



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Депарتمان за ратарство и повртарство



Стефан Зимоњић
дипл. инж. пољопривреде

**УТВРЂИВАЊЕ ПРИСУСТВА ХИМЕРНОГ ГЕНА У ЗРНУ
СОЈЕ И КУКУРУЗА**

МАСТЕР РАД

Нови Сад, 2023.



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Департман за ратарство и повртарство



Кандидат
Стефан Зимоњић

Ментор
проф. др Софија Петровић

**УТВРЂИВАЊЕ ПРИСУСТВА ХИМЕРНОГ ГЕНА У ЗРНУ
СОЈЕ И КУКУРУЗА**

МАСТЕР РАД

Нови Сад, 2023.

Комисија за оцену и одбрану мастер рада:

проф. др Софија Петровић – ментор

редовни професор за ужу научну област:

Генетика, оплемењивање биљака и семенарство

Пољопривредни факултет, Нови Сад

проф. др Борислав Бањац – председник комисије

ванредни професор за ужу научну област:

Генетика, оплемењивање биљака и семенарство

Пољопривредни факултет, Нови Сад

проф. др Велимир Младенов – члан комисије

ванредни професор за ужу научну област:

Генетика, оплемењивање биљака и семенарство

Пољопривредни факултет, Нови Сад

Захвалница:

Велику захвалност дугујем ментору проф. др Софији Петровић која ми је омогућила да изведем ово истраживање, помагала ми својим саветима приликом израде овог рада и увек имала стрпљења и времена за сва моја питања.

Такође се захваљујем професорима, др Бориславу Бањац и др Велимиру Младенову, на несебичним саветима и сугестијама приликом прегледа рада.

Аутор

Садржај

1. УВОД	1
2. ЦИЉ РАДА	3
3. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ	4
3.1. УПОТРЕБА, КАРАКТЕРИСТИКЕ И ПРИВРЕДНИ ЗНАЧАЈ СОЈЕ	4
3.2. УПОТРЕБА, КАРАКТЕРИСТИКЕ И ПРИВРЕДНИ ЗНАЧАЈ КУКУРУЗА	8
3.3. СТАТИСТИЧКИ ПРИКАЗ ГАЈЕЊА КУКУРУЗА И СОЈЕ У СВЕТУ И СРБИЈИ	11
3.4. ГЕНЕТИЧКИ ИНЖЕЊЕРИНГ	16
3.5. ОТКРИВАЊЕ И ОБЕЛЕЖАВАЊЕ ГМО	22
3.5.1. <i>PCR методе детекције</i>	24
3.5.2. <i>Биосензори</i>	25
3.5.3. <i>Методе детекције протеинског продукта модификоване ДНК</i>	26
4. РАДНА ХИПОТЕЗА	28
5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА	29
5.1. МАТЕРИЈАЛ	29
5.2. МЕТОД РАДА	31
5.2.1. <i>Соја</i>	31
5.2.2. <i>Кукуруз</i>	34
5.2.3. <i>Интерпретација резултата</i>	35
6. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА СА ДИСКУСИЈОМ	37
7. ЗАКЉУЧАК	41
8. ЛИТЕРАТУРА	42

УТВРЂИВАЊЕ ПРИСУСТВА ХИМЕРНОГ ГЕНА У ЗРНУ СОЈЕ И КУКУРУЗА

РЕЗИМЕ

Утврђивање присуства ГМ (генетички модификоване) соје и кукуруза извршено је коришћењем имунохроматографског теста на тракама. Анализирани су узорци соје из 5 насумично одабраних малопродајних објеката (продавница "здраве хране") на територији Војводине, као и један узорак од пољопривредног произвођача. Узорци кукуруза прикупљени су на територији Војводине од укупно 5 пољопривредних произвођача. Добијени резултати указују на незакониту производњу ГМ соје.

Кључне речи: соја, кукуруз, ГМО, тест траке, пољопривреда

DETERMINING THE PRESENCE OF CHIMERIC GENE IN SOYBEAN AND MAIZE

SUMMARY

Determining the presence of GM (genetically modified) soybeans and corn was performed using an immunochromatographic strip test. Soybean samples from 5 randomly selected retail establishments ("healthy food" stores) in the territory of Vojvodina were analyzed, as well as one sample from an agricultural producer. Maize samples were collected on the territory of Vojvodina from a total of 5 agricultural producers. The obtained results point to the illegal production of GM soybeans.

Key Words: soybeans, maize, GMO, test strip, agriculture

1. УВОД

Генетички модификовано (ГМ) семе је у Србији забрањено, али ипак илегално ГМ семе соје и кукуруза проналази пут до ораница и због тога су потребне брзе методе детекције присуства генетичке модификације. Испитивање соје и кукуруза на присуство ГМ није обавезно, међутим често је присутно у неким посебним околностима. Анализа материјала на присуство ГМ обавља се најчешће на пријемним местима у силосима или приликом увоза или извоза. Фитосанитарни инспектори у опису посла контролишу усеве соје на присуство ГМ. Уколико произвођач жели да добије додатни сертификат за своју робу, као што је ”Органски” или ”Дунав Соја” сертификат, анализе на присуство ГМ су обавезне. У овим ситуацијама, за квалитативно одређивање присуства ГМ најчешће је у примени брзи имунохроматографски тест на тракама. Овај метод је једноставан за примену, поуздан и резултат се добија брзо. Такође, није потребна опремљена лабораторија и запослени уз кратку обуку успешно могу да обављају ове анализе. Уколико је брзи тест позитиван на присуство ГМ, узорак се шаље у лабораторију на квантитативну анализу која се обавља PCR апаратима. Семе које не пролази никакву додатну сертификацију, а не извози се из земље, лако може да заобиђе све анализе и нађе се у продаји и на крају у храни коју купујемо.

Према директиви 2001/18/ЕС Европског парламента, генетички модификовани организми (ГМО) представљају организме, са изузетком људи, чији је генетички материјал измењен на начин који се не дешава у природи, укрштањем и/или природном рекомбинацијом.

У ЕУ је обавезно обележавање ГМ хране, сточне хране и хране произведене од генетички модификованих биљака, уколико је удео ГМО већи од 0,9 %. Уколико је садржај ГМО испод 0,9%, под условом да је та присутност случајна или технички неизбежна обележавање није обавезно. Међутим, у ЕУ није обавезно да се обележавају производи добијени од животиња храњених ГМ храном. Такође, ЕУ је велики увозник сточне хране, кукуруза, али и соје која је дефицитарна роба у ЕУ. Овакво строго контролисање присуства ГМО, забрана коришћења ГМ семена у

комерцијалне сврхе и обавезно обележавање ГМО произилази из неповерења људи према технологији генетичког инжењеринга и крајњих производа те технологије. Од настанка па до данас ова технологија је прошла разне фазе, многе контроверзе су је пратиле, па и дан данас постоје многа етичка питања везана за ову технологију.

Поред тога што Србија није чланица ЕУ, трговинска, па и аграрна политика блиско су повезане и усаглашене са политиком ЕУ. Тржиште ЕУ представља велики потенцијал за извоз пољопривредних производа из Србије, а тржиште ЕУ је показало да не жели да конзумира ГМО храну и храну која потиче од ГМО. То се видело на примеру Чешке, Словачке и Румуније које су имале великих проблема око маркетинга након што су одобриле сетву ГМ кукуруза. Потребна је детаљнија и свеобухватнија контрола како на границама, односно царинама, тако и на пољопривредним површинама под сојом и кукурузом. Србија има велики потенцијал за производњу еколошки безбедне хране која не садржи ГМО, и постоји огромно тржиште поред нас које жели да купи безбедну храну, али такође и људи у Србији све више траже овакву храну.

Све наведено показује да постоји велика потреба за применом што бржих, прецизнијих и ефикаснијих метода детекције ГМ у соји и кукурузу, као и за спречавањем могућности да, поред забране коришћења ГМ семена у комерцијалне сврхе, ГМ семе соје и кукуруза пронађе пут до купаца на нелегалан начин.

2. ЦИЉ РАДА

Циљ овог истраживања је следећи:

- Утврђивање присуства химерног гена CP4 EPSPS у узорцима соје који потичу из малопродајних објеката и пољопривредног произвођача
- Утврђивање присуства химерног гена Cry1Ab у узорцима кукуруза који потичу од пољопривредних произвођача на територији Војводине

3. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

3.1. УПОТРЕБА, КАРАКТЕРИСТИКЕ И ПРИВРЕДНИ ЗНАЧАЈ СОЈЕ

Соја (*Glycine Max*) потиче из Азије, тачније из кинеског центра порекла. Данас је права космополитска врста и гаји се широм света. Припада породици *Fabaceae*, роду *Glycine*, врсти *Glycine max (L.) Merrill*. Име рода је први увео Карл Лине 1737. године. Реч *Glycine* потиче од грчке речи „Glykys“ што значи слатко и реч се односила на слаткоћу јестивих кртола у облику крушке произведене од једне врсте из рода *Glycine*. Научно име *Glycine max (L.) Merrill*, које је предложио Мерил (Elmer Drew Merrill, eng.) 1917. године, постало је званично име ове културе. Директним претком соје сматра се дивља соја (*Glycine soja Sieb&Zucc*), која насељава источне делове Русије, исток Кине, Тајван, Корејско полуострво и Јапан. Соја је једна од најстаријих усева, историјски и археолошки докази говоре да се соја гајила у северним деловима Кине и у долини Жуте реке између 17. и 11. века п.н.е (Lu, 2004). Из Кине и Јапана соју су Европу донели мисионари и морнари у другој половини 18. века. У Америку соја је стизала у неколико наврата, преко свештеника, ботаничара и тадашњих трговаца семеном, али је прва сорта која и даље постоји, стигла крајем 19. века (Перић, 2015). У прошлом веку, Кина и САД су били скоро па једини произвођачи соје. Први програми оплемењивања соје у Америци почели су тридесетих година прошлог века. Због лоших агротехничких особина, осипања зрна, полагања, велике висине биљака и ниског приноса, соја се у Америци користила претежно као силажа. Методама оплемењивања је за приближно 60 година решен проблем полагања и осипања, значајно је побољшан принос и квалитет зрна, као и толерантност према патогенима и инсектима. Од седамдесетих година прошлог века многе земље уводе соју у своју производњу. Најзначајније међу њима су Аргентина и Бразил, данас једни од највећих произвођача соје у свету. Код нас је соја на значајнијим површинама такође почела да се гаји средином седамдесетих година прошлог века (Малешевић и сар., 2004). Као основни оплемењивачки материјал су

кориштене америчке сорте и данас је у Србији регистровано преко 160 сорти соје, преко 200 домаћих сорти је регистровано у иностранству, а 55 се налази на листи Европске уније (Ђукић и сар., 2022).

Соја је данас једна од најважнијих легуминозних култура, али и једна од најважнијих ратарских култура. Узгаја се од 20. до 50. степена северне географске ширине и од 10. до 40. степена јужне географске ширине. Овако широка распрострањеност показује њену високу адаптабилност према различитим еколошким условима (Li, 2017).

Један од главних разлога за њену широку распрострањеност свакако јесте хемијски састав зрна. У односу на суву материју, зрно соје садржи око 40% протеина и око 20% уља, у зависности од сорте и услова у којима се узгаја. Угљени хидрати чине 35% зрна, и осталих 5% чини пепео. Поред изузетно високог садржаја протеина у зрну соје, квалитет сојиних протеина је веома висок. Значајне количине сојиних протеина представљају есенцијалне аминокиселине за човека, које људско тело не може да синтетише. Сојино уље се рафинише и користи у разне сврхе, а највећи део се користи као дијететско уље. Оно не садржи транс масти и има јако мали проценат засићених масних киселина. Студије су показале да сојино уље у исхрани, због свог високог садржаја полинезасићених масних киселина, може смањити повишени ниво укупног холестерола у крви у људском телу, као и да помаже у обнављању липидног профила и да побољшава инфламаторни и антиоксидативни статус (Chen *et al.*, 2012). Поред макроелемената, соја садржи и значајне микроелементе. Примећен је висок удео изофлавона са многим позитивним својствима за побољшање здравља. Показало се да изофлавони из соје смањују ризик од појаве рака простате, материце и дојке и од појаве остеопорозе. Такође, својство изофлавона да уклањају слободне радикале доприноси смањењу ризика од оштећења ДНК (Chen *et al.*, 2012). Изофлавони припадају групи фитоестрогена. Њихова улога у биљном свету је да штите биљку од различитих микроорганизама и гљивица (Гашпаревић-Иванек, 2003). Подврста соје са црним омотачем зрна, црна соја, садржи значајну количину антоцијана. Од витамина, у зрну соје присутни су витамин А, Б₆, Б₁₂, Ц и К.

Захваљујући овим особинама, соја има изузетан значај у прехранбеној индустрији. Соја представља сировину за друге индустрије и данас се прерадом соје добија више од 20.000 различитих производа (Дозет и сар., 2021). Соја је биљка која на истоку

има дугу традицију коришћења у исхрани, док је на западу експанзију доживела тек у протеклим деценијама.

