

Рисунок 4 – Влияние прайминга семян на активность пероксидазы в проростках кукурузы в условиях засоления

Прайминг семян также положительно влиял на активность пероксидазы в вегетативных органах исследованных линий. Для ЦМС-линии при 0,17M засолении при предварительной обработке семян дистиллированной водой активность в корнях составила $198,7 \pm 5,3$ в корнях, а прайминг 5% водной вытяжкой биогумуса повысил активность фермента до $215 \pm 2,3$.

Проростки ЦМС-линии Киз70С отличались повышенной активностью пероксидазы, по сравнению с контрольной линией без признака стерильности Казахская 58. Так, при 0,1M засолении, активность пероксидазы в корнях проростков Киз70С (прайминг – дистиллированной водой) составила $221,6 \pm 11,4$, а в корнях проростков Казахская 58 была $120,5 \pm 4,4$.

Следует отметить, что активность пероксидазы была более выражена в корнях, чем в листьях 10-дневных проростков кукурузы исследованных линий. Прайминг семян положительно влиял, повышая активность фермента в вегетативных органах проростков, а засоление стимулировало удельную активность фермента.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что использованные нами биологически активные препараты из биогумуса (ВВБ, «Гумистар») повышают активность СОД и пероксидазы, что в свою очередь свидетельствует об адаптации кукурузы к солевому стрессу, их отзывчивости к действию предварительной обработки семян. Предполагается, что в препаратах из биогумуса содержатся компоненты способствующие формированию устойчивости кукурузы к действию солевого стресса.

Литература

- 1 Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.:Изд-во СПбУ.-2002. – 244 с.
- 2 Веселов Д.С., Маркова И.В., Кудоярова Г.Р. Реакция растений на засоление и формирование солеустойчивости //Успехи совр. биологии.- 2007.- Т.127, №5.- С.482-493
- 3 Бараненко В.В. Супероксиддисмутаза в клетках растений //Цитология. 2006. Т.48. №6. С.465
- 4 Практикум по физиологии растений. Под редакцией Н.Н. Третьякова.-М.:ВО «Агрпроммиздат».-1990.-С.124-127
- 5 Beauchamp C., Fridovich I.R. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // Analytical Biochem.- 1977.-V.44.- P.276-287.
- 6 Романова Е.В. Ферменты в антиокислительной системе растений: супероксиддисмутаза //Агро 21 век.- 2008.- №7-8.- С.27-30
- 7 Газарян И.Г. Пероксидазы растений // Биотехнология пероксидаз растений и грибов.- 1992.- Т. 36.- С.4-28.

Тұжырым

Әр түрлі NaCl концентрациясында өсірілген 10-күндік цитоплазмалық аталық ұрықсыздықтың боливиялық түрі жүгері өсімдіктерінің тамыр және жапырақтарында супероксиддисмутаза және пероксидаза активтілігіне биогумустан алынған биологиялық активты заттармен тұқымдарын алдын ала өңдеуінің әсері анықталған.

Summary

It was studied the influence of seeds priming by biologically active preparations from biohumus on functional activity of superoxidedismutase and peroxidase in leaves and roots of 10-days sprouts of maize with the Bolivian type of the cytoplasmic male sterility, which grown up at various concentration NaCl.

УДК 577.21

Головченко Н.М., Погосян Г.П.
ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ОРГАНИЗМЫ: ПРОБЛЕМЫ И РИСКИ
(Карагандинский государственный университет им. Е.А. Букетова)

В статье обсуждается проблема создания и использования генетически модифицированных организмов, рассматриваются возможные пищевые, агротехнические и экологические риски. Приводится классификация генетически модифицированных продуктов. Описаны основные страны-производители продуктов, содержащих генетически модифицированные ингредиенты. В качестве метода, позволяющего определить наличие таких компонентов предлагается полимерная цепная реакция, описываются ее преимущества.

