



Агроекологія, радіологія, меліорація

УДК 577.2:575:57.08:658.562

© 2016

Р.В. Облал,

кандидат біологічних наук

ДП «Укрметрестандарт»

ВИЗНАЧЕННЯ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОГО РІПАКУ ТА МОНІТОРИНГ ЙОГО ПОШИРЕННЯ

Мета. Відпрацювати методичний підхід і розробити діагностичну тест-систему на основі методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у режимі реального часу для визначення генетично модифікованого (ГМ) ріпаку. Провести моніторинг поширення біотехнологічного ріпаку в Україні.

Методи. Молекулярно-генетичні — екстракція ДНК, проведення ПЛР; біотехнологічний — розробка тест-системи на основі методу ПЛР у режимі реального часу (Real-Time PCR).

Результати. Розроблено скринінгову тест-систему для визначення ГМ ріпаку методом ПЛР у реальному часі. Система дає змогу проводити аналіз як за регуляторними елементами (tNOS), так і за структурними генами (CP4 epsps, Pat, Bar, bay TE, bxp). За допомогою розробленої системи здійснено моніторинг поширення біотехнологічного ріпаку в Україні та показана наявність Roundup Ready™ ріпаку в кількостях, що перевищують 0,9%. **Висновки.** Отримані результати свідчать про потребу контролю сільськогосподарської сировини, зокрема насіння ріпаку, щодо вмісту генетично модифікованих організмів (ГМО).

Ключові слова: генетично модифіковані організми, полімеразна ланцюгова реакція в режимі реального часу, біотехнологічний ріпак.

Постановка проблеми. Біотехнологічні сільськогосподарські культури вирощують у глобальному масштабі протягом останніх 19 років. За цей період площі, відведені під них, зросли більш ніж у 100 разів (з 1,7 до 181,5 млн га). Так, у 2014 р. ГМ культури було посіяно у 28 країнах світу, де проживає понад половина населення земної кулі (60%, 4 млрд людей). До найпоширеніших біотехнологічних культур належить

соя (84,5 млн га від загальних посівів сої в усьому світі, 79%), бавовник (23,9 млн га, 70%) кукурудза (57,4 млн га, 32%) та ріпак (8,2 млн га, 24%). Застосування ГМ рослин стало однією із найшвидше впроваджуваних сільськогосподарських технологій у новітній історії. Економічний прибуток від використання біотехнологічних культур у світовому масштабі в період з 1996 по 2013 р. становив 133,3 млрд дол. США та був досягнутий

завдяки зниженню витрат на виробництво (30%) та значному підвищенню врожайності (70%, 441,4 млн т) [13, 14].

Однак, незважаючи на вже наявні досягнення та багатонадійні перспективи на майбутнє, існує й цілий ряд ризиків і побоювань щодо безпеки використання ГМО. Такі ризики можна поділити на 3 основні групи: харчові, що пов'язані з небезпекою використання ГМО у продуктах харчування; екологічні, пов'язані з небезпеками впливу трансгенних рослин на довкілля, та соціально-економічні — руйнування національної системи насінництва щодо стратегічно важливих культур [2, 3, 12]. Оскільки вірогідність появи будь-яких наслідків залежить від масштабів і тривалості використання, у багатьох країнах світу здійснюють контроль за обігом ГМО, який передбачає реєстрацію нових ГМО, пост-реєстраційний контроль та маркування харчових продуктів, виготовлених з їх додаванням [1, 15].

Ріпак — цінна олійна та кормова культура. Насіння ріпаку містить олії — 38–50%, білка — 16–29, клітковини — 6–7, безазотистих екстрактивних речовин — 24–26%. Ріпакову олію використовують у харчовій та медичній промисловості, сільському господарстві, а також для отримання пального (біодизеля). В Україні ріпак є третьою олійною культурою після соняшнику та сої за площею посівів і валовим виробництвом. Найбільші площі під цією культурою було відведено у 2008 р. — 1411,8 тис. га [10]. Програмою розвитку ріпаківництва в Україні на 2008–2015 рр. передбачалося розширення цієї галузі в загальному рілліництві до 7%, збільшення посівних площ до 2 млн га, отримання 5,6–6 млн т високоякісного насіння ріпаку за врожайності 28–30 ц/га [8].

