



Научная статья

УДК 635.52/.58:635.082.7

Глифосат – опасный помощник в битве за урожай

Георгий Юрьевич Лаптев^{1,2}, Елена Александровна Йылдырым^{1,2}, Дарья Георгиевна Тюрина¹, Лариса Александровна Ильина^{1,2}, Вера Анатольевна Филиппова^{1,2}, Ксения Андреевна Калиткина¹, Андрей Валерьевич Дубровин¹, Наталья Ивановна Новикова¹, Вероника Христофоровна Меликиди¹, Елена Павловна Горфункель¹, Екатерина Сергеевна Пономарева¹, Тамара Михайловна Околелова³, Алена Андреевна Грозина⁴, Дмитрий Николаевич Громов²

¹ООО БИОТРОФ+, Санкт-Петербург; ²Санкт-Петербургский государственный аграрный университет; ³НВЦ «Агроветзащита»; ⁴ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук (ФНЦ «ВНИТИП» РАН)

Аннотация: Влияние гербицида глифосата, который присутствует в кормах, на живые организмы не так однозначно. Нами был поставлен эксперимент на бройлерах, которых поделили на 4 группы: 1 контрольная, получавшая рацион без введения глифосата, и три опытных, получавшая рационы с добавлением глифосата в дозах 10 мг/кг (0,5 ПДК для продуктов питания), 20 мг/кг (1 ПДК) и 100 мг/кг корма (5 ПДК) соответственно группам 2-4. Установлено, что при загрязнении корма глифосатом даже в количестве 1 ПДК (группа 3) он оказывает негативные эффекты на пищеварительную систему и продуктивность бройлеров. Так, в этой группе отмечено достоверное ($P < 0,05$) снижение абсолютного прироста живой массы за период 22-28 дней жизни по сравнению с контролем на 83 г. Глифосат снижал у цыплят массу печени и массу и длину кишечника (в группе 3 – достоверно), снижал активность в плазме крови трипсина и липазы и повышал активность щелочной фосфатазы. Данные высокопроизводительного секвенирования RNA-seq выявили в тканях кишечника активацию механизмов клеточной смерти, воспалительных реакций и онкогенов под влиянием глифосата. Сделан вывод, что присутствие глифосатов в кормах для птицы может существенно снизить ее благосостояние и продуктивность. Перспективным решением проблемы глифосатов в кормах могут стать препараты-биодеструктуры глифосата; так, известно, что биопрепарат Пробиоцид-Ультра оказывает влияние на снижение экспрессии провоспалительных генов IL-6, IL-8 и PTGS-2 – терапевтических мишеней при токсикозах, вызванных глифосатами кормов.

Ключевые слова: глифосат, бройлеры, продуктивность, транскриптом, пищеварительные ферменты, пробиотик, микроорганизмы-биодеструкторы.

Для цитирования: Лаптев, Г.Ю. Глифосат – опасный помощник в битве за урожай / Г.Ю. Лаптев, Е.А. Йылдырым, Д.Г. Тюрина, Л.А. Ильина, В.А. Филиппова, К.А. Калиткина, А.В. Дубровин, Н.И. Новикова, В.Х. Меликиди, Е.П. Горфункель, Е.С. Пономарева, Т.М. Околелова, А.А. Грозина, Д.Н. Громов // Птицеводство. – 2023. – №4. – С. 27-32.

doi: 10.33845/0033-3239-2023-72-4-27-32

Введение. Благодаря гербицидам человечество не испытывает проблем с продовольствием. Однако их влияние на животных, птиц и человека не так однозначно. Глифосат является самым широко используемым препаратом для борьбы с сорняками в мире. В нашей стране он известен под такими торговыми названиями, как «Раундап», «Глифор», «Торнадо», «Ураган» и многие другие. В последние годы на рынок были

