა შესაძლებელია შემდეგი ფორმულით: Tm=2.(nA+nT)+4.(nG+nC). სადაც nA. nT, nG და nC არის შესაბამისი ნუკლეოტიდების რაოდენობა პრაიმერში. პრაიმერის შერჩევისას, თუ მისი სიგრძე და ნუკლეოტიდების შემცველობა ან ტემპერატურული რეჟიმი არასწორადაა გათვლილი, რეაქციისას შესაძლებელია არასპეციფიკური კომპლემენტარული კომპლექსების წარმოქმნა მატრიცული დნმ-ს სხვა მონაკვეთებთან, ეს კი გამოიწვევს სხვა, არასპეციფიკური პროდუქტების წარმოქმნას. ლღობის ტემპერატურის ზედა ზღვარი შეზღუდულია ფერმენტ პოლიმერაზას ტემპერატურული ოპტიმუმით, მისი აქტივობა ეცემა, თუ ტემპერატურა გადააჭარბებს 80°C-ს. პრაიმერების შერჩევისას გათვალისწინებული უნდა იქნას შემდეგი კრიტერიუმები: GC შემცველობა უნდა იყოს დაახლოებით 60%; პრაიმერების ლღობის ტემპერატურათა (Tm) შორის სხვაობა არ უნდა აღემატებოდეს 5°C-ს; ხსნარი არ უნდა შეიცავდეს არასპეციფიკურ მეორად სტრუქტურებს. სასურველია, რომ პრაიმერები ბოლოზე შეიცავდეს გუანინს ან ციტოზინს, რადგანაც ისინი წარმოქმნიან სამ წყალბადურ კავშირს მატრიცული დნმ-ს მოლეკულასთან, რაც ჰიბრიდიზაციას უფრო სტაბილურს ხდის. ტემპერატურული რეჟიმი, პრაიმერების შემცველობიდან გამომდინარე, მერყეობს 50 – 78°C შორის, დრო – 20 წამიდან 1 წუთამდე.[12;13]

3. **ელონგაცია** - PCR-ის მესამე ეტაპია ელონგაცია, მიერთებული პრაიმერებიდან დაწყებული, დნმ-ს ჯაჭვი კომპლემენტარული დაგრძელება, რომელიც მიმდინარეობს 5’ ბოლოდან 3’ ბოლოს მიმართულებით. სამშენებლო მასალას ახალი დნმ-ს ჯაჭვების სინთეზისათვის წარმოადგენს საინკუბაციო არეში დამატებული დეზოქსინუკლეოტიდები. სინთეზს აკატალიზებს ფერმენტი ტაქ-პოლიმერაზა, 70-72°C ტემპერატურაზე. ეტაპის ხანგრძლივობაა 20 – 60 წუთი. ამპლიფიკაციის პირველი ციკლის შემდეგ წარმოქმნილი დნმ-ს ახალი ჯაჭვები ემსახურებიან ამპლიფიკაციის მეორე ციკლს, როგორც დნმ - მატრიცები. თუ საწყის სარეაქციო არეში არის ორჯაჭვიანი დნმ-ს მხოლოდ ერთი მოლეკულა, 20 ციკლის შემდეგ არეში დაგროვდება დაახლოებით მილიონი ამპლიკონის მოლეკულა. აღსანიშნავია, რომ ამპლიკონების დაგროვება გეომეტრიული პროგრესიით მიმდინარეობს დროის გარკვეულ მონაკვეთში, რის შემდეგაც იგი ძალზე მცირდება. ამ ეფექტს ეწოდება „პლატოს ეფექტი”. [12;13]



სურ.1 PCR-ის ციკლების თითოეული საფეხური

დნმ-ს სპეციფიკური ფრაგმენტის ამპლიფიცირების შემდეგ, მისი გამოვლენა ხდება ელექტროფორეზით აგაროზას ან პოლიაკრილამიდის გელში, ეთიდიუმბრომიდის თანაობისას, რომელიც უკავშირდება დნმ-ს ფრაგმენტებს და ულტაიისფერი სპექტრის 280-360ნმ-ში იძლევა ზოლოვან ნათებას. [13]

2. მეთოდები

2.1 ცდის ობიექტი

საკვლევად შევარჩიეთ საქართველოში ჰიბრიდული სათესლე მასალის ერთადერთი მწარმოებლის შპს „ლომთაგორა“-ს მიერ წარმოებული 3 ჰიბრიდული თესლი: ლომთაგორა 1, ლომთაგორა 2, ლომთაგორა 3 და ასევე 3 ნიმუში ავიღეთ აგრალური ბაზრიდან.