Оскільки понад 90% непереробленого врожаю ріпаку реалізується на зовнішніх ринках, українські експортери зацікавлені в його контролі на наявність ГМО. Офіційних даних щодо вирощування ГМ ріпаку в Україні немає. Однак дослідження зразків насіння ріпаку вітчизняного виробництва на вміст ГМО упродовж 2010–2014 рр., проведені в лабораторії молекулярно-генетичних досліджень ДП «Укрметртестстандарт», свідчать про наявність ГМ складові.

Мета досліджень — відпрацювання методики визначення ГМ ріпаку та розроблення вітчизняної тест-системи для проведення скринінгового аналізу та моніторингу поширення біотехнологічного ріпаку в Україні.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили у лабораторії молекулярно-генетичних досліджень науково-дослідного центру випробувань продукції ДП «Укрметртестстандарт», акредитованій Національним агентством акредитації України на компетентність відповідно до вимог ДСТУ ISO/IEC 17025-21.

Матеріалом для виділення ДНК були стандартні референтні зразки традиційного та ГМ ріпаку, зразки насіння ріпаку вітчизняної селекції. ДНК виділяли методом СТАБ-преципітації із власними модифікаціями. Концентрацію виділеної нуклеїнової кислоти та її чистоту за співвідношеннями A260/A280 та A260/A230 визначали на спектрофотометрі «BioPhotometer AG 22331» (Eppendorf, Німеччина) [4].

Під час розроблення ПЛР-системи у режимі реального часу для якісного визначення ГМ ріпаку було використано технологію TaqMan [9]. ПЛР-ампліфікацію проводили за допомогою приладів iQCyler (BioRad, Франція) та CFX96 (BioRad, США). Реакційна суміш об'ємом 20 мкл містила 2 мкл ДНК, 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM дНТФ суміші, 10 пкМ кожного з праймерів, 5 пкМ Taq-полімерази (Thermo Scientific™, Литва). Олігонуклеотидні зонди були мічені флуоресцентними барвниками FAM, HEX, ROX, Cy5 та гасниками флуоресценції BHQ1 і BHQ2. Температурний режим складався з початкової денатурації упродовж 3 хв за 95°C та наступних 45 циклів: денатурації — 15 с за 95°C, відпалу праймерів та синтезу — 40 с за 60°C. Флуоресцентний сигнал вимірювали після завершення стадії відпалу праймерів та синтезу у кожному циклі ампліфікації.

Для виготовлення тест-системи використовували реагенти фірм «Sigma-Aldrich» (США), «Thermo Scientific™» (Литва) та «Metabion» (Німеччина). Межу чутливості розробленої системи визначали за допомогою 10-разових розведень ДНК стандартних зразків. Визначення специфічності проводили тестуванням ДНК ГМ лінії ріпаку, сої та кукурудзи [5, 6].

Результати досліджень та їх обговорення. Зазвичай скринінговий аналіз щодо наявності ГМО в продуктах харчування та сільськогосподарській сировині проводять за найбільш поширеними регуляторними елементами генно-інженерних конструктів, такими як промотор 35s вірусу мозаїки цвітної капусти (cauliflower mosaic virus, CaMV) та

термінатор NOS з *Agrobacterium tumefaciens*. Проте у випадку ГМ ріпаку ця стратегія не спрацює. Вірус CaMV, з геному якого було запозичено P35s, вражає передусім представників родини капустяних (*Brassicaceae*), до якої належить і ріпак. Тому наявність послідовностей P35s у досліджуваних зразках ріпаку може бути результатом як наявності генно-інженерних конструктів, так і генетичного матеріалу природного вірусу.

Проведення ж аналізу лише за послідовністю tNOS є малоєфективним. Нині зареєстровано близько 30 ліній біотехнологічного ріпаку (табл. 1). Приблизно третина з них не несе у своєму складі послідовності tNOS, а деякі лінії отримано за допомогою мутагенезу. Все це істотно обмежує застосування скринінгового аналізу лише за регуляторними елементами. Отже, постало питання розробки іншої стратегії щодо визначення наявних ліній трансгенного ріпаку.