Да би соја могла да се користи у исхрани људи и моногастричних животиња (имају само један желудац за разлику од преживара који имају четири), потребно је да прође процес термичке обраде. Разлог за то је присуство антихранљивог комплекса у зрну соје. Од укупног антинуитритивног комплекса, највише проучавани и најзначајнији су трипсин инхибитори. То су протеини који у систему за варење људи и моногастричних животиња блокирају протеолитичке ферменте и ометају нормалну разградњу молекула корисних протеина. Током термичке обраде соје, троши се велика количина енергије и такође долази до денатурације и погоршања сварљивости протеина, па се из тог разлога ради на интродукцији постојећих сорти без трипсин инхибитора код нас (Сребрић и сар., 2020).

Тренутно се мања количина укупно произведене соје у свету користи за исхрану људи, док се највећи део користи као сточна храна. Међутим, због састава зрна и растућег тренда вегетаријанске и веганске исхране у свету, јасно је да ће соја у будућности имати много значајнију улогу у исхрани људи. Данас постоји велики број производа од соје које људи свакодневно користе, док се у још већем броју производа соја користи као додатак и повећава удео и квалитет протеина. Неки од тих производа су присутни у исхрани људи вековима уназад, док су други настали појавом савремене технологије обраде и припреме хране. Храна од соје може да се подели у две категорије, ферментисана и неферментисана сојина храна. У неферментисане производе спада сирова соја, дехидрирано сојино зрно, сојине клице, пуномасно и одмашћено сојино зрно, сојино брашно, сојино млеко, и производи сојиног млека: тофу, окара и јуба. Ферментисана храна укључује мисо, сојин сос, нато, темпех и ферментисани тофу. Најпознатије и најзаступљеније намирнице у свету су сојино млеко, тофу, сојин сос и мисо. Такође је значајна и употреба формуле за новорођенчади на бази соје, као замена за бебе које су алергичне на млечне протеине.

Поред многобројних позитивних карактеристика, потребно је обратити пажњу на сигурност соје у исхрани људи. Соја је веома јак алерген и спада међу такозваних осам највећих алергена када се говори о храни (Messina *et al.*, 2020). Посебно је важно истражити и константно проверавати сигурност хране на бази соје за

новорођенчад и бебе. Првенствено због чињенице да ова храна може да садржи материје штетне по здравље новорођенчади као што су фитати, алуминијум, стахиоза, рафиноза, и посебно фитоестроген (Cordle, 2004., цит. Chen *et al.*, 2012). Међутим, напредак у технологији производње хране побољшао је сигурност овог производа и многа истраживања потврђују да је формула за бебе на бази соје адекватна, сигурна, приступачна и здрава замена за формулу за бебе на бази крављег млека (Sinai, *et al.*, 2019, Vandenplas *et al.*, 2021).

Као сточна храна соја се највише користи у живинарству и свињарству, у мањој мери и у говедарству.

Употреба соје је веома раширена и у другим индустријама. Соја је присутна у индустрији сапуна, пластике, козметике, смоле, мастила, индустријских уља, одеће, бојица, растварача. У Америци, 80% биодизела добија се из сојиног уља (Chen *et al.*, 2012).

Као интензивна биљна врста, соја захтева квалитетно изведене и испланиране агротехничке радове у зависности од појединачних захтева сорте. Пропусти у агротехници доводе до смањених приноса и квалитета семена соје, при чему генетички потенцијал сорте остаје неискоришћен, иако су услови за то постојали. Ако се елиминишу антропогени фактори, главни лимитирајући фактори којима је биљка изложена могу се груписати у три категорије: земљишни, атмосферски и биотички (Хрустић и сар., 2004).

Са аспекта захтева према земљишту, соја даје најбоље резултате на дубоким, плодним земљиштима, са повољним водно-ваздушним режимом, неутралне до благо алкалне реакције. Недостатак или неприступачност воде је један од главних ограничавајућих фактора у производњи соје. Међутим и сувишак воде у земљишту може изазвати негативан ефекат на биљку. Соја је биљка која велике количине азота задовољава фиксацијом из ваздуха, али поред тога, соји је потребно додатно уношење минералних хранива у земљиште како би задовољила своје потребе. Уношење минералних ђубрива пре свега се обавља на основу анализе земљишта и познавања потреба биљке током фаза развоја. Ђубрење соје азотом је специфично због своје способности да уз помоћ микроорганизама може да фиксира атмосферски азот. Присуство веће количине азота у земљишту негативно утиче на развој квржичних бактерија на корену соје, узрочно томе и до смањења приноса соје. Мање

количине азота потребне су соји у почетним фазама раста док се не формирају квржичне бактерије. Примена већих количина има смисла само на изразито киселим земљиштима и ако не дође до формирања квржица на корену биљака (Дозет и сар., 2021).

Соја има јак корен и на површини корена развијају се бактерије које живе у симбиози са сојом и хране соју азотом који фиксирају из ваздуха. За правилан развој корена, али и бактерија азотофиксатора, соји је потребно земљиште добрих водно-ваздушних особина, неутралне реакције и да има довољно хранива у приступачном облику. Соја је веома цењен предусев у плодореду, јер утиче на побољшање структуре и плодности земљишта. Она не само да подмирује већину својих потреба за азотом, већ и обогаћује земљиште овим састојком.

Због својих својстава соја је дефинитивно култура која ће имати још већи значај у будућности. Ипак, са растућим значајем соје, расту и контроверзна и етичка питања везана за узгој соје.

3.2. УПОТРЕБА, КАРАКТЕРИСТИКЕ И ПРИВРЕДНИ ЗНАЧАЈ КУКУРУЗА

Кукуруз (*Zea mays L.*) је једногодишња, једнодома биљка са раздвојеним мушким и женским цвастима. Данас је једна од најзначајнијих пољопривредних култура и по површини заузима друго место на свету. За разлику од других гајених врста, кукуруз у природи нема тако очигледног дивљег сродника. Кукуруз је одувек био предмет великог броја истраживача, што због својих карактеристика, тако и због мистерије његовог порекла и настанка. Став научника и истраживача кукуруза данас је тај да је теозинта дивљи предак кукуруза. Међутим, наука данас још увек није дала одговор на питање шта се то десило код теозинте и каква је природа генетичких трансформација које су довеле до настанка тако различитог фенотипа каквог данас поседује кукуруз. На просторима средње Америке, одакле потиче, кукуруз је народима Новог света био познат од памтивека. Археолошка налазишта на подручју средње Америке говоре да је кукуруз настао доместикацијом теозинте пре краја петог миленијума пре нове ере (Benz 2001, цит. Бабић и сар., 2012).

Историја кукуруза у новом свету и оваквог каквог га ми познајемо данас је релативно млада. Након открића Америке у 15. веку, кукуруз је пренет у Европу.

Људи су брзо препознали позитивне карактеристике кукуруза и он се брзо ширио Европом, па је стигао и до Балканског полуострва. Различити називи за кукуруз који су постојали на Балкану говоре да је кукуруз стизао на ове крајеве из различитих праваца. Први записи говоре о увођењу кукуруза у наше крајеве преко Турске и Грчке или преко Венеције, дуж Јадранске обале између 1572. и 1576. године (Бабић и сар., 2012). Данас је кукуруз, као и соја, права космополитска врста која је се гаји на свим континентима, наравно изузев Антарктика. Можемо га наћи од Чилеа на 50. степену јужне географске ширине до Канаде и Русије на 40. степену северне географске ширине, као и до 3400м надморске висине у Андима (Andorf *et al.*, 2019). Ако се прихвати дефиниција адаптабилности, као способности да се покаже добра прилагодљивост у широком распону окружења (Annicchiarico, 2002), као и објашњење да адаптабилност треба посматрати као део одговора генотипа на разлике између локалитета (Димитријевић и Петровић, 2005), види се да кукуруз поседује веома широку адаптабилност. Такође, овако широка распрострањеност довела је и до веома велике генетичке варијабилности. Кроз историју људи су на различитим локалитетима одабирали биљаке које су се најбоље прилагодиле на агроеколошке услове и сејали то семе наредне године. Тако је било све до почетка 20. века, односно до почетка искоришћавања феномена хетерозиса и технике хибридизације. Хибридизација је довела до велике генетичке униформности комерцијалног семена данас. Генетичка варијабилност служи као извор гена за толерантност на болести и штеточине и неповољне услове гајења па природне популације представљају кључне изворе генетичке варијабилности за стварање елитног селекционог материјала. Први хибриди кукуруза на просторима бивше Југославије уводе се у производњу 1953. године, од када локалне слободно опрашујуће сорте губе на значају (Бабић и сар., 2012).

Кукуруз се користи у људској исхрани, као сточна храна и као сировина у индустрији. Најзначајнија је улога кукуруза као сточне хране, након чега долази примена у индустрији као сировине за производе који се не користе за исхрану и на трећем месту је његова улога у исхрани. Међутим, ови односи варирају у зависности од региона, а приметна је и знатна разлика између неразвијених и развијених земаља. У Европи се тако 75% кукуруза користи за сточну храну, 5,6% за исхрану људи, док за непрехрамбену индустрију одлази 6,4% укупних количина кукуруза (таб. 1).

Табела 1. Коришћење кукуруза у свету и по регионима (у процентима), Erenstein *et al.*, 2022

Регион	Храна	Сточна храна	Примена у индустрији (за непрехрану)
Африка	54,3	30,3	3,5
Јужна Азија	35,6	50,9	2,1
Источна Азија	5,3	69,9	15,6
Југоисточна Азија	20,1	47,0	28,3
Западна и централна Азија	21,7	66,7	6,6
Северна Америка	1,4	44,6	40,6
Централна и јужна Америка	21,1	63,6	2,2
Европа	5,6	75,7	6,4
Океанија	18,5	66,8	10,0
Неразвијене земље	43,1	41,0	4,9
Развијене земље	7,6	59,0	22,1
Свет	12,8	56,3	19,6

Кукуруз се у исхрани људи користи на различите начине. Може се користити као куван, пржен или искокан, затим у облику брашна или гриза у пекарским производима и у производњи алкохолних пића. У прехранбеној индустрији се затим користи у облику скроба, сирупа, уља и многим другим облицима. Ипак, у новије време у експанзији је употреба кукуруза у непрехрамбеној индустрији, поготово у развијеним земљама и регионима. Кукуруз је тако данас присутан у производњи биогорива (етанол), биопластике и биоразградивих материјала за паковање, у текстилној индустрији, у фармацеутској индустрији и медицини, у козметици, у индустрији папира, грађевинских материјала, лепкова и многим другим. Све у свему, његова јединствена својства, доступност и свестраност чине га вредним ресурсом у бројним непрехрамбеним индустријама, чиме доприноси одрживим и иновативним решењима.

Кукуруз је класична угљенохидратна биљка чији протеини имају релативно малу хранљиву вредност. Зрно кукуруза садржи у просеку око 70% скроба, 9,5% протеина, 4,3% уља, 1,4% пепела и 2,6% шећера (Watson, 2003, цит. Ђаловић и Бекавац, 2019).

Технологија производње кукуруза је данас, као и већине гајених биљака, потпуно индустријализована. Примена минералних ђубрива, пестицида и енергије за спровођење неопходних агротехничких операција је висока, док је у последњих пар деценија присутна и примена технологије генетичког инжењеринга у производњи нових хибрида. Са друге стране климатске промене принудиле су произвођаче и истраживаче да проналазе нове начине да побољшају приносе кукуруза у све тежим агроеколошким условима. Кукуруз најбоље успева на растреситим, добро пропусним земљиштима, благо киселе до благо алкалне реакције (рН 6.7-7.3). У нашим агроеколошким условима, најпогоднији типови земљишта за гајење кукуруза су чернозем, ливадска и ритска црница (лакшег механичког састава), плодне гајњаче и плодни алувијуми. Кукуруз за нормалан раст и развој захтева релативно високе температуре земљишта и ваздуха. По питању температуре, у нашој земљи постоје добри услови за производњу кукуруза. Кукуруз је веома флексибилан и по питању падавина, гаји се у областима где се просечне годишње количине падавина крећу од 250mm до 5000mm. Много је важнији распоред падавина током године и условима континенталне климе који владају на нашим просторима може се рећи да 200mm падавина током летњих месеци представља доњи ниво за рентабилну производњу у сувом ратарењу. Суша је најзначајнији лимитирајући фактор у производњи кукуруза. Иако је штетна у свакој фази раста и развића, генеративна фаза је посебно осетљива на недостатак воде (Бекавац и сар., 2023).

3.3. СТАТИСТИЧКИ ПРИКАЗ ГАЈЕЊА КУКУРУЗА И СОЈЕ У СВЕТУ И СРБИЈИ

Према међународној организацији за храну и пољопривреду 2021. године у свету било је посејано близу 130 милиона хектара соје и 205 милиона хектара кукуруза. То је резултирало укупном производњом од преко 370 милиона тона соје и милијарду и 210 милиона тона кукуруза (fao.org/faostat).

