

**VALIDATION OF RAPID METHOD FOR DETERMINING THE OVERALL TOXICITY OF FEED  
USING BIOLUMINESCENT MICROORGANISMS *PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM***

**Kurbatska O. V., Orobchenko O. L.**

*National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine*

*The article presents the results of studying the validation characteristics of the express method for determining the general toxicity of feed using bioluminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*. The work used lyophilized culture *Ph. phosphoreum* (strain IMV B-7071; Sq3) and *Colpoda steinii* dry culture for ecological and toxicological studies of environmental objects, livestock and poultry products (RC № AB-02438-01-11, produced by "Vidrodzhennia" LLC, Odesa). Measurement of the luminescence intensity of luminescent bacteria was performed on a luminometer EMILITE-1003A. To quantify the effect on luminescence of bacteria we used toxicity index to conclude on the degree of toxicity of the sample. When testing *Colpoda steinii* the mobility of ciliates was the criterion for assessing the toxicity of the studied feed samples. Validation parameters of the express method for determining the general toxicity using photoluminescent microorganisms *Ph. phosphoreum* were established according to ISO 16140:2003 "Microbiology of food and animal feeding stuffs — Protocol for the validation of alternative methods (IDT)". There was conducted a comparative study of alternative method (determination of total feed toxicity using *Ph. phosphoreum*) and standard method (determination of toxicity using infusoria *Colpoda steinii* in accordance with DSTU 3570-97 "Feed grain, products of its processing, feed. Determination of toxicity". The test object was a grain mixture (barley–wheat 50:50), toxicant — mycotoxin zearalenone. During the validation of the method, the following parameters were determined: relative specificity, relative accuracy, control of intralaboratory reproducibility, luminescence stability, linearity, convergence, detection limit and method determination limit. It has been established that the technique is specific, accurate, linear, reproducible. Optimal conditions and shelf life for *Ph. phosphoreum*: in tubes on a dense nutrient medium at a temperature of 4°C with monthly reseeded for 7 months, and optimal conditions and time of cultivation before the study: in tubes on a liquid nutrient medium at a temperature of 26°C 24 h after seeding. The limit of detection of the method (for zearalenone) is 0.125 µg/cm<sup>3</sup>, and the limit of determination is 0.25 mg/kg of feed*

**Keywords:** *express method, zearalenone, Colpoda steinii*

УДК 619:577.2.08:604.6:633.953.494/52:636.085.3(477)

DOI 10.36016/VM-2021-107-10

**МОНІТОРИНГ ГМО У СОЇ, РІПАКУ ТА КОРМАХ ДЛЯ  
СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН В УКРАЇНІ ЗА 2018–2020 РОКИ**

**Гайдей О. С., Олексієнко І. С., Шуляк С. В., Меженський А. О., Київська Г. В.**

*Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та  
ветеринарно-санітарної експертизи, Київ, Україна, e-mail: [olga.gaidei@gmail.com](mailto:olga.gaidei@gmail.com)*

**Крушельницька О. В.**

*Львівський національний університет ветеринарної медицини  
та біотехнологій ім. С. З. Гжицького, Львів, Україна*

*Метою роботи було провести моніторинг та проаналізувати результати досліджень сої, ріпаку та кормів для сільськогосподарських тварин за період 2018–2020 рр. щодо наявності ГМО. Дослідження проводились протягом 2018–2020 рр. методом полімеразної ланцюгової реакції у режимі реального часу у науково-дослідному відділі біохімічних і молекулярних досліджень харчових продуктів, кормів та води Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи та регіональних державних лабораторіях Держпродспоживслужби України. Для проведення досліджень були використані діагностичні набори (R-Biorham): для скринінгу, ідентифікації, кількісного визначення ГМ-ліній сої та ріпаку. Як позитивний контроль використовували референс матеріал ГМ-сої, ГМ-ріпаку (ERM, Бельгія). За період 2018 р. було досліджено 3 494 зразків рослинної сировини та кормів, з яких у 505 зразках (14,5 %) було виявлено ГМ-лінії сої та ріпаку. У 2019 р. було досліджено 4 235 зразків, з яких 775 (18,2 %) зразків були*

позитивними. У 2020 році досліджено 4 389 зразків, з яких у 569 (12,8 %) виявлено ГМ-сою та ГМ-ріпак. За період 2018–2019 рр. у позитивних зразках комбікормів, сої, макухи та шроту соєвого було ідентифіковано ГМ-лінії MON 40-3-2 та MON 89788 у кількості більше 10 %, у зразках ріпаку та макухи ріпакової була виявлена ГМ-лінія GT-73 у кількості більше 10 %. У 2020 р. у зразках сої, крім вищезазначених ГМ-ліній, ідентифіковано ГМ-лінію MON 87708. Не дивлячись на заборону використання ГМ-джерел в Україні, щороку кількість нових ГМ-ліній рослин збільшується, що може бути пов'язано з відсутністю контролю імпортованої сировини та зернових, а також контрабандним ввезенням їх на територію України