ლომთაგორა 2, გავრცელებულია დასავლეთ საქართველოში, ხოლო ლომთაგორა 3 აღმოსავლეთ საქართველოში. ლომთაგორა 1 კი შპს „ლომთაგორას“ მიერ წარმოებული ერთადერთი სამხაზოვანი ჰიბრიდია და გამოიყენება სხვა ჰიბრიდების წარმოებისას. გარდა აღნიშნული ჰიბრიდებისა ასევე ნიმუშად ავიღეთ საქართველოს ბაზრზე და გლეხურ მეურნეობებში გავრცელლლებული სიმინდის 3 სხვადასხვა ნიმუში, 2 ნიმუში აგრალურ ბაზარში ვიყიდეთ, ერთი ნიმუში კი გურიდან მოგვაწოდეს. მონსანტოს იმპორტული სიმინდის თესლი მოგვაწოდა შპს „ლომთაგორა“-ს მფლობელმა ბატონმა კახა ლაშხმა.

ლომთაგორა I სამხაზოვანი ჰიბრიდული სიმინდია, რაც გულისხმობს იმას, რომ მის მისაღებად გამოიყენება სიმინდის 3 სხვადასხვა ხაზი. პირველ ეტაპზე ხდება A1 X A2[6] მიიღება ახლო ნათესაური მარტივი ჰიბრიდი, მეორე წელს კი ხდება მიღებული ჰიბრიდის B-სთან შეჯვარება, სადაც პირველ წელს მიღებული ჰიბრიდი წარმოადგენს მამა ფორმას B კი დედა ფორმას ლომთაგორა I ის მისაღებად.

ლომთაგორა II-III ჯიშხაზოვანი ჰიბრიდული სიმიდებია, ანუ სხვადასხვა ჯიშის ხაზების შეჯვარებით მიღებული ჰიბრიდები. აკადემიკოს ბ.პ.სოკოლოვის (1968) მონაცემებით ჯიშხაზური ჰიბრიდები ჯიშთაშორის ჰიბრიდებთან შედარებით ჰექტარზე საშუალოდ 10%-ით მეტ მოსავალს იძლევიან.[8] ლომთაგორა II მიღებულია აბაშური ყვითელის (მამა ფორმა, დასავლეთ საქართველოში გავრცელებული ჯიში) შეჯვარებით B (დედა ფორმა, ამერიკული ჯიში) სიმინდთან. მიღებული ჰიბრიდი გამოირჩევა ჰეტეროზისის უნარით, შეგუებულია დასავლეთ საქართველოს კლიმატურ პირობებს და დედა ფორმის მეშვეობით გაძლიერებული აქვს მოსავლიანობა. ლომთაგორა III მიიღება ლომთაგორა I-ის (დედა ფორმა) შეჯვარებით ქართულ კრუგთან (მამა ფორმა, აღმოსავლეთ საქართველოში ფართოდ გავრცელებული ხაზი) ლომთაგორა III შეგუებულია აღმოსავლეთ

[6] კონფიდენციალობის მიზნით დედა და მამა ხაზების სახელები დაშიფრულია და სხვა ნომრებია მითითებული.

საქართველოს კლიმატურ პირობებს და გამოირჩევა ლომთაგორა I-ისგან მიღებული უხვმოსავლიანობით.

- ✓ ლომთაგორა-1
- ✓ ლომთაგორა-2
- ✓ ლომთაგორა-3
- ✓ ნიმუში-1 (აბაშური ყვითელი)
- ✓ ნიმუში-2
- ✓ ნიმუში 3 (გურიიდან აღებული ნიმუში)

სურ.2 ლომთაგორას სიმინდები

2.2. ცდის მსვლელობა

გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების დეტექცია მოვახდინეთ პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდით, შემდეგი კიტის გამოყენებით - „Biotechnology Explorer, GMO Investigator Kit, Catalog #166-2500 EDU“.

