

М. Ф. Кулик, доктор сільськогосподарських наук

С. Я. Кобак, О. В. Хіміч, кандидати сільськогосподарських наук

Т. О., Дідоренко, Л. Г. Погоріла

Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН

Я. М. Кулик, кандидат медичних наук

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова

ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ВРОЖАЙНОСТІ СОЇ, А ДЛЯ РАУНДАПОСТІЙКОЇ ЗМЕНШЕННЯ СИНТЕЗУ НЕПРИРОДНИХ ПЕПТИДІВ З ГЛІЦИНОМ ГЛІФОСАТУ

Мета. Для підвищення врожайності сої розробити препарат для передпосівної обробки насіння і обприскування посівів у фазі бутонізації, а використання препарату для раундапостійкої сої повинно зменшувати синтез неприродних пептидів з гліцином гліфосату в структурі білків, які можуть викликати непередбачувані наслідки для тварин і людей. **Методи.** Лабораторні і польові, досліді на молодяку і дорослих курях. **Результати.** Розроблено препарат «Зерновіт» для передпосівної обробки насіння сої (патент України на корисну модель № 119739, 2017) і у фазі бутонізації. Поряд з цим, у генетично модифікованій сої при використанні препарату «Зерновіт» через стимулювання синтезу білків зменшується утворення неприродних пептидів гліцину гліфосату в структурі білків. **Висновки.** Розроблено і апробовано в умовах виробництва препарат «Зерновіт» для передпосівної обробки насіння сої і у фазі бутонізації, який забезпечує підвищення врожайності на 16,8% проти контролю 2,8 т/га, а при використанні для генетично модифікованої сої зменшує синтез неприродних пептидів з гліцином гліфосату в структурі білка сої при обприскуванні її раундапом. Це пояснюється стимулюванням синтезу білків упереджуючи включення гліцину гліфосату в неприродні пептиди білкового синтезу.

Ключові слова: класична соя, генетично модифікована соя, гліфосат, раундап, білок, препарат «Зерновіт», курчата, дорослі кури.

Генетично модифікована (ГМ) соя є високобілковою культурою, але використання її в харчовій промисловості, особливо у харчуванні дітей та молодих людей, дискутується багато років, незважаючи на те, що у дослідях, проведених на лабораторних тваринах, (миші, щурі та хом'яки) при згодовуванні їм різних культур з вмістом генетично-модифікованих організмів як кормів у складі раціону, встановленні патологічні зміни в печінці, підшлунковій та щитовидній залозах, селезінці та сім'яниках [1, 2, 3, 4].

По заключенню Samsel & Seneff [5], гліфосат, як діюча речовина Roundup, це як аналог гліцину, є найбільш широко використовуваним біоцидом на планеті. Він присутній в продуктах харчування людей і в кормах для тварин. Дослідженнями виявлена кореляція між хронічними захворюваннями та використанням гербіцидів гліфосатної групи на посівах кукурудзи, сої та інших культур. Гліфосат, який діє як аналог гліцину, може бути помилково включений у пептиди під час синтезу білка. Заміна гліфосатом природних гліцинів пояснює зв'язок із діабетом, ожирінням, астмою, набряком легень, наднирковою недостатністю, безпліддям, гіпертонією, глаукомою, остеопорозом та іншими захворюваннями. Дані кореляції разом з прямими біологічними доказами становлять переконливі факти на дію гліфосату, як аналогу гліцину, що визначає більшу частину токсичності гліфосату [5].

Встановлено, що генетично модифікована (ГМ) соя містить неприродні пептиди в білку насіння [6]. У структурі білка природній гліцин заміщений гліфосатом, тобто, гліцином із метилфосфінільною групою зв'язаною з атомом азоту. Як аналог гліцину, можна очікувати, що він заміщує природний гліцин у випадкових точках процесу синтезу білка з невідомими наслідками [5].

Найбільш значимі синтетично вироблені амінокислоти, які близькі за структурою аналогам природних амінокислот можуть бути помилково введені в пептиди [7, 8]. У рибосомній системі є 20 унікальних амінокислот, кожна з яких спеціально розпізнає одну амінокислоту відповідно до коду ДНК. Зловмисним є те, що для рибосомної системи не існує механізму коректування. Як тільки аналог амінокислоти «обдурює» процес розпізнавання, то не має механізму переривання синтезу та відмови від попередньо виробленої пептидної послідовності [9], так як генетично модифікована (ГМ) соя містить неприродні пептиди в білку зерна [6].