Иако је соја давно припитомљена и користи се у исхрани вековима, своју експанзију доживела је након друге половине прошлог века. Разлог томе је успешан оплемењивачки рад на соји који је допринео да соја може успешно да се гаји уз потпуну примену механизације. Други разлог је квалитет сојиног зрна и значај соје у плодореду. Када се све споји добије се резултат као што приказује график 1, просечан раст укупне површине под сојом у свету од око 30% на сваких десет

година. Од нешто преко 20 милиона хектара под сојом 1961. године, до скоро 130 милиона хектара под сојом 2021. године.

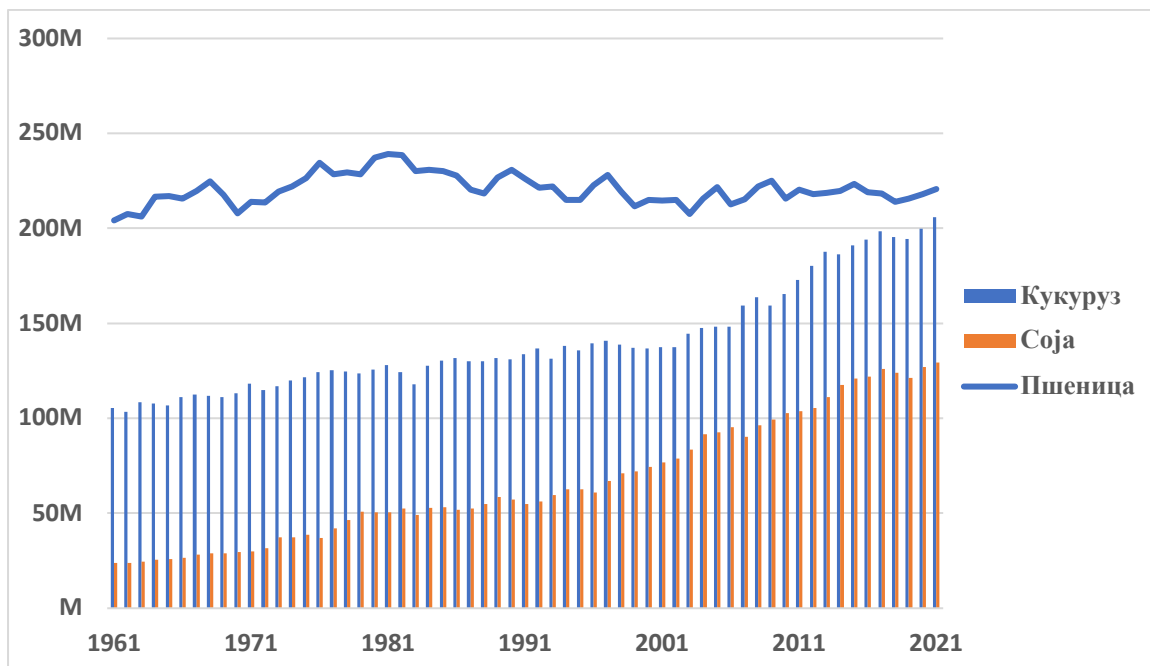


График 1. Укупне површине под сојом, кукурузом и пшеницом у свету од 1961. до 2021. године (милиони хектара) (fao.org/faostat)

Соја је тренутно четврта најраспрострањенија гајена биљна култура и најраспрострањенија индустријска култура у свету. Од соје веће површине заузимају само пшеница, кукуруз и пиринач. Укупне површине под кукурузом у свету такође континуирано расту. Поготово је то изражено у периоду од средине прошлог века, где велике заслуге за овај раст има и сетва генетички модификованог семена. Поред тога што се више пшенице посеје у свету, кукуруз је по укупној производњи зрна од свих ратарских култура убедљиво на првом месту у свету. Када се погледа раст кукуруза у укупним површинама, и стагнација пшенице у последњих 60 година од када постоје статистички подаци, јасно је да ће врло брзо кукуруз постати најзаступљенија ратарска култура у свету и по укупним површинама.

Највећи произвођачи соје у задњих тридесет година су Бразил, САД, Аргентина, Кина и Индија. Тих пет земаља је у 2021. години произвело 89% од укупно произведене соје у свету (граф. 2). Бразил је 2019. године преузео примат од Сједињених Америчких Држава, и по први пут од када се води евиденција САД нису водећи по укупним површинама и такође нису водећи ни по укупној производњи соје у свету.

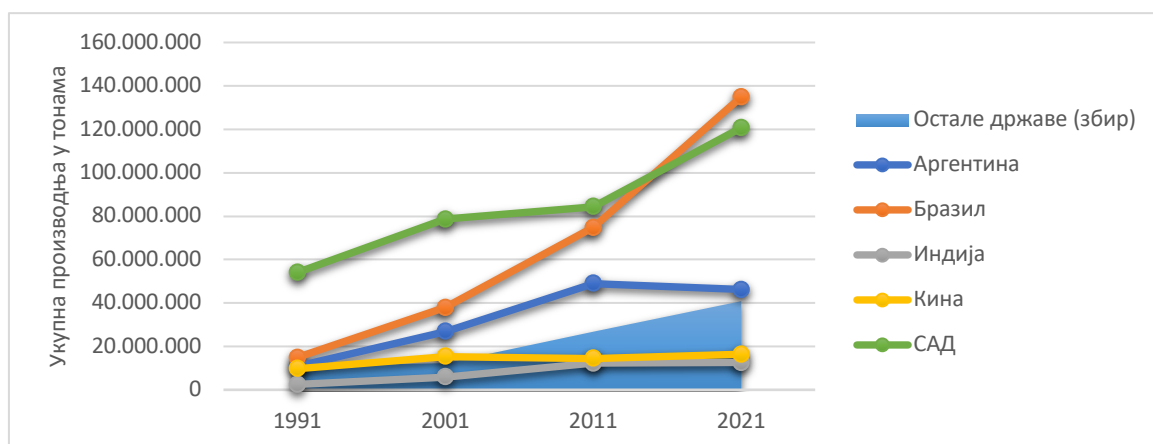


График 2. Укупна производња соје у свету. Пет највећих произвођача и збир свих осталих држава света које узгајају соју (fao.org/faostat)

Соја је у Србији у 2021. години била посејана на површини од 230.000 хектара, а постигнута су просечни приноси од око 2300kg/ha (Ђукић и сар., 2022). У свету, Србија се налази на петнаестом месту по укупној производњи сојиног зрна, док је четврти највећи произвођач соје у Европи, одмах испод Русије, Украјине и Италије. Површине под сојом у Србији, као и у свету, имају константан тренд раста, поготово у задњих двадесет година (граф. 3). Србија је једна од ретких држава које у потпуности задовољавају своје потребе за сојом и поред тога су извозници.

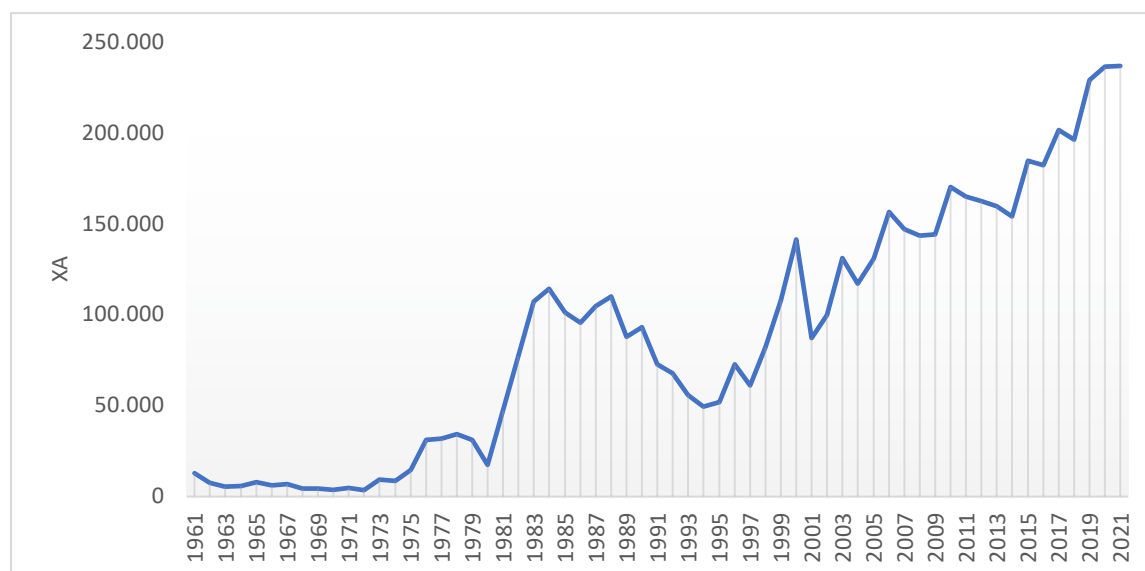


График 3. Површине под сојом у хектарима у Србији. (Од 1961. до 1991. године приказане су укупне површине у Југославији, од 1992. до 2005. године у Србији и Црној Гори) (fao.org/faostat).

Површине под кукурузом у Републици Србији у периоду од 2017. до 2022. године кретале су се између деветсто хиљада и милион хектара, са врло варијабилним просечним приносом од 4,0t/ha у сушној 2017. до 7,9t/ha у 2020. години (www.stat.gov.rs). Варирања у приносу кукуруза углавном су условљена метеоролошким условима, али и системом гајења јер се кукуруз често гаји у монокултури или у двопољу са пшеницом. Србија се 2021. години са нешто преко милион хектара и 6 милиона тона налазила на 33. месту у свету по површинама и на 24 месту по укупној производњи кукуруза. Највећи произвођач кукуруза у свету су САД, иза којих следе Кина, Бразил, Аргентина и Украјина. Десет највећих произвођача кукуруза произведу 80% кукуруза у свету.

Предност коју има Србија у односу на велике произвођаче соје и кукуруза јесте чињеница да у Србији није дозвољена сетва генетички модификованог семена. Код соје је то поготово случај јер соја која није генетички модификована је дефицитарна у свету, и на тржишту Европске уније веома тражена. Соја је најзаступљенија генетички модификована биљна врста на свету. Од укупних површина под генетички модификованим биљкама у свету, соји припада 50%. Такође, у односу на укупну површину посејану под сојом у свету 2017. године, 76% је била генетички модификована соја (James, 2017). Највећим делом у питању је соја са отпорношћу на хербициде и инсектициде. Међутим, у последњих неколико година расте број врста са повећаном отпорношћу на абиотичке факторе, као што је толерантност на повишен салинитет, или соја са повећаном ефикасношћу искоришћавања воде.

Кукуруз који је генетички модификован налази се на другом месту по површинама ГМ култура. Укупно је било посејано 59,7 милиона хектара ГМ кукуруза у 2017. години, што представља 31% од укупних површина под ГМ културама. Однос модификованог и немодификованог кукуруза је 30:70 у корист немодификованог кукуруза. Највећим делом сеје се кукуруз са здруженом отпорношћу на инсектициде и хербициде.

Укупна површина под генетички модификованим усевима у свету 2019. године износила је 190,4 милиона ха. Може се рећи да је тај број у стагнацији у задњих пет година, односно од 2017. Године, када је износио 189,8 милиона ха. генетички модификоване врсте 2019. године производиле су се у 29 држава света, и тренутно највећа експанзија је у афричким државама, где се све чешће производи ГМ памук.

Након наглог ширења технологије и површина под ГМ културама у првих десет година, у претходних десет година површине под ГМО у свету су у релативној стагнацији и постоји тренд пораста површина у земљама у развоју у односу на развијене земље. Према подацима из 2017. године, од 189,8 милиона хектара, 75 милиона ха под генетички модификованим биљкама се налази у САД. Поред САД, значајне површине има Бразил и Аргентина, док се нешто преко 10 милиона хектара налази у Канади и Индији. (граф. 4)

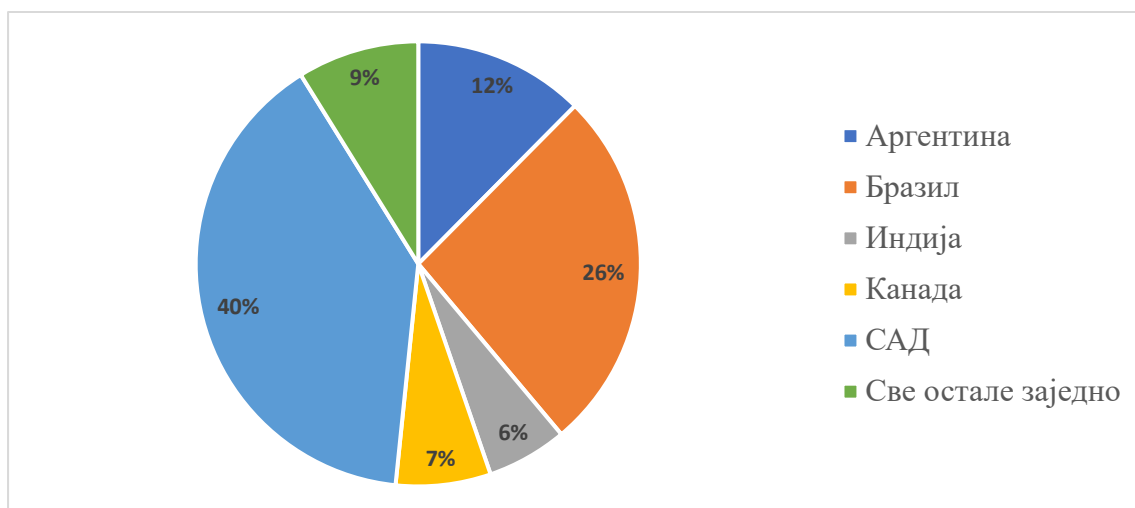


График 4. Пет највећих произвођача генетички модификованих биљних врста (James, 2017)

У САД 2017. године 94% посејане соје била је генетички модификована соја, код кукуруза та цифра износи 93,4%. Слична ситуација је и код других великих произвођача генетички модификованих усева, поготово у Аргентини. Бразил је поред великих површина под генетички модификованом сојом и даље највећи произвођач и извозник конвенционалне соје. Више од 50% укупних количина кукуруза које се извезу у свету потичу из САД-а и Аргентине, два највећа извозника кукуруза у свету. Србија се по извозу кукуруза налази на 11. месту, са 2 милиона и 300 хиљада тона извезених у 2021. години.