ექსპერიმენტი შედგება 3 დღეზე განაწილებული შემდეგი ეტაპისგან

2.2.1. მომზადება-დნმ-ს გამოყოფა

2.2.2. პოლიმერაზული ჯაჭვური რიაქცია

2.2.3. ელექტროფორეზი

მიღებული შედეგების ანალიზი

2.2.1 ნიმუშის მომზადება და დნმ-ს გამოყოფა (დღე 1)

საკვლევი ობიექტი: 6 სახის სიმინდის მარცვალი

კიტში შემავალი საკონტროლო არაგენმოდიფიცირებული შვრია.

ხსნარები: InstaGene matrix

ბიდისტილირებული ხსნარი

სამედიცინო სპირტი

დამხმარე ხელსაწყოები/ ჭურჭელი: ელექტრონული სასწორი;

8 ფაიფურის როდინა;

8 პასტერის პიპეტი;

ჩაქუჩი;

8 ხრახნიანი სინჯარა.

ნიმუშის მომზადება და დნმ-ს გამოყოფა 8-ვე ნიმუშისთვის ერთმანეთისგან დროში და სივრცეში იზოლირებულად მიმდინარეობდა ჯვარედინად დაბინძურების თავიდან ასაცილებლად.

1. სიმინდის ექსტრაქციისთვის მომზადებამდე 8 ხრახნიან სინჯარაში გადავიტანეთ 500 µl InstaGene[7] და მოვახდინეთ მარკირება გადასატანი ნიმუშების მიხედვით.
2. ელექტრონულ სასწორზე ავწონეთ 2 გრამი სიმინდის მარცვალი. შევახვიეთ ფილტრის ქაღალდში და დავფხვენით წინასწარ სპირტით დამუშავებული ჩაქუჩით. შემდგომი ჰომოგენიზაციისა და დნმ-ს ექსტრაქციის გაადვილებისათვის.
3. დაფქვილი სიმინდი ხელახლა ავწონეთ ფაიფურის როდინში.
4. ჰომოგენიზაციისთვის ყოველ გრამ დაფქვილ სიმინდზე დავამატეთ 5მლ ბიდისტილირებული წყალი.

   დაფქვილი სიმინდის მასა--1,8--გ X5= --9-3- მლ (დასამატებელი წყლის როდენობა)

5. როდინაში დავნაყეთ 2 წუთის განმავლობაში, ბლანტი მასის მიღებამდე.
6. შემდგომ დავამატეთ ბიდისტილირებული წყლის საჭირო რაოდენობა და გავაგრძელე ჰომოგენიზაცია, ერთგვაროვანი პიპეტისთვის ადვილად ასაღები მასის მიღებამდე.

[7] შედგება უარყოფითად დამუხტული ხელატური ნაწილაკებისგან, ისინი ახდენენ კათიოების შებოჭვას რითაც აჩერებენ ფერმენტულ რიაქციებს.

7. ჰომოგენიზირებული მასიდან პასტერის პიპეტით ავიღე 50 µl სითხე და გადავიტანეთ წინასწარ მარკირებულ InstaGene-იან სინჯარაში და მოვახდინეთ დავორტექსება.
8. სინჯარა მოვათავსეთ ცხელი წყლის აბაზანაში 95˚C _ 5 წთ.
9. სინჯარა მოვათავსეთ მინი ცენტრიფუგაში 5 წთ და შევინახეთ საყინულეში ანალიზის მეორე ეტაპამდე.

2.2.2. პოლიმერაზული ჯაჭვური რიაქცია (დღე 2)

საკვლევი ობიექტი: 8 ექსტრაქცირებული დნმ-ს ნიმუში, ერთი პოზიტივ კონტროლის დნმ.

ხსნარები: მასტერ მიქსი;

მცენარეული პრაიმერები;

გმო პრაიმერები.