Встановлено негативний вплив довготривалого годування курчатом і курям-несучкам генетично-модифікованої раундапостійкої сої на виводимість курчат і їх життєздатність. Падіж курчат був на рівні 73 % [10].

Деформація дзьобів у синиць [11, 12], під впливом поїдання насіння соняшнику обприсканого Roundup (гліфосатом) перед збиранням урожаю може бути пояснена порушеною здатністю KEAP1 зв'язуватися з цитоскелетом, що призводить до конститивної активації Nrf2 і надлишкової експресії синтезу кератину [13].

Nrf2 є лейцин захисним білком який захищає від окисного ушкодження в результаті відповіді на запалення після дії різних екологічних чинників, а KEAP1 є цитоплазматичним білком, який регулює експресію Nrf2 шляхом зв'язування з ним, щоб запобігти його переміщенню в ядро, таким чином дозволяючи подальшу його деградацію [12, 14, 15]. Нерегульована зверх активація Nrf2 у зв'язку з порушенням функції KEAP1, як передбачається, може призвести до гіперкератозу [13].

Метою досліджень було стимулювання енергії проростання і схожості насіння не генетично модифікованої сої для підвищення врожайності, як фактору стимулювання синтезу білків. З цією метою нами був розроблений і апробований в умовах виробництва препарат «Зерновіт», який містить полігексаметиленгуанідин гідрохлоридйодат (патент України на корисну модель № 119739, 2017) [16]. Паралельно з цим у дослідях із ГМ соєю ставилась мета зменшення дії гліфосату на синтез неприродних пептидів у структурі білків сої при передпосівній обробці її насіння і обприскуванні гліфосатом посіву сої у фазі бутонізації для боротьби з бур'янами.

Похідні гуанідину широко поширені в природі. Вони виділені з об'єктів тваринного і рослинного походження, наприклад, м'язів, крові і сечі тварин, листя і плодів рослин, з бактерій і т. д. Доведено, що похідні гуанідину відіграють важливу роль у процесах життєдіяльності, як тварин, так і рослинних організмів і є необхідними продуктами обміну живої клітини [17, 18, 19, 20].

Методи досліджень і результати. В основу розробленого нами препарату було взято для підвищення енергії проростання та схожості насіння не генетично модифікованої сої, зниження зараженості фузаріозом та бактеріозом, а у процесі росту збільшення кількості продуктивних вузлів, бобів сої, маси насіння і, як наслідок, підвищення врожайності.

Поряд з цим розроблений препарат, який містить полігексаметиленгуанідин гідрохлоридйодат використовувався для передпосівної обробки насіння ГМ сої та обприскування її посіву у фазі бутонізації для підвищення врожайності і зменшення дії гліфосату на синтез неприродних пептидів у білку зерна.

Підтвердженням позитивної дії передпосівної обробки насіння класичної сої і обприскуванням її у фазі бутонізації є результати проведених лабораторних і польових досліджень в Інституті кормів та сільського господарства Поділля НААН, а із ГМ соєю дослідження проводилися в приватному господарстві.

У лабораторних умовах проводили передпосівну обробку насіння сої водним розчином препарату «Зерновіт» у дозі 7—8 л/т. Визначення посівних якостей насіння (енергія проростання, лабораторна схожість) проводили згідно вимог ДСТУ 4138-2002. Насіння сої пророщували у термостаті при змінній температурі 20—30 °С. Субстрат для пророщування використовували пісок (просіяний крізь сито з отворами 1 мм, промитий та прожарений до обвуглювання шматка паперу вкладеного в нього). На п'яту добу пророщування визначали енергію проростання, а на восьму – лабораторну схожість.

Одержані результати виражали у відсотках за кожною з виявлених категорій (нормальні й аномальні проростки, проросле й непроросле насіння, зокрема тверде, мертве, зігниле). Достовірність встановлювали порівнянням крайнього значення повторень із середньоарифметичним значенням, яке обчислювали до цілого числа.

Мета – аналіз схожості насіння (лабораторна схожість), а саме – встановити кількість насінин (у відсотках), здатних утворювати нормально розвинені проростки за оптимальних умов пророщування.

Для визначення зараженості насіння сої фузаріозом та сім'ядольним бактеріозом відраховували чотири проби по 100 насінин і пророщували їх у вологій камері у ростильнях з піском. Пророщування проводили у термостаті при змінній температурі 23—28 °С. Аналіз здійснювали на 9-ту добу. Дослідження проводилися в лабораторії Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН.