У ЕУ је ситуација доста другачија. Притисак јавности и даље је веома висок и већина држава уније не сеје генетички модификовано семе. Постоје строге процедуре за добијање дозволе за сетву ГМ семена, као и стављање ГМ производа на тржиште. Свака држава уније има могућност да уведе мораторијум на комерцијалну употребу ГМ семена, и такву опцију искористиле су 9 од 28 држава ЕУ. Генетички модификовано семе 2017. године сејало се само у Шпанији и Португалу, на укупној

површини од 131.535 ха. У ЕУ обавезно је обележавање ГМ хране, сточне хране, и хране произведене од генетички модификованих биљака уколико је удео ГМ производа већи од 0,9 % (Twardowski *et al.*, 2015). Међутим ЕУ је велики увозник хране, поготово сточне хране. Податак из 2021. године говори да је ЕУ увезла око 30 милиона тона кукуруза и 17 милиона тона соје (Fao.org/faostat). Тај податак говори да ЕУ око 30% својих потреба за кукурузом задовољава из увоза, док је код соје другачија ситуација. Соја је у ЕУ традиционално у дефициту. ЕУ годишње произведе мање од 3 милиона тона соје, дакле ЕУ тек 15% потреба за сојом задовољава из сопствене производње. На тржишту је све теже пронаћи соју која није генетички модификована, због тога цена конвенционалне соје на тржишту из године у годину расте. Такође, још један проблем за грађане ЕУ који не желе да конзумирају ГМ храну јесте тај што у ЕУ не постоји обавеза обележавања производа добијених од животиња које су храњене храном која потиче од ГМО (Mann, 2015.). Из тог разлога потребно је што квалитетније и брже доћи до податка да ли неки производ садржи генетички модификовану ДНК и протеине који су резултат генетички модификоване ДНК.

3.4. ГЕНЕТИЧКИ ИНЖЕЊЕРИНГ

Историја генетичког инжењеринга живих организама није дугачка. Хронологија генетичког инжењеринга може да почне 1953. године када су Вотсон и Крик (James D. Watson and Francis Crick, eng.) објавили данашњи модел ДНК за који су 1962. године добили Нобелову награду. Убрзо након тога уследили су експерименти са ДНК, између осталих и експерименти са хоризонталним преносом делова ДНК. Хоризонтални пренос гена односи се на кретање генетичких информација изван нормалних полних баријера. Овај трансфер гена дешава се међу далеким сродницима и на тај начин стоји у супротности у односу на вертикални пренос гена од родитеља на потомство (Keeling and Palmer, 2008). Хоризонтални трансфер гена установљен је половином прошлог века. У почетку се сматрало да је овај процес карактеристичан само за свет прокариота, међутим нови случајеви хоризонталног преноса гена код еукариота откривају се свакодневно. Данас је прихваћена чињеница да се хоризонтални пренос гена дешавао, и дешава на свим нивоима развоја организама. Ипак, генетички инжењеринг данас омогућава толико прецизан и

специфичан трансфер гена између сродно најудаљенијих организама какав никада не би био могућ у природи.

Да је могуће комбиновати гене различитих врста доказао је Пол Берг (Paul Berg, eng.) 1972. године (Jackson *et al.*, 1972). Користећи вирус SV40 и бактеријски вирус ламбда бактериофаг и ензиме који су већ били познати којима је прекидао и спајао молекул ДНК, он је направио први рекомбинантни ДНК молекул. Тај молекул је био делом SV40, делом ламбда бактериофаг. Његова идеја је била да се тај молекул рашири кроз бактерију *E. Coli*, преко које би се заразила ћелија сисара. У дискусији свог рада Берг наводи да су његове метода опште и да нуде приступ за ковалентно спајање било која два молекула ДНК. Из страха и потенцијалне опасности, он није убацио рекомбинантни вирус у бактеријске ћелије као што је планирао. Практично у исто време када и Берг, многи научници експериментисали су са генетички материјалом. Један од њих је и Ананда Чакрабарти, професор имунологије и микробиологије на Универзитету Илиноис. Он је експериментисао са бактеријама које имају способност да разлажу нафту, односно да користе органска једињења из нафте као храну. Међутим он је значајан из потпуно другог разлога. Наиме, Врховни Суд САД је одобрио његов патент на генетички модификовану бактерију која разлаже нафту на нафтним мрљама. До тада сваки покушај да се патентују живи организми био је одбијен. Тим чином званично су отворена врата развоју биотехнологије, а тако и компанијама које су се бавиле генетичким инжењерингом. Бактерија која разграђује нафту је први генетички модификован организам који је добио дозволу да буде патентован (Eisenberg, 2006).

Прва теренска испитивања ГМ биљака почела су средином осамдесетих година прошлог века у Америци, Француској и Белгији. Прва биљка на којој су вршени огледи био је дуван, али убрзо су на списак биљака додате и многе друге као што су парадајз, памук, уљана репица, кукуруз, соја и кромпир. Кина је прва земља која је комерцијализовала генетички модификован организам са увођењем у производњу дувана отпорног на вирусе (James, 1997). САД су 1994. године одобриле за људску исхрану генетички модификован парадајз са способношћу продуженог зрења. До краја 1995. године, 35 захтева за комерцијалну производњу су одобрена. Један од тих производа била је и генетички модификована соја отпорна на хербицид глифосат, коју је од 1995. године продавала компаније Монсанто под заштићеним комерцијалним називом „Roundup ready“. Управо 1996. година наводи се и као

почетак технологије генетичког инжењеринга. Те године у свету је било засејано 2.8 милиона хектара под генетички модификованим усевима. Којом брзином је ова технологија расла показује и график 5. До 2000. године ГМ усеви производили су се на шест континената, у укупно 13 земаља.

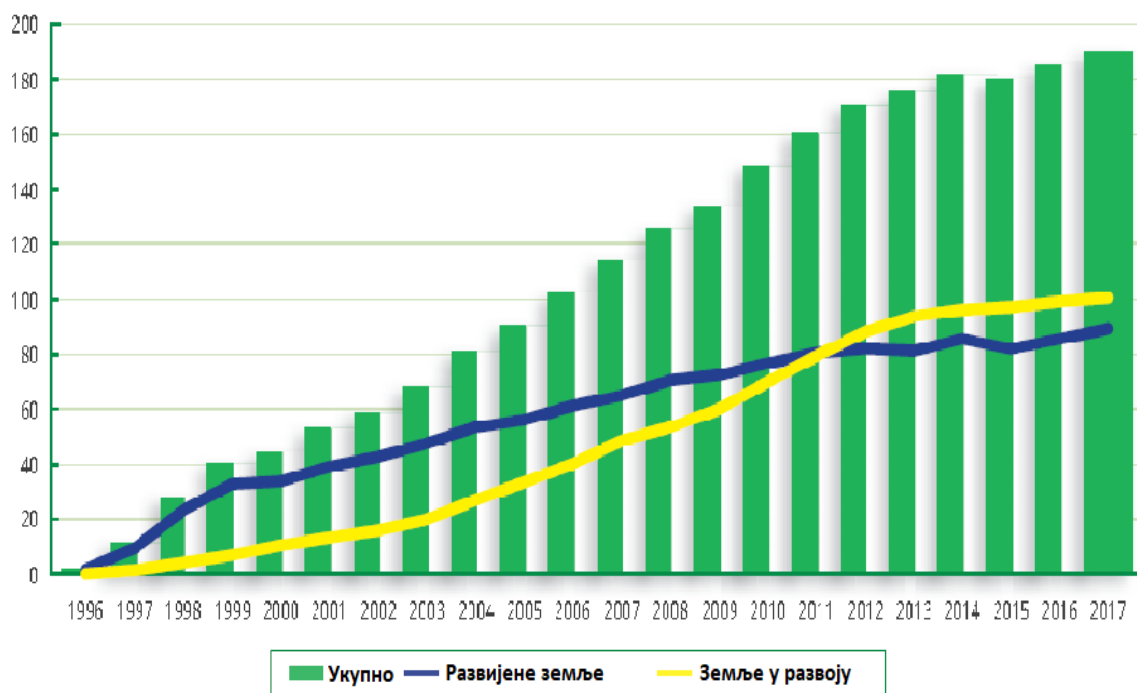


График 5. Површине под генетички модификованим усевима у свету 2017. године. (James, 2017)

Циљ генетичке модификације јесте да се уведе страни ген који ће донети нове позитивне карактеристике биљној врсти, у зависности од циља модификације. У самом почетку ове технологије фокус је био на увођењу специфичних гена који би донели тачно дефинисану особину. То је најчешће била отпорност на одређени хербицид, инсектицид или толерантност према паразитима и болестима. Како технологија генетичког инжењеринга напредује, мења се и циљ модификације. Данас, све чешће се тражи начин да се побољшају квалитативне особине биљке и производа добијених од ових биљака, као и да се здружи више особина или отпорности у једној генетички модификованој сорти. Тако се данас јављају сорте са здруженим својствима, као што су соја отпорна на глифосат са модификованим садржајем масних киселина, или соја отпорна на хербицид и инсектицид, или на више хербицида. (Parisi *et al.*, 2016). Поред тога, присутан је ГМ кукуруз, са

отпорношћу на кукурузни пламенац (*Ostrinia nubilalis*) и глифосат хербицид толерантан (Бекавац и сар., 2000).

Такве варијације особина нису могуће у природи и због тога ген који се инсертује у домаћина представља химерни ген који је лабораторијски конструисан тако да се комбинују генски делови различитих организама (Петровић и Димитријевић, 2015). Конструисан химерни ген интегрише се у геном циљаног организма применом једне од доступних метода. У почетку ове технологије најчешће се користила једна од следећих метода:

- Трансфер гена посредством бактерије *Agrobacterium tumefaciens*
- Метода бомбардовања микропројектилама

Ове методе нису веома прецизне и дају мали проценат успешно модификованих биљака. Данас се развијају прецизне и модерне методе модификације гена. Ове методе имају и другачији заједнички назив, јер је и принцип модификације у потпуности различит од прве две методе. Као заједнички назив имају термин „уређивање генома“ (genome editing, eng.). У питању су методе веома прецизног уметања страних гена директно унутар биљке примаоца. Ту спадају методе као што су:

- ZFN (zinc-finger nucleases, eng.)
- TALEN (transcription activator-like effector nuclease, eng.)
- CRISPR/Cas9 (clustered regularly interspaced, short palindromic repeats, eng.)

Након модификације биљке и добијања одрасле биљке способне да да фертилно потомство, даљи тестови се спроводе како би се осигурала стабилна интеграција, наслеђивање и експресија пренетог гена, без нежељених мутација. Целокупан процес је дуготрајан, као и код класичних метода оплемењивања биљака. Потребно је између 6 и 15 година пре него што је нови трансгени хибрид спреман за комерцијалну производњу. Међутим у односу на класичне методе оплемењивања биљака, добијање нових сорти и хибрида на овај начин је многоструко скупље. У просеку је потребно 136 милиона долара и 13 година од почетка рада до усаглашавања са прописима и комерцијализације (Ricroch *et al.*, 2016.). Међутим, када се створи нова сорта, финансијска добит је многоструко већа од уложених средстава.