დამხმარე ხელსაწყოები/ ჭურჭელი: 2 თავსახურიან სინჯარა;

16 PCR სინჯარა;

1-20 µl პიპეტი;

100-1000 µl პიპეტი;

1. ექსპერიმენტი დაწყებამდე დავნომრეთ პისიარ სინჯარები ცხრილი 1.-ის მიხედვით.
2. თავსახურიან სინჯარაში გადავიტანეთ 200 µl მასტერ მიქსი და დავამატე 4 µl მცენარეული პრაიმერები. მიღებული მასტერ მიქსი (მმ) გადავანაწილეთ პისიარ სინჯარებში ცხრილი 1-ის მიხედვით.
3. თავსახურიან სინჯარაში გადავიტანეთ 200 µl მასტერ მიქსი და დავამატეთ 4 µl მცენარეული პრაიმერები. მიღებული მასტერ მიქსი (მმ) გადავანაწილეთ პისიარ სინჯარებში ცხრილი 1-ის მიხედვით.
4. PCR სინჯარებში გადატანამდე გამოყოფილი დნმ-ს სინჯარები დავაცენტრიფუგეთ 5000 g-ზე

ცხრილი 1			
სინჯარის #	მარკირება	შეტანილი მასტერ მიქსი (მმ)	დნმ
1	1 მწვანე	20µl მცენარეული მმ	20µl Non-GMO კონტროლი დნმ
2	1 წითელი	20µl გმო მმ	20µl Non-GMO კონტროლი დნმ
3	2 მწვანე	20µl მცენარეული მმ	20µl GMO კონტროლი დნმ
4	2 წითელი	20µl გმო მმ	20µl GMO კონტროლი დნმ
5	3 მწვანე	20µl მცენარეული მმ	20µl ლომთაგორა 1 დნმ
6	3 წითელი	20µl გმო მმ	20µl ლომთაგორა 1დნმ
7	4 მწვანე	20µl მცენარეული მმ	20µl ლომთაგორა 2 დნმ
8	4 წითელი	20µl გმო მმ	20µl ლომთაგორა 2 დნმ
9	5 მწვანე	20µl მცენარეული მმ	20µl ლომთაგორა 3 დნმ
10	5 წითელი	20µl გმო მმ	20µl ლომთაგორა 3 დნმ
11	6 მწვანე	20µl მცენარეული მმ	20µlნიმუში 1 დნმ

12	6 წითელი	20µl გმო მმ	20µl ნიმუში 1 დნმ
13	7 მწვანე	20µl მცენარეული მმ	20µl ნიმუში 2 დნმ
14	7 წითელი	20µl გმო მმ	20µl ნიმუში 2 დნმ
15	8 მწვანე	20µl მცენარეული მმ	20µl ნიმუში 3 დნმ
16	8 წითელი	20µl გმო მმ	20µl ნიმუში 3 დნმ

5. სინჯარები მოვათავსეთ თერმოციკლერში და გავუშვით პროგრამა ცხრილი 2 ის მხედვით

ცხრილი 2				
საფეხური	ფუნქცია	ტემპერატურა	ხანგრძლივობა	ციკლების რაოდენობა
პიველადი დენატურაცია	დენატურაცია	94˚C	2 წთ	1
PCR ამპლიფიკაცია	დენატურაცია	94˚C	1 წ	40
	ანელინგი	59˚C		
	ელონგაცია	72 ˚C	2 წთ	
საბოლო ეტაპი	ელონგაცია	72 ˚C	10 წთ	1
დაყოვნება	დაყოვნება	4 ˚C	განუსაზღვრელი	1

6. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის ციკლების დამთავრების შემდეგ ნიმუშებს ვინახვთ საყინულეში - 20 ˚C-ზე

2.2.3 ელექტროფორეზი

საკვლევი ობიექტი: ცხრილ 1-ში მოცემული დნმების და მასტერმიქსების ნარევი

ხსნარები: აგაროზას გელი;

1x TAE ბუფერი.