выпущены генетически модифицированные сельскохозяйственные культуры, устойчивые к действию глифосата, и обработки глифосатами стали осуществляться многократно и по вегетационной массе растений. Действие глифосата основано на ингибировании фермента 5-еноилпирувил-шикимат-3-фосфатсинтазы, встречающегося только у растений, грибов и некоторых бактерий, поэтому препарат долго считался безопас-

ным для животных и человека. Тем не менее, ситуация изменилась: Международное агентство по изучению рака уже признало глифосат потенциальным канцерогеном. В отчете был сделан вывод, что глифосат связан с неходжкинской лимфомой и другими гематопэтическими формами рака. Кроме того, упоминалось, что глифосат может иметь также генотоксическое и гормональное воздействие на млекопитающих.



Рис. 1. Снижение абсолютного прироста живой массы бройлеров по периодам опыта (15-21 сут., 22-28 сут.) в ответ на скормливание корма с глифосатом; *P<0,05

Таблица 1. Показатели массы и длины органов пищеварительной системы бройлеров (после убоя на 35 сутки)

Показатели	Контроль	Глифосат		
		0,5 ПДК	1 ПДК	5 ПДК
Масса печени, г	43,2±1,62	39,8±1,95	37,5±2,01*	44,1±1,73
Длина кишечника, см	224,3±8,01	219,8±11,98	202,9±6,91*	216,2±6,80
Масса кишечника, г	62,5±1,72	59,7±1,48	56,8±1,64*	61,4±3,58

Примечание: *P≤0,05.

Тем не менее, результаты этого отчета резко контрастируют с более чем 800 исследованиями, представленными в Агентство по охране окружающей среды США, которые подтверждают безопасность глифосата.

Глифосат, чаще всего, применяют в качестве гербицида на зерновых, таких, как кукуруза и соя, которые, как известно, представляют собой основные компоненты кормов. В частности, птицеводство – это крупнейший потребитель соевого шрота: на его долю приходится около половины всего производимого шрота. В предыдущих публикациях мы продемонстрировали широкую распространенность и превышение допустимой нормы глифосата в комбикормовом сырье и в полнорационных комбикормах для

сельскохозяйственной птицы [1, 2]. Кроме того, мы доказали негативное воздействие данного гербицида на состав симбиотического микробиома и здоровье птиц.

В настоящей публикации мы приводим результаты комплексного исследования влияния глифосата на продуктивность, физиологию и экспрессию генов у сельскохозяйственной птицы, проведенного в рамках гранта Российского научного фонда №22-16-00128 (руководитель – д.б.н. Лаптев Г.Ю.).

Материал и методика исследований. Эксперимент был поставлен на цыплятах-бройлерах кросса Росс-308, которых поделили на 4 группы: 1 контрольная, получавшая рацион без введения глифосата; 2 опытная, получавшая рацион с добавлением глифосата

в дозе 10 мг/кг корма, что соответствовало 0,5 ПДК для продуктов питания согласно [3]; 3 опытная, получавшая рацион с добавлением глифосата в дозе 20 мг/кг корма (1 ПДК); 4 опытная, получавшая рацион с добавлением глифосата в дозе 100 мг/кг корма (5 ПДК). Срок выращивания бройлеров составил 35 дней; в ходе опыта птицу всех групп периодически взвешивали для определения скорости роста. После убоя у бройлеров определяли некоторые морфологические показатели пищеварительной системы (массу печени, массу и длину кишечника) и брали образцы кишечных тканей и крови для дальнейшего анализа.

Анализ транскриптома в образцах ткани кишечника выполняли при использовании наборов TruSeq Stranded mRNA и MiSeq Reagent Kit v3 - 150 (Illumina, США); биоинформатическую обработку полученных данных – при помощи программного обеспечения Salmon.

Анализ активности пищеварительных ферментов (трипсина, липазы, щелочной фосфатазы) в сыворотке крови бройлеров был выполнен в ФНЦ «ВНИТИП» РАН с использованием оборудования и методов Испытательного центра института.