Када се говори о хербицидима, пре свега се мисли на најраспрострањенији хербицид у примени код ГМ усева, глифосат. Он је неселективни, системични хербицид. Његов механизам деловања је такав да блокира деловање ензима 5-енолпирувилшिकимат-3-фосфат синтазе (EPSPS). Овај ензим има кључну улогу у формирању ароматичних есенцијалних аминокиселина, и неких секундарних метаболита. глифосат делује само на поменути ензим који се налази у свим биљкама, бактеријама и гљивама, али не у животињама. Примењује се фолијарно, има способност кретања кроз флоем, те тако долази до свих делова биљке, убијајући меристемска ткива што доводи до хлорозе и некрозе. Његова покретна својства омогућају му да ефикасно убија ризомске, једногодишње и вишегодишње, широколисне и усколисне корове. Први пут је комерцијализован 1974. године, међутим права експанзија његове употребе почиње након 1996. године и почетка примене глифосат отпорних култура (Duke, 2018.)

Соја отпорна на хербицид глифосат први пут је успешно развијена од стране Padgett *et al.* (1995). У свом истраживању он је добио укупно 316 трансгених линија, користећи неколико различитих конструкција плазида отпорних на глифосат. Линија 40-3-2 једина је успешно комерцијализована и патентована од стране компаније Монсанто, под именом “RoundUp Ready”. Она је добијена путем експресије бактеријског EPSPS ензима, добијеног из соја CP4 рода *Agrobacterium*, високоотпорног на глифосат. Генска конструкција плазида PV-GMGT04 поред поменутог ензима садржи и регулаторни ген, јак промотор P-CaMV E35S из мозаик вируса карфиола, терминаторни ген, терминатор синтезе нопалина (T-nos) изолован из бактерије *A. tumefaciens* и ген који продукује хлоропласт транзициони пептид STR4 из еукариотског организма петуније (Петровић и Димитријевић, 2015). Овај плазмид убачен је методом убрзања честица помоћу генског пиштоља. Узгојем методом културе ткива добиле су се одрасле ГМ биљке. Једна од њих била је и линија 40-3-2, која је показала најбоље резултате. Ова линија отпорна је на деловање хербицида захваљујући структурном EPSPS гену који деградира глифосат до киселина и оксалата, чиме се деактивира његово деловање претварањем активне компоненте хербицида у неактивну. На овај начин се не блокира производња есенцијалних аминокиселина, и биљка преживљава, док околне коровске биљке умиру (Петровић и Димитријевић, 2015). Ово истраживање отворило је врата

генетички модификованим културама и убрзаној комерцијализацији ГМ соје и кукуруза као најраширенијих ГМ култура.

Када се говори о кукурузу, поред корова економски најзначајнију штету праве инсекти. Кукурузни пламенац (*Ostrinia nubilalis*) је економски веома значајна штеточина кукуруза која припада реду *Lepidoptera*. Пореклом је из Европе, међутим пренета је у Америку почетком двадесетог века, и данас тамо представља једну од најзначајнијих штеточина. Развија једну до две генерације годишње, женке полажу јаја на наличје листова. Гусенице оштећују стабло, клип, дршку клипа и зрно. Нападнута стабла губе механичку чврстоћу и лако се ломе, док је нападнута биљка подложна нападима патогена. Хемијски препарати делују веома слабо јер не могу да продру унутар стабла где се може наћи велики број гусеница овог инсекта, због тога као мера заштите најчешће се користе препарати на бази бактерије *Bacillus thuringiensis*, или ГМ биљке.

Скоро један век инсектицидни протеини из бактерије *Bacillus thuringiensis* (Bt) коришћени су као главна активна материја унутар препарата за сузбијање штеточина у пољопривреди. Од 1996. године ове протеине производе и саме генетички модификоване биљке. Први хибрид кукуруза који је имао у себи ген из Bt био је Монсантов трансгени хибрид MON810. Уметнути ген Cry1Ab давао му је отпорност према кукурузном пламенцу. Каснијих година развијали су се нови трансгени хибриди са једним или више различитих Cry гена из бактерије Bt и отпорности према више различитих инсеката.

Механизам деловања токсина бактерије Bt је следећи, када културе Bt спорулишу оне производе велике параспоралне протеинске кристалне инклузије, Cry токсине. Када подложни инсекти поједу ове кристале (токсине), они умиру. Ови токсини су отровни за велики број инсеката из реда *Lepidoptera*, *Coleoptera*, *Hymenoptera* и *Diptera*. Безопасни су за људе, кичмењаке и природне непријатеље ових инсеката. До сада је идентификовано преко 700 Bt Cry гена. Hofte i Whitely (1989), цит. Abbas (2018) дали су назив овим генима Cry гени, протеинима које они кодирају Cry протеини и предложили су класификацију ових гена. Ови аутори класификовали су ове гене, или кристале, на основу спектра активности протеина, односно који за који ред инсеката су токсични. Тако су према њиховој класификацији, која је каснијих година допуњавана и делимично коригована, Cry1 и Cry2 токсини отровни за

инсекте из реда *Lepidoptera*, Cry3 за инсекте из реда *Coleoptera* и Cry4 за инсекте из реда *Diptera*. Након броја следи велико слово које означава хронолошки ред којим су описани гени са значајним варијацијама, док мало слово након тога означава мање варијације унутар подгрупа (Abbas 2018).

3.5. ОТКРИВАЊЕ И ОБЕЛЕЖАВАЊЕ ГМО

Многе земље света увеле су у своје законодавство обавезу обележавања ГМ организама и производа добијених од ових организама, са прагом толеранције који се креће од 0-5%. Присуство ГМО у ланцу исхране контролише надлежни орган применом стандардизованих процедура, стратегија и метода за откривање. У Србији према члану 2. закона о генетички модификованим организмима (Службени гласник РС, број 41 од 2. јуна 2009.) ниједан модификовани живи организам као ни производ од генетички модификованог организма не може да се стави у промет, односно гаји у комерцијалне сврхе. Даље се прецизира у Члану 3. истог закона да се семенски и репродуктивни материјал на сматрају генетички модификованим организмима уколико количински садрже до 0,1 % примеса генетички модификованог организма и примеса пореклом од генетички модификованог организма. Закон о ГМО у Србији је усклађен са уредбом Европског парламента о ГМ храни и храни за животиње из 2003. године. Према овој уредби храна која садржи ГМО или се састоји од њих, или је произведена од ГМО или садржи од њих произведене састојке, изнад 0.9% мора бити правилно обележена. Уколико је садржај ГМО испод 0.9% под условом да је та присутност случајна или технички неизбежна обележавање није обавезно (<https://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/legal-basis>). Референтна лабораторија ЕУ за ГМ храну и храну за животиње (EURL-GMFF) уз помоћ Европске мреже лабораторија за ГМО (ENGL – European network of GMO laboratories) дефинисала је јасне смернице и критеријуме за следљивост и праћење ГМО (<https://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/guidance-documents>).

Идеални метод тестирања требао би да поседује следеће особине:

- 1) Универзалност – способност да детектује све генетички модификоване организме.

- 2) Мерљивост – треба да квантификује количину присутног ГМ материјала у узорку
- 3) Објашњивост – резултати треба да буду униформни и применљиви за све пољопривредне производе
- 4) Поузданост и поновљивост – узорци треба да дају поуздане резултате приликом сваког тестирања

Грешке приликом добијања резултата најчешће произилазе из:

- 1) Неправилне стратегије узорковања
- 2) Неправилног третмана узорка
- 3) Прецизности и поузданости аналитичког метода

Веома је битно да узорковање буде изведено правилно. Узорковање се извршава према правилима међународне организације за испитивање семена (ISTA – International Seed Testing Association) и ISO стандарда за узорке хране (<https://www.seedtest.org/en/publications/international-rules-seed-testing.html>).

Кључни кораци припреме узорка су:

- хомогенизација,
- предтретман,
- екстракција и
- пречишћавање.

За рутинску анализу, добра техника припреме узорка треба да буде једноставна, безбедна и јефтина. Минимална количина узорка не треба да буде мања од 3000 семена. Такође ЕУ је прописала регулативу 2006/754/ЕС према којој величина лабораторијског узорка треба да износи 2,5kg, док величина аналитичког узорка треба да износи 240g, односно око 10 000 до 12 000 семена. Креирани су додатни документи који детаљно прописују идентификацију ГМО у традиционалном узорку семена укључујући план тестирања, секвенцијалне тестове и статистичке елементе. Циљ је да се сваки корак што прецизније уреди и стандардизује како би се сваки пут добили прецизни резултати, и како би се уштедело време и укупни трошкови. Након

правилног узимања узорка и даљег третмана тог узорка, приступа се аналитичким методама детекције.

Методи генетичке модификације постају све прецизније, и напредак у овом пољу применом нових технологија и здруживања више нових особина унутар једног организма утиче и на развој нових метода детекције ГМО. Поред поузданости и прецизности, потребно је да ове методе буду приступачне и једноставне за коришћење. Данас постоји велики број веома прецизних квантитативних и квалитативних метода за детекцију присуства генетичке модификације у производу. Најшира подела метода је на методе које директно детектују промене ДНК и методе које детектују продукте модификоване ДНК, односно протеине (Popovski *et al.*, 2017).

3.5.1. PCR методе детекције

Данас су најчешће у употреби методе које директно детектују промене на ДНК. То су знатно прецизније методе и могуће је поред квалитативног резултата, добити и квантитативни резултат, односно процентуалну заступљеност генетички модификоване ДНК. Овакви резултати добијају се применом PCR технологије. Ову технику осмислио је Кери Малис (Kary Mullis, eng.) 1983. године, и 1993. године добио Нобелову награду из хемије захваљујући овом изуму. Укратко PCR, или ланчана реакција полимеразе, представља технику за умножавање, детектовање и клонирање секвенци ДНК. Ова техника је у почетку прошла прилично незапажено, међутим убрзо се приметио њен значај и међу научницима је хваљена као једна од најважнијих у сто година и пореде је чак и са интернетом (Bartlett and Stirling, 2003). Као метода која је заснована на анализи ДНК, PCR може квалитативно и квантитативно да открије генетичку модификацију и у узорцима који су подвргнути термичком или хемијском третману. Ова метода захтева лабораторијске услове, повећани утрошак времена, и знатна финансијска средства, међутим и поред тога данас је најчешће у употреби. Разлог за то је поузданост и прецизност. Основне PCR методе без проблема детектују присуство модификоване ДНК од 0,1 %, па и много ниже вредности. Да би се открило присуство страног гена, потребно је знати секвенцу гена који се користе у генској конструкцији. Анализа ГМ овом методом углавном почиње са квалитативном провером присуства елемената који се најчешће

налазе у генској конструкцији модификованих елемената (Demeke and Dobnik, 2018).

Пет најчешћих gena на које се врши провера су:

- Промотор из мозаик вируса карфиола, P-CaMV E35S
- Терминатор синтезе нопалина (T-nos)
- Конструкт који садржи EPSPS ген из CP4 соја *Agrobacterium tumefaciens* са узводном секвенцом CTP2 транзитног пептида хлоропласта из *Arabidopsis* Прелазак од CTP2 (хлоропласт-транспептид) до гена отпорног на хербицид CP4-EPSPS
- BAR – ген отпорности на Баста хербицид (глуфосинат – амонијум) из *Streptomyces hygroscopius*
- PAT – Фосфинотрицин-ацетилтрансфераза ген из *Streptomyces viridiochromogenes*

У случају позитивног квалитативног резултата, приступа се додатним PCR анализама које имају за циљ да тачно идентификују и квантификују садржај у узорку. У ту сврху користи се квантитативна PCR детекција у реалном времену, која је данас златни стандард за детекцију и квантификовање ГМ (Demeke and Dobnik, 2018).

3.5.2. Биосензори

Још један облик детекције модификоване ДНК је уз помоћ биосензора. Биосензори су уређаји који уз помоћ биорецептора и трансдуктора претварају биохемијску реакцију у електрични аналогни сигнал који се даље може обрађивати и анализирати. До појаве првог биосензора дошло је 1962. године. Лиланд Кларк (Leland Clark, eng) је сматрао да се осетљивост електрохемијског сензора може повећати имобилизацијом танког слоја ензима на површину радне електроде уређаја. Овим поступком омогућено је откривање присуства анализита на основу органског селективног елемента. Селективност биосензора заснована је на самим механизмима за препознавање. Механизми за препознавање могу да буду антитела, ензими, бактерије, органска ткива, органеле и други биолошки елементи који су у стању да делују селективно на одређени анализит и изазову мерљиву реакцију. Трансдуктор је задужен за претварање сигнала биохемијске реакције у електрични сигнал. Употреба

биосензора данас је широко распрострањена, и поред употребе у пољопривреди и контроли квалитета намирница, ови уређаји су изузетно значајни и у другим областима као што је: здравствена заштита и биомедицина, екологија, противтероризам, контрола индустријског производног процеса и др.

Ова технологија обећава економичност, брзе и прецизне резултате, и због тога је све значајнија примена биорецептора у детекцији генетичке модификације. Тренутно се у детекцији ГМ соје користе различите врсте биосензора, као што су: електрохемијски сензори, пијезоелектрични сензори и оптички биосензори (Kamle, 2013).