**Ключові слова:** ПЛР, трансгенні рослини, ГМ-лінії

Щороку кількість площ, зайнятих під ГМ-рослинами, збільшується та становить більше 11% від світових посівних площ, які зайняті ГМ-культурами, а це майже 200 млн гектарів. Серед лідерів — США, Бразилія, Канада, Індія, Китай та Аргентина. Ставлення світових учених до питання безпечності ГМО залишилося до цих пір неоднозначним. Так, у Європейського Союзу залишився ризик-орієнтований підхід і застосовується принцип обережності в питанні використання та введення в обіг ГМ-рослин. Мораторій на вирощування ГМО введений у 18 країнах ЄС: Польщі, Швейцарії, Австрії, Німеччині, Франції, Болгарії, Хорватії, Кіпрі, Греції, Угорщині, Італії, Латвії, Литві, Нідерландах, Данії, Люксембургу, Мальті та Словенії. Більшість країн-членів ЄС заборонили вирощування ГМ-культур. Лише декілька країн, наприклад, Іспанія і Португалія, дозволяють вирощування генетично модифікованих культур. Однак ЄС є світовим лідером з імпорту ГМ-культур. Він імпортує щороку більш, ніж 30 млн т генетично модифікованої кукурудзи та сої для годівлі тварини. У більшості країн ЄС заборонено використання ГМО для виробництва дитячого харчування та діє повна чи часткова заборона на окремі види ГМО, які використовуються у харчовій промисловості [1–4].

В ЄС кожна партія ГМ-продуктів або кормів відстежується на кожному ланцюзі поставок. Оператори зобов'язані інформувати споживачів, указуючи інформацію чи продукт генетично модифікований чи містить ГМ-інгредієнти [5, 6]. Поріг випадкового чи технічно неминучого потрапляння ГМО до 0,9 % на інгредієнт. Таким чином, ЄС має чітку позицію та регульоване законодавство щодо використання ГМО.

Американський підхід до генетично модифікованих організмів базується на продукті, а не на процесі виробництва, та розглядає біотехнологію як безпечну за своєю природою, а її продукти як такі, що не відрізняються від немодифікованих аналогів [7]. У США не було загальнонаціонального закону про маркування. У новому законі 2020 р. зазначено, що кожний інгредієнт може містити до 5 % ГМО, якщо це технічно неминуче чи не навмисно [4–7].

В Україні забороняється промислове виробництво та введення в обіг ГМО, а також продукції, виробленої із застосуванням ГМО, до їх державної реєстрації [8]. На сьогодні не зареєстроване жодне ГМ-джерело в нашій державі. Зважаючи на відсутність вхідного контролю імпортованої рослинної сировини, посівного матеріалу та кормів, виникла необхідність провести моніторинг зернових і кормів для сільськогосподарських тварин на наявність ГМО.

**Метою** роботи було провести моніторинг і проаналізувати результати досліджень сої, ріпаку та кормів для сільськогосподарських тварин за період 2018–2020 рр. щодо наявності ГМО.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводились протягом 2018–2020 рр. методом полімеразної ланцюгової реакції у режимі реального часу у науково-дослідному відділі біохімічних і молекулярних досліджень харчових продуктів, кормів та води Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи та регіональних державних лабораторіях Держпродспоживслужби України. Для проведення досліджень були використані діагностичні набори (R-Biopharm AG, Німеччина): для скринінгу — SureFood GMO Screen 35S/NOS/FMV+IAC, SureFood GMO Screen 4plex BAR/NPTII/PAT/CTP2:CP4 EPSPS; для ідентифікації ГМ-ліній — SureFood GMO ID Roundup Ready Soya, SureFood GMO ID RR2Y Soya, SureFood GMO ID A2704-12 Soya, SureFood GMO ID Soya I; для кількісного визначення ГМ-ліній — SureFood GMO QUANT Roundup Ready Soya, SureFood GMO QUANT RR2Y Soya, SureFood GMO QUANT GT73 Canola. Як позитивний контроль використовували референс матеріал різної відсоткової концентрації ГМ-сої, ГМ-ріпаку (ERM, Бельгія). Ампліфікатор — Thermo Fisher Scientific QuantStudio 5.

