

УДК 619:577.21:636.085

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗРАЗКІВ КОРМУ ДЛЯ ТВАРИН ЩОДО ВМІСТУ ГЕНЕТИЧНО-МОДИФІКОВАНИХ СКЛАДНИКІВ

Сапко С.А., Куцан О.Т., Герілович А.П., Герілович І.О.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Останнім часом все більшої значимості набувають дискусійні питання щодо дослідження ГМО, визначення та аналіз впливу на організм тварин генетично модифікованих кормів та продуктів харчування.

Генетично модифіковані організми (ГМО) – це організми, які створюються людиною за допомогою сучасних методів молекулярної біотехнології на основі біологічних законів та реально існуючих організмів.

Всі створені та впроваджені в практичну діяльність людиною ГМО можна розподілити на три групи: генетично – модифіковані мікроорганізми (ГММ), тварини (ГМТ) та рослини (ГМР). Найбільше розповсюдження та господарче значення мають саме генетично – модифіковані рослини.

При об'єктивній оцінці будь-якої нової інформаційної, біологічної або нанотехнології, в першу чергу, повинен розглядатися питання оцінки біологічної та екологічної безпеки людства та навколишнього середовища при впровадженні такої технології. Іншими словами, головним критерієм нової технології повинна бути не велика економічна користь, а більш вища цінність – рівень безпеки. Отже, необхідно проводити системний тривалий моніторинг з використанням нових технологій, постійно контролюючи поширення та якісний склад трансгенних рослин, що надасть можливість їх ідентифікувати та маркувати.

На сьогоднішній день в усьому світі збільшується виробництво генетично модифікованих сортів сільськогосподарських культур, зокрема сої, кукурудзи та картоплі. Доля виробництва таких культур вже досягла 50 % та продовжує збільшуватися. Отже, постає питання визначення, чіткого дослідження та впровадження чутливих та надійних методів детекції, а в подальшому вивчення та аналіз впливу ГМО на організм тварин.

Матеріали та методи. Дослідження були проведені з використанням 34 зразків, з яких: 24 проби комбікорму для різних видів тварин та птиці, 8 – кукурудзи та 2 проби сої, отримані з відділу безпеки та якості сільськогосподарської продукції. Екстракцію ДНК з усіх отриманих зразків корму проводили за допомогою комерційного набору «ДНК-сорб-С» (Центральний НДІ епідеміології МОЗ РФ, Москва, Росія) згідно з протоколом виробника.

Ампліфікацію проводили з використанням комерційних комплектів реагентів «АмпліСенс® ПЛАНТ-СКРИН-ЕРн» та «АмпліСенс® Термінатор NOS-ЕРн». Перший комплект реагентів застосовується для виявлення ДНК-промотору 35S, який міститься в генетично модифікованих об'єктах рослинного походження, а також видоспецифічних генів сої та кукурудзи в продуктах харчування та кормах для тварин, методом полімеразної ланцюгової реакції. Комплект реактивів «АмпліСенс® Термінатор NOS-ЕРн» застосовується після «АмпліСенс® ПЛАНТ-СКРИН-ЕРн» для виявлення ДНК NOS-термінаторної ділянки. Візуалізацію продуктів ампліфікації проводили за допомогою електрофорезу в 1,5 %-му агарозному гелі з наступним фотографуванням із використанням цифрової відеокамери.

Результати дослідження. На підставі результатів дослідження кормів для тварин з використанням двох комерційних тест-систем фірми «АмпліСенс» нами отримана та апробована методика з виявлення ДНК основних генетично модифікованих ділянок за допомогою ПЛР (таблиця).

Таблиця – Результати дослідження кормів для тварин щодо генетично модифікованих складників.