3.5.3. Методе детекције протеинског продукта модификоване ДНК

Методе засноване на анализи протеинског продукта могу се користити само у анализи непрерађеног материјала као што је семе или зелени надземни делови биљке. Ове методе заснивају се на детекцији протеина које производе унети страни гени. У принципу, постоје две различите технике за анализу протеина: Тест траке и ELISA. Обе методе су релативно јефтине и захтевају мањи утрошак времена. За анализу применом методе трака потребно је између 5 и 20 минута, док је за ELISA метод потребно око 24 часа. Метода са тракама има своје добре и лоше особине. Може да се изводи на терену, није потребно специфично и стручно обучено особље већ могу да изводе и особе које су прошле кратку обуку и опрема је лако преносива (Demeke and Dobnik, 2018). Међутим, ове методе могу да детектују само одређени протеин за који су специјализоване, могу да детектују само непрерађене узорке и на крају нису толико прецизне као што је то случај код ДНК метода. Граница детекције присуства ГМ материјала је код теста са тракама од 0.1% до 1%, док је ELISA прецизнија и границе детекције крећу се од 0.01 до 0.1% (Popovski *et al.*, 2017).

Принцип метода трака се заснива на везивању колоидним златом обележених антитела која се налазе на тест-траци за ГМО протеин, који је евентуално присутан у узорку (Петровић и Димитријевић, 2015). Овај метод користи штапиће састављене из два дела: доњи део служи са апсорпцију, док су у горњем делу, у две траке, импрегнирана антитела која реагују са циљаним протеинима. Једна трака је обележена антителом за протеин лектин, свеprisутног протеина у биљкама, и служи

за потврду присуства биљног материјала. Друга трака обележена је антителима за циљани протеин. Појава прве бочне траке означава узорак без модификације, појава обе траке означава узорак позитиван на присуство испитиваног протеина. Уколико ниједна трака није присутна значи да тест није успео, и мора да се понови са новом траком.

ELISA тест заснива се на сличној интеракцији између циљаног протеина и његовог антитела које је у овом случају импрегнирано на плочи. Након тога формиран комплекс протеина и антитела реагује са другим антителима, обележеним са ензимом који у интеракцији са одговарајућим супстратом развија боју, чији се интензитет може мерити спектрофотометром на 630nm (Popovski *et al.*, 2017).

4. РАДНА ХИПОТЕЗА

На основу проучене литературе постављена је следећа радна хипотеза:

- Претпоставља се да на територији Републике Србије нема генетички модификованих биљака соје и кукуруза.
- Закон о генетички модификованим организмима (Службени гласник РС, број 41 од 2. Јуна 2009.) је и даље на снази и очекује се да сви узорци соје и кукуруза буду негативни на присуство генетичких модификација

5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

5.1. МАТЕРИЈАЛ

У лабораторији за генетику Пољопривредног факултета у Новом Саду вршено је испитивање узорака соје и кукуруза. Узорци су прикупљени на територији Војводине, а испитивање је изведено применом имунохроматографског теста на тракама.

Узорци соје прикупљени су из различитих и случајно одабраних малопродајних објеката, продавнице "здраве хране" и од пољопривредног произвођача. Сви узорци соје прикупљени су 14. јуна 2023. године и то у следећим местима: Нови Сад (2 локације), Стара Пазова, Сомбор, Рума, док је узорак од пољопривредног произвођача прикупљен на територији општине Шабац. Узети су узорци у количини од по 500g сваки (сл. 1).



Слика 1. Узорци соје (фото: Лабораторија за генетику, Пољопривредни факултет, Нови Сад, Зимоњић, 2023)

Узорци кукуруза узети су од различитих пољопривредних произвођача на територији Војводине, са следећих локација: Чонопља (општина Сомбор), Шајкаш (општина Тител), Нови Бечеј (2 узорка), Иланца (општина Алибунар).

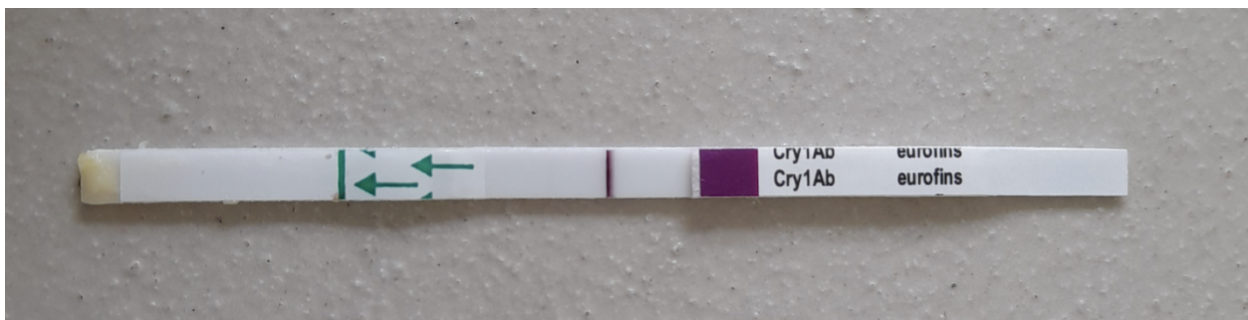
Предусев кукурузу је била пшеница. Као основно ђубриво примењивала се различита формулација НПК ђубрива, у зависности од типа земљишта, углавном са већим садржајем фосфора и калијума и нижим садржајем азота, у количинама од 200kg/ha до 250kg/ha. Након основне обраде у јесен, следећа механичка мера је затварање бразде у касну зиму. Пре сетве у априлу долази припрема земљишта за сетву сетвоспремачем. Сетва у 2021. години била је средином априла јер су временске прилике то дозвољавале. Један од хибрида из огледа био је хибрид Futurixx из француске семенске куће RAGT. Препорука за сетву овог хибрида је између 75 и 79 хиљада биљака по хектару. Након сетве, до ницања петог листа, вршио се један третман применом хербицида за усколисне и широколисне корове. После третмана хербицидом, у зависности од временских услова на локалитету, вршила се прихрана кукуруза Уреом, у количини од 250kg/ha до 300kg/ha. Пре него што кукуруз затвори редове, када развије 7 до 9 листова вршила се механичка међуредна култивација. Принос кукуруза износио је између 4t/ha и 6t/ha у зависности од локалитета.

За квалитативну детекцију протеинског продукта гена CP4 EPSPS у семену соје коришћен је имунохроматографски "GeneTrue™" тест на тракама, производ компаније Artron Laboratories Inc. (сл. 2)



Слика 2. Тест за детекцију протеинског продукта гена CP4 EPSPS гена (фото: Лабораторија за генетику, Пољопривредни факултет, Нови Сад, Зимоњић, 2023)

За квалитативну детекцију протеинског продукта Cry1Ab гена у семену кукуруза користи се имунохроматографски "Eurofins" тест на тракама, производ компаније Eurofins Amar Immunodiagnosics Pvt. Ltd. (сл. 3)



Слика 3. Тест за детекцију протеинског продукта гена Cry1Ab гена (фото: Лабораторија за генетику, Пољопривредни факултет, Нови Сад, Зимоњић, 2023)

5.2. МЕТОД РАДА

5.2.1. Соја

Припрема и екстракција узорка:

1. Одређивање величине радног узорка извршено је мерењем сто зрна, и множењем са 10 како би се добила маса хиљаду зрна сваког појединачног узорка. (сл. 4)



Слика 4. Мерење узорка соје (фото: Лабораторија за генетику, Пољопривредни факултет, Нови Сад, Зимоњић, 2023)

2. Одмерени узорак се даље меље у млину (у овом случају млин за кафу) на великој брзини, између 60 и 90 секунди, док се не добије ситно самлевена соја. Млин се дезинфикује раствором медицинског алкохола пре сваког мљења узорка.

3. Самлевени узорак сједињује се са дестилованом водом у односу 1:4 у корист дестиловане воде, меша се 30-45 секунди док се не хомогенизује и оставља се у чашама од 1000ml да одстоји 30 минута, односно док се јасно не одвоји течни горњи слој (сл. 5)
4. За тест се користи супернатант добијеног раствора (сл. 5)

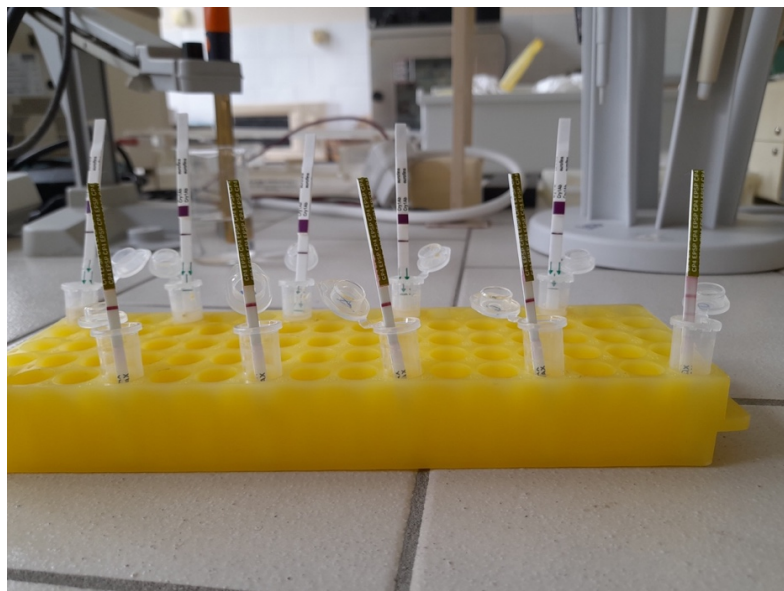


Слика 5. Самлевени узорак соје (лево) и хомогенизован узорак соје и дестиловане воде (десно) (фото: Лабораторија за генетику, Пољопривредни факултет, Нови Сад, Зимоњић, 2023)

5. Користећи нову пипету за сваки узорак, узима се приближно 1ml екстракта и сипа се у засебне кивете (сл. 6)
6. Једна кивета чини један појединачан узорак, и у сваку кивету након што се сипа екстракт соје убацује се посебна тест трака (сл. 7)
7. Након 10 минута читава се резултат (сл. 7)



Слика 6. Узимање екстракта соје са пипетом (фото: Лабораторија за генетику, Пољопривредни факултет, Нови Сад, Зимоњић, 2023)



Слика 7. Узорци соје у киветама са постављеним тест тракама (фото: Лабораторија за генетику, Пољопривредни факултет, Нови Сад, Зимоњић, 2023)

5.2.2. Кукуруз

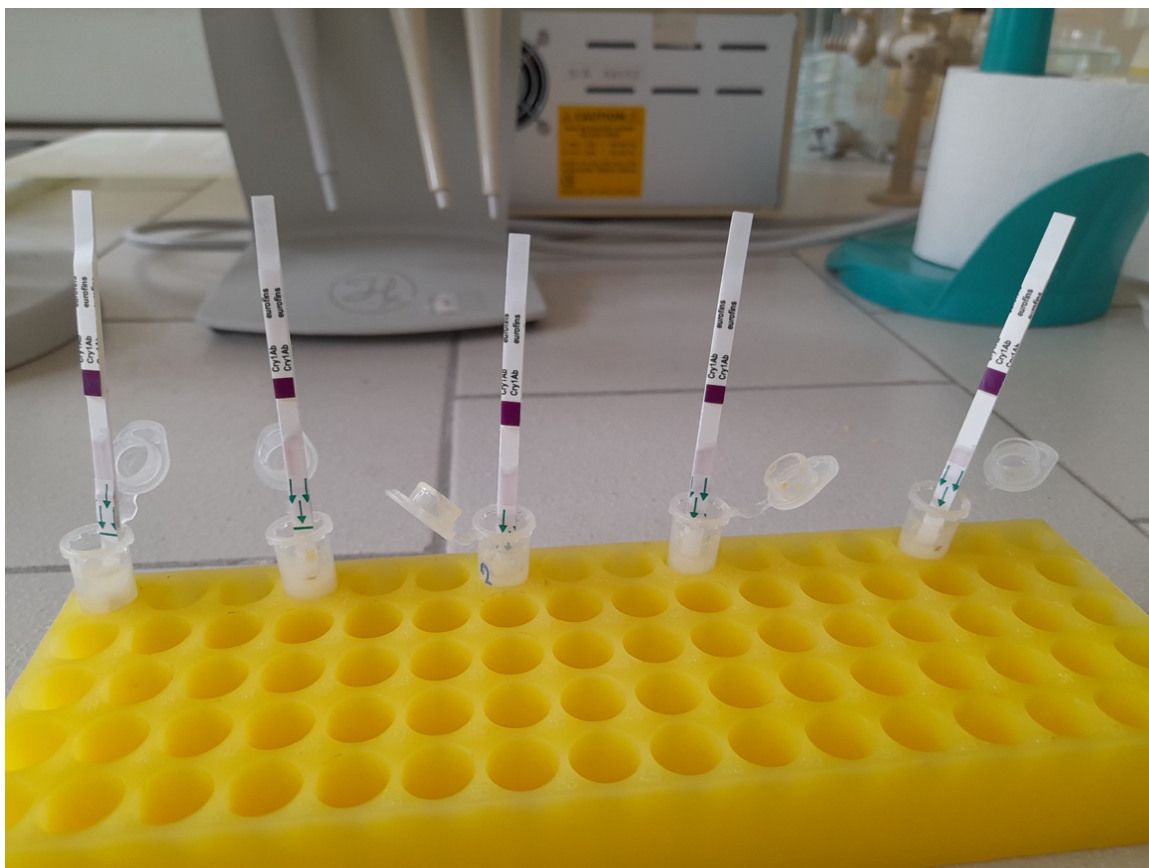
Припрема и екстракција узорка:

1. Радни узорак представља једно зрно из појединачног узорка.
2. Зрно се ставља у аван и ситно се уситни. Аван се дезинфикује раствором етил алкохола пре сваког узорка (сл. 8).
3. Узорак се дезинфикованом кашичицом ставља у кивету где му се додаје 1ml екстракционог пуфера.
4. Кивета се затвори и центрифугира у вортекс машини око 10 секунди (сл. 9).