დამხმარე ხელსაწყოები/ ჭურჭელი: გელ ელექტროფორეზი;

მიკროტალღოვანი ღუმელი;

ელექტრონული სასწორი;

1ლ 500მლ დანაყოფებიანი ცილინდრი;

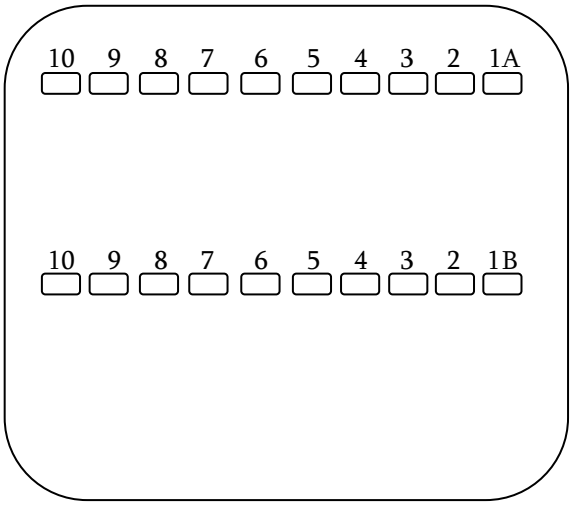
100მლ თერმოგამძლე კოლბა;

1-20 µl პიპეტი.

1. აგაროზის გელის დასამზადებლად 50 მლ 1x TAE ბუფერში გავხსენით 1.5გ აგარის ფხვნილი და გასალღობად შევდგით მიკროტალღოვან ღუმელში 3 წუთის განმავლობაში.
2. აგარის გელი გავაგრილეთ 60˚C-მდე

3. ავაწყეთ გელ-ექტროფორეზი, მასში მოვათავსეთ აგარის გელის ფორმა და გადავიტანეთ დაახლოებით 30-50მლ აგრის გელი(დაახლოებით 0.5სმ-ის სიღმის ფენა)
4. აგაროზის გელში მოვათავსეთ 2 10 კბილიანი სახაზავი და დავაყოვნეთ გასამაგრებლად 20 წთ.
5. გელის გამაგრების მერე, მოვაშორეთ გელის სამაგრი ფორმები, სახაზავები და ელექტროპორეზის აპარატი გავავსეთ 1x TAE ბუფერით.
6. აგაროზის გელის ფოსოებში გადავიატნეთ სახაზავი და PCR-ით მიღებული გენები ცხრილი 3 ის მიხედვით.

ცხრილი 3	
A ხაზი	B ხაზი
A1 მოლეკულური სახაზავი	B1 მოლეკულური სახაზავი
A2 არა გმო კონტროლი გმო პ[8]	B2 ლომთაგორა 3 გმო პ
A3 არა გმო კონტროლი მც. პ [9]	B3 ლომთაგორა 3 მც. პ
A4 დადებითი კონტროლი გმო პ	B4 ნიმუში 1 გმო პ
A5 დადებითი კონტროლი მც. პ	B5 ნიმუში 1 მც. პ
A6 ლომთაგორა 1 გმო პ	B6 ნიმუში 2 გმო პ
A7 ლომთაგორა 1 მც. პ	B7 ნიმუში 2 მც. პ
A8 ლომთაგორა 2 გმო პ	B8 ნიმუში 3 გმო პ
A9 ლომთაგორა 2 მც. პ	B9 ნიმუში 3 მც. პ

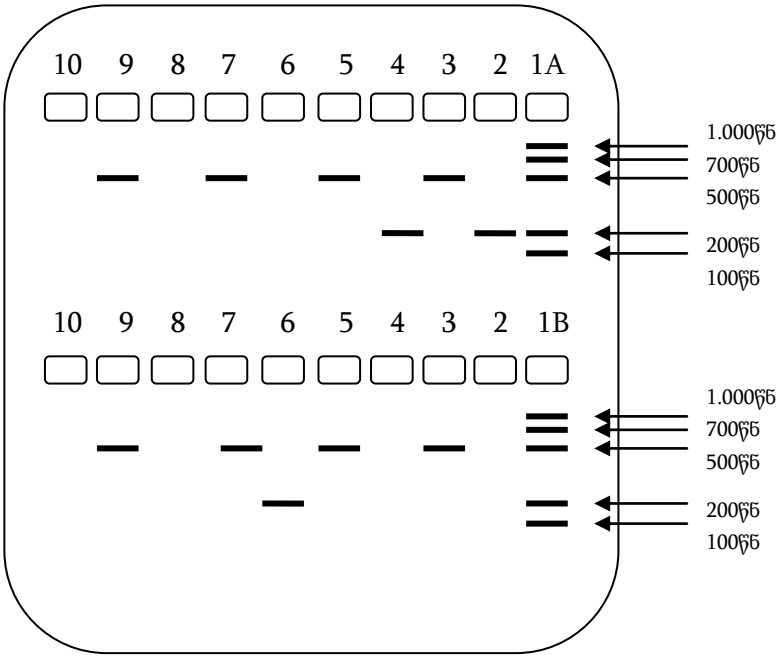


ნახაზი 1. ელექტროფორეზის ფოსოებში გადატანილი ნიმუშები, განმარტება ცხრილ 3-ში.