Одним із підходів, що широко використовують під час визначення ГМО, є аналіз за структурними генами. При цьому додатковим способом спрямувати специфічність реакції в потрібному напрямі є підбір праймерів, специфічних до ДНК послідовностей, локалізованої в різних генетичних елементах, наприклад, промоторі — структурному гені або структурному гені — термінаторі. Такий тип аналізу дає змогу виявляти значно меншу кількість відомих ГМО порівняно з визначенням за регуляторними елементами, але є більш специфічним. У міжнародних електронних базах даних наведено детальну інформацію щодо зареєстрованих ліній біотехнологічних культур, зокрема ГМ ріпаку [16]. Проведений нами порівняльний аналіз генно-інженерних конструктів, які використовували для створення трансгенних ліній ріпаку, дав змогу виявити ряд унікальних послідовностей, що надаються до використання як мішені під час проведення ПЛР-аналізу. Усього було відібрано 5 таких послідовностей. Перша послідовність лежить у межах гена 5-енолпірувілшикімат-3-фосфат синтази (CP4 epsps) із *Agrobacterium tumefaciens* штам CP4 та хлоропластного транзитного пептиду (СТР2) з *Arabidopsis thaliana* і дає змогу виявляти 3 лінії ГМ ріпаку — GT73, GT200 (Roundup Ready™), MON88302 (Roundup Ready 2™), а також гібридні комбінації, отримані за їхньої участі (див. табл. 1). Друга послідовність локалізована у межах P35s та гена фосфінотрицин N-ацетилтрансферази із *Streptomyces viridochromogenes* (Pat) та

дає змогу ідентифікувати ще 3 лінії ГМ ріпаку — HCN10, HCN92 (Liberty Link™) та T45 (InVigor™). Наступна послідовність — у межах гена фосфінотрицин N-ацетилтрансферази із *Streptomyces hygrosopicus* (Bar) та дає змогу визначити ще 16 ліній біотехнологічного ріпаку. Останні 2 послідовності належать генам тіоестерази (bay TE) з *Umbellularia californica* і нітрилази (bxn) з *Klebsiella pneumoniae* та дають змогу визначити лінії 23-18-17, 23-198 (Laurical™) і OXY-235 (Navigator™) відповідно [11].

Праймери та зонди для проведення ПЛР у реальному часі підбирали за допомогою комп'ютерної програми Primer Express 3.0 (Applied Biosystems). Зонди, специфічні до послідовностей CP4 epsps, Pat і Bay TE, були мічені флюоресційним барвником ROX, зонди до гена Bxp та tNOS — барвником FAM, до гена Bar — барвником Cy5 та ендогенного контролю — HEX. Як ендогенний видоспецифічний контроль перебігу ПЛР використовували ген круцеферину (Cru) ріпаку.

Оптимізацію умов ампліфікації проводили за такими параметрами: температура відпау праймерів, концентрація MgCl₂, концентрація та співвідношення праймерів і зондів. Оптимальна температура, за якої підібраними праймерами найефективніше працювали, становила 60°C. Із чотирьох обраних концентрацій MgCl₂ (1,5; 2; 2,5 і 3 мМ) найкращі результати отримано за концентрації 2,5 мМ. Проведення серії реакцій з різними комбінаціями концентрацій праймерів і зондів у межах від 2 до 20 пкМ уможливило досягнення мінімальної величини Ct і максимального значення ΔRn за постійної концентрації матриці-мішені. Оптимальне значення концентрації становило для праймерів — 10, для зондів — 5 пкМ.

Оцінювання ефективності роботи тест-системи, а саме: специфічності, чутливості, межі детектування, повторюваності та відтворюваності результатів аналізу проводили відповідно до вимог Об'єднаного Центру досліджень ГМО (JRC, ЄС) з використанням сертифікованих референтних зразків Бельгійського інституту контрольних матеріалів і методів (IRMM, ЄС) та Американської асоціації хіміків нафтохімічної та масложиворної промисловості (AOCS, США). ДНК кожного стандартного та випробувального зразків екстрагували й аналізували у двох повторностях. Експериментальне визначення специфічності не виявило перехресних реакцій. Межа чутливості системи становила

1. Наявні лінії біотехнологічного ріпаку (за даними *The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA)*)

