

# Глифосат: репродуктивное старение и хромота

Е. Ёылдырым, Г. Лаптев, Д. Тюрина, Н. Новикова, Л. Ильина,

Е. Пономарева, В. Филиппова, К. Соколова, И. Ключникова, В. Заикин, Т. Околева

**Присутствие в большинстве компонентов рациона ксенобиотиков (чужеродных, ядовитых веществ), включая остаточные количества пестицидов, — это одна из основных причин заболеваемости и снижения продуктивности сельскохозяйственной птицы.**

Во всем мире использование гербицидов — пестицидов для борьбы с сорняками, — увеличивается в геометрической прогрессии. Глифосат — наиболее распространенный гербицид широкого спектра действия, входящий в состав препарата Roundup (Monsanto). Препарат начал получать широчайшее распространение в мире с 1990-х гг., когда производитель создал устойчивые к нему генно-модифицированные сельскохозяйственные культуры — сою, кукурузу, хлопок. А ведь именно кукуруза и соя — одни из основных компонентов кормов для сельскохозяйственной птицы. Устойчивые к данному гербициду культуры содержат глифосат и/или его метаболиты в широком диапазоне концентраций. Тем не менее вещество считалось малотоксичным для животных и человека. Процесс обрушения мифа о безопасности начался, когда ученые Международного агентства по исследованиям рака (IARC) в результате собственного исследования классифицировали это действующее вещество как «вероятно канцерогенное».

Согласно нашим исследованиям (Тюрина и др., 2021), в 96,4% комбикормов для птицы достоверно фиксируется наличие глифосата. В 25% образцов обнаруживается превышение нормы по глифосатам (минимум в 1,1–1,7 раза).

## Нарушения работы генов продуктивности

Многие птицефабрики стремятся повысить продуктивный потенциал своего поголовья за счет использования лучших ресурсов мирового генофонда, от которых ждут высокой продуктивности. Однако следует помнить, что не только ДНК обуславливает признаки организма. Важным механизмом, определяющим, насколько будут активны те или иные гены, является их экспрессия. Это фактическая работа генов в процессе развития организмов, которая имеет связь не только с последовательностью ДНК, а включает в себя еще и этап синтеза РНК. Большинство генов могут не активироваться никогда. То есть генетический потенциал у двух животных или птиц может быть абсолютно одинаковым. Но в условиях интенсивного животноводства и птицеводства многочисленные производственные стрессы изменяют экспрессию генов

в негативную сторону, поэтому во многих хозяйствах реализовать генетический потенциал в полной мере не удается.

При поддержке проекта Российского научного фонда № 22-16-00128 (руководитель д-р биол. наук Лаптев Г.Ю.) впервые в России мы получили уникальные результаты анализа дифференциальной экспрессии всех генов, присутствующих в геноме, в тканях кишечника у птиц с помощью высокопроизводительного RNA-seq на фоне различных дозровок глифосата. Анализ выполняли при использовании наборов TruSeq Stranded mRNA и MiSeq Reagent Kit v3 (150 cycle) производства Illumina. В результате биоинформатической обработки данных при помощи программного обеспечения Salmon удалось получить исчерпывающую информацию об изменениях транскриптома (совокупности всех экспрессирующихся генов организма) в ответ на влияние гербицида: экспрессии 33 тысяч генов. 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 свыше 11 тысяч генов. В частности, глифосат вызывал активацию (от десятков до тысяч раз и более) генов апоптоза (т.е. клеточной гибели) (Casp1, Casp2, Casp6, Casp8, Casp9), провоспалительных интерлейкинов (IL1 $\beta$ , IL4, IL7, IL8, IL10, IL15, IL18, IL22), онкогенов (RAB11A, RAB11B, RAB10, RAB27A, RAB9A, CRK, ETS1) и др. Как уже было отмечено, 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 кровотоки.

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. Это выразалось в снижении показателей иммунитета, изменении биохимических параметров крови, активности пищеварительных ферментов, снижении продуктивности птицы.

## Снижение репродуктивного долголетия

Резкое увеличение стоимости кормов, а значит, выкармливания ремонтного молодняка, дает толчок программам с длительным использованием несушек. За рубежом селекционеры в области яичного птицеводства работают над сохранением уровня высокой интенсивности яйценоскости при более продолжительном использовании птицы (до 80, 90 и даже 100 недель жизни) (Немировский, 2011).