[8] გმო პ- გმო პრაიმერი, P35S პრომოტორის და TNOS ტერმინატორის შესაბამისი თანმიმდევრობები.
[9] მც. პ- მცენარეული პრაიმერი, ფოტოსისტემა II-ის შესაბამისი თანმიმდევრობა.

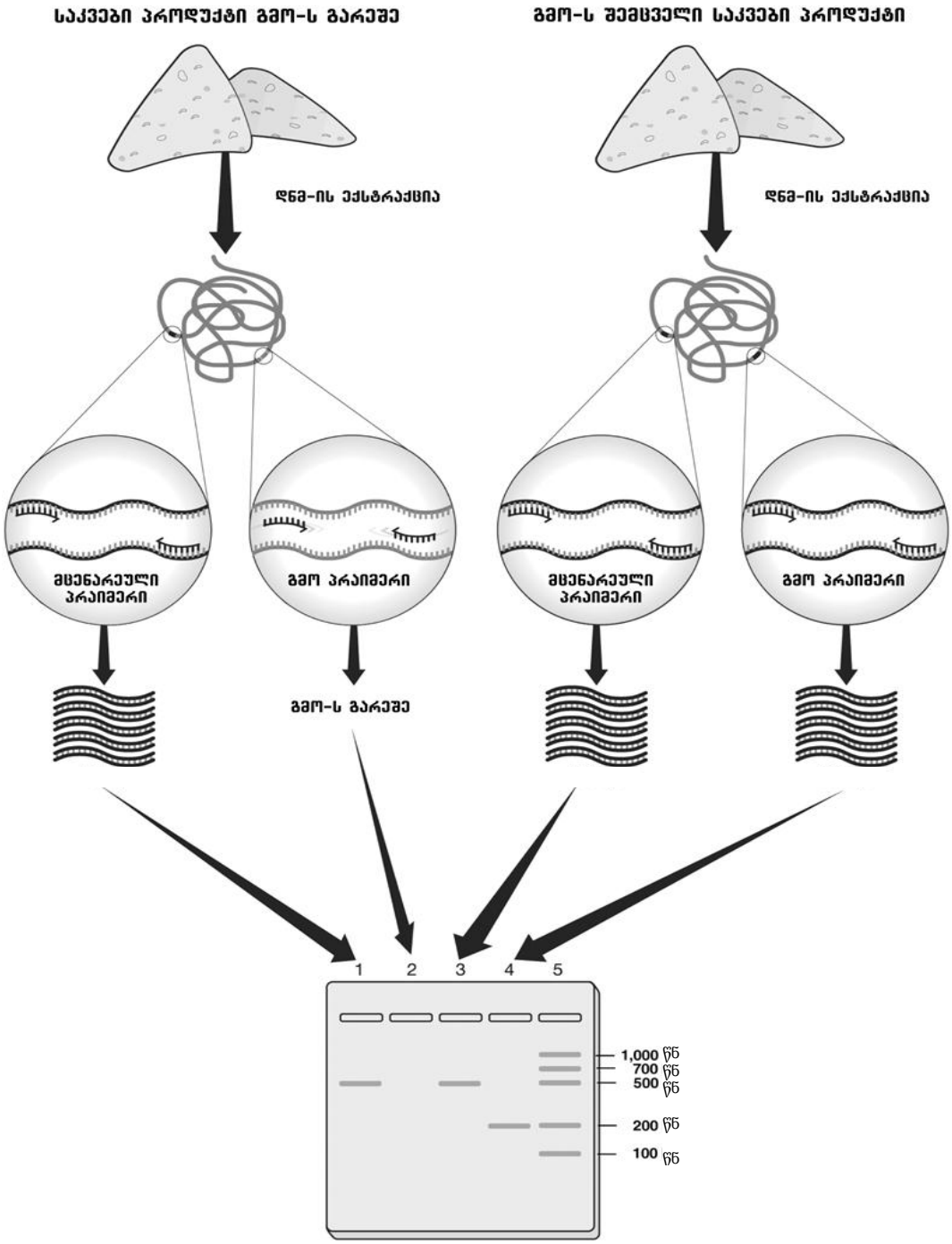
შედეგები

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით გამრავლებული პრომოტორი P35S და ტერმინატორი TNOS ეთიდიუმბრომიდის თანაობისას ულტრაიისფერ სპექტრში 280-360ნმ ტალღაზე იძლევიან ზოლოვან ნათებას 200წნ[10] ზონაში . ხოლო მცენარეული ფოტოსისტემა 2-ის გენები ნათებას იძლევიან 500წნ ზონაში



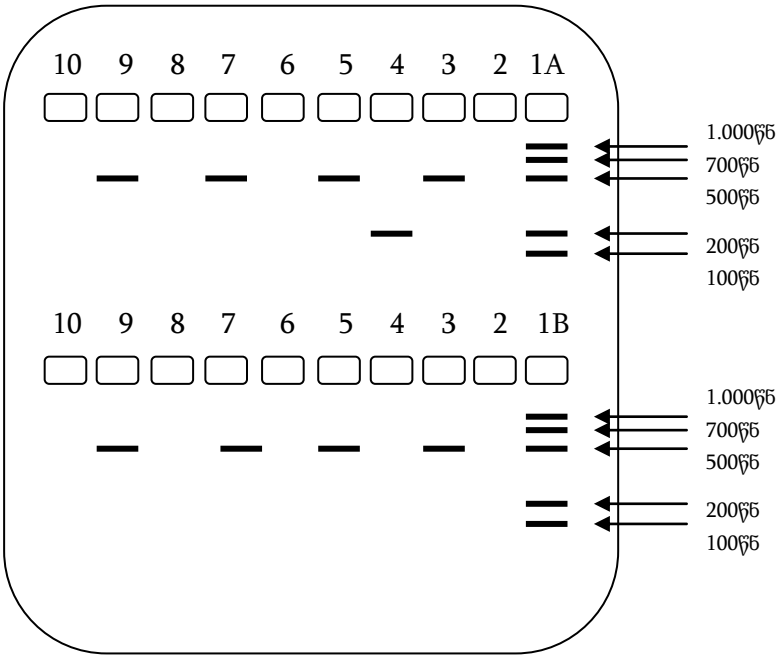
ნახაზი 1. გმო დადებითი შედეგის მაგალითი, დადებითი პასუხის შემთხვევაში გმო პრაიმერებიან ხაზებში 200წნ–ზე მოგვცემდა მსგავს ნათებას.

