

Y.V. Podoba

Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS (Chubinskoe, Ukraine)

*A comparative analysis of animals mitochondrial genome sequences Charolais and Limousin cattle breeds (*Bos taurus*) with global genetic bank. Analysis of the available 29 mitochondrial DNA (mtDNA) sequences of Charolais animals and 27 mtDNA sequences of Limousin animals allowed to distribute them as belonging to the European and African haplogroups by the origin of mtDNA. Among the sequences were revealed two identical mtDNA haplotypes in four animals of Charolais breed and two animals of Limousin breed, which by the similarity of single nucleotide substitutions in the mtDNA hypervariable region probably have a family relationship from the parent line.*

Key words: *Bos taurus*, breed, Charolais, Limousin, mtDNA, haplogroups, SNP



УДК 577.21:57.08:633.15

ОЦІНЮВАННЯ ВПЛИВУ ГЕННИХ МОДИФІКАЦІЙ НА МІНЕРАЛЬНИЙ СКЛАД ВЕГЕТАТИВНОЇ МАСИ КУКУРУДЗИ ЯК СКЛАДОВОЇ КОРМУ ДЛЯ ТВАРИН

Т.Е. ТКАЧИК

*Інститут тваринництва НААН (Харків, Україна)
tim.tkachik@gmail.com*

Велике значення в організації повноцінного мінерального живлення сільськогосподарських тварин відіграють мікроелементи. У даній роботі наведено аналіз та порівняльну оцінку вмісту Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} у силосі, виготовленому з вегетативної маси генетично модифікованої та звичайної кукурудзи в господарствах Харківської області. Встановлено, що вбудовані генні конструкції, які зумовлюють появу принципово нових для даного виду ознак, не впливають на кількість досліджених есенціальних мікроелементів у силосі. Зафіксовані незначні відмінності у мінеральному складі досліджених зразків носили випадковий характер.

© Т.Е. Ткачик, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

Ключові слова: годівля тварин, ГМО, генні конструкції, рекомбінантна ДНК, мінеральний склад, кукурудза

Введення. Повноцінна годівля є ключовим фактором у забезпеченні високої продуктивності тварин. Останнім часом все більше уваги у всьому світі приділяється дослідженням використання у годівлі тварин генетично модифікованих рослин, які створюються із застосуванням методів генної інженерії.

Технологія рекомбінантних ДНК, яка з'явилася на початку 70-х років минулого століття, відкрила можливість отримання організмів, що містять чужорідні гени (генетично модифіковані організми – ГМО). Безумовно, це викликало стурбованість громадськості і поклало початок дискусії про безпеку подібних маніпуляцій [1]. Протягом декількох десятиріч пильна увага приділялась цьому питанню у всьому світі. Багатьма фахівцями у цій галузі обговорювалися можливі ризики, пов'язані зі створенням ГМО [2, 3]. Це питання не втратило своєї актуальності і дотепер.

Нині продовольча і сільськогосподарська організація ООН (FAO) розглядає використання методів генетичної інженерії для створення трансгенних сортів рослин або інших організмів як невід'ємну частину сільськогосподарської біотехнології. Пряме перенесення генів, що детермінують господарськи корисні ознаки, розширило можливості селекціонерів у частині керованості процесу створення нових сортів, зокрема передачі корисних ознак між видами, які не схрещуються між собою [4, 5].

Як наголошується у доповіді Генерального директорату Європейської комісії з науки та інформації, на даний час фахівцями отримано наукові дані про відсутність підвищеної небезпеки продуктів із генетично модифікованих організмів порівняно з продуктами, отриманими з організмів, виведених традиційними методами [5, 6].

Наразі у світі існує понад 150 дозволених до розмноження сортів та ліній генетично модифікованих рослин, які об'єднуються в 22 види (згідно з базою даних Центру оцінки ризиків для навколишнього середовища CERA, USA). Найбільш розповсюджені серед них такі види, як кукурудза та соя [7].