Полученные результаты были обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента для оценки достоверности различий между группами.

Результаты исследований и их обсуждение. Данные о влиянии глифосата на абсолютный прирост живой массы бройлеров представлены на рис. 1. В возрастные периоды 15-21 и 22-28 дней жизни во всех опытных группах прирост живой массы был ниже,

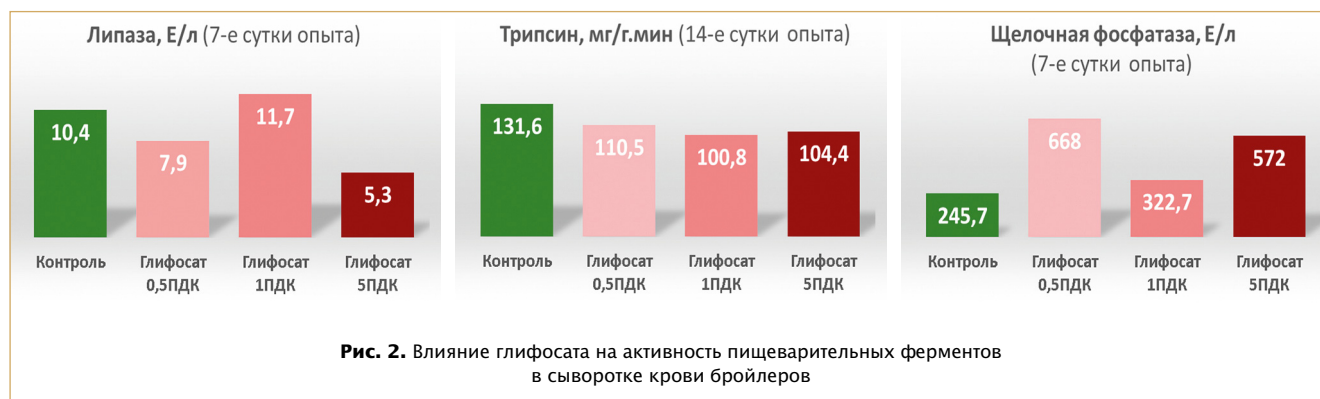


Рис. 2. Влияние глифосата на активность пищеварительных ферментов в сыворотке крови бройлеров

чем в контроле, при этом в 22-28 дней в группе 3, получавшей глифосат на уровне 1 ПДК, это снижение было достоверным ($P < 0,05$) и составило 83 г/гол.

На фоне глифосата в количестве 1 ПДК (группа 3) были достоверно ($P < 0,05$) снижены и показатели массы печени (на 5,7 г) и кишечника (на 5,7 г), а также длины кишечника (на 21,4 см) по сравнению с контрольной группой 1 (табл. 1). «Проседание» этих показателей, скорее всего, оказало влияние на падение мясной продуктивности, поскольку недоразвитие кишечника сказывается на эффективности переваривания корма и способности к всасыванию питательных веществ. Ухудшение развития пищеварительных структур негативно сказывается на формировании лимфоидной ткани, а, значит, иммунитета [4].

Установлено также, что глифосат негативно влияет не только на развитие пищеварительной системы, но и на активность пищеварительных ферментов. Как видно из рис. 2, глифосат ингибировал активность липазы и трипсина в сыворотке крови бройлеров, причем снижение составляло до 49,5 и 23,4% соответственно этим ферментам. Липаза – один из ферментов, который синтези-

руется поджелудочной железой и участвует в переваривании жиров, расщепляя их до глицерина и жирных кислот. Трипсин – это фермент класса протеаз, расщепляющий пептиды до аминокислот, которые чрезвычайно важны для повышения эффективности кормления мясной птицы. Нарушение работы пищеварительных ферментов может приводить к снижению переваримости компонентов рациона и разбалансировке работы всего организма.