У польових дослідах передпосівна обробка насіння сої проводилась розчином препарату «Зерновіт» на фоні його інокуляції бактеріальним препаратом «Ризогумін» на основі азотофіксуючих бактерій. Щоб забезпечило збільшення ваги та висоти рослин сої відповідно на 14,52 г та 12,2 см порівняно з контролем, де проводили лише інокуляцію. Також за рахунок обробки насіння розчином препарату «Зерновіт» збільшилась зона плодоношення, тобто, зроста продуктивна частина рослин на 19 см, або 11,5 % за рахунок збереженості бобів у нижньому ярусі рослин. Висота прикріплення нижнього бобу за обробки насіння водним розчином препарату «Зерновіт» становила 21,5 см, тоді, як на контролі на 7,8 см вище, а це два міжвузля, з яких абортувались репродуктивні органи. Результати свідчать про збільшення відсотка продуктивних вузлів на рослині із 50 до 72 %. Слід відмітити, що індивідуальна продуктивність рослин – величина динамічна і визначається амплітудою зміни кількості насінин і бобів на ній та їх масою. Необхідно зазначити, що кількість бобів на одиниці площі є вихідною величиною для періоду цвітіння, тоді як кількість насінин – для періоду наливання насіння, а маса 1000 насінин – для періоду дозрівання.

Передпосівна обробка насіння водним розчином препарату «Зерновіт» забезпечила збільшення кількості бобів на рослині на 17,5 шт., кількості насінин на 38,1 шт. та маси насіння на 6,67 г, маси 1000 насінин на 29 г. Такий позитивний вплив на формування структури рослин та зростання їх індивідуальної продуктивності забезпечив збільшення врожайності насіння сої з одиниці площі. Проведена обробка водним розчином препарату «Зерновіт» на фоні інокуляції забезпечила урожайність насіння сої сорту Монада на рівні 3,27 т/га, що більше на 0,47 т/га або 16,8 % порівняно з контролем, де проводили лише інокуляцію.

Проведено визначення енергії проростання та лабораторної схожості насіння чотирьох сортів сої різних груп стиглості селекції Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН. Також визначали зараженість насіння бактеріозом та сім'ядольним бактеріозом, що регламентуються ДСТУ 2240-1993. Одержані результати досліджень свідчать про позитивний вплив обробки насіння сої препаратом «Зерновіт». Оброблене насіння мало на 4 % вищу енергію проростання та на 5 % лабораторну схожість порівняно з контролем. Найкраще на обробку відреагувало насіння сорту Кивін, в якого

енергія проростання була вищою на 6 % та схожість на 8 % порівняно до контролю

Результати свідчать, що насіння сорту Монада 2-ї генерації після вирощування з обробленого насіння препаратом «Зерновіт» 1-ї генерації мало вищу енергію проростання та вищу лабораторну схожість в середньому на 7 та 8 % відповідно до контролю (насіння, що вирощувалось без передпосівної обробки препаратом «Зерновіт»). Зараженість бактеріозом була нижчою на 3 %, а фузаріозом – на 1 %.

Наступним етапом було проведення таких самих досліджень у приватному господарстві із генетично-модифікованою раундапостійкою соєю з метою отримання зерна і згодовування його курчатам, а згодом дорослим курям та виявлення його впливу на життєздатність птиці (табл.).

Схема проведення дослідів на молодняку і дорослих курях

Згодовування екструдованої сої в комбікормі (2018—2019 рр)	Група 1 – 10 голів молодняк курей 3-х місячного віку. Згодовування екструдованої ГМ сої не обробленої препаратом «Зерновіт»	Падіж, голів	Група 10 голів молодняк курей 3-х місячного віку. Згодовування екструдованої ГМ сої з обробкою зерна перед посівом і у фазі бутонізації препаратом «Зерновіт»	Падіж, голів
Листопад 2018 р. 5 % екструдованої сої в комбікормі	10 голів	відсутній	10 голів	відсутній
Грудень 2018 р. 10 % екструдованої сої в комбікормі	10 голів	відсутній	10 голів	відсутній
Січень 2019 р. 15 % екструдованої сої в комбікормі	8 голів	загинуло 2	10 голів	відсутній
Лютий-березень 2019 р 20 % екструдованої сої в комбікормі	3 голови	загинуло 5	10 голів	відсутній
Разом		7		-

У дослідях доза препарату «Зерновіт» на 1 т насіння становила 134 мл у водному розчині 7—8 літрів, а при обприскуванні рослин сої у фазі бутонізації 30 мл препарату на 1 га посіву у водному розчині 200—250 літрів, з додаванням 5 кг/га сечовини. Урожайність сої становила 3,2 т/га.