Незважаючи на те, що існує вже багато експериментальних робіт у цьому напрямку, нині майже немає досліджень, присвячених з'ясуванню можливого впливу наявності генних конструкцій у геномі різних видів рослин на вміст мікро- та макроелементів у них [8, 9].

Проте мікроелементи належать до речовин, що мають велике значення в організації повноцінного мінерального живлення сільськогосподарських тварин. Вони беруть участь у регулюванні основних фізіологічних процесів у тваринному організмі – рості, розвитку, розмноженні, кровотворенні, диханні та ін. [10, 11]. Мікроелементи входять до складу гормонів, ферментів, вітамінів, беруть активну участь в обмінних функціях тваринного організму [12, 13].

Оскільки мінеральний склад рослин дуже лабільний і залежить від багатьох чинників (типу ґрунтів, кліматичних умов, виду рослин, фази вегетації тощо),

можна припустити, що наявність у геномі рослин трансгену, який зумовлює синтез специфічного білка та появу нової для конкретного виду рослин ознаки, може впливати на мікроелементний склад рослин.

У зв'язку з цим метою наших досліджень було встановлення наявності генетичних модифікацій у кукурудзяному силосі, а також визначення та аналіз вмісту таких есенційних мікроелементів, як Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} у силосі зі звичайної та генетично модифікованої кукурудзи.

Матеріали і методи досліджень. Матеріалом для досліджень були зразки силосу, виготовленого із зеленої маси генетично модифікованої та звичайної кукурудзи. Визначення наявності або відсутності трансгенної ДНК проводили за допомогою ПЛР (полімеразної ланцюгової реакції). Виділення ДНК здійснювалось за використанням методу фенол-хлороформної екстракції з власними модифікаціями, а визначення наявності трансгенних подій (35S-промотору та pos-термінатора) – за допомогою набору «GenPak GMO-NOS+35S PCR test» («Віокон», Росія).

Електрофорез проводили при напрузі поля 200 V та експозиції 30 хв. Як барвник ДНК було використано бромистий етидій. Результати досліджень фіксували за допомогою трансілюмінатора ТУВ-2 після візуалізації ампліконів у 1,5%-му агарозному гелі.

Вміст міді, цинку, марганцю та заліза у дослідних зразках визначали стандартизованим методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії.

Статистичні гіпотези перевіряли за допомогою критерію t на рівні значущості $p < 0,05$ [14].

Результати досліджень, їхнє обговорення. Для визначення наявності генетичних модифікацій у кукурудзяному силосі було відібрано 39 зразків дослідного матеріалу з 27 господарств Харківської області.

Фірмовий набір, який було використано у роботі, дає змогу одночасно ідентифікувати в дослідних зразках і промотор, і термінатор (допоміжні генні конструкції при трансгенезі, рисунок). Якщо у геномі дослідного зразка був присутній 35S промотор, то ампліфікувалась ділянка розміром 194 п.н. (бенди на треках 2, 7), якщо pos-термінатор – 169 п.н. (бенди на треках 4, 5). Якщо у зразку були присутні обидві штучно вбудовані конструкції, то ампліфікувались обидві ділянки (бенди на треці 1). За відсутності у зразках вказаних конструкцій, бендів на треках ми не спостерігали (трек 3).

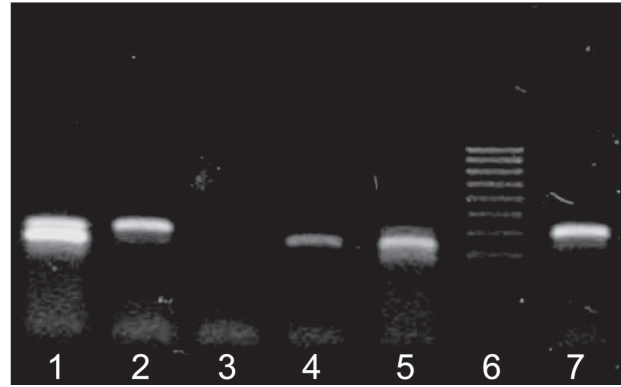
Нами було з'ясовано, що серед досліджених 39 зразків кукурудзяного силосу 12 (30,8%) були генетично модифікованими.

Методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії у дослідних зразках було визначено вміст наступних мікроелементів – Cu^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} . Для визначення можливих відмінностей за кількістю цих мікроелементів у силосі зі звичайної та генетично модифікованої кукурудзи (К(зв) – кукурудза звичайна, К(гм) – кукурудза генетично модифікована) було визначено та порівняно вміст цих елементів.

Порівняльний аналіз отриманих даних дав змогу з'ясувати можливий вплив наявності трансгенних конструкцій на вміст зазначених мікроелементів у досліджених зразках. Результати аналізу наведено в таблиці.

Так, вміст міді у силосі ГМ кукурудзи коливався від 0,65 до 0,90 мг/кг, а у звичайній кукурудзі – від 0,73 до 0,93 мг/кг. Середні значення показників статистично значущі ($p > 0,05$) не відрізнялися від середнього, визначеного по Харківській області, і становили $K(\text{ГМ}) = 0,78 \pm 0,03$ мг/кг, $K(\text{ЗВ}) = 0,83 \pm 0,02$ мг/кг [15].

Вміст марганцю був дещо менший у $K(\text{ГМ}) = 9,25 \pm 0,34$ мг/кг порівняно з $K(\text{ЗВ}) = 9,52 \pm 0,29$ мг/кг, однак різниця виявилася статистично не значуща ($p > 0,05$).



Електрофореграма продуктів ампліфікації (1,5%-й агарозний гель):
1–5 – треки; 6 – маркер молекулярної маси М-50; 7 – дослідні зразки кормів для тварин

Вміст мікроелементів у силосі, який було виготовлено із модифікованої та звичайної кукурудзи (Харківська область) ($n_{\text{ГМ}} = 12$; $n_{\text{ЗВ}} = 27$)

Показник	Вміст есенційних мікроелементів, мг/кг							
	Cu^{2+}		Mn^{2+}		Zn^{2+}		Fe^{2+}	
	Наявність генетичних модифікацій							
	К(ГМ)	К(ЗВ)	К(ГМ)	К(ЗВ)	К(ГМ)	К(ЗВ)	К(ГМ)	К(ЗВ)
$\bar{x} - S_{\bar{x}}$	0,78 $\pm 0,03$	0,83 $\pm 0,02$	9,25 $\pm 0,34$	9,52 $\pm 0,29$	4,64 $\pm 0,19$	4,31 $\pm 0,16$	53,41 $\pm 1,38$	51,88 $\pm 1,53$
Min	0,65	0,73	7,80	8,25	3,85	3,82	46,58	45,20
Max	0,90	0,93	11,05	10,54	5,52	5,12	59,63	58,13
$\sigma \pm S_{\sigma}$	0,079 $\pm 0,018$	0,064 $\pm 0,014$	1,01 $\pm 0,23$	0,88 $\pm 0,20$	0,58 $\pm 0,13$	0,49 $\pm 0,11$	4,15 $\pm 0,93$	4,60 $\pm 1,03$
$C_v \pm S_{C_v}$	10,08 $\pm 2,25$	7,76 $\pm 1,74$	10,96 $\pm 2,45$	9,29 $\pm 2,07$	12,41 $\pm 2,78$	11,33 $\pm 2,53$	7,77 $\pm 1,74$	8,86 $\pm 1,98$
t_f	1,47		0,60		1,31		0,74	
p	$p > 0,05$		$p > 0,05$		$p > 0,05$		$p > 0,05$	

Примітка. $\bar{x} - S_{\bar{x}}$ – середнє арифметичне та його помилка; Min – мінімальне значення показника; Max – максимальне значення показника; $\sigma \pm S_{\sigma}$ – середнє квадратичне відхилення та його помилка; $C_v \pm S_{C_v}$ – коефіцієнт варіації та його помилка; t_f – фактичне значення t-критерію Стюдента; p – рівень статистичної значущості.