Во всем мире рынок продуктов питания наводнен товарами, содержащими генетически модифицированные организмы. В сельских хозяйствах многих ведущих стран-экспортеров растительных продуктов питания и растительного сырья уже давно выращиваются растения с измененным генетическим составом. Получение все новых трансгенных растений считается на данный момент одним из перспективных и наиболее развивающихся направлений биотехнологии в сфере агропроизводства.

Генетическая инженерия – это система экспериментальных приемов, позволяющих конструировать искусственные генетические структуры в виде так называемых рекомбинантных (гибридных) молекул ДНК. Суть генетической инженерии сводится к переносу в различные организмы чужеродных генов, обладающих полезными свойствами.

Генетически модифицированный организм (ГМО) - это живой организм, содержащий новую комбинацию генетического материала, полученного с помощью генетической инженерии.

Трансгенными называют те виды растений, в которых успешно функционирует ген (или гены), пересаженные из других видов растений или животных.

Рекомбинантные ДНК – это ДНК, образованные объединением *in vitro* двух или более фрагментов ДНК, выделенных из различных биологических источников.

Все ГМ–продукты можно разделить на три основные категории:

1. Продукты, содержащие ГМ-ингредиенты (в основном, трансгенная кукуруза и соя). Эти добавки вносятся в пищевые продукты в качестве структурирующих, подслащающих, красящих веществ, а также в качестве веществ, повышающих содержание белка.

2. Продукты переработки трансгенного сырья (например, соевый творог, соевое молоко, чипсы, кукурузные хлопья, томатная паста).

3. Трансгенные овощи и фрукты, возможно, и животные, непосредственно употребляемые в пищу.

В 1972 году появилась первая публикация, в которой сообщалось о получении в лабораторных условиях рекомбинантной ДНК, состоящей из фрагментов разных молекул ДНК: вирусной, бактериальной и фаговой -

это был первый генетически измененный организм. Работа была выполнена американским ученым Полом Бергом с сотрудниками и ознаменовала рождение новой отрасли молекулярной биологии - генетической (генной) инженерии [1].

В июле 1974 года несколько крупных ученых обратились к научной общественности с предложением наложить мораторий на работы с рекомбинантными ДНК. В феврале 1975 года в Калифорнии на Асиломарской конференции собрались 140 ученых разных стран, работающих в области генной инженерии. Всесторонне изучив результаты и возможные последствия, ученые пришли к выводу, что потенциальные опасности невелики, так как новые организмы в природных условиях нежизнеспособны и их неконтролируемое распространение маловероятно. Было решено прервать мораторий и продолжить исследования с соблюдением специально разработанных правил [1].

И вот уже в 80-х годах появились и стали выращиваться первые пробные партии жизнеспособных в природных условиях трансгенных растений.

Первые генетически модифицированные продукты (ГМП) появились в продаже в США в 1994 г. Это были томаты с замедленным созреванием, созданные фирмой "Calgen", а также гербицидоустойчивая соя компании «Monsanto». Уже через 2 года биотехнологические фирмы поставили на рынок целый ряд генетически измененных растений: томатов, кукурузы, картофеля, табака, сои, рапса, хлопчатника и др. По ряду направлений есть успехи и у российских ученых. В центре "Биоинженерия" получен первый в России патент на трансгенное растение – картофель сорта Центр-1, обладающий устойчивостью к Y-вирусу картофеля. На кафедре вирусологии МГУ созданы сорта картофеля с комплексной устойчивостью уже к нескольким вирусным заболеваниям.

В ряде институтов РФ проводятся работы по созданию трансгенных овощей. К примеру, в Институте биоорганической химии (ИБХ) РАН и во ВНИИ селекции и семеноводства овощных культур создана морковь с геном тауматина, который обуславливает устойчивость к ряду заболеваний и более сладкий вкус. В Институте сельскохозяйственной биотехнологии создаются томаты с генами дифензинов, которые должны обеспечить устойчивость к грибковым заболеваниям. Центр "Биоинженерия" совместно с ИБХ создал морковь, устойчивую к гербициду "Баста". Институт цитологии и генетики СО РАН работает над морковью с функциями т.н. "съедобной вакцины", способной препятствовать распространению болезней животных. Похожая программа реализуется и в центре "Биоинженерия". Отличие в том, что действие "съедобной вакцины" будет направлено на борьбу с гепатитом. Это далеко не полный перечень исследований в области создания трансгенных растений, проводимых в странах ближнего зарубежья.