Обговорення. Результати досліджень, які наведені в таблиці, свідчать про позитивний вплив ГМ сої обробленої препаратом «Зерновіт» перед посівом насіння і у фазі бутонізації рослин, на життєздатність молодняку та дорослих курей. Проте механізм такого впливу на структуру білків зерна сої і, як наслідок, життєздатність молодняку і дорослих курей потребує всебічного вивчення. На наш погляд фактори підвищення енергії проростання і схожості насіння сої з посиленням їх ролі в процесі росту в

обміні речовин у стеблі рослин при обприскуванні активними речовинами препарату «Зерновіт» стимулюють синтез білків, упереджуючи включенню гліцину гліфосату в неприродні пептиди білкового синтезу. Якщо таке зерно ГМ сої підлягає вивченню для використання в продуктах харчування людей, то в годівлі сільськогосподарських тварин воно повинно мати перспективу використання.

До складу препарату «Зерновіт» входить полігексаметилгуанідин гідрохлоридуодат. Похідні гуанідину є аргінін і креатин. Аргінін (δ -гуанідин- α -аміновалеріанова кислота) – основна α -амінокислота, 1-форма якої входить до 20 амінокислот, що кодуються генетичним кодом (кодони ЦГА, ЦГУ, ЦГТ, ЦГЦ, АГА та АГГ в мРНК) [21] і становлять основу білків.

Завдяки гуанідиновому угрупованню аргінін є найосновнішою з амінокислот. Часто входить до частин білків, що взаємодіють з ДНК. У організмі тварин деградується до сечовини. Окрім того, що аргінін входить до складу білків, ця амінокислота також важлива для багатьох інших метаболічних шляхів клітини, зокрема синтезу Нітроген (II) оксиду, поліамінів, проліну, глутамату, креатину та агматину [22].

Паралельно слід зазначити, що гліфосат використовується для боротьби з бур'янами в посівах інших сільськогосподарських культур, а тому використання препарату «Зерновіт» для запобігання включення синтетичного гліцину в синтез білків та органічних сполук, як кінцевого продукту росту рослин має важливе значення.

На завершення доцільно послатися на опублікований звіт «Genetically Engineered Crop: Experiences and Prospects» [23], про відсутність негативного впливу ГМО на здоров'я людей. Проте прихильниками і опонентами ГМО будуть продовжуватися дискусії. О. С. Дем'янюк і А. Л. Бойко [24], звертають увагу на важливі результати дослідження епігенетичних явищ, які дають змогу стверджувати, що хімічні сполуки, які нині використовуються у різних галузях господарювання поступово мають бути заборонені через їх властивість модифікувати епігеном клітин людини. Це безпосередньо стосується гліфосату, як активної хімічної сполуки, яка здатна включатися в обмін речовин як у рослинному, так і тваринному організмі, і в кінцевому результаті впливати на різні ланки обміну в організмі людей [25].

Висновки. Розроблено і апробовано в умовах виробництва препарат «Зерновіт» для передпосівної обробки насіння сої і у фазі бутонізації, який забезпечує підвищення врожайності на 16,8 % проти контролю 2,8 т/га, а при використанні для генетично модифікованої сої зменшує синтез неприродних пептидів з гліцином гліфосату в структурі білка сої при обприскуванні її раундапом. Це пояснюється стимулюванням синтезу білків упереджуючи включення гліцину гліфосату в неприродні пептиди білкового синтезу.