Коливання значень вмісту цинку були незначними – від 3,85 до 5,52 мг/кг у модифікованій та від 3,82 до 5,12 мг/кг у немодифікованій кукурудзі. Середні значення становили відповідно $4,64 \pm 0,19$ і $4,31 \pm 0,16$ мг/кг.

За вмістом заліза дослідні зразки також значуще не різнилися між собою ($p > 0,05$). У силосі, який був виготовлений із модифікованої кукурудзи, кількість заліза була $53,41 \pm 1,38$ мг/кг, а у зразках із звичайною кукурудзою – $51,88 \pm 1,53$ мг/кг.

У ході цих досліджень нами не виявлено будь-яких вірогідних відмінностей у мінеральному складі силосу, який було виготовлено із модифікованої та звичайної кукурудзи. Так, значення вмісту досліджених мікроелементів у силосі майже не відрізнялися від показників, установлених по Харківській області раніше [15]. На підставі отриманих даних пропонуємо вважати, що наявність штучно вбудованих генних конструкцій не змінює фізіологічні та біохімічні процеси в кукурудзі таким чином, щоб це мало змогу вплинути на вміст мікроелементів у ній.

Висновки. Не виявлено статистично значущої різниці між вмістом таких есенційних мікроелементів, як Cu^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , у силосі, виготовленому з генетично модифікованої та звичайної кукурудзи.

Наявність у досліджених зразках кукурудзи трансгенних конструкцій не впливає на кількість елементів у силосі, який з них отримано.

1. Глик Б. Молекулярна біотехнологія / Б. Глик, Дж. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – С. 517–589 – ISBN 5-03-003328-9.

2. *Potential Biohazards of Recombinant DNA Molecules* / Berg Paul David Baltimore [et al.] / Science. – 185, no. 4148 (26 July 1974). – 303 p.

3. *Marshall A. GM soybeans and health safety – a controversy reexamined* / Marshall A. // Nature Biotechnology. – 2007. – V. 25, N 9. – P. 981–987.

4. *GMOs in the pipeline: Looking to the next five years in the crop, forestry, livestock, aquaculture and agro-industry sectors in developing countries* / FAO e-mail conference on GMOs in the pipeline in developing countries / 5 November–2 December 2012 (FAO), <http://www.fao.org/biotech/en/>.

5. *European Commission website*, <http://ec.europa.eu/research/quality-of-life/gmo/index.html>.

6. *European Commission Directorate-General for Research and Innovation; Directorate E – Biotechnologies, Agriculture, Food; Unit E2 – Biotechnologies* (2010).

7. *Center for Environmental Risk Assessment, GM Crop Database*, http://ceramc.org/index.php?action=gm_crop_database.

8. *Hickman Micronutrient levels in normal and glyphosate-resistant soybean* / Darrin M. [et al.] // North Central Weed Science Society Abstracts / 57:107, IN 47907, 2002.

9. *Unnevehr L. Addressing Micronutrient Deficiencies: Alternative Interventions and Technologies* / L. Unnevehr, C. Pray, R. Paarlberg // AgBioForum. – 2007. – 10(3). – P. 124–134.

