

дення галузі свинарства не тільки на екологічному, але й на економічному, що в свою чергу на

певну низку порівняно з передовими країнами Європи і світу в цілому.

Список використаної літератури:

1. Карунський О., Ярошко М. Особливості ведення галузі свинарства на прикладах господарств Німеччини і Австрії // Пропозиція. – 2003. - № 8-9. – С.74-75.
2. Костянтинівський В. Розведення свиней у Данії // Зоотехнія. – 2006. - № 3. – С. 10-11.
3. Куртц Х. Чем привлекательно свиноводство Дании // Технопарк. – 2005. - № 10-11. – С.28-29.

Проанализирована целесообразность ведения экологического ведения и конкурентоспособности продукции экологических предприятий на рынке свинины.

Повышение экономической эффективности отрасли свиноводства способствует введению в практическое производство современных технологий, обуславливающих экологически чистое, физиологически обоснованное разведение свиней и получение от них безопасной в экологическом отношении и биологически полноценной продукции.

Ключевые слова: экологическое хозяйствование, конкурентоспособность, интенсификация свиноводства, разведение свиней, содержание свиней, ветеринарные манипуляции.

Expedience of conduct of ecological conduct and competitiveness of products of ecological enterprises is Analysed at the market of pork. The increase of economic efficiency of industry of the pig breeding promotes introduction to the practical production of modern technologies, obuslavlivayuschikh ecologically clean, physiological grounded breeding of pigs and receipt from them safe in

Key words: ecological management, competitiveness, intensification of the pig breeding, breeding of pigs, maintenance of pigs, veterinary manipulations.

Дата надходження в редакцію: 23.10.2012 р.

Рецензент: д.с.г.н., професор А.М.Салогуб

УДК 577.2:575:57.08:658.562

СУЧАСНІ МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ГМО В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ ТА ПРОДОВОЛЬЧІЙ СИРОВИНІ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

Р.В. Облап, к.б.н., Білоцерківський національний аграрний університет

Генетично модифіковані рослини поступово стають реаліями нашого життя. За 16 років використання ГМ культур світові площі, відведені під них, зросли з 1,7 млн. га до 160 млн. га та у теперішній час представлені у 29 країнах світу. Не зважаючи на це, в більшості країн світу їхнє використання є строго регламентованим. У роботі висвітлено основні методи та підходи, що використовуються на сьогодні для детекції та ідентифікації ГМ організмів та продукції, яка отримана з їх використанням.

Ключові слова: генетично модифіковані організми, харчові продукти та продовольча сировина, імунодіагностика, ДНК діагностика, полімеразна ланцюгова реакція.

Постановка проблеми. Біотехнологічні сільськогосподарські культури поступово стають реаліями нашого життя, все більше захоплюючи світовий споживчий ринок. Особливо широке розповсюдження отримали так звані генетично модифіковані (ГМ) або трансгенні культури, такі як ГМ соя, кукурудза, ріпак, бавовник та інші [1].

Все більша кількість країн залучається до розробки, виробництва та торгівлі ГМ продукцією. Не дивно, що тема ГМО викликає підвищений інтерес засобів масової інформації. Обговорюються ризики, пов'язані з вирощуванням ГМ культур, безпека продукції, яка містить ГМО для здоров'я і життя людини, екологічні аспекти та економічний ефект від використання такого роду продукції.

Продукти, до складу яких входять ГМО, з'явилися на полках супермаркетів в середині 90-х років. Первістком стала томатна паста, виготов-

лена з генетично модифікованих томатів. За 16 років розвитку біотехнологій в аграрному секторі перелік ГМО значно розширився та на сьогодні складає близько 20 найменувань. Згідно даних ISAAA [2] на 2011 рік світові посівні площі, відведені під ГМ культури, досягли 160 млн. га та у теперішній час представлені у 29 країнах світу. За посівними площами найбільш поширеними біотехнологічними культурами є соя (3/4 з 100 млн. га сої в усьому світі), бавовник (майже 1/2 з 33 млн. га бавовнику в усьому світі), кукурудза (1/4 зі 158 млн. га) та ріпак (більше 1/5 з 31 млн. га).