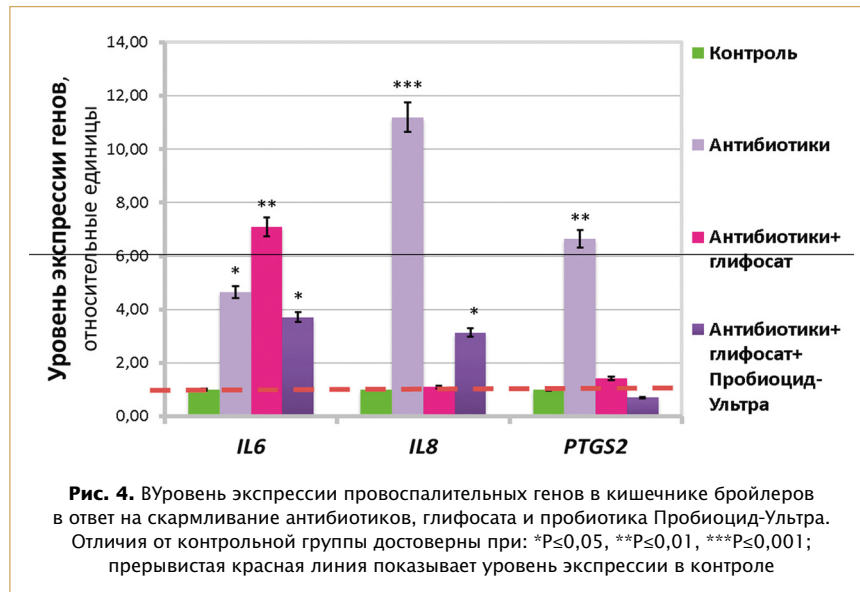
Наблюдалось также повышение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови под влиянием глифосата. Щелочная фосфатаза – это маркер, который реагирует на заболевания печени и поджелудочной железы, а также на действие лекарственных препаратов.

В связи с отмеченным снижением продуктивности у бройлеров мы решили изучить механизм влияния глифосата на клеточном уровне, и для этого впервые в России провели уникальное исследование транскриптома – дифференциальной экспрессии всех генов, присутствующих в геноме, в тканях кишечника у бройлеров с помощью высокопроизводительного RNA-seq на фоне различных дозировок глифосата. Дело в том, что не только ДНК обуславливает признаки организма. Важным механизмом, определяющим, насколько будут активны те или иные гены, является экспрессия генов, которая происходит на этапе синтеза РНК.

В результате биоинформатической обработки данных секвенирования удалось получить ис-



Рис. 3. Влияние глифосата кормов на изменение транскриптома бройлеров, определенное с помощью метода высокопроизводительного RNA-seq



черпывающую информацию об изменениях транскриптома в ответ на влияние гербицида – данные по экспрессии 33 тысяч генов (рис. 3). Результаты наших исследований оказались достаточно тревожными: глифосат, содержащийся в кормах для птицы, даже в минимальных концентрациях, которые в несколько раз ниже уровней ПДК для кормов, при хроническом воздействии негативно влиял на экспрессию 11 тысяч генов. В частности, он вызывал активацию (от десятков до тысяч раз и более) генов апоптоза, т.е. клеточной гибели (*Casp1*, *Casp2*, *Casp6*, *Casp8*, *Casp9*), провоспалительных интерлейкинов (*IL1 β* , *IL4*, *IL7*, *IL8*, *IL10*, *IL15*, *IL18*, *IL22*), онкогенов (*RAB11A*, *RAB11B*, *RAB10*, *RAB27A*, *RAB9A*, *CRK*, *ETS1*) и др. Воспаление и апоптоз могут вызывать изменения проницаемости мембран эпителиальных клеток кишечника, некроз слизистой, диарею. Повреждения эпителия кишечника приводят к проникновению патогенов, продуктов их жизнедеятельности и токсинов в кровоток.