В последующем целый ряд методов внедрения ДНК в клетку растения с целью их дальнейшей генетической модификации позволил резко увеличить количество подвергнутых изменению растительных культур.

Среди этих методов наибольшее распространение получили следующие:

- Трансформация растений Ti-плазмидой;
- Трансформация растительных протопластов;
- Метод кокультивации;
- Метод микроинъекции;
- Метод электропорации;
- Метод слияния липосом;
- Метод биологической баллистики;
- Метод трансфекции;
- Метод «мини-клеток».

Создание одного нового сорта генетически модифицированного растения стоит от 50 до 300 млн долларов и занимает от 6 до 12 лет. В настоящее время более 150 сортов ГМО разрешены к применению, а тысячи новых разрабатываются и проходят испытания.

Продажа трансгенных культур на мировом рынке доходит до 5 млрд. долларов, что составляет 1% от всей международной торговли растительных продуктов питания.

В мире посевные площади под ГМ-растения ежегодно увеличиваются примерно на 60%. Очевидно, сейчас они превышают 50 млн га, что составляет около 3%-5% от площади всех занятых под посевами земель. В производстве пищевых продуктов используются 70% ГМ-соя, 25% ГМ-кукурузы, а также картофель, рис, рапс, томаты, сахарная свекла. Основной производитель продукции с содержанием ГМО – США 68%, 12% ГМ-продуктов производит Аргентина, 6% Канада, 5% Бразилия, 4% - Китай. /2/ (рисунок 1,2)

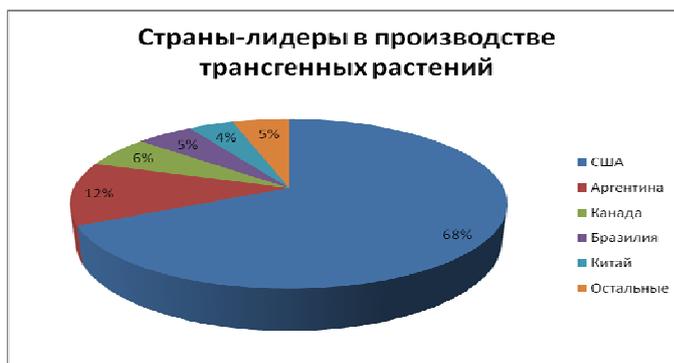


Рисунок 1 - Страны-лидеры в производстве трансгенных растений

Как видно из представленных рисунков, лидером в производстве ГМ-продукции являются США. Большая часть этих продуктов используется на экспорт. Однако в настоящее время все больше стран принимают законы об обязательной маркировке таких товаров и даже о запрете их ввоза на определенные территории. Например, страны Евросоюза все больше обращают внимание на исследования, доказывающие отрицательное влияние этих продуктов на здоровье человека. Около 50 стран готовы принять законы, регламентирующие ввоз на их территорию ГМ-продукции. Это затрагивает коммерческие интересы США [3].

При создании трансгенных растений селекционерами преследуются следующие цели: повышение урожайности; сокращение сроков вегетации и получение нескольких урожаев в год; приобретение растениями токсичности для некоторых видов вредителей; повышение устойчивости к неблагоприятным климатическим условиям; устойчивость некоторым к гербицидам; устойчивость к насекомым-вредителям; устойчивость к вирусам; приобретение растениями способности синтезировать определенные белки животного происхождения; повышение питательных свойств растений; получение растений со свойствами «живых вакцин» и многие другие.

