

# Genetički modifikovani organizmi (GMO) – aktuelno stanje i metode detekcije

Vojislav Trkulja

Prof. dr, Poljoprivredni institut Republike Srpske, Banja Luka, Bosna i Hercegovina, vtrkulja@blic.net

**Rezime:** Genetički modifikovani organizmi (GMO) su organizmi koji sadrže jedan ili više gena koji se u njih unose vještačkim načinom u laboratorijama, metodama genetičkog inženjerstva, pri čemu se geni uzimaju od druge, nesrodne ili čak sasvim udaljene vrste. Pitanja tehničke, etičke i bezbjedonosne prirode, koja stižu sa GMO tehnologijom su mnogobrojna. U radu se navodi aktuelno stanje proizvodnje GMO u svijetu i kod nas, kao i najznačajnije metode za pouzdanu i preciznu detekciju GMO.

**Ključne riječi:** GMO, transgen, GMO u svijetu, GMO kod nas, metode detekcije GMO.

**Datum prijema rada:** 26. februar 2015.

**Datum odobrenja rada:** 3. mart 2015.

## UVOD

Genetički modifikovani organizmi (GMO) su organizmi koji sadrže jedan ili više gena koji se u njih unose vještačkim načinom u laboratorijama, metodama genetičkog inženjerstva, pri čemu se geni uzimaju od druge, nesrodne ili čak sasvim udaljene vrste. Uneseni gen je poznat pod nazivom *transgen*, zbog čega se ovakvi organizmi još zovu i *transgeni organizmi*. Genetički modifikovani organizmi (GMO) se dobijaju metodom poznatom kao „*genetičko inženjerstvo*“ ili „*tehnologija rekombinantne DNK*“, koja predstavlja skup tehnika kojima se prenose funkcionalni geni u neki organizam sa ciljem produkcije organizama sa novim osobinama.

Genetičko inženjerstvo (tehnologija rekombinantne DNK ili moderna biotehnologija) uključuje cijeli niz tehnika kojima je moguće identifikovati određeni gen u genomu neke vrste, izolovati ga, klonirati, odrediti mu precizan redosljed nukleotida, promijeniti ga, te ugraditi u genom iste ili neke druge vrste (Jelenić, 2004a).

Prema Trkulji i sar. (2006) pitanja etičke, tehničke i bezbjedonosne prirode, koja stižu sa GMO tehnologijom, a može se reći i industrijom, mnogobrojna su. Podjela mišljenja je neminovna i ona je u ljudskoj prirodi, ali je malo tema koje su u posljednje vrijeme tako snažno podijelile svjetsku javnost na one koji podržavaju, i one koji su ogorčeni protivnici GMO. Tako, dok jedni očekuju da će ova tehnologija unijeti mnoge pozitivne promjene u naš život, te značajno podići i unaprijediti kvalitet življenja otvarajući neslućene perspektive, drugi izražavaju otvoren strah pred mogućim posljedicama prebacivanja gena iz organizma u organizam, probijanjem svih prirodnih prepreka.

Prema Trkulji i sar. (2014) zagovornici GMO tehnologije navode da transgeni organizmi predstavljaju revolucionarni korak za dobrobit čovječanstva, jer oni vide GMO hranu kao argument sa velikim potencijalom i od velike važnosti u borbi protiv nedovoljne količine hrane i gladi za stalno narastajuću populaciju ljudi u svijetu. Pri tome, u prvi plan ističu činjenice da dalje povećanje proizvodnje hrane mora doći iz povećanih prinosa na ograničenim zemljišnim površinama, pošto su genetički potencijali za prinos najvažnijih gajenih biljaka već skoro dosegnuti u konvencionalnim programima selekcije. Takođe, najplodnije poljoprivredno zemljište na Zemlji stalno se smanjuje usljed urbanizacije, industrijalizacije i izgradnje infrastrukture za razvoj prevoza, dok krčenje i ekspanzija poljoprivrede na novim zemljištima uzrokuje ozbiljne štete na i onako krhkim ekosistemima. Tako oni ističu da smo već sredinom 90-tih godina XX vijeka, kao direktni rezultat napretka u genetičkom inženjeringu, dobili prvu generaciju novih genetički modifikovanih biljaka tolerantnih prema nekim totalnim herbicidima, te otpornih prema pojedinim štetočinama i virusima, kao i sa poboljšanim prinosom. Danas se već ubrzano radi na daljem istraživanju i postepenom uvođenju tzv. druge i treće generacije genetički modifikovanih biljaka sa poboljšanim nutricionističkim kvalitetom i novim tehnološkim i drugim osobinama, kao što su tolerantnost na sušu, zaslanjenost i nisku plodnost zemljišta, te otpornost na stres, kao i odloženo zrenje plodova. Sve to zajedno otvara nove prilaze i mogućnosti za savlađivanje mnogih dobro poznatih ograničenja tropske poljoprivrede, a sve sa ciljem proizvodnje većih količina hrane.

