

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ
РУССКОГО ФИЗИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА

**ЖУРНАЛ
РУССКОГО ФИЗИКО–ХИМИЧЕСКОГО
ОБЩЕСТВА:**

ЖРФХО,

Том 88, Выпуск № 2

Перезапушен под этим именем в 2015 году

**Продолжение научного журнала ЖРФХО
РУССКОГО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА, 1872–1930,
возобновивших свою общественную, научную
и издательскую деятельность в России
16 апреля 1991 г.**

Публикует:

- наиболее актуальные, полезные, оригинальные работы соотечественников по всем отраслям естествознания;
- письма читателей и научные статьи, программы и методики, рекламу, технические предложения, анализ, обзор, прогноз;
- энергетика, экология, охрана здоровья, сельское хозяйство, промышленность, техника, технология, экономика, наука.

*Не чины и звания, ни возраст и профессия авторов,
а степень общественной пользы и оригинальность их мысли –
единственный критерий отбора работ для публикации*

Приоритетная защита всех публикуемых материалов. Предназначен для всех, кому не безразличны современные земные проблемы, кто ищет конкретное поле деятельности для эффективного приложения своих интеллектуальных способностей.

ДЕВИЗ ЖУРНАЛА:

«Новое искание Истин – только это и есть Наука»

Д.И. Менделеев

**ВЛИЯНИЕ СОИ С ГЕНОМ EPSPS CP4
НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ И
РЕПРОДУКТИВНЫЕ ФУНКЦИИ КРЫС В ПЕРВЫХ ДВУХ
ПОКОЛЕНИЯХ**

Ермакова И.В.

Введение

В последние годы большой интерес вызывают генетически модифицированные организмы (ГМО), получение которых связано со «встраиванием» чужого гена в ДНК других растений или животных с целью изменения свойств или параметров последних [1]. Для встраивания гена используют вирусы, транспозоны или плазмиды (кольцевые ДНК), способные проникнуть в клетку организма и использовать клеточные ресурсы для создания множества собственных копий или внедриться в клеточный геном (как и «выпрыгнуть» из него) [14]. Однако до сих пор неясно, как вновь созданные ГМ-организмы взаимодействуют с другими организмами, влияют на них и их потомство.

Всё больше поступает данных о том, что ГМО приводят к нарушению репродуктивных функций и патологическим изменениям во внутренних органах – как у насекомых [2, 4], так и у млекопитающих [3,5, 8, 9,10,11].

В приведённых выше работах указывалось на серьёзные изменения во внутренних органах животных, независимо от того, какой сорт или линия ГМ-культуры использовались.

Предполагается, что одной из причин опасности ГМО может быть несовершенство самого процесса внедрения гена в геном другого организма [1,12]. Плазмиды и ГМ-вставки были обнаружены в крови и клетках разных органов животных и человека, использующих в пищу ГМО [6, 8, 9].

В литературе практически отсутствуют данные о влиянии разных линий ГМО на потомство млекопитающих. Целью настоящей работы было исследование воздействия ГМ-сои (RR, линия 40.3.2), устойчивой к гербициду раундапу, на физиологическое состояние и выживаемость крысят первого и второго поколений.

Методика

В экспериментах участвовали 4 группы крыс Вистар, весом 200-220гг. Самок крыс первой группы («Контроль») кормили стандартным виварным кормом без каких-либо добавок. Самки трёх других групп получали к корму добавку в виде соевой пасты, полученной в результате разведения соевой муки водой (20г × 40 мл воды). Так, самкам второй группы к стандартному виварному корму добавляли пасту, приготовленную из муки ГМ сои, устойчивой к гербициду раундапу (трансген EPSPS CP4, Roundup Ready – RR, линия 40.3.2, содержание белков ~ 35%). Самкам третьей группы к корму добавляли пасту из муки Изолята белка ГМ-сои (RR, линия 40.3.2, содержание белков ~ 90%), а четвёртой – из муки традиционного сорта сои Arcon SJ 91-330 (содержание белков ~35%). Муку ГМ сои и Трад. сои получали путём помола соевых семян в соответствующих компаниях. В составе стандартного виварного корма не было сои или соевого шрота. Перед началом экспериментов образцы соевой муки были проверены на наличие трансгенов в специальной лаборатории.