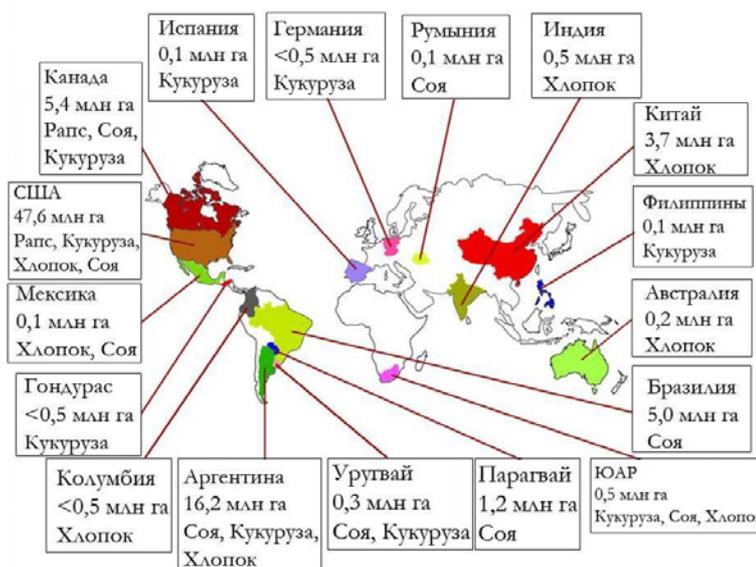


Рисунок 2 - Карта мира с площадями, занятыми под трансгенные растения, и их основные культуры.

На восьмидесяти с лишним миллионах гектаров мирового трансгенного поля растения, устойчивые к насекомым за счет Bt-токсинов и других инсектицидных белков, занимают всего 8%. 70% – растения, способные разлагать молекулы различных гербицидов [4,5,6]. На борьбу с сорняками при этом требуется вчетверо меньше ядовитой «химии», чем на обычных полях. Остальное – это растения, устойчивые к вирусам, грибкам, нематодам и другим вредителям, холоду, жаре, засухе и засолению или долго не портящиеся при хранении.

Для оценки степени опасности ГМ-продуктов требуются детальные генетические и токсикологические обследования организма на разных стадиях его развития. После первых успешных экспериментов с рекомбинацией молекул ДНК в пробирке появились первые сомнения и опасения, не принесет ли генная инженерия вред природе и человечеству. Многие ученые опасались, что трансгенные организмы, созданные без учета их вероятных экологических характеристик и не прошедшие длительной совместной эволюции с природными организмами, «вырвавшись из пробирки на свободу», смогут бесконтрольно и неограниченно

размножиться. Отсюда можно выделить следующие основные риски, связанные с использованием ГМО, которые можно объединить в три группы: пищевые, экологические и агротехнические.

Пищевые риски:

- непосредственное действие токсичных и аллергенных трансгенных белков ГМО;
- различные нарушения здоровья в результате появления в ГМО новых, незапланированных белков или токсичных для человека продуктов метаболизма;
- негативное воздействие на здоровье может также проявиться в связи с наличием во встраиваемом фрагменте ДНК «технологического мусора», включающего, в том числе, вирусные промоторы, прежде всего 35S промотор, и бактериальные терминаторы;
- угроза токсического поражения и мутационная угроза.

Экологические риски:

- снижение сортового разнообразия сельскохозяйственных культур вследствие массового применения ГМО, полученных из ограниченного набора родительских сортов;
- неконтролируемый перенос конструкций, особенно определяющих различные типы устойчивости к пестицидам, вредителям и болезням растений, вследствие переопыления с дикорастущими родственными и предковыми видами;
- риски, опосредованные накоплением гербицидов и их метаболитов в устойчивых сортах и видах сельскохозяйственных растений;
- риски горизонтального переноса трансгенных конструкций, в первую очередь в геном симбионтных для человека и животных бактерий (*E.coli*, *Lactobacillus (acidophilus, bifidus, bulgaricus, caucasicus, Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium* и др.).
- негативное влияние на биоразнообразие через поражение токсичными трансгенными белками нецелевых насекомых и почвенной микрофлоры и нарушении трофических цепей.
- риски быстрого появления устойчивости к используемым трансгенным токсинам у насекомых-фитофагов, бактерий, грибов и других вредителей, под действием отбора на признак устойчивости, высокоэффективного для этих организмов;
- риски появления новых, более патогенных штаммов фитовирусов, при взаимодействии фитовирусов с трансгенными конструкциями, проявляющими локальную нестабильность в геноме растения-хозяина и тем самым являющимися наиболее вероятной мишенью для рекомбинации с вирусной ДНК.