Isti autori navode da zagovornici GM tehnologije ističu da molekularna biologija i njene beskrajne mogućnosti u rekombinaciji gena, tih najsavršenijih oblika materije koje su se mogle stvoriti u prirodi, pružaju današnjem čovjeku neograničene mogućnosti u stvaranju novih, pogodnijih organizama, te novih sorti i hibrida gajenih biljaka, kao i novih sojeva korisnih mikroorganizama. Genetički modificirani organizmi (GMO) pružaju, takođe, neograničene mogućnosti u popravljaju bioloških i proizvodnih mogućnosti brojnih vrsta biljaka za dobrobit čovjeka. Neslućene mogućnosti koje ova tehnologija pruža u proizvodnji hrane, prehrambenoj tehnologiji, humanoj medicini, veterini i zaštiti bilja, kao i u oblasti bioenergije, otvaraju mogućnosti za iznalaženje efikasnijih rešenja najvažnijih problema savremenog čovječanstva (Ostojić, 1995). Osim toga, intenzivno se istražuju mogućnosti stvaranja novih transgenih biljaka koje bi davale hranu obogaćenu novim hranljivim sastojcima, pa čak i hranu koja bi istovremeno bila i lijek.

Kada je riječ o protivnicima genetički modificirane hrane, kao i onima koji nisu u potpunosti protiv takve ideje, ali zagovaraju vrlo oprezno postupanje, argumenti se odnose na uticaj ovakve hrane na ljudsko zdravlje, što nije dovoljno ispitano, niti je dokazano da je tako nešto nedvosmisleno bezopasno. Takođe, pominju se i mogući negativni uticaji na prirodno okruženje i promjene ekosistema, ali i razne „moralne“ dileme. Iako zagovornici genetički modificirane hrane tvrde da opasnost po zdravlje ne postoji, iz suprotnog tabora upozoravaju na to da je prošlo premalo vremena od početka uzgajanja i korišćenja genetički modificiranih vrsta i da je otvoreno pitanje kakvi će biti rezultati na duže staze. Na ovakva pitanja ne može se odgovoriti ni potvrdno ni odrično, jer je potrebno da prođe duže vrijeme, pa čak i nekoliko generacija (Trkulja i sar., 2006).

Zbog svega toga je po zakonu za svaki GMO, odnosno za svaku pojedinačnu sortu ili hibrid GM biljaka obavezno izvršiti tzv. „procjenu rizika“ („risk assesment“), odnosno niz naučnih analiza i ispitivanja na osnovu kojih se vrši procjena zdravstvene ispravnosti i ekološke prihvatljivosti prije nego što se odobri njegova ograničena upotreba ili komercijalno gajenje ili stavljanje na tržište proizvoda koji sadrže taj GMO.

### AKTUELNO STANJE U PROIZVODNJI GMO U SVIJETU

Tokom 2014. godine 18 miliona farmera u 28 država svijeta zasijalo je 181,5 miliona hektara GM usjeva, što je porast od 6,3 miliona hektara u odnosu na prethodnu 2013. godinu. Više od 60% ili preko 4 milijarde ljudi od ukupne populacije koja broji oko 7 milijardi ljudi živi u 28 država u kojima su se u 2014. godini uzgajale GM biljke. Takođe, u ovih 28 zemalja se nalazi više od polovine zemljišta na kojima se uzgajaju biljke u svijetu, dok 181,5 miliona hektara pod GM biljkama koje su gajene u 2014. godini, predstavlja 12,1% od 1,5 milijarde hektara ukupnih zemljišnih površina pod gajenim biljkama u svijetu (Clive, 2014).

Tokom 2014. godine broj država u kojim su se uzgajale GM biljke je bio 28, od čega su 20 država u razvoju i 8 ra-

zvijenih industrijskih zemalja. Prema broju zasijanih hektara pod GM biljkama, to su: SAD, Brazil, Argentina, Indija, Kanada, Kina, Paragvaj, Južna Afrika, Pakistan, Urugvaj, Bolivija, Filipini, Australija, Burkina Faso, Mijanmar, Španija, Meksiko, Kolumbija, Sudan, Honduras, Čile, Portugal, Kuba, Češka Republika, Rumunija, Slovačka, Kostarika i Bangladeš, od čega su 5 država članice EU (Španija, Portugalija, Češka Republika, Rumunija i Slovačka), u kojima se uzgajao GM kukuruz.