Лінія ГМ ріпаку	Комерційна назва, компанія-розробник, рік виходу на ринок	Уведений ген	Регуляторні елементи		Набуті ознаки
			Промотор P35s	Термінатор NOS	
GT73 (RT73)	Roundup Ready™, Monsanto Company, 1994	CP4 epsps	–	–	Стійкість до гербіциду гліфосату
GT200 (RT200)	Te same, 1997	Te same	–	–	Te same
MON88302	TruFlex / Roundup Ready 2™, Monsanto Company, 2012	»	–	–	»
HCN10 (Topas 19/2)	Liberty Link / Independence™, Aventis CropScience, 1995	Pat	+	–	Стійкість до фосфінотрицинових гербіцидів (PPT), зокрема глюфозинату амонію
HCN92 (Topas 19/2)	Liberty Link / Innovator™, Bayer CropScience, 1995	»	+	+	»
T45 (HCN28)	InVigor™, Bayer CropScience, 1996	Pat (syn)*	+	–	Te same
MS1 (B91-4)	Te same, 1995	Bar	–	+	Стійкість до глюфозинату амонію, система контролю запилення — чоловіча стерильність
MS8	» 1996	»	–	+	»
RF1 (B93-101)	» 1994	»	–	+	Стійкість до глюфозинату амонію, система контролю запилення — відновлення фертильності
RF2 (B94-2)	» 1995	»	–	+	»
RF3	» 1996	»	–	+	»
MS1×RF1 (PGS1)	» 1994	»	–	+	Стійкість до глюфозинату амонію, система контролю запилення — чоловіча стерильність, відновлення фертильності
MS1×RF2 (PGS2)	» 1995	»	–	+	»
MS1 x RF3	» 2006	»	–	+	»
MS8×RF3	» 1996	»	–	+	»
MS8×RF3×GT73	Відсутня, Bayer CropScience, 2010	Bar/CP4 epsps (aroA:CP4)	–	+	Стійкість до гербіцидів гліфосату та глюфозинату, система контролю запилення — чоловіча стерильність, відновлення фертильності
MON88302×MS8×RF3	Відсутня, Monsanto Company, 2014	Te same	–	+	»
MON88302×RF3	Te same, 2014	»	–	+	»
PHY14	Відсутня, Bayer CropScience, 1997	Bar	–	+	Стійкість до гербіциду глюфозинату, система контролю запилення — чоловіча стерильність, відновлення фертильності
PHY23	Te same, 2001	»	–	+	»
PHY35	» 1997	»	–	+	»
PHY36	» 1997	»	–	+	»
23-18-17 (Event 18)	Laurical™, Monsanto Company, 1994	Bay TE	+	–	Збільшення вмісту жирних кислот у насінні, зокрема рівню лаурату та міристинової кислоти
23-198 (Event 23)	Te same, 1994	»	+	–	»
OXY-235	Navigator™, Bayer CropScience, 1997	B×n	+	+	Стійкість до оксинілових гербіцидів, зокрема до бромксинілу й іюксинілу
61061	Відсутня, DuPont, 2012	Gat4621	–	–	Стійкість до гербіциду гліфосату
73496	Optimum®, Gly, DuPont, 2012	»	–	–	Te same
MPS961– MPS965	Phytaseed™, BASF, 1999	PhyA	–	+	Виробництво фітази та резистентність до антибіотиків
NS738, NS1471, NS1473	Odyssey™, Pioneer Hi-Bred International Inc., 1995	Отримано за допомогою хімічного мутагенезу			Стійкість до імідазолінових гербіцидів, зокрема імазетапіру
45A37, 46A40	Відсутня, Pioneer Hi-Bred International Inc., 1996	Хімічно індукований мутагенез насіння			Зміна вмісту жирних кислот у насінні, зокрема, високий вміст олеїнової кислоти та низький ліноленової кислоти
46A12, 46A16	Te same, 1996	Te same			»

* Синтетична форма гена Pat отримана зі *Streptomyces viridochromogenes* штам Tu 494.

2. Моніторинг насіння ріпаку на вміст ГМО за роками

Рік	Кількість зразків			Roundup Ready™ (CP4 epsps)	
	досліджених	ріпаку	ріпаку з ГМО (%)	<0,9%	>0,9%
2010	2570	54	13 (24)	10	
2011	1866	19	4 (21)	3	
2012	2001	76	7 (9)	3	4
2013	1769	67	13 (19)	5	6
2014	1609	112	24 (21)	13	11
Усього	9815	328	61 (19)	55	

близько 20 копій ДНК-мішені, що відповідає вимогам ДСТУ ISO 21570:2008 [5].