Ч.ч.	Найменування зразка	Всього зразків	Позитивні щодо ГМО	
			35S пром.	NOS терм.
1	соя	2	2	0
2	кукурудза	8	1	0
3	комбікорм	24	9	1

У таблиці показано, що всі досліджені зразки сої, на відміну від кукурудзи, мають генетично-модифіковане походження. Відсоток зразків комбікорму, які мають ГМ походження, склало 41,7.

Використання тест-системи «АмпліСенс® ПЛАНТ-СКРИН-ЕРн» дозволяє одночасно виявляти як ГМ сою, кукурудзу так і традиційної селекції, що надає їй зручності у використанні (рис. 1).

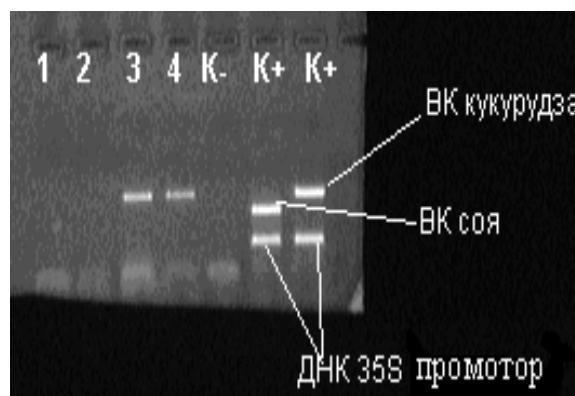


Рис. 1 – Електрофореграма продуктів ПЛР за допомогою тест-системи «АмпліСенс® ПЛАНТ-СКРИН-ЕРн»: 1 та 2 – зразки комбікорму; 3 та 4 – зразки комбікорму які містять не ГМ кукурудзу; «К-» – негативний контроль; «К+» – контроль позитивний на ГМ сою 40-3-2; «К+» - контроль позитивний на ГМ кукурудзу MON 810

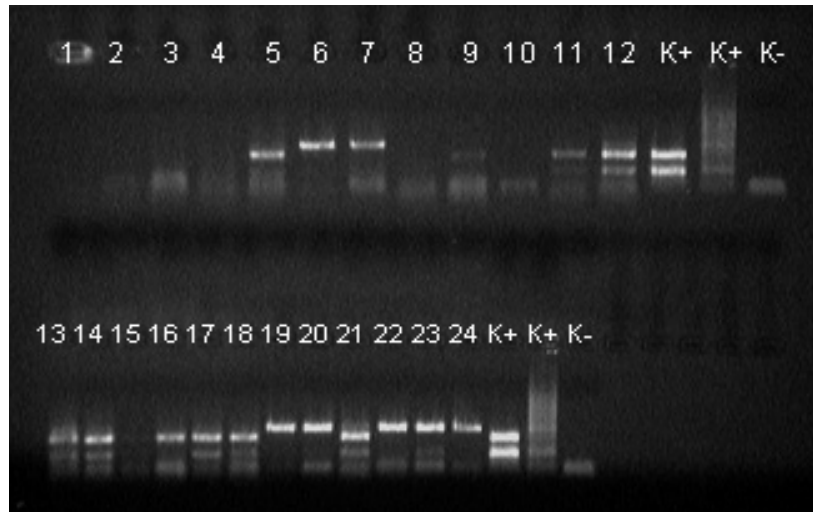


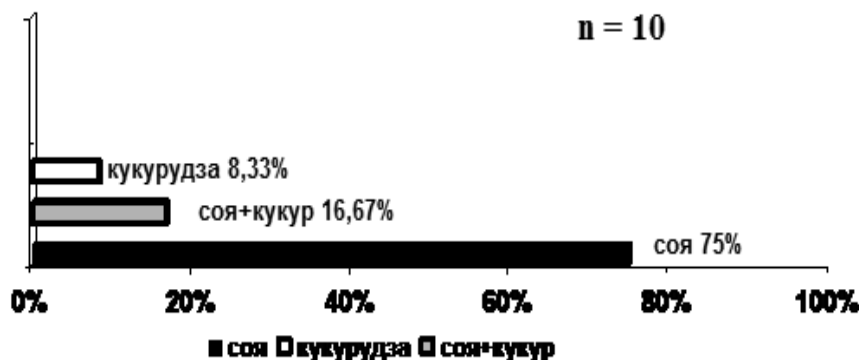
Рис. 2 – Електрофореграма продуктів ПЛР за допомогою тест-системи «АмпліСенс® ПЛАНТ-СКРИН-EPH»: 1 – 24 – зразки корму для тварин; «К-» – негативний контроль; «К+» – контроль позитивний на ГМ сою 40-3-2; «К+» – контроль позитивний на ГМ кукурудзу MON 810.