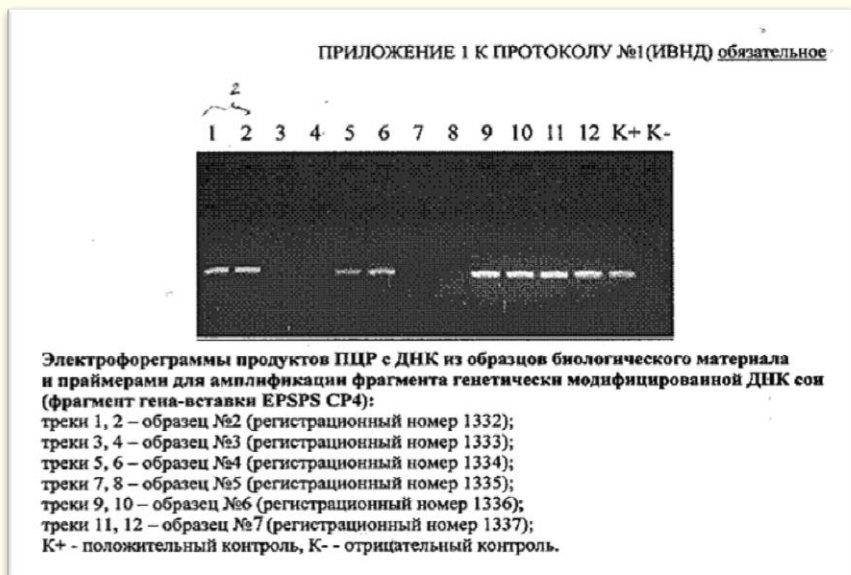


Рис.1. Электрофореграммы продуктов ПЦР с ДНК из биологических образцов

Русское Физическое Общество

- Образец №2 (треки 1,2) – ГМ-соя (мука)
- Образец №3 (треки 3,4) – Трад. Соя (мука)
- Образец №4 (треки 5,6) – Изолят белка ГМ-сои (мука)
- Образец №5 (треки 7,8) – Трад Соя (семена)
- Образец №6 (треки 9,10) – ГМ-соя (семена), t°
- Образец №7 (треки 11,12) – ГМ-соя (семена)

Проверка осуществлялась слепым методом (рис. 1). Таким образом, в экспериментах участвовало четыре группы крыс:

- 1-я группа – «Контроль»,
- 2-я группа – «ГМ-соя»;
- 3-я группа – «Изолят белка ГМ-сои»,
- 4-я группа – «Трад. соя».

Животные находились в одном помещении и в одинаковых условиях.

Сою добавляли к виварному корму самкам крыс Вистар за две недели до спаривания, во время спаривания, беременности и выкармливания крысят. Процедура эксперимента была следующей. В каждой клетке находилось по три самки, которым к стандартному виварному корму добавляли соевую пасту: на каждую крысу по 6 – 7 г соевой муки. Соевую пасту ставили в отдельной плошке внутрь клетки. Через две недели после начала кормления в клетку самок подсаживали по очереди двух самцов (по три дня каждый). Перед рождением крысят каждую самку отсаживали в отдельную клетку. После рождения крысят количество сои увеличивали до 1г на одного родившегося крысёнка, а после того, как крысята подрастали и начинали есть сами, увеличивали до 2–3г. Подсчитывали количество родивших самок, число рождённых и умерших крысят. У крысят, родившихся, приблизительно, в одно и то же время (+ 1–2 дня), определяли массу тела (~80% крысят от общего количества). Всего было исследовано 30 самок и 221 крысёнок.

Статистический анализ

Для статистического анализа уровня смертности использовали One-Way ANOVA с применением Newman-Keuls теста для долевого участия; для анализа веса использовали Mann-Whitney, для распределения веса у крысят – Chi-square в программе StatSoft Statistica v6.0 Multilingua (Россия).

Результаты

Анализ данных показал, что после добавления к общевиварному корму самок за две недели до спаривания, во время спаривания, беременности и лактации генетически модифицированной сои в группах «ГМ-соя» была выявлена высокая смертность крысят (~ 51,6%), которая была статистически достоверно выше, чем смертность крысят в группах «Изолят белка ГМ сои» (15,1%), «Трад. соя» (10%) и «Контроль» (8,1%) (табл.1).