U 2014. godini SAD, Brazil, Argentina, Indija, Kanada i Kina su bile šest vodećih država u svijetu u kojima su se uzgajali GM usjevi. SAD su zadržale svoju poziciju na broju jedan sa 73,1 milion hektara (40% ukupnih površina pod GM usjevima u svijetu), poslije kojih slijede Brazil sa 42,2 miliona hektara, Argentina sa 24,3 miliona hektara, Indija sa 11,6 miliona hektara, Kanada sa 11,6 miliona hektara i Kina sa 3,9 miliona hektara.

GM soja je i u 2014. godini najviše gajena GM biljka u svijetu, zauzimajući 91 milion hektara (50,1% od ukupnih površina pod GM usjevima), zatim kukuruz (55,2 milion hektara, odnosno 30,4% ukupnih površina), pamuk (25,2 miliona hektara ili 13,6%) i uljana repica (9 miliona hektara ili 4,9% ukupnih površina pod GM biljkama). Osim toga, u 2014. godini 82% ukupno proizvedene soje u svijetu je GM soja (91 milion ha od ukupno 111 miliona ha na kojima se u svijetu uzgaja soja). Takođe, 68% ukupno proizvedenog pamuka u svijetu otpada na GM pamuk (25,2 miliona ha od ukupno 37 miliona ha), te 30% ukupno proizvedenog kukuruza u svijetu (55,2 miliona ha GM kukuruza od ukupno 184 miliona ha), kao i 25% ukupno proizvedene uljane repice, odnosno 9 miliona ha GM uljane repice od ukupno 36 miliona ha (Clive, 2014).

Prvi genetički modificirani organizam koji je u SAD od strane FDA (Food and Drug Administration) zvanično odobren za komercijalizaciju 18. maja 1994. godine, bio je „*Flavr Savr*“ – hibrid paradajza koga je proizvela kompanija Calgene iz Kalifornije, u koga su uneseni strani geni kako bi on imao mogućnost da se duže čuva nakon berbe.

Dok je 28 država gajilo GM biljke u 2014. godini, još 37 država je izdalo odobrenja za uvoz GM biljaka namijenjenih za hranu i hranu za životinje, što ukupno iznosi 65 zemlje koje su izdale regulatorna odobrenja za uvoz GM biljaka i njihovu upotrebu za hranu i hranu za životinje ili za njihovo namjerno oslobađanje u životnu sredinu od 1994. godine. Činjenica je da u tih 65 država koje su odobrile uvoz GM biljaka namijenjenih za hranu i hranu za životinje ili njihov uzgoj živi oko 75% svjetske populacije (Clive, 2014).

Do 31. oktobra 2014. godine u ovih 65 država ukupno je izdato 3.083 odobrenja za 357 različitih GM sorti ili hibrida (engl. „GM event“) kod ukupno 27 različitih gajenih biljaka. Od ovih 27 biljaka u svijetu su najviše uzgajaju četiri biljne vrste, i to: soja (*Glycine max* (L.) Merr.), kukuruz (*Zea mays* L.), pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) i uljana repica (*Brassica napus* L.). Osim njih, u različitim zemljama u svijetu odobrenja su izdata i za različite sorte i hibride i

drugih biljnih vrsta kao, što su: pšenica (*Triticum aestivum* L.), riža (*Oryza sativa* L.), krompir (*Solanum tuberosum* L.), paradajz (*Lycopersicon esculentum* Mill.), paprika (*Capsicum annum* L.), dinja (*Cucumis melo* L.), tikvica (*Cucurbita pepo* L.), pasulj (*Phaseolus vulgaris* L.), sočivo (*Lens culinaris* Medikus), cikorija (*Cichorium intybus* L.), duvan (*Nicotiana tabacum* L.), suncokret (*Helianthus annuus* L.), šećerna repa (*Beta vulgaris* L.), ogrštica (*Brassica rapa* L.), lan (*Linum usitatissimum* L.), lucerka (*Medicago sativa* L.), bijela rosulja (*Agrostis stolonifera* L.), karanfil (*Dianthus caryophyllus* L.), petunija (*Petunia x hybrida*), ruža (*Rosa x hybrida*), šljiva (*Prunus domestica* L.), papaja (*Carica papaya* L.) i topola (*Populus sp.*).