С позиции рыночной экономики технология эксплуатации кур сроком менее года не эффективна, по сравнению с двух- или трехгодичной. Анализ показывает (Фисинин и др., 2013), что современные кроссы кур сохраняют резервы для их успешной эксплуатации в течение 2-го и 3-го циклов яйценоскости. Границы репродуктивного долголетия несушек в основном определены генетически, тем не менее они могут быть «раздвинуты» под воздействием определенных факторов, способных оказать влияние на «работу» генов (ISA FOCUS, 2014).

Так, например, ген mTOR (mammalian target of rapamycin) играет важную роль в процессах «старения» организмов. Известно, что «блокировка» активности гена mTOR продлевает репродуктивное долголетие.

В результате исследований мы установили, что присутствие глифосата в кормах влияет на увеличение экспрессии генов, кодирующих различные

субъединицы (участки) белка mTOR (рис. 1). Причем эффект в основном дозозависимый. С физиологической точки зрения наличие глифосата в кормах может привести к снижению интенсивности яйценоскости, ухудшению репродуктивного долголетия; в процессе принудительной линьки часть кур может погибнуть, показатели живой массы выжившей птицы могут не вернуться к ожидаемому состоянию на начало продуктивного периода.

Поэтому полученные нами данные свидетельствуют в пользу того, что присутствие глифосата в кормах — это важный, но неучтенный фактор риска снижения репродуктивного долголетия несушек, действующий через «поломку» генетической программы.

## Хромота

Внедрение современных высокопродуктивных кроссов привело к значительному увеличению проблем опорно-двигательной системы у сельскохозяйственной птицы. На сегодняшний день в среднем 16% поголовья и более может страдать хромотой. Хромота приводит к уменьшению подвижности, как следствие — к ухудшению потребления корма и воды, снижению устойчивости к неблагоприятным факторам, увеличению риска каннибализма со стороны здоровой птицы, высокой предрасположенности к повреждениям кожи.