Бібліографічний список

1. *Harrison C. F.* Conservation of a glycine-rich region in the prion protein is required for uptake of prion infectivity. *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. P. 20213—20223.
2. *Howe R. K.* The Metabolism of Glyphosate in Sprague Dawley Rats Part II. Identification, Characterization and Quantification of Glyphosate and its Metabolites after Intravenous and Oral Administration. unpublished study MSL-7206 conducted by Monsanto and submitted to the EPA July 1988.
3. *Ogura T.* Keap1 is a forked-stem dimer structure with two large spheres enclosing the intervening, double glycine repeat, and C-terminal domains. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. P. 2842—2847.
4. *Rymer D.* The role of prion peptide structure and aggregation in toxicity and membrane binding. *J. Neurochem.* 2000. V. 75. P. 2536—2545.
5. *Samsel A, Seneff S.* Glyphosate pathways to modern diseases V: Amino acid analogue of glycine in diverse proteins. *Journal of Biological Physics and Chemistry.* 2016. 16:9-46.
6. *Кулик Я. М., Чернолата Л. П.* Наявність неприродних пептидів у білку бобів генетично модифікованої раундапостійкої сої. *Вісник проблем біології і медицини.* Полтава. 2018; 144 (2):114-7.
7. *Rodgers, K. J., Wang, H., Fu, S. & Dean, R.T.* Biosynthetic incorporation of oxidized amino acids into proteins and their cellular proteolysis. *Free Radical Biol. Med.* 32. 2002. P. 766—775.
8. *Rubenstein, E.* Biologic effects of and clinical disorders caused by nonprotein amino acids. *Medicine* 79. 2000. P. 80—89.
9. *Rodgers, K. J. & Shiozawa, N.* Misincorporation of amino acid analogues into proteins by biosynthesis. *Intl J. Biochem. Cell Biol.* 40. 2008. P. 1452—1466.
10. *Кулик Я. М., Хімич О. В., Дідоренко Т. О.* Негативний вплив довготривалого згодовування курчатам і куркам-несучкам генетично модифікованої раундапостійкої сої на виводимість курчат і їх життєздатність. *Вісник проблем біології і медицини.* Випуск 4, том 2 (147). 2018. С. 110—112. DOI: 10.29254/2077-4214-2018-4-2-147-110-112
11. *Rosenthal, G.A.* The biochemical basis for the deleterious effects of L-canavanine. *Phytochemistry* 30. 199. P. 1055—1058.
12. *Krakauer, J., Long Kolbert, A., Tanedar, S. & Southard, J.* Presence of L-canavanine in Hedysarum alpinum seeds and its potential role in the death of Chris McCandless. *Wilderness Environ. Med.* 26. 2015. P. 36—42.
13. *Kostenis, E., Martini, L., Ellis, J., Waldhoer, M., Heydorn, A., Rosenkilde, M.M., Norregaard, P.K., Jorgensen, R., Whistler, J.L. & Milligan, G.A* highly conserved glycine within linker I and the extreme C terminus of G protein alpha subunits interact cooperatively in switching G protein-coupled receptor-to-effector specificity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 313. 2005. P. 78—87.
14. *Parrini, C., Taddei, N., Ramazzotti, M., Degl'Innocenti, D., Ramponi, G., Dobson, C.M. & Chiti, F.* Glycine residues appear to be evolutionarily conserved for their ability to inhibit aggregation. *Structure* 13. 2005. P. 1143—1151.

15. *Kamps, M.P., Buss, J.E. & Sefton, B.* Mutation of NH₂-terminal glycine of P60SWC prevents both myristoylation and morphological transformation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 82. 1985. P. 4625—4628.
16. *Препарат* для передпосівної обробки насіння бобових і злакових культур: пат. 119739 Україна: МПК (2017.01), А01С/00. № 119739; заявл. 20.03.2017; опубл. 10.10.2017, Бюл. № 19.
17. *Газалиев А. М., Исабаева М. Б., Ибатаев Ж. А., Ибраев М. К.* Синтез и свойства новых потенциально биоактивных веществ на основе тиомочевины и биогенных аминов. *Химия и технология растительных веществ*: тез. докл. V Всероссийской науч. конф. Сыктывкар-Уфа. 2008. С. 104.
18. *Граник В. Г.* Лекарства, фармакологический, биохимический и химический аспекты. Москва: Вузовская книга. 2001. 408 с.
19. *Добрынина В. И.* Учебник по биологической химии. Москва: Госуд. изд. мед. лит. 1963. 447 с.
20. *Исабаева М. Б.* О биологической активности производных гуанидина. *Альманах современной науки и образования*. 2010. №9 (40). С. 62—64.
21. *Nelson D.L., Cox M.M.* Lehninger Principles of Biochemistry (5th). W. H. Freeman. 2008. ISBN 978-0-7167-7108-1.
22. *Morris SM Jr.* Arginine: beyond protein. *Am J Clin Nutr.* 2006. 83: P. 508–512. PMID 16470022.
23. *National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine.* Genetically Engineered Crops: Experiences and Prospects. Washington, DC: *The National Academies Press*. 2016. P. 606. DOI: <https://doi.org/10.17226/23395>.
24. *Демянюк О. С., Бойко А. Л.* Земля потребує стратегічного аналізу. *Вісник аграрної науки*. 2019. Вип. 2. С. 82—85.
25. *Wang, W., Wu, Z., Dai, Z., Yang, Y., Wang, J. & Wu, G.* Glycine metabolism in animals and humans: implications for nutrition and health. *Amino Acids*. № 45. 2013. P. 463—477.

Надійшла до редколегії 26. 06. 2019 року

Рецензенти Л. П. Чорнолата, В. Д. Бугайов, кандидати сільськогосподарських наук