Od ukupno 2.833 regulatornih odobrenja izdatih od strane nadležnih organa u 63 države u svijetu, njih 1.458 su izdata za upotrebu različitih sorti ili hibrida GM biljaka kao hrane za ljude (za direktnu upotrebu ili preradu), a njih 958 za korišćenje kao hrane za životinje (za direktnu upotrebu ili preradu), dok je njih 667 dobilo odobrenje za namjerno unošenje u životnu sredinu, odnosno za uzgoj. Među državama Japan je izdao najveći broj odobrenja za različite sorte i hibride GM biljaka (201), zatim SAD (171), Kanada (155), Meksiko (144), Južna Koreja (121), Australija (100), Novi Zeland (88), Tajvan (79), Filipini (75), Evropska unija (73 uključujući i odobrenja koja su istekla ili su u procesu obnove), Kolumbija (73), Južna Afrika (57), Kina (55), itd. Od biljnih vrsta za kukuruz je izdato najveći broj odobrenih GM transformacija (136 u 29 država), nakon koga slijedi pamuk (52 u 21 zemlji), uljana repica (32 u 13 država), krompir (31 u 10 država), soja (30 u 28 država), itd.

Genetički modificirana transformacija (*engl.* "GM event") koja je dobila najveći broj odobrenja u svijetu je sorta soje GTS-40-3-2 ("Roundup Redy") koja je tolerantna na totalni herbicid glifosat (52 odobrenja u 26 država + EU-28), zatim hibrid kukuruza NK603 tolerantan na totalni herbicid glifosat (52 odobrenja u 25 država + EU-28), kao i hibrid kukuruza MON810 koji je rezistentan na pojedine insekte iz reda *Lepidoptera* (50 odobrenja u 25 država + EU-28), te hibrid kukuruza Bt11 rezistentan na pojedine insekte iz reda *Lepidoptera* i tolerantan na totalni herbicid glufosinat-amonium (50 odobrenja u 24 države + EU-28), hibrid kukuruza TC1507 rezistentan na pojedine insekte iz reda *Lepidoptera* i tolerantan na totalni herbicid glufosinat-amonium (47 odobrenja u 22 države + EU-28), hibrid kukuruza GA21 tolerantan na totalni herbicid glifosat (41 odobrenje u 20 zemalja + EU-28), pamuk MON531 rezistentan prema insektima (39 odobrenja u 19 zemalja + EU-28), hibrid kukuruza MON89034 rezistentan na pojedine insekte iz reda *Lepidoptera* (39 odobrenja u 22 zemlje + EU-28), sorta soje A2704-12 tolerantna na totalni herbicid glufosinat-amonium (39 odobrenja u 22 zemlje + EU-28), hibrid kukuruza MON88017 rezistentan prema određenim insektima iz reda *Coleoptera* i tolerantan na totalni herbicid glifosat (37 odobrenja u 20 zemalja + EU-28), hibrid kukuruza T25 tolerantan na totalni herbicid glufosinat-amonium

(37 odobrenja u 18 zemalja + EU-28), pamuk MON 1445 rezistentan prema insektima (37 odobrenja u 17 zemalja + EU-28), itd. (Clive, 2014).

### AKTUELNO STANJE U VEZI GMO KOD NAS

U Republici Srpskoj i Bosni i Hercegovini su na snazi dva zakona o GMO, i to: Zakon o genetički modificiranim organizmima (Službeni glasnik RS 103/08), koji je na snazi u Republici Srpskoj i Zakon o genetički modificiranim organizmima (Službeni glasnik BiH, 23/09), koji je na snazi u Bosni i Hercegovini.

Prema Zakonu o GMO koji je trenutno na snazi u Republici Srpskoj, zabranjuje se upotreba genetički modificiranih organizama i proizvoda od genetički modificiranih organizama koja obuhvata uvođenje genetički modificiranih organizama i proizvoda od genetički modificiranih organizama u životnu sredinu u svrhu izvođenja ogleda, demonstracionih ogleda i razvoja novih sorti i hibrida ili gajenje u komercijalne svrhe modificiranih živih organizama, njihovo stavljanje u promet, rukovanje, prevoz, pakovanje, tranzit preko područja Republike Srpske i prerada genetički modificiranih organizama ili proizvoda od genetičkih modificiranih organizama.

Zakon o genetički modificiranim organizmima na nivou BiH je u potpunosti usklađen sa relevantnom zakonskom regulativom kojom je ova oblast uređena u EU, i to: Uredbama 1946/2003, 1829/2003, 1830/2003 i 1981/2006 Evropskog Parlamenta, Direktivama 1990/219/EC i 2001/18/EC i odlukom 91/448/EC). Prema ovom zakonu, na identičan način kao i u zemljama EU, za svaki pojedinačni genetički modificirani organizam neophodne su posebne procjene, zbog čega su uspostavljeni posebni sistemi za detaljno analiziranje, vrednovanje i provjeravanje GM organizama i od njih dobijenih namirnica s obzirom na njihov potencijalni rizik za zdravlje ljudi i životnu sredinu.