10. *Нормы потребностей молочного скота в питательных веществах в США*; пер. с англ. – М, 2007. – 383 с.
11. *Мотовило К.Я.* Экспертиза кормов и кормовых добавок [Текст] : учеб. пособие для студентов высших учебных заведений / К.Я. Мотовилов, А.П. Булатов, В.М. Позняковский. – Новосибирск : Сибирское университетское издательство, 2009. – С. 11–20.
12. *Башкин В.Н.* Биогеохимия / Башкин В.Н. – М. : Научный мир, 2004. – 582 с.
13. *Шаповалов С.О.* Оцінка вмісту есенційних мікроелементів у кормах України з урахуванням впливу різних чинників / С.О. Шаповалов [та ін.] // Вісн. аграр. науки. – 2011. – № 7. – С. 36–40.
14. *Плохинский Н.А.* Математические методы в биологии: учеб.-метод. пособие / Плохинский Н.А. – М. : Изд. Моск. ун-та, 1978. – 265 с.
15. *Богданов Г.О.* Інформаційна база даних хімічного складу кормів України для організації обґрунтованої годівлі сільськогосподарських тварин / Г.О. Богданов [та ін.]. – Х. : Інститут тваринництва НААН, 2010. – 214 с.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ГЕННЫХ МОДИФИКАЦИЙ НА МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ ВЕГЕТАТИВНОЙ МАССЫ КУКУРУЗЫ КАК СОСТАВЛЯЮЩЕЙ КОРМА ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Т.Э. Ткачик

Институт животноводства НААН (Харьков, Украина)

Большое значение в организации полноценного минерального питания сельскохозяйственных животных играют микроэлементы. В данной работе приведен анализ и сравнительная оценка содержания Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} в силосе, приготовленном из вегетативной массы генетически модифицированной и обычной кукурузы в хозяйствах Харьковской области. Установлено, что встроенные генные конструкции, обуславливающие появление принципиально новых для данного вида признаков, не влияют на количество исследованных эссенциальных микроэлементов в силосе. Зафиксированные незначительные различия в минеральном составе исследованных образцов носили случайный характер.

Ключевые слова: кормление животных, ГМО, генные конструкции, рекомбинантная ДНК, минеральный состав, кукуруза

ASSESSMENT OF GENE MODIFICATION INFLUENCE ON MINERAL COMPOSITION OF CORN VEGETATIVE MASS

T.E. Tkachyk

Institute of Animal Science NAAS (Harkov, Ukraine)

Trace elements play a key role in mineral nutrition of farm animals. This paper presents a comparative analysis and evaluation of the content Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} in the silage

prepared from vegetative mass of genetically modified and common maize from farms of Kharkiv region. It was found that built-in gene constructs, causing the emergence of principally new kind of traits in the race do not affect the number of such essential trace elements in the silo. Little differences observed in quantitative composition were random and statistically insignificant.

Key words: GMO, genetic constructs, recombinant DNA, mineral composition, maize



УДК 575.1:630.222.2.3

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОРОД *GALLUS GALLUS* L. С ПОМОЩЬЮ ДНК-ФИНГЕРПРИНТИНГА

**А.Л. ФИЛЕНКО¹, В.А. ВАСИЛЬЕВ¹, В.В. МИДЕЛАШВИЛИ¹,
И.Г. МОИСЕЕВА², А.А. СЕВАСТЬЯНОВА³, С.К. СЕМЕНОВА¹**

Институт биологии гена РАН (Москва, Россия)¹

Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН (Москва, Россия)²

*Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
птицеводства (Сергиев Посад, Россия)³*

trc2001@i.com.ua

Проведена генетическая дифференциация семи пород кур, разводимых на территории России и Украины с помощью мультилокусного геномного ДНК-фингерпринтинга (M13/Naе III). На основании наблюдаемой изменчивости минисателлитных маркеров с помощью парно-группового метода для невзвешенных средних (UPGMA) была построена дендрограмма генетического сходства. Показано, что все исследованные образцы формируют два надежных кластера, в один из которых объединяются майские, орловские ситцевые и юрловские голосистые куры. Вторую группу составляют все оставшиеся породы – полтавская глинистая, бурый леггорн, аппенцеллер и белохохлая голландская. Обсуждаются эффективность использования ДНК-маркеров разного типа для дифференциации пород кур, а также история происхождения изученных пород и возможные причины изменения их генетического разнообразия.

© А.Л. Филенко, В.А. Васильев, В.В. Миделашвили,
И.Г. Моисеева, А.А. Севастьянова, С.К. Семенова, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47