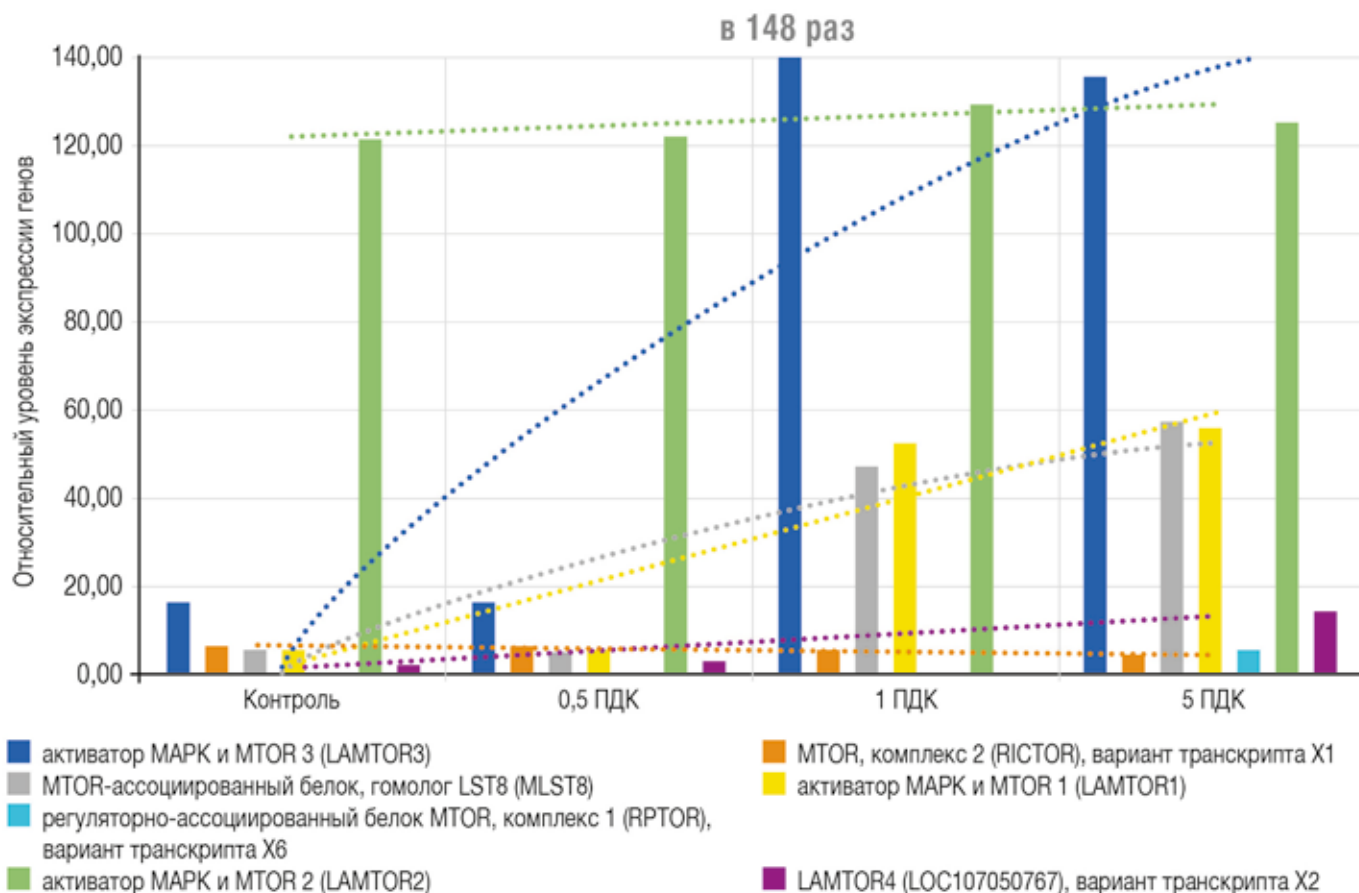


Рис. 1. Влияние глифосата кормов на экспрессию генов репродуктивного долголетия птицы с помощью метода высокопроизводительного RNA-seq: Контроль — без глифосата, 0,5ПДК — глифосат на уровне 0,5 ПДК, 1ПДК — глифосат на уровне 1 ПДК, 5ПДК — глифосат на уровне 5 ПДК

Как выяснилось, немаловажную роль в развитии хромоты играет присутствие глифосата в кормах для птицы.

Так, недостаток кальция в организме птицы часто приводит к хрупкости костей, остеопорозу и повышенному риску переломов. Дефицит витамина D<sub>3</sub> ведет к развитию гипокальциемии. При этом нарушения усвоения витамина D нередко наблюдаются при заболеваниях печени и почек.

Мы провели эксперимент в КФХ, расположенном в Тосненском районе Ленинградской области, по изучению комбинированного действия глифосата и антибиотиков на бройлеров. Были сформированы группы: I группа — контрольная — получала основной рацион (ОР), II опытная — ОР с добавлением глифосата (20 мг/кг корма, что соответствовало 1 ПДК для продуктов питания человека (СанПиН 1.2.3685-21); III опытная — ОР с добавлением глифосата и ветеринарных антибиотиков; IV опытная — ОР с добавлением глифосата и кокцидиостатика.

Результаты патологоанатомического вскрытия птицы на 40-е сутки выращивания отражены на рис. 2.

Основная доля выявленных токсических поражений печени приходилась на цыплят, получавших сочетание глифосата и антибиотиков (29,0%) и глифосата с кокцидиостатиком (35,7%) (рис. 2). Действительно, печень является основ-

ным органом биотрансформации ксенобиотиков и ядов. Интенсивное выращивание и высокая продуктивность современных кроссов приводят к повышенной ее восприимчивости к различным воздействиям, включая остаточные количества пестицидов в кормах. В то же время печень — многофункциональный орган, имеющий большое значение в синтезе белка и других процессах. Поэтому повреждение печени под влиянием глифосата и лекарственных веществ может значительно повлиять на способность иммунной системы реагировать на заболевания, включая заболевания конечностей.

С другой стороны, наши исследования, проведенные с применением NGS-секвенирования и биоинформатической обработки его данных, показали, что при введении в рацион птицы комбикормов, содержащих глифосат, у кишечного микробиома нарушаются метаболические пути синтеза витаминов группы B, включая биотин. А ведь биотин также играет важную роль в профилактике хромоты. Он необходим для метаболизма углеводов, липидов и белков — по сути, это витамин, который действует как кофактор (молекула-помощник) в важнейших ферментативных реакциях. На фоне его недостатка у птицы может развиваться дерматит, в более тяжелых случаях — перозис (образование обширных повреждений на подушечках лап).