Отже, розроблена тест-система «ГМ ріпак — скринінг» дає змогу виявляти більшість ліній ГМ ріпаку без їх детальної ідентифікації. Система є мультиплексною, оскільки уможливує проведення трьох незалежних реакцій в одній пробірці та складається з трьох ПЛР-сумішей. Перша ПЛР-суміш дає змогу виявляти гени CP4 epsps, Bar та Cru, друга та третя — Pat, tNOS, Cru та Bay TE, Vxp, Cru, відповідно. У 2011 р. було розроблено методику виконання вимірювань МВВ 081/12-0751-11 на визначення ДНК послідовностей CP4 epsps/Pat/Bar/P35S/tNOS та у 2012 р. отримано технічні умови ТУ У 24.6-02568182-001:2011 на виготовлення тест-системи [7, 11].

Моніторинг харчової продукції та сільськогосподарської сировини, проведений впродовж 2010–2014 рр., виявив наявність в Україні біотехнологічного ріпаку (табл. 2). Усього за цей період лабораторією було досліджено 9815 зразків, дві третини з яких становила харчова продукція. Сільськогосподарська сировина здебільшого була представлена такими культурами, як соя, кукурудза, ріпак, пшениця, рис та продукти їхньої переробки. Всі досліджені зразки ріпаку були виключно вітчизняного походження. Крім насіння, також досліджували ріпаківий шрот та олію. Загальна кількість досліджених зразків ріпаку за весь період становила 328.

У 2010 р. було досліджено 54 зразки ріпаку та продуктів його переробки. ГМ ріпак виявлено в 13 зразках, що становить 24%. Переважна більшість виявлених ГМО — це толерантний до гліфосату Roundup Ready ріпак, оскільки він давав позитивний сигнал за геном CP4 epsps.

Протягом 2011 р. до лабораторії надійшла значно менша кількість зразків

харчової продукції та сировини (1 866), зокрема й ріпаку (19). ГМ складову виявлено у 4-х зразках насіння ріпаку, що становить 21%. В одному з ГМ-позитивних зразків виявлено послідовність гена Pat, у трьох інших — CP4 epsps.

Починаючи з 2012 р. у лабораторії відпрацьовано методику кількісного визначення ГМ ріпаку за структурним геном CP4 epsps. Для цього використано сертифіковані стандартні зразки ГМ ріпаку AOSC. Кількісне визначення базується на обчисленні співвідношення кількості ГМ ДНК і загальної кількості ДНК аналізованої ГМ рослини, виражене у відсотках. Тому для проведення кількісного аналізу будували калібрувальний графік за стандартними зразками, що містили 0,1; 0,5; 1; 5 і 10% ГМ ріпаку лінії GT73. Для цього кількість ГМ матеріалу нормалізували до кількості рослинного матеріалу для отримання величини ΔCt ($\Delta Ct = Ct\ CP4\ epsps - Ct\ Cru$). За значеннями ΔCt стандартних зразків будували калібрувальну криву — графік залежності ΔCt від \log концентрації стандартних зразків. Відносно цієї кривої визначали абсолютні значення досліджуваних зразків за величинами їх ΔCt .

Із 76 зразків ріпаку і продуктів його переробки, досліджених протягом 2012 р., лише 7 (9%) містили у своєму складі ГМО. Всі 7 зразків дали позитивний сигнал за геном CP4 epsps. Кількісний аналіз дав змогу встановити, що у 4 зразках кількість ГМО перевищувала 0,9%. У 2013 р. з 67 перевірених зразків 13 (19%) виявилися такими, що містять ГМО. Серед них 2 зразки дали позитивний сигнал за геном Pat, решта зразків — за геном CP4 epsps. У 6-х CP4 epsps позитивних зразках кількість ГМО перевищувала 0,9%. Дещо більшу кількість зразків ріпаку було перевірено протягом 2014 р. (112), з них 24 (21%) виявились

такими, що містили в своєму складі ГМО. Усі позитивні зразки були представлені Roundup Ready™ ріпаком, в 11 кількості ГМО перевищувала 0,9%.