Агротехнические риски:

- риски непредсказуемых изменений нецелевых свойств и признаков модифицированных сортов, связанные с плейотропным действием введенного гена.
- риски отсроченного изменения свойств, через несколько поколений, связанные с адаптацией нового гена генома и проявлением как новых плейотропных свойств, так и изменением уже декларированных;
- возможность использования производителями терминальных технологий для монополизации производства семенного материала.

Стремительно растущее население мира, опустынивание и обеднение почв, меняющийся климат, невозможность неограниченного обновления видов пестицидов инсектицидов и гербицидов требует постоянного увеличения количества и улучшения качества выращиваемых сельскохозяйственных культур. Исходя из этого, можно выделить основные из положительных сторон применения ГМ-технологий:

- увеличение сельскохозяйственной производительности;
- преимущества трансгенных организмов перед естественными;
- уменьшение ущерба окружающей среде от использования ядохимикатов;
- сохранение биоразнообразия;
- экономическая выгода;
- медицинские аспекты.

Этот список далеко не полный, и необходимость и даже неизбежность получения трансгенных организмов уже не вызывает сомнений. Однако конечные потребители имеют законное право выбора, следовательно, остро встает вопрос о необходимости обязательного выявления компонентов трансгенных растений в продуктах питания и их последующей маркировке.

Повсеместно в СМИ сообщается о применении рядом компаний пищевой отрасли ГМО в производстве продуктов питания. Так, например, по данным международной экологической организации «GREENPEACE», следующие известные в мире компании используют генетически модифицированные ингредиенты при выпуске своей продукции: Kellogg's, Nestle, Unilever, Heinz Foods, Hershey's, Coca-Cola, McDonald's, Danon, Similac, Cadbury, Mars, PepsiCo и некоторые другие [2]. Продукция этих компаний широко известна и казахстанском рынке. «GREENPEACE» занимается выявлением негативного воздействия на окружающую среду и здоровье человека, однако основатель этой организации П.Мур заявил о том, что генетическая модификация организмов несет человечеству неопределимую пользу по сравнению с гипотетическими рисками [2].

В Казахстане вопросом ГМО обеспокоены лишь некоторые организации. Исследования, проводимые в этой области, ничтожно малы и не идут за пределы выявления ГМО в продуктах питания. Хотя и эти тесты дают результаты. К примеру, установлено, что 60-75% всех импортируемых в страну продуктов питания

содержат ГМ-компоненты [6,7]. Отсутствие же необходимого оборудования в стране препятствует другим видам исследования.

В октябре 2000 г. Казахстан присоединился к Охрусской Конвенции о доступе к информации, участии общественности в процессе принятия решений и доступе к правосудию по вопросам, касающимся окружающей среды. А принятые поправки 3 июня 2005 г. в Алматы, расширяющие права граждан на получение информации о ГМО, гарантируют общественности участие в решении вопросов, связанных с применением ГМО. Сформирован Национальный координационный комитет (НКК) по биобезопасности, занимающийся мониторингом правовой базы по ГМО в Казахстане и процедурами разработки нормативов по биобезопасности. К примеру, в ряде стран СНГ – России, Грузии, Молдове, Украине давно введена обязательная маркировка ГМ-продукции.