Одновременно глифосат резко ингибировал экспрессию генов,

связанных с продуктивностью: кальций-связывающих белков, генов, отвечающих за функционирование электрон-транспортной цепи в митохондриях клеток, инсулинподобных факторов роста, рибосомального белка S6 протеинкиназы и др.

Таким образом, воздействие глифосата – это важный, но неучтенный фактор риска возникновения воспалительных реакций и снижения продуктивности, действующий через «поломку» генетической программы. Вызывает озабоченность и факт активации онкогенов, который свидетельствует о том, что присутствие глифосата в кормах для животных может играть роль в увеличении заболеваемости раком у человека.

Возможности решения проблемы. Решением проблемы загрязнения кормов глифосатами может стать использование биопрепаратов на основе отселктированных пробиотических микроорганизмов-деструкторов глифосата.

Например, полезное влияние на птиц пробиотического штамма микроорганизма в составе про-

биотика Пробиоцид-Ультра сводится не только к восстановлению кишечного микробиома. Штамм бактерии в составе биопрепарата принимает участие в детоксикации глифосатов за счет присутствия в геноме особого набора ферментов биодеструкции и оказывает влияние на снижение экспрессии провоспалительных генов, например, *IL-6*, *IL-8* и *PTGS-2* – терапевтических мишеней при токсикозах, вызванных антибиотиками и глифосатами кормов (рис. 4). Известно, что гиперпродукция провоспалительных генов вовлечена в патогенез целого ряда заболеваний и имеет связь со снижением продуктивности сельскохозяйственных животных.

Заключение. Достижения последних лет в области генетики и селекции позволили существенно увеличить продуктивность животных и птицы. Это выдвинуло ряд новых проблем. Оказалось, что высокая продуктивность имеет связь с низким адаптационным потенциалом и повышенной чувствительностью к стрессам, в частности, к остаточным количествам пестицидов в кормах.

Мы получили еще несколько доказательств, что даже «безопасные» химические вещества могут самым неожиданным образом повлиять на биологические виды. Сколько бы пользы сельскому хозяйству не приносил глифосат, его негативное влияние на сельскохозяйственную птицу невозможно не заметить. Даже при загрязнении корма глифосатом в количестве, соответствующем 1 ПДК для продуктов питания, мы обнаружили его негативные эффекты на физиологию и продуктивность птицы. Данные секвенирования РНК-транскриптома выявили ак-

тивацию механизмов клеточной смерти, воспалительных реакций и онкогенов под влиянием данно-го гербицида.

В настоящее время существует острая необходимость привлечения внимания к проблеме содержания глифосатов в кормах для

животных и птицы и уточнению границ их предельно допустимых концентраций. Однако на сегодняшний момент представить борьбу с сорными растениями без него практически невозможно. Следует иметь в виду, что существуют био-препараты, такие, как Пробиоцид-

Ультра, которые могут во многом нивелировать негативное действие глифосата.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №22-16-00128, <https://rscf/project/22-16-00128/>.

Литература

1. Тюрина, Д.Г. Глифосат в комбикормах для птицы / Д.Г. Тюрина, В.Х. Меликиди, Т.М. Околелова [и др.] // Птицеводство. - 2021. - №3. - С. 27-30.
2. Околелова, Т.М. Риски для птицеводства, связанные с глифосатом / Т.М. Околелова, С.В. Енгашев, Г.Ю. Лаптев, Д.Г. Тюрина, В.Х. Меликиди // Наше сельское хозяйство. - 2021. - №6. - С. 4-9.
3. СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания».
4. Friedman, A. Ontogeny of gut associated immune competence in the chick / A. Friedman, E. Bar-Shira, D. Sklan // World's Poult. Sci. J. - 2003. - V. 59. - No 2. - P. 209-219.