Отже, переважна більшість виявлених ГМО містила у своєму складі послідовність

гена CP4 epsps, що дає підстави зробити висновки — це Roundup Ready™ ріпак. На жаль, цілісну картину поширення ГМ ріпаку у масштабах всієї країни відстежити неможливо, оскільки в більшості лабораторій України доступ до цієї інформації обмежений.

Висновки

Відпрацьовано методичний підхід і розроблено діагностичну тест-систему на основі методу ПЛР у режимі реального часу для визначення ГМ ріпаку. Діагностикум дає змогу виявляти більшість трансгенних ліній ріпаку без їх детальної ідентифікації. Розроблена тест-система за своїми характеристиками відповідає вимогам міжнародних стандартів щодо проведення ПЛР-аналізу для визначення якісного та кількісного вмісту ГМО в харчових продуктах і продовольчій сировині. Тест-систему

адаптовано під більшість приладів (Bio-Rad, Applied Biosystems, Corbett Research, Синтол, ДНК-технологія), якими обладнано діагностичні лабораторії України.

Розроблену тест-систему успішно використано під час проведення моніторингу поширення ГМ ріпаку в Україні. Дані, отримані протягом 2010–2014 рр., свідчать про наявність Roundup Ready™ ріпаку в кількостях, які перевищують 0,9%, незважаючи на фактичну заборону вирощування біотехнологічних культур у країні.

Бібліографія

1. Баласинович Б. ГМО: виклики сьогодення та досвід правового регулювання/Б. Баласинович, Ю. Ярошевська//Інститут економічних досліджень та політичних консультацій. — К.: Видавничий дім «АДЕФ-Україна», 2010. — 256 с.
2. Игнатъев И. Генетически модифицированные организмы и обеспечение биологической безопасности/И. Игнатъев, И. Тромбицкий, А. Лозан. — Бендеры: Экоспектр, 2007. — 60 с.
3. Картахенський протокол про біобезпеку до Конвенції про біологічне різноманіття. — Монреаль, 2000. — 19 с.
4. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Екстрагування нуклеїнової кислоти/ДСТУ ISO 21571:2008. — К.: Держспоживстандарт України, 2009. — 31 с.
5. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Кількісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти/ДСТУ ISO 21570:2008. — К.: Держспоживстандарт України, 2009. — 70 с.
6. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Якісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти/ДСТУ ISO 21569:2008. — К.: Держспоживстандарт України, 2009. — 48 с.
7. Методика выполнения измерений ДНК последовательностей (CP4epsps/PAT/ BAR/35S/NOS скрининг) генетически модифицированных организмов в пищевых, фармакологических и косметических продуктах, пищевом сырье растительного

8. Происхождения и кормах методом ПЦР-РВ/МВВ 081/12-0751-11. — К.: ДП «Укрметртестстандарт», 2011. — 14 с.
9. Програма розвитку ріпаківництва в Україні на 2008–2015 рр. від 21 лютого 2006 р.//Офіційний вісник України. — 2007. — № 52. — С. 3497.
10. ПЦР в реальном времени/Д.В. Ребриков, Г.А. Саматов, Д.Ю. Трофимов и др.; под ред. Д.В. Ребрикова. — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. — 223 с.
11. Рослинництво України 2012: стат. зб. — К.: Державний комітет статистики України, 2013. — 180 с.
12. Тест-системи для визначення якісного та кількісного вмісту генетично модифікованих організмів (ГМО) рослинного походження в харчових продуктах. Технічні умови/ТУ У 24.6-02568182-001:2011. — К.: ДП «Укрметртестстандарт», 2012. — 52 с.
13. Carpenter J. Impact of GM crops on biodiversity. — 2010. — V. 16(4). — P. 46–51.
14. James C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2013/ISAAA Brief №46. — ISAAA: Ithaca, NY. — 2013.
15. James C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2014/ISAAA Brief № 49. — ISAAA: Ithaca, NY. — 2014.
16. Safety aspects of genetically modified foods of plant origin/Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology. — 2000. — 37 p.
17. The Center for Environmental Risk Assessment (CERA), 2015.

Надійшла 17.03.2015.