Tako prema Trkulji i sar. (2008a) procjena zdravstvene ispravnosti namirnica dobijenih od GMO-a uključuje obavezno istraživanje:

- mogućih direktnih negativnih učinaka novog proteina na zdravlje (toksičnost);
- mogućnosti izazivanja alergijske reakcije (alergogenost);
- mogućih promjena u prehrambenim svojstvima, uključujući promijenjenu koncentraciju postojećih toksina i alergogena;
- stabilnosti ugrađenih ili promijenjenih gena, i
- mogućnosti svih ostalih nenamjernih promjena koje bi mogle proizaći iz genetičke modifikacije.

Prije nego što se dopusti komercijalno gajenje svake pojedine sorte ili hibrida GM biljaka i/ili dozvoli stavljanje na tržište proizvoda od određene sorte ili hibrida GM biljaka, po zakonu je obavezno izvršiti tzv. „procjenu rizika“ („risk assesment“), odnosno niz analiza na osnovu kojih se vrši procjena zdravstvene ispravnosti i ekološke prihvatljivi-

vosti svake pojedinačne sorte ili hibrida GM biljaka. Prema Jeleniću (2004b) ta istraživanja redovno uključuju:

- analizu stabilnosti genetičke promjene,
- analizu potencijalne toksičnosti i alergičnosti novog proteina/metabolita,
- analizu nutricionističkog sastava,
- analizu uticaja na biogeohemijske procese,
- analizu promjene poljoprivredne prakse i njene potencijalne posljedice,
- analizu učinka na ciljane i druge organizme (direktan i indirektan),
- analizu širenja u okolini,
- analizu mogućnosti prenosa genetičke promjene u genom srodnih divljih vrsta,
- potencijalne posljedice, i dr.

Tek ako procjenjivana sorta ili hibrid GM biljke zadovolji sve propisane uslove može se od strane nadležnog organa odobriti njen komercijalni uzgoj i proizvodnja, ili pak korišćenje bilo u ishrani ljudi ili domaćih životinja.

Takođe, Zakon o GMO u BiH uvodi obavezu označavanja (deklarisanja) proizvoda koji se sastoji, sadrži ili je proizveden od GMO, kao i slučajnu kontaminaciju konvencionalne hrane GM materijalom, pri čemu je označavanje proizvoda obavezno za namirnice koje sadrže minimalni prag od 0,9% GMO, dok za količine ispod tog praga označavanje nije obavezno. Osnovni cilj uvođenja obaveznog označavanja je informisanje potrošača i korisnika o proizvodu, tako da će potrošači moći da zaštite svoje osnovno „pravo na izbor“, tj. moći će da sami donose odluku da li žele ili ne žele da kupuju i konzumiraju hranu koja sadrži GMO. Pri tome je veoma važno naglasiti da se **navedeni prag označavanja odnosi samo za odobrene GMO**, dok Zakon propisuje veoma rigorozne kazne za ograničenu upotrebu, uzgoj ili stavljanje na tržište proizvoda koji sadrže *ne odobrene GMO*.

Na kraju ovog razmatranja, veoma je važno istaknuti da iako se Zakoni o GMO Republike Srpske i Bosne i Hercegovine značajno razlikuju, trenutno kod nas prema oba zakona *ni jedna sorta ili hibrid ni jedne GM biljke nema odobrenje* za uzgoj, niti za stavljanje na tržište kao hrane za ljude ili hrane namijenjene za ishranu domaćih životinja.

### METODE DETEKCIJE PRISUSTVA GMO

U svrhu kontrole prisustva genetičkih modifikacija u sjemenu i sadnom materijalu raznih vrsta biljaka i gotovim proizvodima (hrani za ljude i hrani za domaće životinje) razvijen je čitav spektar metoda za detekciju njihovog različitog kvalitativnog i kvantitativnog prisustva. Ove tehnike se u osnovi mogu podijeliti na metode detekcije: 1) *na osnovu prisustva nove osobine (fenotipa)*; 2) *na bazi detekcije specifičnih proteina* i 3) *na osnovu analize DNK*, pri čemu treći metod ima najširu primjenu u praksi.

1) **Detekcija na bazi fenotipa** bazirana je na ispoljavanju osobina koje daju transgeni (primjenljiva je samo za neke osobine; npr. tolerantnost prema totalnim herbicidi-

ma), a zahtjeva praćenje rasta i razvića ispitivanog organizma, što je dugotrajan proces (npr. izrastao usjev se tretira totalnim herbicidima pri čemu će sve biljke koje nisu GM uginuti).