Термін "ГМО" було введено для опису організмів, генетичний матеріал (ДНК) яких змінено не існуючим у природі шляхом. Внаслідок цього утворюються організми з новими фенотиповими ознаками, які не властиві даному виду. На сьогоднішній день ГМ культури, які вивільнені на світо-

вий ринок, характеризуються насамперед такими ознаками як стійкість до гербіцидів, комах, вірусних та грибкових інфекцій.

Саме маніпуляції із ДНК, які дозволяють долати міжвидові бар'єри та переносити гени від одних організмів до інших, викликають найбільші побоювання у противників ГМО. Їхні основні аргументи - це потенційна загроза трансгенних організмів для здоров'я людини та навколишнього середовища. З іншого боку, великі компанії, виробники ГМО, стверджують зворотне, нібито використання ГМ культур це чи не єдиний спосіб вирішення загальносвітової продовольчої проблеми. В будь-якому випадку, в цей час відсутні будь-які дані щодо негативного впливу ГМО на здоров'я людини, які були б підтверджені авторитетними установами. Однак потенційна небезпека все-таки існує і тому у багатьох країнах світу використання ГМ-технологій з наступним вивільненням ГМО в навколишнє середовище, їхнє використання в сільському господарстві та при виробництві продуктів харчування є строго регламентованим [3].

В Україні на сьогоднішній день також діє низка законодавчих актів, які регулюють обіг, транскордонні переміщення, обробку та використання ГМ культур [4]. Зрозуміло, що проведення належного рівня моніторингу ГМО не є можливим без наявності відповідних аналітичних методів аналізу. Тому зрозуміло, що розробці сучасних високочутливих діагностикумів вітчизняного виробництва приділяється дуже велика увага.

Метою цієї роботи було проведення моніторингу сучасних методів детекції ГМО та визначення оптимальних підходів щодо визначення ГМ інгредієнтів у харчових продуктах та сільськогосподарській сировині.

Детекція та ідентифікація ГМО. Вивільнення на світовий ринок біотехнологічних культур та їх використання у харчовій промисловості призвело до необхідності контролю присутності ГМО в сільськогосподарській сировині, продуктах харчування та кормах для тварин. Це, в свою чергу, стимулювало розвиток і застосування найсучасніших аналітичних методів, які дозволяли б виявляти ГМО, проводити кількісну оцінку їхнього вмісту, а також ідентифікувати конкретні лінії ГМ культур. Розвиток та стандартизація технологій детекції ГМО є необхідною також в контексті постреєстраційного моніторингу трансгенних організмів та маркування продукції такого типу. Вибір конкретного методу і його впровадження в лабораторну практику повинні супроводжуватися обов'язковими метрологічними оцінками та проведенням порівняльних випробувань із методами, загальноприйнятими у світовій практиці [1].

Ідентифікація трансгенних організмів може здійснюватися за такими критеріями, як оцінка фенотипових ознак, аналіз новосинтезованих білків та метаболітів, визначення специфічних

молекул РНК або безпосередня детекція ДНК генно-інженерних конструктів. У будь-якому випадку методи детекції ГМО повинні відповідати таким загальним критеріям, як можливість детекції різних видів трансгенних організмів, можливість здійснення кількісної оцінки вмісту ГМ компонентів, можливість отримання задовільних результатів при роботі з будь-яким матеріалом та висока чутливість, надійність і відтворюваність результатів.

До найбільш розповсюджених методів детекції та ідентифікації ГМО можна віднести такі, що базуються на визначенні специфічних білків, які синтезуються трансформованою рослиною, та безпосередньому аналізу ДНК, що була використана при генно-інженерних маніпуляціях [1,3].

Імунодіагностика. Основою цього методу є ідентифікація комплексу антиген-антитіло. Метод дозволяє ідентифікувати білки, які утворились внаслідок генетичної трансформації рослини. Даний метод діагностики є високо специфічним і не вимагає складної пробопідготовки зразків, що мають бути проаналізовані [5].