[10] წნ-წყვილი ნუკლეოტიდი

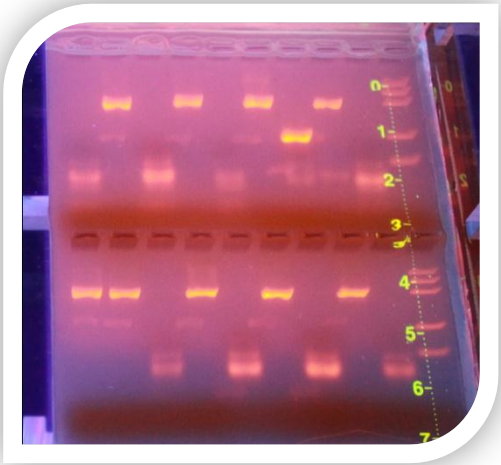


სურ.3 შედეგების ანალიზი, I ფოსოში მოთავსებულია არა-გმო ნიმუში მცენარეულ პრაიმერებთან ერთად ამიტომაც ულტრაისფერ სინათლეზე ხაზოვანი ნათება მოგვცა 500წნ ზონაში, მე-2 ფოსიში განთავსებულია არა გმო ნიმუში გმო პრაიმერებით, რადგანაც ნიმუში არაა გენმოდიფიცირებული ნიმუშმა არ მოგვცა არანაირი ნათება. მე-3 ფოსოში განთავსებულია გმო ნიმუში მცენარეული პრაიმერებით და მან ნათება მოგვცა 500წნ ზონაში, მე-4 ფოსოში არის გმო ნიმუში, გმო პრაიმერების მეშვეობით მოხდა საკვლევი თანმიმდევრობების გამრავლება და ულტრაიისფერი ნათებისას 200წნ ზონაში მოგვცა ხაზოვანი ნათება.