2) **Detekcija na bazi specifičnih proteina** prema Trkulji i sar. (2014) uključuje analitičke tehnike koje podrazumijevaju upotrebu antitijela kao test reagenasa (tzv. serološke metode). Ove metode se zasnivaju na reakciji koja nastaje nakon injektiranja testne supstance (antigena) u tijelo životinje, kada imuni sistem prepoznaje stranu supstancu i odgovara proizvodnjom specifičnih antitijela koja se vežu za antigene, što predstavlja osnovu metode koja se koristi u ovim analizama. Najčešće korišćeni imuno-test je tzv. ELISA test (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) koji se primjenjuje u laboratoriji za testiranje nekih GMO (npr. prisustvo „Roundup Ready“ proteina koji je sastavni dio enzima odgovornog za rezistentnost prema herbicidima na bazi glifosata). Takođe, isti autori navode da su razvijeni i „brzi imuno-testovi“ („Stripe“ metode), koji se mogu lako koristiti van laboratorije u polju za detekciju GM usjeva. Tehnike GMO detekcije na proteinskom nivou su vrlo osjetljive i često se osim za biljni materijal upotrebljavaju i za analizu životinjskih uzoraka.

3) **Detekcija na bazi analize DNK**. Za utvrđivanje prisustva genetičkih modifikacija u uzorcima biljnog materijala primjenjuje se PCR metoda (*Polymerase Chain Reaction - Lančana reakcija polimeraze*) u čijoj osnovi je biohemijska reakcija koja omogućava *in vitro* umnožavanje (amplifikaciju) određenog fragmenta DNK i koja je u suštini imitacija sinteze DNK koja se normalno odvija u svim živim organizmima.

PCR je metoda kojom se relativno kratki ciljani dio DNK (gen ili dio gena) umnožava u veliki broj identičnih kopija. Osnovni princip PCR metode je selektivno *in vitro* umnožavanje ciljane sekvence DNK molekula u reakcijskoj tubi u i do nekoliko milijardi puta bez prethodnog izolovanja iz mase DNK molekula prisutnih u uzorku. Ciljni dio DNK molekule koju se želi umnožiti (gen ili dio gena) određuje se kratkim oligonukleotidnim sekvencama - prajmerima, koji su komplementarni krajevima segmenta DNK od interesa. Ovi prajmeri su pokretači serije reakcija pomoću enzima DNK polimeraze, koja na osnovu jednog lanca DNK sintetizuje novi, komplementarni lanac, pri čemu veličina sintetizovanog dijela DNK molekule odgovara dužini koju omeđuju izabrani prajmeri.

Prema Trkulji i sar. (2014) proces izvođenja PCR-a može se podijeliti u tri faze: izolacija DNK iz uzorka i priprema PCR smješe, zatim PCR reakcija, i na kraju identifikacija PCR produkata.

U *prvoj fazi* (izolacija DNK iz uzorka) koja se sastoji od većeg broja analitičkih koraka iz pripremljenog uzorka biljnog materijala se izoluje (ekstrahuje) DNK. Za ekstrakciju biljne DNK iz analiziranog uzorka koristi se standardni protokol za ekstrakciju DNK iz biljnog materijala. Na kraju prve faze vrši se kvantifikacija, tj. određuje se

količna izolovane DNK iz uzorka, nakon čega se na osnovu utvrđene količine izolovane DNK uzorak DNK razrijeđuje na optimalnu koncentraciju koja se na taj način priprema za drugu fazu - PCR amplifikaciju.

*U drugoj fazi* (PCR amplifikacija) se izolovanoj DNK iz uzorka u reakcijskoj tubi dodaje uzorak ispitivane DNK (koja će biti kalup za kopiranje komplementarnog DNK lanca), dva odgovarajuća oligonukleotidna prajmera, termostabilna DNK polimeraza, nukleotidi – gradivni elementi DNK (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), joni  $Mg^{2+}$  i reakcijski pufer. Nakon miješanja komponenti u reakcijskoj tubi, one se postavljaju u termosajkler, odnosno uređaj za PCR amplifikaciju. Osnovna odlika PCR aparata je brza, automatizovana, ciklična i precizna promjena temperature 30 do 50 puta (u zavisnosti od testiranog uzorka i korišćenog protokola) pod kontrolom mikroprocesora, koja je neophodna za izvođenje reakcije polimerizacije. Ovaj instrument na osnovu programiranog temperaturnog režima vrši amplifikaciju ciljane DNK.