Найбільш розповсюдженим типом імунодіагностики є імуносорбентний аналіз (ELISA). Цей метод дозволяє виявляти білки, які є типовими для існуючих сьогодні ГМ рослин, а саме – Epsps, Pat, Cry, Bt та інш. Аналіз проводять у декілька етапів. Спочатку на поверхню твердої підложки наносять специфічні антитіла та додають розчин білків (антиген), попередньо отриманий з досліджуваного зразка. Цей новоутворений комплекс відмивають від компонентів, що не зв'язалися, та інкубують з другими антитілами. Другі антитіла є кон'югованими з ферментом, який при додаванні субстрату утворює забарвлений продукт, кількість якого пропорційна концентрації внесеного білка. Далі проводять якісну або кількісну оцінку вмісту трансгенного білку за допомогою спектрофотометрії.

Одним з різновидів імуноферментного методу детекції ГМО є аналіз за допомогою індикаторних смужок. Мембрана смужки вкрита антитілами з високим ступенем спорідненості до відповідних епітопів антигену. Після занурення смужки у розчин білкового екстракту зразка відбувається зв'язування більшої частини антитіл з антигеном. Наявність однієї забарвленої лінії на смужці свідчить про негативний результат аналізу, наявність двох – про позитивний. Метод є досить ефективним та дає достовірний результат у 90% випадків за умови наявності ГМО у зразках в кількості не меншій ніж 0,15%.

ДНК діагностика. До найпоширеніших та високотехнічних методів аналізу ДНК можна віднести полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР, PCR) [6]. На сьогодні ПЛР є основним методом аналізу рослинного матеріалу на наявність ГМ компонентів. За допомогою ПЛР можна виявляти будь-яку частину генно-інженерного конструкту, а саме

регуляторні елементи, структурні та репортерні гени. Завдяки цьому ПЛР можна використовувати як для проведення скринінгу ГМО, за рахунок детекції найбільш розповсюджених регуляторних елементів (P-35s, P-nos, T-35s, T-nos), присутніх в більшості трансформованих рослин, так і для кількісного аналізу та ідентифікації певних ГМ ліній [7-9].

ДНК діагностика ГМО потребує детальної інформації щодо структури впровадженого генно-інженерного конструкту. Для проведення ПЛР необхідна наявність таких компонентів, як синтетичні олігонуклеотидні праймери, комплементарні певній ділянці ГМ конструкту, термостабільна ДНК-полімераза, суміш дезоксинуклеотидтрифосфатів та ДНК-мішень досліджуваного зразку. ПЛР реакція складається з трьох основних етапів (денатурація, гібридизація, синтез), які багаторазово повторюються. Внаслідок цього відбувається синтез бажаного ДНК-фрагменту в кількостях, достатніх для його подальшого аналізу.

Отриманий ПЛР-продукт (амплікон) досліджується з застосуванням фізичних методів аналізу, таких як гель-електрофорез. Висновок щодо ГМО робиться відносно наявності або відсутності амплікону певної довжини, вираженої у парах нуклеотидів. Але остаточне підтвердження автентичності отриманого ПЛР-продукту робиться з застосуванням таких технік, як рестрикційний аналіз, саузєрн-блот гібридизація або пряме секвенування.

Різновидом полімеразної ланцюгової реакції, яка застосовується для кількісної оцінки ГМО, є конкурентна ПЛР. Метод полягає в тому, що відома кількість конкурентної ДНК матриці коампліфікується разом з невідомою кількістю ДНК-мішені досліджуваного зразка. Конкурент являє собою ту ж саму послідовність ДНК, що й мішень, за винятком незначної делеції або крапкової мутації. По закінченню реакції відносно відомої вихідної кількості матриці конкурента розраховується кількість ДНК зразка, що аналізується.

Найпоширенішим методом кількісної оцінки ГМО на сьогоднішній день є ПЛР в умовах реального часу (ПЛР-РЧ, Real-Time PCR). Цей різновид ПЛР базується на постійному моніторингу продуктів ампліфікації та дозволяє проводити коректну оцінку ДНК матриці в будь-який момент часу проходження ПЛР реакції. Таким чином метод ПЛР-РЧ дозволяє визначати вихід продукту реакції після кожного циклу ампліфікації, будувати кінетичну криву за отриманими даними та визначати відносну концентрацію субстрату на основі аналізу цієї кривої.