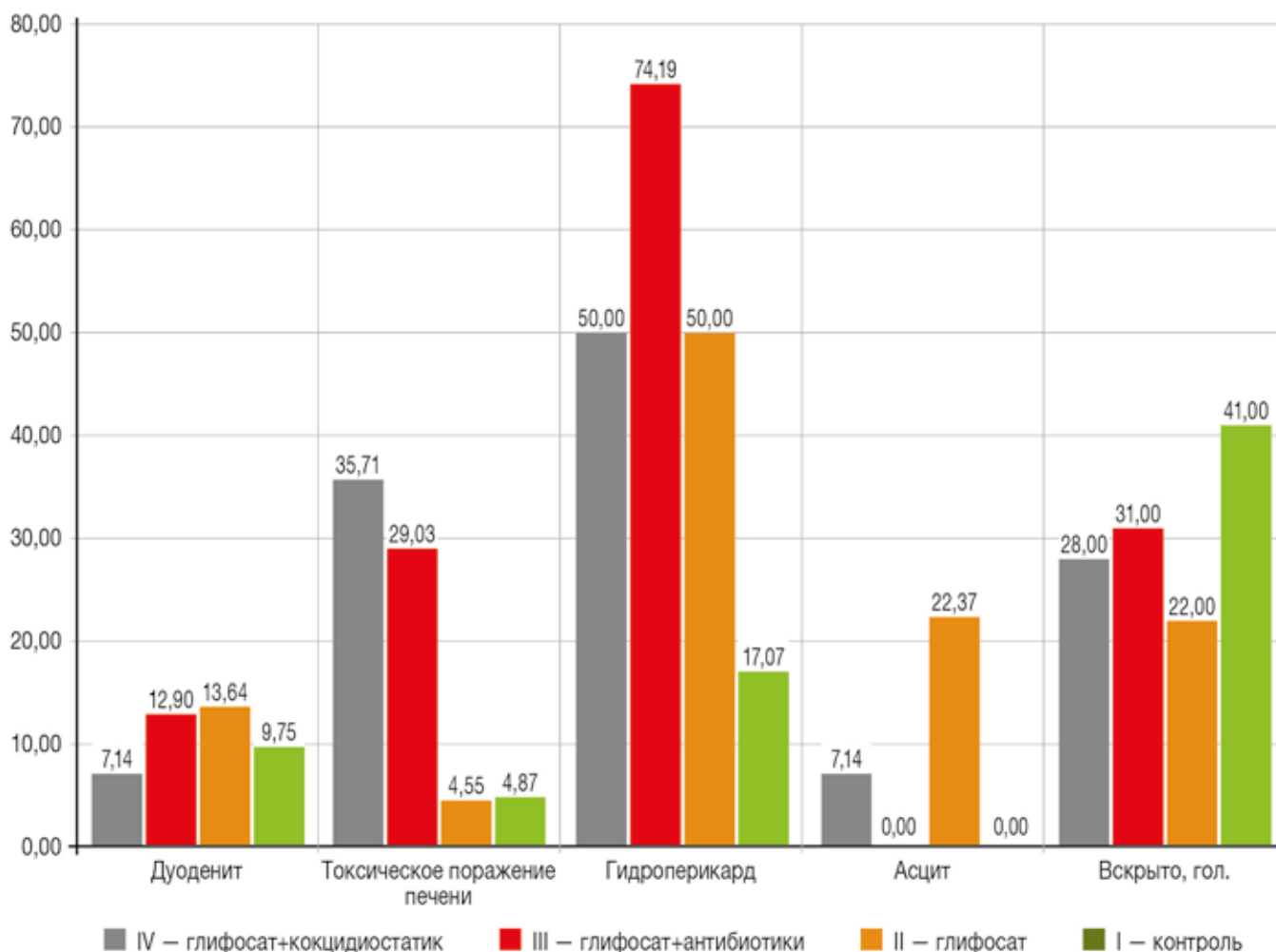


Рис. 2. Результаты патоморфологических изменений бройлеров под влиянием ксенобиотиков

Кроме того, нами доказано, что глифосат, присутствующий в кормах, негативным образом влияет на структуру микробиоты желудочно-кишечного тракта птицы. В частности, представители нормобиоты начинают исчезать даже при относительно низких концентрациях гербицида, в то время как отдельные патогены, такие как *Clostridium perfringens*, *Salmonella enteritidis* и *S. gallinarum*, напротив, способны расти и размножаться даже при его повышенной концентрации.