PCR može biti: 1) kvalitativan, i 2) kvantitativan. Kvalitativni PCR može biti standardni, RT-PCR, *in situ* PCR, dok je kvantitativni PCR Real Time PCR (PCR u realnom vremenu), koji takođe može biti standardni i RT-PCR. *Kvalitativna* detekcija GMO koristi standardni PCR kojim se može detektovati manje od 0,1% modificiranog sadržaja u neobrađenom materijalu, pri čemu se ovim metodama može samo potvrditi ili negirati prisustvo GMO, odnosno ciljanih DNK sekvenci karakterističnih za GMO. Međutim, za *kvantifikovanje* GMO-a, tj. za utvrđivanje tačnog procenta prisustva ciljanih DNK sekvenci karakterističnih za GMO u ukupnom uzorku, koristi se kvantitativni Real Time PCR.

**a) Standardni PCR** se izvodi uz korišćenje jednog para prajmera koji omogućava amplifikaciju ciljane sekvence DNK i služi samo za detekciju njenog prisustva ili odsustva (kvalitativni PCR). Jedan ciklus PCR reakcije čine faza denaturacije DNK matrice, faza hibridizacije prajmera i faza elongacije.

*U trećoj fazi* standardnog PCR (elektroforeza na agaroznom gelu) se vrši vizuelizacija produkata PCR na način da se prethodno pripremljena amplifikovana DNK uzorka pomoću sterilnih pipeta nanosi na agarozni gel postavljen u posebne kadice uređaja za horizontalnu elektroforezu. Nanešeni uzorak DNK se na agaroznom gelu razdvaja na osnovu dužina baznih parova pod dejstvom električnog polja. Po završetku elektroforeze agarozni gel se boji etidijumbromidom, materijom koja ima osobinu da emituje svjetlost pod dejstvom ultravioletnog zračenja. Gel se fotografiše u posebnom uređaju za fotografisanje gela, nakon čega se pristupa analizi dobijenih rezultata.

**b) Real Time PCR** (PCR u "realnom" vremenu) omogućava kvantitativnu analizu dobijenog amplikona u ispitivanom uzorku, npr. broj kopija nekog gena, kao i određivanje nivoa ekspresije određenog gena (kvantitativni PCR). Npr., kod analize % GMO u uzorku koriste se standardi sa već poznatim % određenog GMO (0,1%, 0,9%, 3%, 5%, 10%). Komparacijom dobijenog amplikona iz uzorka i poznatih

standarda utvrđuje se tačan % GMO u ispitivanom uzorku. Primenom Real Time PCR-a može se odrediti i nivo ekspresije određenog gena.

Real Time PCR je postupak koji se bazira na standardnom PCR-u, jer su i za njega neophodni dobro izolovana DNK, optimalno izabrani prajmeri za reakciju i optimizirane sve faze PCR reakcije (denaturacija, izbor i uslovi vezivanja prajmera, sinteza DNK - elongacija komplementarnog DNK lanca). Osnovna razlika i veliko tehnološko unapređenje Real Time PCR u odnosu na standardni PCR je u tome što Real Time PCR omogućuje detekciju i kvantifikaciju umnoženog ciljanog segmenta DNK u realnom vremenu, odnosno u toku amplifikacije uzorka, zbog čega nema potrebe za vizuelizacijom produkata PCR reakcije elektroforezom na agaroznom gelu, kao i u tome što Real Time PCR ima sistem za detekciju PCR produkta zasnovan na detektoru fluorescencije.

## ZAKLJUČAK

Činjenica je da je uprkos svim dilemama, čovek kumulirao znanje i ovladao tehnikama genetičkog inženjeringa koje mu pomažu da proдре u mikrokosmos gena i genetičke informacije. Prema Trkulji i sar. (2005, 2007), činjenica je, takođe, da mu dostignuti nivo znanja omogućava da potire, ili pomjera prirodne Zakone i granice u horizontalnom prenosu gena, odnosno razmjeni genetičkih informacija između vrsta. Kao i svaka druga novoosvojena naučna i tehnološka oblast, biotehnologija ima svoje dobre strane, ali i potencijalne zastrašujuće i nesagledive negativne posljedice. Zbog toga je od ogromnog značaja da se ova tehnologija što **sveobuhvatnije i kvalitetnije kontroliše** (Trkulja i sar., 2008b). Za naučnike, ali i za cjelokupnu ljudsku populaciju ovo je veliki izazov koji zahtijeva mnogo opsežnija, transparentnija i angažovanija istraživanja uključujući raspodjelu odlučivanja i profita na do sada potpuno nov način (Trkulja i sar., 2014). Zbog toga nam se čini da je u vremenu koje dolazi više nego ikad neophodno da nas socijalna i etička pravda vode u ispunjenju zadataka obezbjeđivanja dovoljnih količina hrane i energije, te sigurnosti i zdravstvene bezbjednosti hrane, kao i zaštite životne sredine i biodiverziteta, te ukupne dobrobiti cjelokupnog čovječanstva, pri čemu *ne bi smjelo biti monopola na gene*, odnosno pri čemu najfundamentalnije javno dobro - mora ostati javno dobro (Diouf, 2003).