Детекція продуктів ампліфікації здійснюється за допомогою флуоресцентних барвників, які забезпечують флуоресценцію, прямо пропорційну кількості ПЛР-продукту (репортерна флуоресценція). Механізми генерації репортерної флуоресценції розрізняються залежно від типу ПЛР-РЧ.

Можна виділити два основних типи – застосування інтеркалюючих агентів, флуоресценція яких значно збільшується при зв'язуванні з молекулою ДНК та мічених флуоресцентними барвниками олігонуклеотидних зондів, комплементарних ділянці ДНК-мішені.

В якості інтеркалюючого агента зазвичай використовують барвник SybrGreen, рідше EvaGreen, LcGreen та Cyto 9. Флуоресційно мічені олігонуклеотидні зонди використовують у технологіях TaqMan, Molecular Beacons, Light Cycler та ряд інших.

SybrGreen I забезпечує простий та економічний варіант детекції і кількісного визначення ПЛР-продуктів під час проведення ПЛР-РЧ без необхідності використання специфічних флуоресцентних зондів або праймерів. В процесі ампліфікації барвник вбудовується в малу борозну ДНК ПЛР-продукту та випромінює більш інтенсивний, порівняно з незв'язаною формою барвника, флуоресцентний сигнал [6]. Його характеризує висока чутливість та ефективність, а межа виявлення складає порядку 10 копій плазмідної ДНК. *SybrGreen I* сумісний з усіма відомими на сьогоднішній день приладами для проведення ПЛР у режимі реального часу.

Технологія *TaqMan* базується на використанні 5'-екзонуклеазної активності полімерази [1,6]. На відміну від класичної ПЛР, реакційна суміш додатково містить олігонуклеотидний зонд (пробу), мічений на 5'-кінці флуоресцентним барвником, а на 3'-кінці – фосфатною групою і гасником флуоресценції. Гасник поглинає випромінювання від флуоресцентної мітки, а фосфатна група в 3'-положенні блокує полімеразу. Під час гібридизації праймерів проба зв'язується з комплементарною ділянкою ДНК у кількісному співвідношенні. На стадії елонгації полімерази, синтезуючи комплементарний ланцюг ДНК, розщеплює пробу за рахунок 5'-екзонуклеазної активності. Флуоресцентна мітка відокремлюється від гасника і починає світитись. Флуоресценція зростає прямо пропорційно кількості напрацьованого ПЛР-продукту.

Molecular Beacons є технологією ПЛР-РЧ, в якій використовуються зонди типу "молекулярного маяка". На 5'-кінці зонду знаходиться флуоресцентний барвник, на 3'-кінці – гасник флуоресценції. Кінцеві послідовності цього типу зондів являють собою взаємно комплементарні ділянки, тому за температури відпалу праймерів вони злипаються, утворюючи своєрідну "шпильку" [10]. При цьому відбувається наближення гасника флуоресценції до флуорофору, що в свою чергу призводить до блокування флуоресценції. В процесі гібридизації з ДНК-мішенню зонд розправляється, флуорофор віддаляється від гасника та починає випромінювати світло. Рівень флуоресценції детектується відповідним обладнанням та використовується для кількісних розрахунків.

Light Cycler технологія характеризується наявністю двох зондів та резонансним переносом енергії. Метод вирізняє підвищена специфічність за рахунок збільшення сигналу флуоресценції внаслідок зв'язування ПЛР-продукту відразу з двома ДНК-зондами [11]. Принцип методу полягає в переносі енергії від одного флуорофору, що перебуває на 3'-кінці першого зонда, до іншого флуорофору, що перебуває на 5'-кінці другого зонда, причому відстань між флуорофорами становить всього декілька нуклеотидів.

Ще одним із методів дослідження ДНК є *Microarray* (метод мікроматриць). Останнім часом від дуже широко використовується, коли потрібно проаналізувати дуже великий масив даних. Засновано метод на принципі гібридизації. Мікроматриця ДНК являє собою велику кількість фрагментів нуклеїнових кислот, закріплених у певному порядку на мініатюрній матриці (чипі), яку виготовляють з нейлону, скла або силікону. Виготовлені з використанням сучасних нанотехнологій, ДНК-чипи здатні одночасно оцінювати процеси експресії десятків тисяч генів та виявляти приблизно мільйон мутацій [6].