В то же время кости ног бройлеров подвергаются чрезмерному механическому воздействию из-за резко непропорциональной массы тела. Механическое воздействие провоцирует микротрещины между слоями хряща, что приводит к снижению кровотока и, в конечном итоге, к некрозу. В результате инфицирования этих остеохондротических трещин в проксимальных пластинках роста бедренной и большеберцовой костей обычно возникает инфекция, которая может быть вызвана бактериальной транслокацией (прохождением через слизистую оболочку) из желудочно-кишечного тракта, что приводит к хромоте.

### Как противостоять?

Активировать биологические резервы сохранения репродуктивных качеств сельскохозяйственной птицы в неблагоприятных условиях окружающей среды можно при использовании биопрепаратов — деструкторов глифосата на основе специально отобраных бактериальных штаммов.

В НПК «БИОТРОФ» в рамках гранта РНФ был разработан биопрепарат на основе пробиотических микроорганизмов — деструкторов глифосата, который может нивелировать негативное действие глифосата на птицу.

Мы изучили сочетанное действие глифосата на фоне пробиотика-биодеструктора в монорегиме и его комбинации с антибиотиками на бройлеров. Были сформированы следующие группы: 1-я группа — контроль — получала основной рацион (ОР); 2-я опытная — ОР с добавлением глифосата (20 мг/кг корма); 3-я опытная — ОР с добавлением глифосата и пробиотика; 4-я опытная — ОР с добавлением глифосата, пробиотика и ветеринарных антибиотиков.

Средняя живая масса у цыплят под влиянием пробиотика (на фоне глифосата) оказалась практически равной таковой у птицы контрольной группы (без добавления глифосата), тогда как средняя живая масса бройлеров 2-й группы (глифосат в монорегиме) снизилась на 2,9% по сравнению с «чистым» контролем (рис. 3).

При проведении клинического осмотра на 35-е сутки выращивания птицы установлено, что в опытной группе с глифосатом в монорегиме число заболеваний конечностей возросло на 43,7% по сравнению с контролем. Пробиотик же снизил частоту поражений ног у птицы на фоне глифосата. Важно отметить, что возрастание токсической нагрузки на организм путем ввода глифосата, а также антибактериальных препаратов увеличило чувствительность организма к развитию заболеваний конечностей.

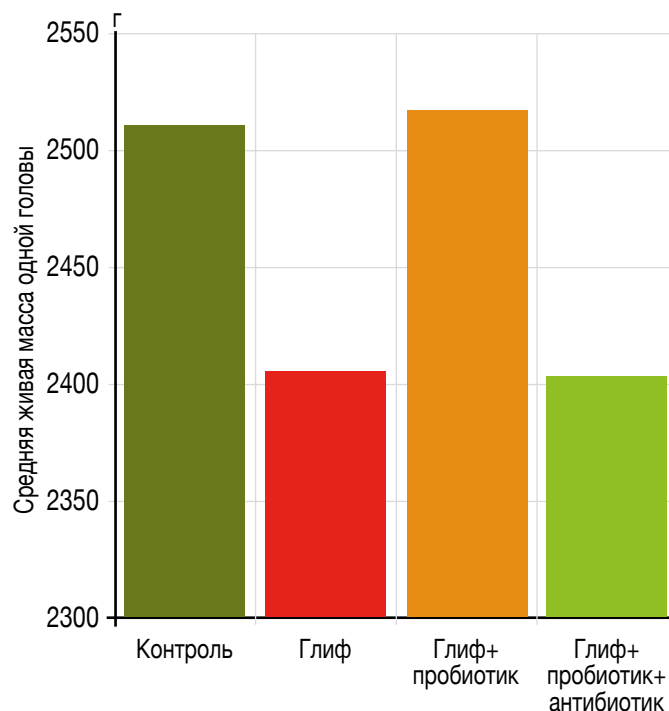


Рис. 3. Средняя живая масса бройлеров в 35 сут. на фоне глифосата (глиф.), пробиотика и антибиотиков