Сведения об авторах:

Лаптев Г.Ю.: доктор биологических наук, генеральный директор¹, профессор кафедры крупного животноводства²; laptev@biotrof.ru. **Йылдырым Е.А.:** доктор биологических наук, главный биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории¹, профессор кафедры крупного животноводства²; deniz@biotrof.ru. **Тюрина Д.Г.:** кандидат экономических наук, зам. директора; tiurina@biotrof.ru. **Ильина Л.А.:** кандидат биологических наук, начальник молекулярно-генетической лаборатории¹, доцент кафедры крупного животноводства²; ilina@biotrof.ru. **Филиппова В.А.:** биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории¹, зав. лабораторией кафедры крупного животноводства²; filippova@biotrof.ru. **Калиткина К.А.:** биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории¹, аспирант очной формы обучения²; kseniya.k.a@biotrof.ru. **Дубровин А.В.:** кандидат ветеринарных наук, биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории¹, старший научный сотрудник кафедры крупного животноводства²; dubrovin@biotrof.ru. **Новикова Н.И.:** зам. директора; novikova@biotrof.ru. **Меликиди В.Х.:** биотехнолог; veronika@biotrof.ru. **Горфункель Е.П.:** контролер по качеству; alenkafev@mail.ru. **Пономарева Е.С.:** биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории; kate@biotrof.ru. **Околелова Т.М.:** доктор биологических наук, профессор; tokolelova@vetmag.ru. **Грозина А.А.:** кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник – зав. отделом; alena_fisinina@mail.ru. **Громов Д.Н.:** магистр.

Статья поступила в редакцию 11.02.2023; одобрена после рецензирования 11.03.2023; принята к публикации 20.03.2023.

Research article

Glyphosate: A Hazardous Helper in Crop Production

Georgy Y. Laptev^{1,2}, Elena A. Yildyrym^{1,2}, Darya G. Tiurina¹, Larisa A. Ilyina^{1,2}, Vera A. Filippova^{1,2}, Ksenia A. Kalitkina^{1,2}, Andrey V. Dubrovin^{1,2}, Natalia I. Novikova¹, Veronika Kh. Melikidi¹, Elena P. Gorfunkel¹, Ekaterina S. Ponomareva¹, Tamara M. Okolelova³, Alena A. Grozina⁴, Dmitry N. Gromov²

¹BIOTROF+, LCC, St. Petersburg; ²St. Petersburg State Agrarian University; ³Scientific & Implementation Center Agrovetzashchita, Moscow; ⁴Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry" of Russian Academy of Sciences





Abstract. The effects of glyphosate, a herbicide which can be found in the feeds, on the living organisms are multifaceted and still understudied. We performed an experiment on 4 treatments of broilers (cross Ross-308, 35 days): control treatment 1 was fed diets without glyphosate, treatments 2-4 were fed similar diets supplemented with glyphosate in doses 10 ppm (0.5 of the lowest permitted concentration (LPC) for food-grade products), 20 ppm (1 LPC), and 100 ppm (5 LPC), respectively. It was found that even dietary concentration of 1 LPC negatively affects the digestive system and productive performance in broilers. In this treatment the significant ($p < 0.05$) reduction of absolute weight gain during the period 22-28 days of age was found. In treatments 2-4 the decreases in the weight of the liver and weight and length of the intestine (in treatment 3 significantly), decreases in the activity of trypsin and lipase in blood serum and increase in the activity of alkaline phosphatase were found. The data of transcriptome analysis in the intestine by high-performance RNA sequencing evidenced activation of genes involved in cell apoptosis, inflammation, and carcinogenesis by dietary glyphosate. These findings supported the thesis that dietary glyphosate can substantially deteriorate the well-being and productivity in poultry. The problem can potentially be solved by the use of targeted probiotics capable of the biodestruction of glyphosate. E.g. it is known that probiotic Probiocide-Ultra can decrease the expression of the pro-inflammatory genes IL-6, IL-8 u PTGS-2 which are the therapeutic targets in glyphosate-induced toxicoses.