Інші методи. До менш поширених методів аналізу ГМО [1,3] можна віднести традиційну рідинну хроматографію та мас-спектрометрію. Метод дозволяє виявляти відмінності у хімічному складі олії, отриманої з ГМ культур, за рахунок аналізу жирних кислот або тригліцеридів. За допомогою детектора іонізації в полум'ї (FID) можливе проведення кількісної оцінки.

Методи спектроскопії також використовуються при визначенні ГМО. Це можливо за умов наявності відмінностей в структурних характеристиках, зокрема зміні будови волокон. На жаль, порівняно низька роздільна здатність методу обмежує його поширення.

До "низькотехнологічних" методів визначення ГМО також можна віднести аналіз за фенотипом. Полягає він в оцінці здатності рослин до росту після обробки специфічним гербіцидом.

Висновки. Кожен з вищезгаданих методів характеризується своїми перевагами, недоліками та обмеженнями. Так, метод оцінки за фе-

нотипом є порівняно простим та дешевим, але дозволяє виявляти лише обмежену кількість ГМ-культур.

Імунологічні методи аналізу є більш швидкими, високоспецифічними та відносно не дорогими. Але вони також не позбавлені недоліків. Технологія виробництва продуктів харчування, зазвичай, вимагає проведення термічної або хімічної обробки. Під дією цих чинників відбуваються необоротні зміни в структурі та конформації білкових молекул, внаслідок чого стає неможливим утворення комплексу антиген-антитіло і відповідно, проведення самої реакції щодо визначення ГМО. Також при використанні імуноферментного методу аналізу виникають певні труднощі з розрахунками кількісного вмісту ГМО. Пов'язане це здебільшого з різницею експресії білків у різних типах тканин.

Що стосується молекули ДНК, то вона доволі стійка до дії різних фізико-хімічних факторів навколишнього середовища, що дозволяє аналізувати самий широкий спектр зразків (сировину, напівфабрикати та готову продукцію). Тому на сьогодні до найбільш популярних та надійних методів аналізу ГМО можна віднести різні модифікації ПЛР. Метод характеризується своєю високою чутливістю, специфічністю та відтворюваністю у різних лабораторіях. Окрім того, він потребує мізерно малу кількість матеріалу, необхідну для проведення аналізу. Щоправда, дана перевага цього методу також є і його основним недоліком. Висока чутливість методу часом призводить до появи несправжньо-позитивних результатів внаслідок контамінації продуктами реакції.

До переваг методу мікроматриць можна віднести те, що він дозволяє детектувати, ідентифікувати та кількісно оцінювати велику кількість зразків одночасно за великим спектром ГМ-мішеней. Основний його недолік полягає у дороговизні обладнання та розхідних матеріалів.

Таким чином, кінцевий вибір методу залежить передусім від собівартості аналізів, виду зразків, що планується досліджувати та звичайно від того, який метод більш прийнятний для фахівців певної лабораторії.

Список використаної літератури:

1. Генетично модифіковані рослини / Б.В. Сорочинський, О.О. Данильченко, Г.В. Кріпка; – К.: Фітосоціцентр. – 2005. – 204 с.
2. <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/43/executivesummary/default.asp>, офіційний сайт міжнародної служби з комерційного застосування агробіотехнологічних культур (ISAAA).
3. Ермишин А.П. Биотехнология. Биобезопасность. Биоэтика / А.П. Ермишин и др.; под ред. А.П. Ермишина. – Мн.: Тэхналогія, 2005. – 430 с.
4. <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/main/index>, офіційний веб-портал Верховної Ради України, сайт "Законодавство України".
5. Ankham E., Gadani F., Heinze P. et all. Analytical methods for detection and determination of genetically modified organisms in agricultural crops and plant-derived food products. // Eur. Food. Res. Technol. – 2003. – V.214. – P. 3-26.
6. ПЦР в реальном времени / Д.В. Ребриков, Г.А. Саматов, Д.Ю. Трофимов и др.; под редакцией Д.В. Ребрикова. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. – 2009. – 223 с.

7. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Якісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти / ДСТУ ISO 21569:2008. – Київ: Держспоживстандарт України. – 2009. – 48 с.

8. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Екстрагування нуклеїнової кислоти. / ДСТУ ISO 21571:2008. – Київ: Держспоживстандарт України. – 2009. – 31 с.

9. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Кількісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти. / ДСТУ ISO 21570:2008. – Київ: Держспоживстандарт України. – 2009. – 70 с.

10. Tyagi S., Kramer F.R. Molecular beacons: probes that fluoresce upon hybridization. // Nat. Biotechnol. – 1996. – № 14. – P.303-308.

11. Heid C.A. Real-time quantitative PCR. // Genome Res. – 1996. – № 6. – P. 986-994.

Генетически модифицированные растения постепенно становятся реалиями нашей жизни. За 16 лет использования ГМ культур мировые площади, отведенные под них, возросли с 1,7 млн. га до 160 млн. га и в настоящее время представлены в 29 странах мира. Однако в большинстве стран мира их использование строго регламентировано. В работе освещены основные методы и подходы которые используются на сегодняшний день для детекции и идентификации ГМ организмов и продукции полученной с их использованием.

Ключевые слова: генетически модифицированные организмы, пищевые продукты и продовольственное сырье, иммунодиагностика, ДНК диагностика, полимеразная цепная реакция.

Genetically modified plants are worldwide grown. For 16 years of GM-crops using, world areas for them has grown from 1,7 million hectares to 160 million hectares. And there such an areas in 29 countries. Despite this, the using of such crops are strictly controlled in the most countries. In this work main methods and approaches for GM-detection and identification are described.

Key words: genetically modified organisms, food products and food raw material, immunoassay, DNA-diagnosis, polymerase chain reaction.

Дата надходження в редакцію: 19.10.2012 р.

Рецензент: д.с.г.н., професор Л.М. Хмельничий

УДК 636.2.033 (477.7)

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСТЕР'ЄРУ БУГАЙЦІВ ТАВРІЙСЬКОГО ТИПУ ПІВДЕННОЇ М'ЯСНОЇ ПОРОДИ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

В.І. Гроза, Миколаївський державний аграрний університет

Розглянуто взаємозв'язок між зовнішніми формами тварин, їх екстер'єром та м'ясною продуктивністю. Виходячи з цього була проведена оцінка екстер'єру і м'ясних форм бугайців таврійського типу південної м'ясної породи, яка супроводжувалася визначенням промірів статей тіла та вирахування відповідних індексів будови тіла тварин.

Ключові слова: порода, тип, бугайці, м'ясна, продуктивність, екстер'єр, конституція, лінійний ріст.

Постановка та стан вивчення проблеми.

Основне завдання м'ясного скотарства є виробництво високоякісної яловичини та важкої шкіряної сировини. Розвиток м'ясної продуктивності великої рогатої худоби залежить, насамперед, від внутрішніх, тобто спадкових факторів і впливу чинників зовнішнього середовища на тварин, головним чином якого є корми і годівля.

У селекційно-племінній роботі з великою рогатою худобою чільне місце займає оцінка і добір тварин за зовнішніми формами і пропорціями будови тіла. Це зумовлено встановленим у практичній селекції та багатьох дослідженнях зв'язком між особливостях екстер'єру тварин та їхніми господарськи корисними ознаками [1].

Екстер'єр слугує зовнішнім вираженням конституції тварин, характеризує стан їхнього здоров'я. З віком будова тіла тварин та їхні екстер'єрні особливості різко змінюються. В ембріональний період у тварин найбільш швидко ростуть трубчасті кістки, а в постембріональний – плоскі, тому теля народжується з довгими ногами, коротким плоским тулубом і при піднятті задом. З віком тварина стає більш приземистою у неї збільшується об'єм грудей, тулуб подовжується [9].

Худоба м'ясного напрямку продуктивності порівняно з молочною характеризується нечітко вираженими екстер'єрними статтями.

Таврійський тип південної м'ясної породи створений на новій методологічній основі з за-