Таблица 1. Данные смертности крысят через три недели

Группы	Число родивших самок	Число родившихся крысят	Количество родившихся крысят на одну самку (целые числа)	Число умерших крысят	Число умерших крысят в %
Контроль	7/9	74	~11	6 p<0.001*	8.1% p<0.001*
ГМ-соя	6/9	64	~11	33	51.6%
Изолят белка ГМ-сои	4/6	33	~8	5 p<0.01*	15.1% p<0.01*
Трад. соя	5/6	50	~10	5 p<0.001*	10% p<0.001*

*- по сравнению с группой «ГМ-соя»

Высокая смертность крысят наблюдалась у всех самок из группы «ГМ-соя» (табл.2). Уровень смертности крысят в группе «Изолят белка ГМ-сои» был ниже, чем в группе «ГМ соя», но выше, чем в группах «Трад. Соя» и «Контроль» (табл.1). В последних двух случаях различие было статистически недостоверным.

ГМ соя не повлияла на рождаемость крысят: в среднем на одну самку было 10–11 крысят, как и в группах «Контроль» и «Трад. соя» (табл.1). В то же самое время рождаемость крысят в группе «Изолят белка ГМ-сои» была достоверно ниже, чем в других группах (в среднем на одну самку ~8 крысят).

Смертность крысят в группах «Контроль», «Трад. соя» и «Изолят белка ГМ-сои» наблюдалась в течение двух недель, а в группе «ГМ-соя» – в течение трёх недель.

Таблица 2. Число умерших крысят в группе «ГМ-соя»

Самки	Количество родившихся крысят	Количество умерших крысят	Количество умерших крысят %
1 самка	11	7	64%
2 самка	8	4	50%
3 самка	13	6	46%
4 самка	13	8	62%
5 самка	12	5	42%
6 самка	7	3	43%

Через две недели после рождения определяли вес большей части крысят (~80%), родившихся, примерно, в одно и то же время + 1–2 дня.

Анализ показал пониженный вес у крысят из группы «ГМ-соя» по сравнению с весом крысят из групп «Трад. соя» и «Контроль» (табл.3), при этом более трети крысят из группы «ГМ-соя» имели очень низкий вес (менее 20г) по сравнению с группами «Контроль» и «Трад-соя», что свидетельствовало об ослабленном состоянии большого количества крысят из группы «ГМ-соя» (табл.3, рис. 2).

Были также обнаружены небольшие изменения по ряду изучаемых параметров и при добавлении традиционной сои (табл.3). Так, вес основной части крысят из группы «Трад. соя» был меньше, чем вес крысят из «Контроля», и, в основном, приходился на интервал от 20г ÷ 30г (табл.3).

Таблица 3. Распределение веса крысят через две недели после рождения в разных группах

Группы	50-40г	40-30г	30-20г	20-10г
Контроль n=49	8.2%	38.8%	40.8%	12.2%
ГМ-соя n=27	0	26%	40.7%	33.3%
Изолят белка ГМ-сои n=28	0	21,4%	71,4%	7,2%
Трад-соя n=31	0	9.7%	77,4%	12,9%

* – по сравнению с группой ГМ-соя

При спаривании самок и самцов первого поколения (F1) из группы ГМ-соя не удалось получить потомство. При этом схема кормления была разной. В первой группе 12 самок F1 и 12 самцов F1 подкармливали ГМ соей до- и во время спаривания. В другой группе 12 F1 самок и 12 самцов F1 прекратили кормить до спаривания. В обеих группах потомство F2 не получили. В третьей группе 12 самок F1 из группы «ГМ-соя» спаривали с 12 самцами из группы «Контроль», родители которых были без соевой диеты. До начала и во время спаривания животные получали обычной корм без сои. Потомство удалось получить у 75% крыс. При этом количество крысят у одной самки в среднем (~ 8) было меньше, чем в группе «Контроль» (~11 крысят).

Таким образом, были выявлены серьёзные статистически достоверные изменения по развитию и выживаемости крысят из группы «ГМ-соя» по сравнению с крысятами из групп «Трад. соя», «Изолят белка ГМ-сои» и «Контроль».