Закон «О качестве и безопасности пищевых продуктов», который запрещает использование ГМО в производстве продуктов детского, лечебно-профилактического и диетического питания, а также устанавливает нормы по обязательной маркировке продуктов, полученных с помощью ГМО, был принят еще в 2004 году. Однако, несмотря на то, что закон действует уже пять лет, в Казахстане до сих пор не создана эффективная система, гарантирующая выполнения данных норм. За прошедший период только в Академии питания была создана лаборатория, которая протестировала лишь небольшой ряд наименований продуктов казахстанского рынка из всего того разнообразия, которое существует.

Согласно данным социологического опроса, проведенного «Фондом интеграции экологической культуры» в Алматы, 98 процентов горожан считают, что продукты с генетически модифицированными компонентами должны быть промаркированы. 38 процентов опрошенных не стали бы покупать продукты, в составе которых указаны ГМ-компоненты, 31 процент не уверены в этом. Еще 93 процента поддерживают принятие в Казахстане закона об обязательной маркировке продуктов с ГМ-компонентами, и 91 процент хотели бы знать об использовании ГМО в Казахстане [6,8].

По данным «Фонда интеграции экологической культуры», на территории Казахстана ГМИ чаще всего встречаются в продуктах, содержащих сою: 17,7 % мясных полуфабрикатов, в 16,7 % хлебобулочных и мукомольно-крупяных изделий, в 16,4 % соевых продуктов [1,6]. В группу риска также входят шоколад, газированные напитки, чипсы, детские молочные смеси и многие другие продукты питания. Их товарное производство налажено в США, Аргентине, Канаде, Австралии, Китае, Мексике, Испании, Франции, Южной Африке, Португалии, Румынии. Агробизнес в этой сфере развивается стремительными темпами и по уровню инвестиций и динамики увеличения прибылей сравним только со сферой компьютерных технологий. Суммы продаж исчисляются многими миллиардами долларов.

Для выявления генетически модифицированных ингредиентов в различных продуктах питания на сегодняшний день наиболее эффективным является метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), позволяющий определять ничтожно малые количества любых чужеродных генов [9].

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - метод амплификации ДНК *in vitro*, с помощью которого в течение нескольких часов можно выделить и размножить определенную последовательность ДНК в миллиарды раз. Возможность получения огромного количества копий одного строго определенного участка генома значительно упрощает исследование имеющегося образца ДНК. В настоящее время разработаны тест-системы для количественного определения ГМО с помощью Real-time ПЦР. Показана 100%-я эффективность применения ПЦР в реальном времени как для выявления специфичного гена, так и трансгена [10].

Поскольку на сегодняшний день наиболее распространенным трансгенным растением является ГМ-соя, то первые исследования по применению Real-time ПЦР были поставлены именно на этом объекте. Были отработаны условия, созданы тест-системы для проведения количественного анализа на наличие трансгенной сои [11].

В течение трех лет на кафедре ботаники Карагандинского государственного университета им. Е.А. Букетова и в лаборатории ДНК-диагностики «Здравницы Дипнера» проводились эксперименты по определению генетически модифицированных организмов в продуктах питания, в том числе в мясных, молочных, шоколадных и других продуктах. В результате этих исследований с использованием метода ПЦР обнаружены трансгенные соя и кукуруза [12]. Применялись тест-системы «ПЛАНТ-СКРИН», «ГМ-соя-40-3-2», «Терминатор Nos» [13]. В настоящее время проводится анализ мясных паштетов и крабовых палочек на предмет обнаружения в них генетически модифицированных компонентов. Планируется провести секвенирование тех фрагментов ДНК, которые выявлялись в описанных тест-системах, однако их размеры не совпадали с положительными контрольными образцами.

Литература

- 1 <http://www.biosafety.ru>
- 2 <http://www.greenpeace.org>
- 3 J.G. Carrau, R.C. Lopez *The GMO regulation in the EU and the commercial conflict with the United States report on 10 congress EAAE, Exploring Diversity in the European Agri-Food System, Zaragoza, Spain, 28-31 August 2002.*
- 4 Пирузян Э.С. *Основы генетической инженерии растений. М.: Наука, 1988. – 304 с.*