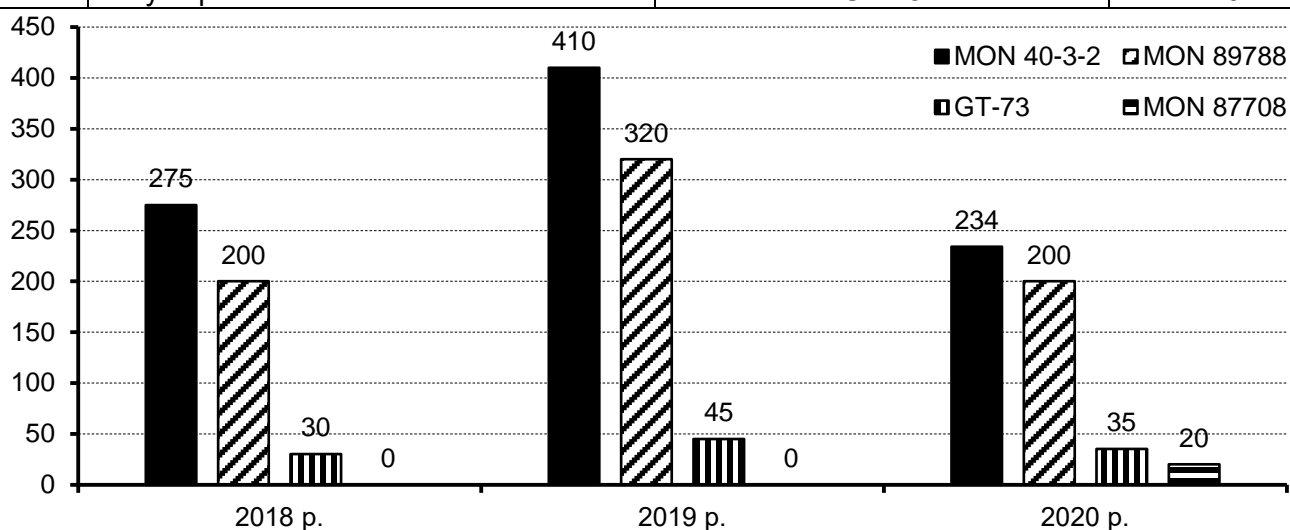
**Розділ 4. Якість і безпечність продукції тваринництва.  
Ветеринарно-санітарна експертиза. Ветеринарна фармакологія та токсикологія**

**Результати й обговорення.** На сьогодні тестування ГМО у структурі Держпродспоживслужби України проводять 11 акредитованих лабораторій: ДНДІЛДВСЕ, Центральна випробувальна державна лабораторія Держпродспоживслужби в Київській області та м. Києві, Харківська, Полтавська, Черкаська, Дніпропетровська, Хмельницька, Львівська, Кіровоградська, Івано-Франківська, Вінницька регіональні державні лабораторії.

За період 2018 р. було досліджено 3 494 зразків сої, ріпаку та кормів для сільськогосподарських тварин, з яких у 505 зразках було виявлено ГМ-лінії сої та ріпаку, що у відсотковому співвідношенні складає 14,5 %. У 2019 р. було досліджено 4 235 зразків, з яких 775 зразків були позитивними та становили 18,2 % від загальної кількості досліджених зразків. У 2020 р. досліджено 4 389 зразків, з яких у 569 виявлено ГМ-сою та ГМ-ріпак, що у відсотковому співвідношенні становило 12,8 %. За період 2018–2019 рр. у позитивних зразках комбікормів, сої, макухи та шроту соєвого було ідентифіковано ГМ-лінії MON 40-3-2 та MON 89788 у кількості більше 10 %, у зразках ріпаку та макухи ріпакової була виявлена ГМ-лінія GT-73 у кількості більше 10 %. У 2020 р. у зразках сої, крім вищезазначених ГМ-ліній, ідентифіковано ГМ-лінію MON 87708 (табл., рис.).

**Таблиця —** Результати моніторингу ГМО у сої, ріпаку та кормах для сільськогосподарських тварин з різних регіонів України за період 2018–2020 рр.

Рік	Назва зразка, в якому виявлено ГМО	Назва ГМ-лінії рослин	Уміст ГМО, %
2018	соя	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	шрот соєвий	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	макуха соєва	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	комбікорм	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	ріпак	GT-73	> 10
	макуха ріпакова	GT-73	> 10
2019	соя	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	шрот соєвий	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	макуха соєва	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	комбікорм	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	ріпак	GT-73	> 10
	макуха ріпакова	GT-73	> 10
2020	соя	MON87708	—
	шрот соєвий	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	макуха соєва	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	комбікорм	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	ріпак	GT-73	> 10
	макуха ріпакова	GT-73	> 10



**Рис.** Кількість зразків з ГМО та перелік виявлених ГМ-ліній рослин за період 2018–2020 рр.

За результатами проведених досліджень встановлено, що в Україні найбільш поширені ГМ-лінії сої MON 40-3-2 і MON 89788 та ріпаку GT-73. У 2020 р., крім зазначених ГМ-ліній рослин, з'явилась нова ГМ-лінія сої — MON 87708.