Обсуждение

Было выдвинуто несколько версий негативного влияния ГМ сои на потомство. Действие ГМ сои могло быть связано с неустойчивостью и нестабильностью генетической конструкции и проникновением чужеродных генов, в том числе и фрагментов плазмид, в клетки репродуктивных органов и в половые/стволовые

клетки животных согласно многочисленным экспериментальным данным [6,8,9]. Нестабильность генетической вставки была показана для трансгенной сои [13]. Не исключено и мутагенное воздействие вновь созданных ГМ-организмов на животных, поглощающих их [1, 12]. Причиной негативного влияния могло быть накопление токсичного гербицида раундапа в растениях, устойчивых к нему, и, таким образом, вместе с растением поглощалось и само токсическое вещество [7]. В связи с тем, что поскольку ни самки, ни подросшие крысят, которые начинали сами есть ГМ сою, не умирали, то предполагается, что наиболее вероятными являются первые три версии. Подтверждением этих версий является и отсутствие высокой смертности крысят, матерей которых подкармливали мукой изолята белка ГМ-сои, содержащей, в основном, белки. Полученные данные свидетельствуют о том, что включённая в корм соя, модифицированная геном EPSPS CP4, может представлять определённую опасность для живых организмов, приводя к повышенной смертности и недоразвитости части новорождённых крысят первого поколения и отсутствию второго поколения.



Рис. 2. Крысят одного возраста (19 дней) из двух разных групп: большой нормальный крысёнок – из группы "Контроль", маленький недоразвитый крысёнок – из группы "ГМ-соя"

Список литературы

- 1. Кузнецов В.В., Куликов А.М. // Российский химический журнал. 2005. 69 (4). С.70.
- 2. Birch A.N.E., Geoghegan I.E., Majerus M.E.N., Hackett C., Allen J. // Vet Hum Toxicol. 2003. 45(2). P.68.
- 3. Ewen S.W, Pusztai A. // Lancet. 354 (9187). 1999.
- 4. Losey J.E., Rayor L.S., Carter M.E. // Nature.1999. 399. P.214.
- 5. Malatesta M., Caporalony C., Gavaudan S., Rocchi M.B.L., Tiberi C., Gazzanelli G. // Cell Struct. Funct. 2002. 27. P.173.
- 6. Netherwood T., Bowden R., Harrison P., O'Donnell A.G., Parker D.S., Gilbert H.J. Gene // Appl Environ Microbiol. 1999. 65(11). P. 5139.
- 7. Richard S, Moslemi S, Sipahutar H, Benachour N. and Seralini GE // Environ. Health Perspect. 2005. 113 (6). 716.
- 8. Schubbert R., Hohlweg U., Renz D. and Doerfler W. // Molecules, Genes and Genetics. 1998. 259. P.569.
- 9. Schubbert R., Lettmann C., Doerfler W. // Molecules, Genes and Genetics. 1994. 242. P.495.
- 10. Seralini G.E., Cellier D., Vendomois JS. //Arch. Environ. Contam. Toxicol, 2007. 52(4). P.596.
- 11. Vecchio L., Cisterna B., Malatesta M., Martin T.E., Biggiogera B. // Eur. J. Histochem. 2003. 48. P.449.
- 12. Wilson A., Latham J., Steinbrecher R. // Biotechnology and Genetic Engineering Reviews. 2006. 23. P.209.
- 13. Windels P., Taverniers I., Depicker A., Van Bockstaele E., De Loose M. // Eur. Food Res. Technol., 2001. 231. P.107.
- 14. World Scientists Statement. Supplementary Information of the Hazards of Genetic Engineering Biotechnology. Third World Network, 2000.

Библиографическая ссылка

Ермакова И.В. ВЛИЯНИЕ СОИ С ГЕНОМ EPSPS CP4 НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ И РЕПРОДУКТИВНЫЕ ФУНКЦИИ КРЫС В ПЕРВЫХ ДВУХ ПОКОЛЕНИЯХ // Современные проблемы науки и образования. – 2009. – № 5. – С. 15-20;

URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=1224>

(дата обращения: 03.08.2016).