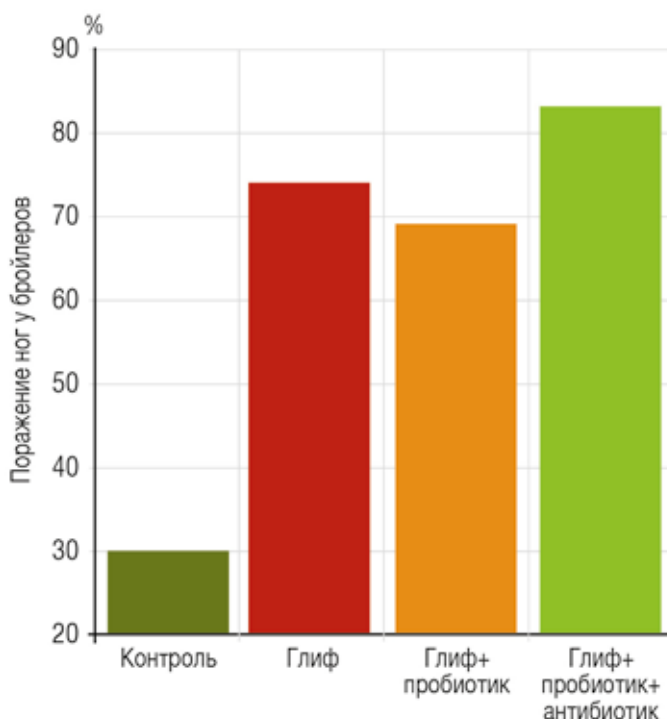
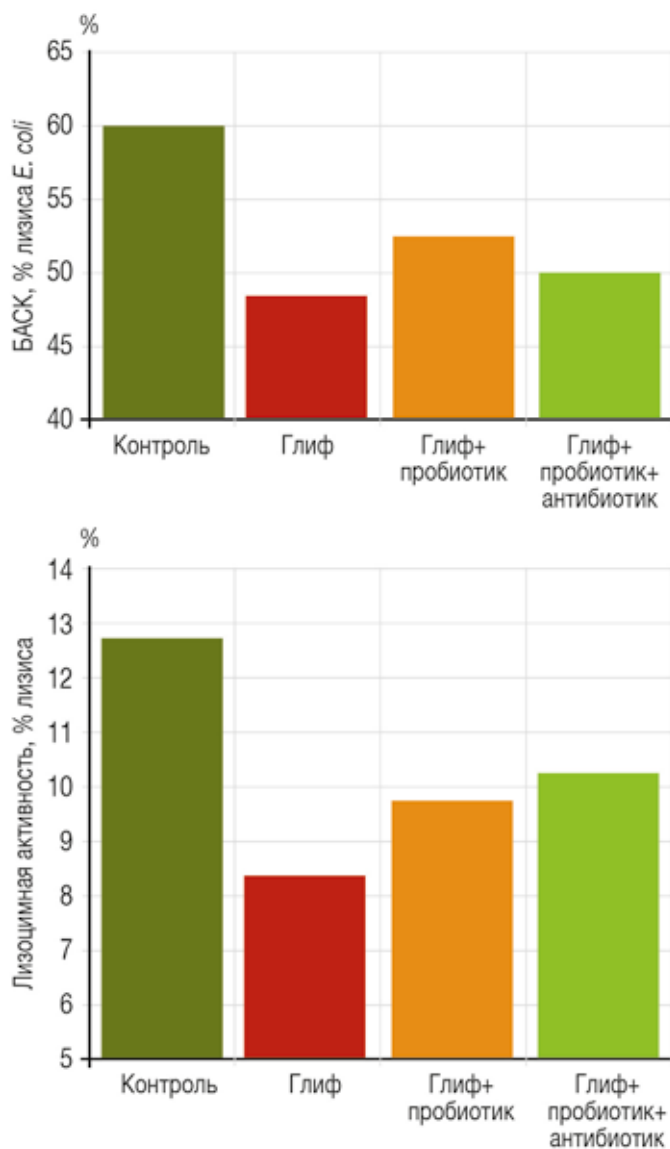


Рис. 4. Случаи поражения ног у бройлеров в 35 сут. на фоне глифосата, пробиотика и антибиотиков

Эффект по снижению токсического действия глифосата на организм птицы под влиянием пробиотика отражался и на таких показателях физиологического состояния, как биохимические параметры крови, а также показатели ее неспецифической резистентности.