## LITERATURA:

- Clive, J. (2014). *Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2014*. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA), Brief 49–2014.
- Commission Decision 91/448/EEC of 29. July 1991. concerning the guidelines for classification referred to in Article 4 of Directive 90/219/EEC.
- Commission Regulation (EC) No 65/2004. of 14 January 2004 establishing a system for the development and assignment of unique identifiers for genetically modified organisms.

- Diouf, J. (2003). *Genetically Modified Crops - Why? Why not?* Acta Agriculturae Scandinavica, 53, Supp. 1: 3–7.
- Directive 1990/219/EEC of the European Parliament and of the Council of on the contained use of genetically modified micro-organisms.
- Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC
- Jelenić, S. (2004). *GMO – Teorija, praksa i procjena rizika*. Zavod za molekularnu biologiju, Zagreb: Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
- Jelenić, S. (2004). *Biljke oplemenjene genetičkim inženjersvom u komercijalnoj uporabi*. Zavod za molekularnu biologiju, Zagreb: Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
- Ostojić, N. (1995). *Genetsko inženjerstvo – značajna pomoć u rješavanju aktuelnih problema savremene poljoprivrede i u borbi čovečanstva protiv rastuće opasnosti od gladi*. Novi Sad: Biljni lekar 6: 648–650.
- Regulation (EC) No 1829/2003. of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed.
- Regulation (EC) No 1830/2003. of the European Parliament and of the Council of 22. September 2003. concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC.
- Regulation (EC) No 1946/2003 of the European Parliament and of the Council of 15. July 2003. on transboundary movements of genetically modified organisms.
- Trkulja, V., Bajrović, K., Vidović, S., Ostojić, I., Terzić, R., Ballian, D., Subašić, Đ., Mačkić, S., Radović, R., Čolaković, A. (2014). *Genetički modifikovani organizmi (GMO) i biosigurnost (drugo prošireno izdanje)*.
- Trkulja, V., Rajčević, B. (2007). *Korišćenje biotehnologije u zaštiti biljka od prouzrokovala bolesti*. IV Simpozijum o zaštiti bilja u BiH. Teslić: Zbornik rezimea: 43–45.
- Trkulja, V., Rajčević, B., Peljto, Amela, Ostojić, I. (2008). *Procjena rizika od genetički modifikovanih organizama za zdravlje ljudi i biološku raznovrsnost*. V Simpozijum o zaštiti bilja u Bosni i Hercegovini, Sarajevo: Zbornik rezimea, 45–48.
- Trkulja, V., Stojčić, J., Radanović, S., Rajčević, B. (2006). *Korišćenje biotehnologije u zaštiti bilja: zašto da, zašto ne?* III Simpozijum o zaštiti bilja u BiH. Neum: Zbornik rezimea, 44–46.
- Trkulja, V., Stojčić, J., Zavišić, Nada (2008). *Genetički modifikovane biljke: juče, danas, sutra*. II Međunarodni kongres "Ekologija, zdravlje, rad, sport". Banja Luka: Zbornik radova, 347–350.
- Trkulja, V., Vidović, S., Stojčić, J., Rajčević, B. (2005). *Rezultati prvih istraživanja prisustva GMO u hrani biljnog porijekla u Republici Srpskoj*. I savetovanje biologa Republike Srpske. Banja Luka: Zbornik rezimea, 11–12.
- Zakon o genetički modifikovanim organizmima („Službeni glasnik BiH“, broj 23/09).
- Zakon o genetički modifikovanim organizmima „(Službeni glasnik RS“, broj 103/08).

## Genetically modified organisms (GMOs) - current state and detection methods

Vojislav Trkulja

Prof. dr, Agricultural Institute of Republic of Srpska, Banja Luka, vtrkulja@blic.net

**Abstract:** Genetically modified organisms (GMOs) are organisms which comprise one or more genes which are inserted artificially in the laboratory, by methods of genetic engineering, wherein the genes are taken from other, non-related, or even quite distant species. Questions of technical, ethical and safety nature, which come with GMOs technology, are numerous. This article presents the current state of production of GMOs in the world and in our country, and the most important methods for reliable and accurate detection of GMOs.

**Keywords:** GMO, transgene, GMO in the world, GMOs in our country, detection methods of GMOs.