Слике 8. Аван за ситњење узорка (лево) и слика 9. Вортекс машина за центрифугирање (десно) (фото: Лабораторија за генетику, Пољопривредни факултет, Нови Сад, Зимоњић, 2023)

5. Након тога у кивете се ставља тест трака и сачека се до 10 минута да се прочита резултат (сл. 10).



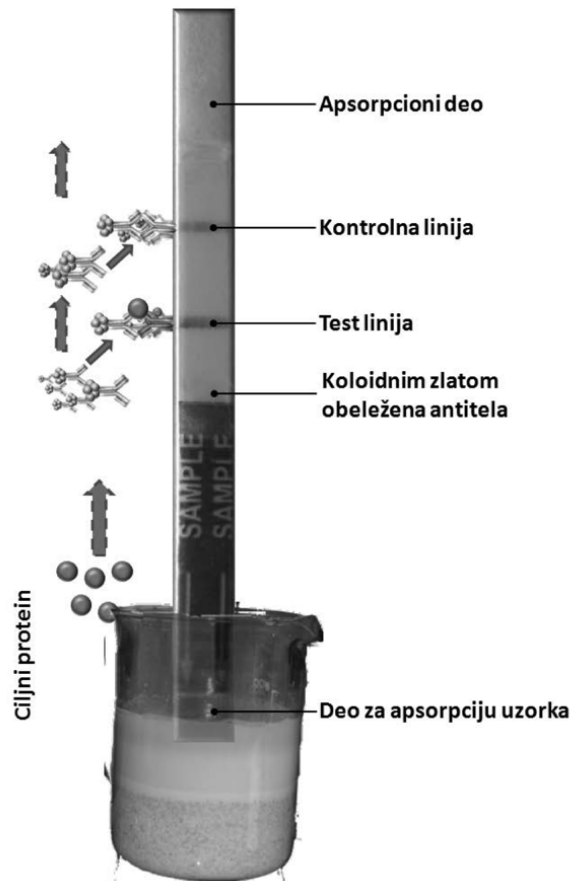
Слика 10. Кивете са узорком и тест тракама (фото: Лабораторија за генетику, Пољопривредни факултет, Нови Сад, Зимоњић, 2023)

5.2.3. *Интерпретација резултата*

Принцип метода трака се заснива на везивању колоидним златом обележених антитела која се налазе на тест-траци за ГМО протеин. Овај метод користи штапиће састављене из два дела: доњи део служи са апсорпцију, док су у горњем делу, у две траке, импрегнирана антитела која реагују са циљаним протеинима. Једна трака је обележена антителом за протеин лектин, свеprisутног протеина у биљкама, и служи за потврду присуства биљног материјала. Друга трака обележена је антителом за циљани протеин. Позитиван резултат представља присуство две розе/љубичасте линије различите јасноће. Једна треба да се налази на контролној траци, а једна на тест траци. Тест детектује 1 ГМ зрно соје од 1000, односно осетљивост је 0,1 %.

Позитиван резултат може се детерминисати чим су две линије видљиве у временском интервалу између 1 и 10 минута (сл. 11).

Негативан резултат представља присуство само контролне линије на тест траци. Уколико нема ниједне линије или је присутна само тест линија без контролне линије, тест није валидан и треба га поновити са другом траком.



Слика 11. Објашњење бочног протока на тест траци имунохроматографског теста (Петровић и Димитријевић, 2015)

6. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА СА ДИСКУСИЈОМ

Из резултата огледа соје и кукуруза који су приказани на табелама 2 и 3, и сликама 12 и 13 види се да су узорци соје 1, 2, 3, 4, 5 који су пореклом из насумично одабраних продавница здраве хране, негативни на присуство протеинског продукта CP4. Узорак 6 који је пореклом од пољопривредног произвођача позитиван је на присуство наведеног протеинског продукта, што се може видети на слици број 13, појавом две линије на имунохроматографском тесту. Из резултата огледа са кукурузом може се констатовати да су сви узорци кукуруза негативни на присуство протеинског продукта Cry1Ab (сл. 12 и таб. 2).

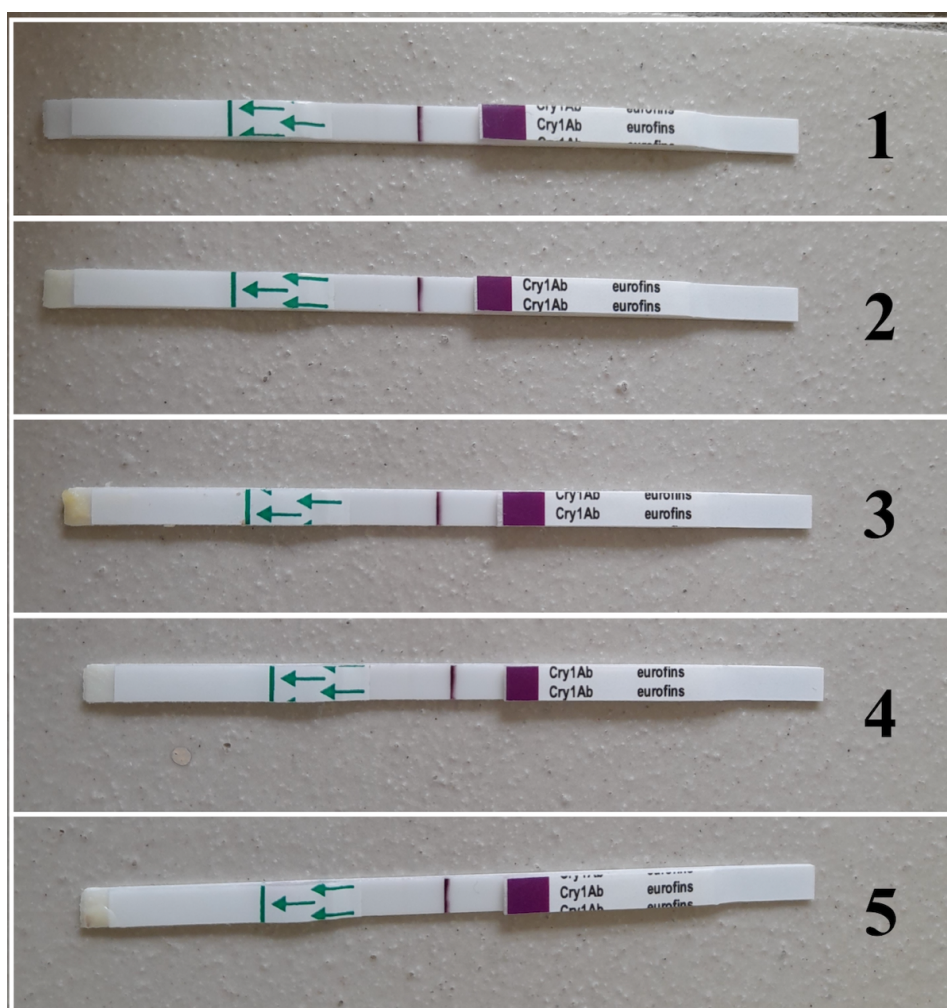
Резултати ових огледа нису валидна референца о присуству или неприсуству ГМО на њивама у Србији. Такође оглед је обухватао тестове на присуство само два најраширенија протеинска продукта ГМО, односно присуство гена CP4 EPSPS у соји и Cry1Ab у кукурузу. Као што је познато, трансгена технологија користи широк спектар различитих гена. У задњих неколико година у експанзији су трансгени организми који садрже неколико унетих страних гена, и који производе неколико протеина који им дају отпорност или толерантност за више особина.

Табела 2. Резултати огледа са кукурузом

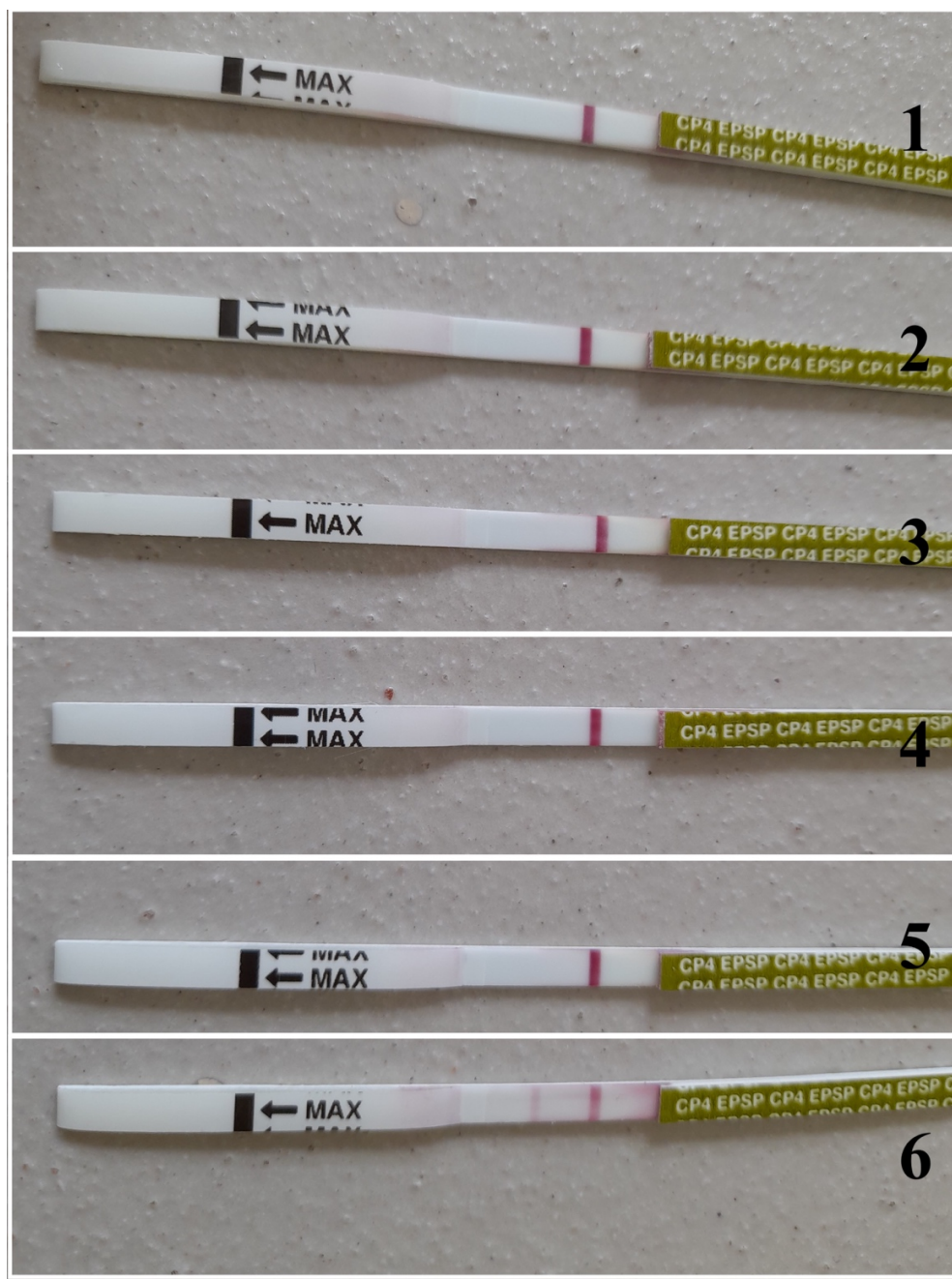
Анализа кукуруза на присуство ГМО					
Број узорка	Материјал	Датум извођења огледа	Порекло узорка	Место порекла	Присуство ГМО > 0,1%
1	Меркантилни кукуруз	15. Јун 2023.	Пољ. Произвођач	Чонопља	Не
2	Меркантилни кукуруз	15. Јун 2023.	Пољ. Произвођач	Шајкаш	Не
3	Меркантилни кукуруз	15. Јун 2023.	Пољ. Произвођач	Нови Бечеј 1	Не
4	Меркантилни кукуруз	15. Јун 2023.	Пољ. Произвођач	Нови Бечеј 2	Не
5	Меркантилни кукуруз	15. Јун 2023.	Пољ. Произвођач	Иланца	Не

Табела 3. Резултати огледа са сојом

Анализа соје на присуство ГМО					
Број узорка	Материјал	Датум извођења огледа	Порекло узорка	Место порекла	Присуство ГМО > 0,1%
1	Меркантилна соја	15. Јун 2023.	Малопродајни обј.	Нови Сад 1	Не
2	Меркантилна соја	15. Јун 2023.	Малопродајни обј.	Стара Пазова	Не
3	Меркантилна соја	15. Јун 2023.	Малопродајни обј.	Сомбор	Не
4	Меркантилна соја	15. Јун 2023.	Малопродајни обј.	Рума	Не
5	Меркантилна соја	15. Јун 2023.	Малопродајни обј.	Нови Сад 2	Не
6	Меркантилна соја	15. Јун 2023.	Пољ. Произвођач	Шабац	Да



Слика 12. Тест траке након извршавања огледа са кукурузом (Зимоњић, 2023)



Слика 13. Тест траке након извршавања огледа са сојом (Зимоњић, 2023)

Ови резултати потврдили су резултате истраживања у претходних двадесет година у којима је пронађена генетички модификована соја.