Keywords: glyphosate, broilers, productive performance, transcriptome, digestive enzymes, probiotic, microorganisms-bi destructors.

For Citation: Laptev G.Y., Yildyrym E.A., Tuirina D.G., Ilyina L.A., Filippova V.A., Kalitkina K.A., Dubrovin A.V., Novikova N.I., Melikidi V.Kh., Gorfunkel E.P., Ponomareva E.S., Okolelova T.M., Grozina A.A., Gromov D.N. (2023) Glyphosate: a hazardous helper in crop production. *Ptitsevodstvo*, 72(4): 27-32. (in Russ.)
doi: 10.33845/0033-3239-2023-72-4-27-32

References

1. Tiurina DG, Melikidi VKh, Okolelova TM, Yildyrym EA, Laptev GY, Novikova NI, Ilyina LA, Bikonya SN (2021) *Ptitsevodstvo*, (3):27-30; doi 10.33845/0033-3239-2021-70-3-27-30 (in Russ.).
2. Okolelova TM, Engashev SV, Laptev GY, Tiurina DG, Melikidi VKh (2021) Glyphosate related risks in poultry production. *Our Agric.*, (6):4-9 (in Russ.).
3. Sanitary standard of the Russian Federation SanPiN 1.2.3685-21 "Hygienic standards and requirements to provide the security and/or harmlessness of environmental factors to humans" (in Russ.).
4. Friedman A, Bar-Shira E, Sklan D (2003) *World's Poult. Sci. J.*, **59**(2):209-19; doi 10.1079/WPS20030013.

Authors:

Laptev G.Y.: Dr. of Biol. Sci., General Director¹, Prof. of Dept. of Large Animals²; laptev@biotrof.ru. **Yildyrym E.A.:** Dr. of Biol. Sci., Chief Biotechnologist of Lab. of Molecular Genetics¹, Prof. of Dept. of Large Animals²; deniz@biotrof.ru. **Tuirina D.G.:** Cand. of Econ. Sci., Deputy Director; tiurina@biotrof.ru. **Ilyina L.A.:** Cand. of Biol. Sci., Head of Lab. of Molecular Genetics¹, Assoc. Prof. of Dept. of Large Animals²; ilina@biotrof.ru. **Filippova V.A.:** Biotechnologist of Lab. of Molecular Genetics¹, Head of Lab. of Dept. of Large Animals²; filippova@biotrof.ru. **Kalitkina K.A.:** Biotechnologist of Lab. of Molecular Genetics¹, Aspirant²; kseniya.k.a@biotrof.ru. **Dubrovin A.V.:** Cand. of Vet. Sci., Biotechnologist of Lab. of Molecular Genetics¹, Senior Research Officer of Dept. of Large Animals²; dubrovin@biotrof.ru. **Novikova N.I.:** Deputy Director; novikova@biotrof.ru. **Melikidi V.Kh.:** Biotechnologist of Lab. of Molecular Genetics; veronika@biotrof.ru. **Gorfunkel E.P.:** Controller for Quality; alenkafev@mail.ru. **Ponomareva E.S.:** Biotechnologist of Lab. of Molecular Genetics; kate@biotrof.ru. **Okolelova T.M.:** Dr. of Biol. Sci., Prof.; tokolelova@vetmag.ru. **Grozina A.A.:** Cand. of Biol. Sci., Lead Research Officer, Head of Dept.; alena_fisinina@mail.ru. **Gromov D.N.:** Magister.

Submitted 11.02.2023; revised 11.03.2023; accepted 20.03.2023.

© Лаптев Г.Ю., Йылдырым Е.А., Тюрина Д.Г., Ильина Л.А., Филиппова В.А., Калиткина К.А., Дубровин А.В., Новикова Н.И., Меликиди В.Х., Горфункель Е.П., Пономарева Е.С., Околелова Т.М., Грозина А.А., Громов Д.Н., 2023