При оценке состояния иммунной системы выявлено, что у подопытной птицы, которой скармливали

глифосат изолированно, отмечено наиболее выраженное снижение концентрации иммуноглобулинов, бактерицидной активности крови (БАСК) и лизоцимной активности, что указывает на угнетение под влиянием данного соединения механизмов врожденного и приобретенного иммунитета (рис. 5).

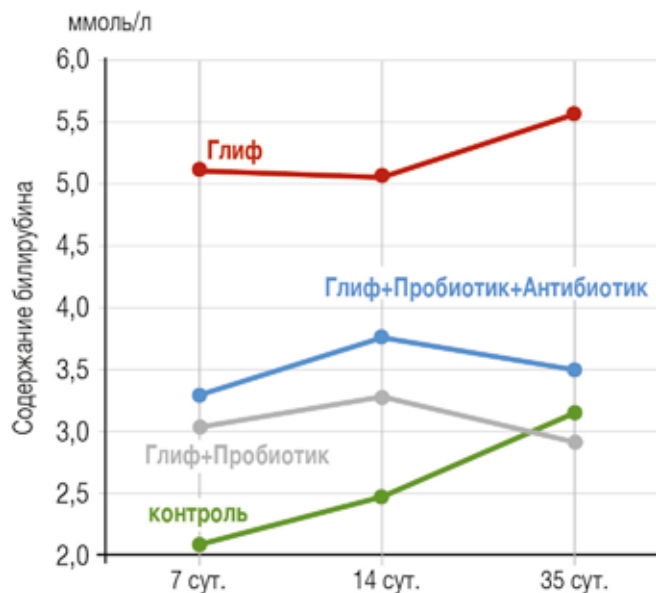


**Рис. 5. Показатели неспецифической резистентности сыворотки крови бройлеров на фоне глифосата (глиф.), пробиотика и антибиотиков**

Было отмечено корректирующее влияние биопрепарата на иммунную систему бройлеров на фоне глифосата.

При анализе активности ферментов крови следует отметить, что у птицы 2-й группы (на фоне глифосата в монорежиме) на протяжении всего исследования отмечалось повышение активности амилазы, что указывает на токсическое действие глифосата на поджелудочную железу. Также у цыплят данной группы отмечено увеличение активности АлАТ, что может быть обусловлено токсическим воздействием глифосата на печень. Это подтверждается аналогичной динамикой уровня общего билирубина в крови, который является одним из маркеров, характеризу-

ющих работу печени и степень ее адаптации к воздействию большинства ксенобиотиков. При сочетанном применении глифосата, пробиотиков и антибиотиков наиболее благоприятными относительно значений контрольной группы были изменения в группе цыплят, которым скармливали глифосат и пробиотик (группа 3). Это указывает на снижение токсического воздействия на печень и поджелудочную железу под влиянием биопрепарата-деструктора.



**Рис. 6. Содержание билирубина в крови бройлеров на фоне глифосата (глиф.), пробиотика и антибиотиков**

## Подводя итоги

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. Сколько бы пользы сельскому хозяйству ни приносил глифосат, его негативное влияние на промышленное птицеводство невозможно не заметить. Мы получили еще несколько доказательств, что это «безопасное» химическое вещество может самым неожиданным образом повлиять на птицу, в частности провоцировать репродуктивное старение и хромоту.

В НПК «БИОТРОФ» в рамках гранта РНФ разработан биопрепарат на основе пробиотических микроорганизмов-деструкторов, который может нивелировать негативное действие глифосата на птицу. Бактерии в составе биопрепарата принимают участие в детоксикации глифосатов за счет присутствия в геноме особого набора ферментов биодеструкции и оказывают влияние на оздоровление поджелудочной железы, печени, ног птицы — терапевтических мишеней при токсикозах. Это позитивно сказывается на состоянии здоровья, продуктивности и репродуктивного долголетия птицы.