Николић и сар. (2006) наводе да следеће податке: Током 2003. године контролисани су атари у општинама Нови Сад, Темерин, Жабаљ, Бачки Петровац, Бачка Паланка, Бач, Оџаци, Тител, Зрењанин, Пландиште, Шид, Сремска Митровица, Рума, Инђија и Стара Пазова. Генетски модификована соја пронађена је на 68 парцела у атарима општина Жабаљ, Темерин, Сремска Митровица, Шид, Нови Сад, Рума, Инђија,

Пећинци и Пландиште, укупне површине око 1000 хектара. У 2004. години су се акцији придружили Сојапротеин - Бечеј, СГС Београд и Дијамант - Зрењанин, те је спроведена свеобухватнија акција проналажења ГМ соје. Таква соја пронађена је на 20 парцела у општинама Нови Сад, Жабаљ и Сремска Митровица укупне површине око 70 хектара.

У истраживању Петровић и Димитријевић из 2011. године из 10 случајно прибављених узорака соје из малопродајних објеката "здраве хране", један узорак соје био је позитиван на присуство протеинског продукта гена CP4 EPSP (Петровић и Димитријевић, 2015).

7. ЗАКЉУЧАК

Резултати огледа са сојом дали су позитиван резултат на присуство ГМО. Овај резултат је потврдио анализе из претходних година, као и сумњу јавности и струке да ГМ семе илегално проналази пут преко граница и долази до њива. Овим се крше законски прописи Републике Србије, али и патентна права којим располаже власник ГМО културе.

Резултати огледа са кукурузом дали су негативан резултат на присуство ГМО. Овај резултат показао је да у случајно одабраним узорцима не постоји присуство ГМО изнад 0,1%.

Дискусије и неслагања око ГМО трају још од самог почетка комерцијализације, па и пре тога, од првих истраживања на ту тему. Овакву слику потврђује и чињеница да је употреба и сетва ГМ семена данас јасно поларизована. Са једне стране је Америка, северна и велики делови јужне, као и делови Азије, пре свега Кина и Индија. Са друге стране ту је Европа где ова технологија још увек није добродошла. Ипак, оно што је битно јесте да се сетвом ГМ семена у Србији крши закон и да се угрожава животна средина интродукцијом ГМ биљака. Можда ће се ово све у једном тренутку променити, али до тада држава је у обавези да штити закон, и да не дозволи да се ГМ семе налази на ораницама. За ово потребна је чешћа и свеобухватнија контрола, а управо се брзи имунохроматографски тест са тракама показао као најбржи и најефикаснији метод да се дође до поузданих информација о присуству ГМ у узорку.

8. ЛИТЕРАТУРА

Abbas, M. S. T. (2018): Genetically engineered (modified) crops (*Bacillus thuringiensis* crops) and the world controversy on their safety. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28 (1), 1-12

Andorf, C., Beavis, W. D., Hufford, M., Smith, S., Suza, W. P., Wang, K., Woodhouse, M., Yu, J., Lübberstedt, T. (2019): Technological advances in maize breeding: past, present and future. *Theoretical and applied genetics*, 132, 817-849.

Annicchiarico, P. (2002): Genotype x environment interactions: challenges and opportunities for plant breeding and cultivar recommendations. Food and Agriculture organization of the United Nations, Rome.

Бабић, В., Ивановић, М., Бабић, М. (2012): Настанак и еволуција кукуруза и путеви увођења у наше крајеве. *Ратарство и повртарство*, 49 (1), 92-104.

Bartlett, J. M., Stirling, D. (2003): A short history of the polymerase chain reaction. *Methods in molecular biology*, 226, 3-6.

Бекавац, Г., Пулар, Б., Малица, Г., Франета, Ф., Латковић, Д., Шумаруна, М., (2023): Кукуруз 2022 – Проблеми и решења. 57. Саветовање агронома и пољопривредника Србије (САПС) и 3. Саветовање агронома Републике Србије и Републике Српске, Златибор, 30.01-03.02.2023, Зборник реферата, 56-61.

Бекавац, Г., Малица, Г., Стојаковић, М., Јоцковић, Ђ., Васић, Н., Пулар, Б., Боћански, Ј., Петровић, З., Настасић, А. (2000): Перспективе гајења генетички модификованих хибрида кукуруза. *Зборник радова Института за ратарство и повртарство*, 33, 253-266.

Vandenplas, Y., Hegar, B., Munasir, Z., Astawan, M., Juffrie, M., Bardosono, S., Sekartini, R., Basrowi, R. W., Wasito, E. (2021): The role of soy plant-based formula

supplemented with dietary fiber to support children's growth and development: An expert opinion. *Nutrition*, 90, 111278.

Гашпаревић-Иванек, В. (2003): Фитоестрогени. *Medix*, 9 (50), 90-94.

Demeke, T., Dobnik, D. (2018): Critical assessment of digital PCR for the detection and quantification of genetically modified organisms. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 410, 4039-4050.

Димитријевић, М., Петровић, С. (2005): Генетика популације. Адаптабилност и стабилност генотипа. Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет, Нови Сад и Научни институт за ратарство и повртарство, Нови Сад.

Димитријевић, М., Петровић, С. (2013): Генетички модификовани организми-питања и дилеме. 47. Саветовање агронома Србије, Златибор, 03-09.02.2013, Зборник реферата, 7-15.

Дозет, Г., Ђукић, В., Цвијановић, Г, Ђурић, Н., Цвијановић, В., Миладиновић, Ј., Маринковић, Ј. (2021): Утицај фолијарног ђубрења на принос соје. Биотехнологија и савремени приступ у гајењу и оплемењивању биља, Зборник радова Института за повртарство, Смедеревска Паланка, 301-308.

Дозет, Г., Ђукић, В., Мамлић, З., Миладиновић, Ј., Ђурић, Н., Јовановић Тодоровић, М., Јакшић, С. (2021): Утицај јесењег и пролећног ђубрења соје на принос и садржај уља. *Уљарство*, 52 (1), 27-33.

Duke, S. O. (2017): The history and current status of glyphosate. *Pest management science*, 74(5), 1027-1034.

Ђаловић, И., Бекавац, Г. (2019): Ефекат ђубрења на садржај скроба, протеина и уља у зрну кукуруза. 60. Саветовање индустрије уља, Херцег Нови, 16-21.06.2019, Зборник радова, 121-128.

Ђукић, В., Миладиновић, Ј., Ђорђевић, В., Ђеран, М., Ранђеловић, П., Васиљевић, М., Илић, А., Валан, Д., Меркулов Поподић, Ј. (2022): Соја у 2021. години. 56. Саветовање агронома и пољопривредника Србије (САПС) и 2. саветовање агронома Републике Србије и Републике Српске, Златибор, 30.01-03.02.2022., Зборник реферата, 69-77.

Eisenberg, R., S. (2006): The story of Diamond v. Chakrabarty: technological change and the subject matter boundaries of the patent system. *Intellectual Property Stories*, 327-357.

Erenstein, O., Jaleta, M., Sonder, K., Mottaleb, K., Prasanna, B. M. (2022): Global maize production, consumption and trade: Trends and R&D implications. *Food Security*, 14(5), 1295-1319.

Jackson, D. A., Symons, R., Berg, P. (1972): Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of Simian Virus 40: circular SV40 DNA molecules containing lambda phage genes and the galactose operon of Escherichia coli. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 69 (10), 2904-2909.

James, C. (2017): Global status of commercialized biotech/GM crops in 2017: ISAAA Brief No. 53, Ithaca, NY.

James, C. (1997): Global status of transgenic crops in 1997. ISAAA Brief, No. 5, Ithaca, NY.

Kamle, S., Ali, S. (2013): Genetically modified crops: detection strategies and biosafety issues. *Gene*, 522, 123-132.

Keeling, P. J., Palmer, J., D. (2008): Horizontal gene transfer in eukaryotic evolution. *Nature Reviews Genetics*, 9, 605-618.

Li, M. W., Xin, D., Gao, Y., Li, K. P., Fan, K., Muñoz, N. B., Wai-Shing, Y., Lam, H. M. (2017): Using genomic information to improve soybean adaptability to climate change. *Journal of Experimental Botany*, 68 (8), 1823-1834.

LU, B. R. (2004): Conserving biodiversity of soybean gene pool in the biotechnology era. *Plant Species Biology*, 19 (2), 115-125.

Милошевић, М., Малешевић, М. (2004): Семенарство 2, монографија. Научни институт за ратарство и повртарство, Нови Сад.

Mann, S. (2015): Is “GMO free” an additional “organic”? On the economics of chain segregation. *AgBioForum*, 18 (1), 26-33.

Messina, M., Carina, V. (2020): Recent surveys on food allergy prevalence. *Nutrition Today*, 55 (1), 22-29.

Николић, З., Милошевић, М., Ташки-Ајдуковић, К., Вујаковић, М. (2006): Мониторинг генетички модификованих организама. Зборник радова. Научни институт за ратарство и повртарство, Нови Сад, 41 (1), 383-389.

Padgett, S. R., Kolacz, K. H., Delannay, X., Re, D. B., LaVallee, B. J., Tinius, C. N., Rhodes, W. K., Otero, Y. I, Barry, G. F., Eichholz, D. A., Peschke, V. M., Nida, D. L., Taylor, N. B., Kishore, G. M. (1995): Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop science*, 35 (5), 1451-1461.

Parisi, C., Tillie, P., Rodríguez-Cerezo, E. (2016): The global pipeline of GM crops out to 2020. *Nature biotechnology*, 34 (1), 31-36.

Перић, В., А. (2015): Анализа генетичке дивергентности генотипова соје на основу морфолошких и молекуларних маркера. Докторска дисертација, Универзитет у Београду.

Петровић, С., Димитријевић, М. (2015): Брза детекција генетичке модификације за праћење ГМО у пољопривреди. *Селекција и семенарство*, 21 (1), 19-29.

Popovski, Z., Miskoska-Milevska, E., Nestorovski, T. (2017): Evolution in the GMO Detection and Quantification. 2nd International Balkan agriculture congress, Congress book, 32-42.

Ricroch, A. E., Hénard-Damave, M. C. (2016): Next biotech plants: new traits, crops, developers and technologies for addressing global challenges. *Critical reviews in biotechnology*, 36 (4), 675-690.

Sinai, T., Ben-Avraham, S., Guelmann-Mizrahi, I., Goldberg, M. R., Naugolni, L., Askapa, G., Katz, Y., Rachmiel, M. (2019): Consumption of soy-based infant formula is not associated with early onset of puberty. *European journal of nutrition*, 58, 681-687.

Сребрић, М., Ковачевић, Д., Перић, В. (2020): Идентификација потомства без Куниц трипсин инхибитора код укрштања соје у пуном сродству. *Селекција и семенарство*, 26 (2), 31-38.

Twardowski, T., Małyska, A. (2015): Uninformed and disinformed society and the GMO market. *Trends in biotechnology*, 33 (1), 1-3.

Хрустић, М., Видић, М., Миладиновић, Ј. (2004): Соја и стрес. Научни институт за ратарство и повртарство, Зборник радова, 40, 217-225.

Chen, K.I., Mei, M. H., Su, N., W., Liu, W. H., Chou, C. C., Cheng, K. C. (2012): Soyfoods and soybean products: from traditional use to modern applications. Applied microbiology and biotechnology, 96 (1), 9-22.

Интернет странице:

<https://fao.org/faostat> (Датум приступа: 01.09.2023.)

<https://www.seedtest.org/en/publications/international-rules-seed-testing.html> (Датум приступа: 01.09.2023.)

<https://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/legal-basis> (Датум приступа: 01.09.2023.)

<https://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/guidance-documents> (Датум приступа: 01.09.2023.)