На рисунку 2 наведена електрофореграма продуктів ПЛР, на якій визначено, що зразки за номерами 12, 13, 14, 17, 18, 21, 23 містять генетично модифіковані складники. Зразки за номерами 1, 2, 3, 4, 8, 10, 15 не містять генетичного матеріалу – ні сої, ні кукурудзи, що виражено відсутністю жодних із смужок. Інші зразки (5, 6, 7, 9, 11, 16, 19, 20, 22, 24) містять в своєму складі або сою, або кукурудзу не модифіковані.

Таким чином, за результатами дослідження з двома комерційними тест-системами, встановлено, що з 34 досліджених зразків 12 зразків мають генетичні-модифікації за ділянкою 35S промотору та один зразок за NOS термінаторною ділянкою.

Корма для тварин, які були позитивні щодо генетично-модифікованих складників, отримані з областей Луганської, Харківської, Полтавської, Сумської та Криму.

За результатом дослідження комбікормів визначено що найбільш генетично модифікованим складником є соя та складає 75 %, кукурудза – 8,33 %, а разом – 16,67 % (діаграма).



Діаграма - Визначення генетично-модифікованих складників комбікормів

Висновок. На підставі результатів проведених досліджень щодо вмісту ГМО кормів для тварин з використанням двох комерційних тест-систем фірми «АмпліСенс» нами апробована методика з пробопідготовки, екстракції ДНК зі зразків рослинного походження та детекція основних генетично-модифікованих ділянок за допомогою ПЛР.

Узагальнюючи дані можна відмітити, що найбільший відсоток генетичних модифікацій (92,31 %) визначається за ділянкою 35S промотору, що співпадає з літературними даними. Серед перевірених складових комбікорму для сільськогосподарських тварин та птиці ГМ походження частіше має соя (75 %) а ніж кукурудза (8,33 %), а разом в комбікормах вони складають 16,67 %.

Список літератури

1. Булыгина, Е.С. Выделение ДНК из различных пищевых продуктов с помощью модифицированного щелочного метода [Текст] / Е.С. Булыгина, Т.В. Колганова, М.В. Сухачева, А.Н. Пантелеева, Е.О. Патутина, Б.Б. Кузнецов // Биотехнология. – 2009. – № 42. – С. 83-90. 2. Топчій, Н. Сучасні методи виділення ДНК виділення вищих рослин [Текст] / Н.Топчій // Вісник Львів ун-ту: серія біологічна. – 2006. – вип. 42. – С. 26-31.

STUDY OF ANIMALS' FORAGE SAMPLES CONCERNING TO THE PRESENCE OF GENETIC MODIFICATION ORGANISMS

Sapko S.A., Kutsan A.T., Gerilovych A.P., Gerilovych I. A.

NSC «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv

The purpose of our work was to study animals' forage on a presence GM constituent using two commercial test-systems («AmpliSens® PLANT-SKRIN-eph» and «AmpliSens® Terminator of Nos-eph»). The work was conducted by used molecular-genetic methods. It was established that 12 investigated samples (n=34) had genetic updating behind site 35S the promoter and only one sample - for NOS terminator site. In the future, our investigations will be directed for the development of DNA exposure methods of the genetically modified making forage for animals, which will be inculcated in practical laboratory researches.