გამოკვლეულმა არცერთმა ნიმუშმა არ მოგვცა ნათება 200წნ ზონაში ანუ აღნიშნული მარკერების მიხედვით არცერთი ნიმუში არ აღმოჩნდა გენმოდიფიცირებული. ხოლო 500წნ ზონაში ნათება მოგვცა ყველა ნიმუშმა რაც იმის დასტურია რომ ყველა საკვლევი დნმ მცენარეულია და ექსტრაქციის დროს არ მომხდარა ნიმუშების ბაქტერიული გენებით დაბინძურება. მივიღეთ შემდეგი შედეგი იხ. ნახაზი 2 სურ. 4



ნახაზი 2. არცერთი საკვლევი ნიმუში არ აღმოჩნდა გენმოდიფიცირებული აღნიშნული მარკერების მიმართ



სურათი 1. მიღებული შედეგი აგაროზას გელის ნათება ულტრაისფერ განათებაზე ეთიდიუმბრომიდის თანაობისას.

დასკვნა

შპს. „ლომთაგორას“ მიერ წარმოებულ ჰიბრიდულ ჯიშებში არ არის გამოყენებული გენეტიკურად მოდიფიცირებული სიმინდის ხაზები.

ჩვენს მიერ შესწავლილ გლეხურ მეურნეობაში გავრცელებულ, პოპულარულ, სიმინდის ჯიშებში არ გამოვლინდა გენეტიკურად მოდიფიცირების ნიშნები.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. საქართველოს კანონი ცოცხალი გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების შესახებ, დოკუმენტის ნომერი-2656-Iს, მიღების თარიღი 18/09/2014
2. საქართველოს სოფლის მეურნეობის მინისტრის N2-231 ბრძანება სსმ III, 18.12.2009 N 154 მუხ.1817.
3. The statistics portal -2015 http://www.statista.com/statistics/263977/world-grain-production-by-type/
4. საქრთველოს სტატისტიკის ეროვნული სამსახური http://www.geostat.ge/
5. ISAAA The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications-Global Status of Commercialized Biotech/ GM Crops: 2014
6. გივი ჯამბურია, ადოლი ტყეშელაშვილი - მარცვლოვანი კულტურების მეთესლეობა და თესლბრუნვის საფუძვლები, თბილისი 2006წ
7. ზაურ ჯულუხიძე, დავით ბედოშვილი, ტოშია თავაძე, ქეთევან ნიაური, ნუნუ ჟვანია - სიმინდის სახელმძღვანელო: ნიადაგის მომზადებიდან მოსავლის აღებამდე, თბილისი 2014წ
8. ალავერდაშვილი ნანა - სიმინდის ადგილობრივი ჯიშებიდან და მაღალ ჰეტეროზისული ჰიბრიდებიდან თვითდამტვერილი ხაზების მიღება და მათი სელექციური ღირებულება, თბილისი 2012წ
9. თამარ ზარანდია - სიმინდის ზოგიერთი ჰიბრიდისა და პოპულაციის ბიოლოგიური თავისებურებანი, თბილის 2008წ
10. მონსანტო მსოფლიოში ერთ-ერთი უდიდესი გენმოდიფიცირებული სათესლე მასალის მწარმოებელი http://www.monsanto.com/
11. ავთანდილ კორახაშვილი, მარიამ გაიდამაშვილი - აგრობიოტექნოლოგიები, თბილისი 2012წ
12. დავით ძნელაძე - ბიოტექნოლოგიის კვლევის თანამედროვე მეთოდები და აპარატურა, თბილისი 2011წ
13. Biotechnology Explorer, GMO Investigator Kit, Catalog #166-2500 EDU 2011