**Висновки.** Таким чином, не дивлячись на заборону використання ГМ-джерел в Україні, щороку кількість нових ГМ-ліній рослин збільшується, що може бути пов'язано з відсутністю контролю імпортованої сировини та зернових, а також контрабандним ввезенням їх на територію України.

**Перспективи подальших досліджень.** Ураховуючи зазначене, виникає необхідність створення комплексної програми контролю ГМО на етапі вхідного контролю, закупівлі посівного матеріалу та етапі збору врожаю, а також реєстрації ГМ-ліній, які циркулюють в Україні.

### Список літератури

1. Дятловская Е. Посевы ГМ-агрокультур достигли рекордных 185 млн гектаров. *Агроинвестор*. 7 мая 2017. URL: <https://www.agroinvestor.ru/technologies/news/27335-posevy-gm/>.
2. Смирнов В. М. Особенности экспорта и мировые тенденции потребления соевого шрота. Группа компаний «Содружество», 2019. URL: <https://meatindustry.ru/upload/iblock/fe6/fe6b30d6ad6f64fe9bbf830e194fb8ec.pdf>.
3. Какие страны запретили генетически модифицированные культуры? *ГМО обзор: о пользе и вреде продуктов питания*. 20 августа 2013 г. URL: <https://gmoobzor.com/stati/kakie-strany-zapretili-geneticheski-modifitsirovannye-kultury.html>.
4. Klümper W., Qaim M. (2014) A meta-analysis of the impacts of genetically modified crops. *PLoS One*. 2014. Vol. 9, iss. 11. P. e111629. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111629>.
5. Where are GMO crops and animals approved and banned? *Genetic Literacy Project*. 2020. URL: <https://gmo.geneticliteracyproject.org/FAQ/where-are-gmos-grown-and-banned>.
6. European Commission. EU Register of Authorised GMOs. Version 1.1.1. 2003. URL: <https://webgate.ec.europa.eu/dyna2/gm-register/>.
7. Баласинович Б., Ярошевська Ю. ГМО: виклики сьогодення та досвід правового регулювання. Київ: Інститут економічних досліджень та політичних консультацій, 2010. 255 с. ISBN: 9789661870689. URL: <http://www.ier.com.ua/ua/publications/books/?pid=2394>.
8. Верховна Рада України. Закон України 1103-V «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів». Редакція від 16.10.2020 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1103-16>.

### MONITORING OF GMOs IN SOYBEANS, CANOLA AND FODDER FOR FARM ANIMALS IN UKRAINE IN 2018–2020

*Haidei O. S., Oleksienko I. S., Shuliak S. V., Mezhenkyi A. O., Kyivska G. V.*

*State Scientific and Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine*

*Krushelnyska O. V.*

*Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine*

*The aim of the work was to monitor and analyze the results of research on the presence of GMOs in soybeans, canola and animal feed for the period 2018–2020. The research was conducted during 2018–2020 by the real-time polymerase chain reaction in the Research Department for Biochemical and Molecular Research of Food, Feed and Water of the State Scientific and Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise and in Regional State Laboratories of the State Service of Ukraine on Food Safety and Consumer Protection. Diagnostic kits (R-Biopharm) were used for screening, identification, quantification of soybeans and canola GM-lines. Reference material of GM-soybean, GM-canola (ERM, Belgium) was used as a positive control. In 2018, 3,494 samples of soybeans canola and feeds were studied, of which, in 505 (14.5%) samples GM-lines of soybeans and canola were found. In 2019, 4,235 samples were tested, 775 (18.2%) samples were positive. In 2020, 4,389 samples were studied, of which in 569 (12.8%) samples GM-soya and GM-canola were detected. During the period of 2018–2019 in positive samples of compound feed, soybeans, soya press cake and grist, GM-lines MON 40-3-2 and MON 89788 were identified in the amount of more than 10%, in samples of canola and canola press cake, GM-line GT-73 was found in the amount of more than 10%. In 2020, in soybean samples, in addition to the above-mentioned GM-lines, the GM-line MON 87708 was identified. Despite the ban on the use of GM-sources in Ukraine, the number of new GM-plant lines is increasing every year, which may be due to the lack of control over imported raw materials and grains, as well as their smuggling into Ukraine*

**Keywords:** PCR, transgenic plants, GM-lines