

19-2776

ДУБЛЕТ

**ОЦЕНКА СЕМЯН СОРТОВ СОИ И
КУКУРУЗЫ НА СОДЕРЖАНИЕ В НИХ
ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ ТРАНСФОРМАЦИЙ
И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ОБМЕН ВЕЩЕСТВ**

МОНОГРАФИЯ



Орёл - 2019

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЛОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.В. ПАРАХИНА»**

**ОЦЕНКА СЕМЯН СОРТОВ СОИ И
КУКУРУЗЫ НА СОДЕРЖАНИЕ В НИХ
ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ ТРАНСФОРМАЦИЙ
И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ОБМЕН ВЕЩЕСТВ**

МОНОГРАФИЯ

Орёл - 2019

Юшкова Е.И. – д.б.н., профессор, зав. кафедрой общей, биологической, фармацевтической химии и фармакогнозии Медицинского института «Орловский государственный университет им. И.С.Тургенева»;
Мамаев А.В. – д.б.н., профессор, зав. кафедрой продуктов питания животного происхождения ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет им. Н.В.Парахина».

Оценка семян сортов сои и кукурузы на содержание в них генно-инженерных трансформаций и их влияние на обмен веществ: монография / Павловская Н.Е., Гагарина И.Н., Гнеушева И.А., Солохина И.Ю., Крюков В.И., Горькова И.В., Костромичева Е.В., Лушников А.В., Полехина Н.Н., Яковлева И.В., Агеева Н.Ю. – Орёл: Изд-во ФГБОУ ВО Орловский ГАУ, 2019. – 330 с. – ISBN 978-5-93382-324-7.

Авторы:

Павловская Н.Е. – д.б.н., профессор, зав. каф. биотехнологии;
Гагарина И.Н. – к.с.-х.н., доцент;
Гнеушева И.А. – к.т.н., доцент;
Солохина И.Ю. – к.б.н., доцент;
Крюков В.И. – д.б.н., профессор НИИЦ;
Горькова И.В. – к.с.-х.н., доцент;
Костромичева Е.В. – к.б.н., доцент;
Лушников А.В. – н.с. ЦКП «Орловский региональный центр сельскохозяйственной биотехнологии»;
Полехина Н.Н. – к.б.н., ст. лаб. каф. химии;
Яковлева И.В. – лаборант ЦКП;
Агеева Н.Ю. – лаборант.

В монографии представлены результаты исследований, выполненных коллективом ЦКП «Орловский региональный центр сельскохозяйственной биотехнологии» и кафедрой биотехнологии «Орловский государственный аграрный университет им. Н.В.Парахина» по заказу Минсельхоза России, протокол заседания научно-технического совета ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет им. Н.В.Парахина», протокол № 1 от 27 декабря 2016 г.

Предназначена для научных работников, специалистов аграрного производства и государственного управления, преподавателей вузов, аспирантов и студентов. Рекомендовано к печати на заседании научно-технического совета ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет им. Н.В.Парахина», протокол № 6 от 23 ноября 2017 г.

УДК 573.6.086.83

© Оформление «Издательство ФГБОУ ВО Орловский ГАУ», 2019
ISBN 978-5-93382-324-7 ФГБОУ ВО Орловский ГАУ, 2019

Содержание

Нормативные ссылки	10
Термины и определения	12
Обозначения и сокращения	13
Введение	14
Часть I. Разработка методики оценки семян сортов на содержание в них генно-инженерных трансформаций	17
Раздел 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	17
1.1. Современные методы идентификации генно-инженерных модификаций в растительном объекте	17
1.2 Цитогенетические исследования сои	29
1.2.1 Нормальный кариотип сои	30
1.2.2 Структурные aberrации в кариотипе сои	33
1.3. Цитогенетические исследования кукурузы	35
1.3.1 Нормальный кариотип кукурузы	36
1.3.2 Структурные aberrации в кариотипе кукурузы	39
1.4 Определение активности лектинов	40
1.5 Определение активности ингибиторов	44
1.6 Ферменты антиоксидантной системы растений	52
1.6.1 Супероксиддисмутаза	52
1.6.2 Ацетилхолинэстераза	55
1.6.3 Малоновый диальдегид	58
РАЗДЕЛ 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	60
2.1 Объекты исследования	60
2.2 Методы исследования	63
РАЗДЕЛ 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	78
3.1 Выявление наличия генно-инженерных трансформаций в сельскохозяйственных растениях методом ПЦР в реальном времени	78
3.1.1 Выявление наличия генно-инженерных трансформаций в семенах сельскохозяйственных растений методом ПЦР в реальном времени	78
3.1.2 Выявление наличия генно-инженерных трансформаций в проростках семян сельскохозяйственных растений методом ПЦР в реальном времени	79

3.2 Кариологический анализ aberrаций и делеций в хромосомах на проростках генномодифицированных растений	81
3.2.1 Анализ митотической активности	84
3.2.2 Частота aberrаций хромосом в проростках сои	84
3.2.3 Частота aberrаций хромосом в клетках проростков кукурузы	92
3.3 Определение некоторых физиолого-биохимических показателей в семенах и проростках сои и кукурузы	95
3.3.1 Определение активности лектинов в семенах сои и кукурузы	95
3.3.2 Определение активности ингибиторов протеиназ в семенах сои и кукурузы	96
3.3.3 Определение активности ацетилхолинэстеразы в семенах и проростках сои и кукурузы	99
3.3.4 Определение активности супероксиддисмутазы в семенах и проростках сои и кукурузы	103
3.3.5 Определение содержания малонового диальдегида в семенах и проростках сои и кукурузы	106
3.4 Разработка физиолого-биохимического алгоритма оценки семян сои и кукурузы с генно-инженерными трансформациями	109
3.4.1 Регрессионный анализ физиолого-биохимических показателей семян и проростков ГМО-сои и ГМО-кукурузы	110
3.4.2 Моделирование прогнозных значений физиолого-биохимических показателей семян ГМО-сои	123
3.4.3 Физиолого-биохимическая модель идентификации генно-трансформированных семян сельскохозяйственных растений, обработанных протравителем на основе производных фенилпиррола	128
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	134
СПИСОК ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ К ЧАСТИ I	138
ЧАСТЬ II. «Исследование влияния генно-инженерных трансформаций сельскохозяйственных культур на изменения обмена белков, активность антиоксидантных ферментов и низкомолекулярных компонентов растений и контроль безопасности сельскохозяйственной продукции на белых лабораторных мышах»	150

Раздел 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	150
1.1. Анализ литературных данных по влиянию генно-инженерных трансформаций на метаболизм растений. Обоснование основных подходов к выявлению биохимических изменений у растений с генно-инженерными трансформациями и разработке методов контроля безопасности сельскохозяйственной продукции	150
1.2. Мониторинг наличия генно модифицированных сортов сельскохозяйственных растений с целью предотвращения завоза неразрешенной в России сельскохозяйственной продукции	161
1.2.1 Компания СИНТОЛ	161
1.2.2 Тест-системы серии «ГМО скрининг»	162
1.2.3 Обзор разрешенных в Российской Федерации сортов генно-модифицированных сельскохозяйственных растений	163
Раздел 2. Выбор объектов, методов и разработка методик научного исследования	165
2.1 Объекты исследования	165
2.2 Общие методы исследований	167
2.2.1 Метод определения белка по Кьельдалю	167
2.2.2 Метод электрофореза белков	167
2.2.3 Метод определения активности АТФ-азы	168
2.2.4 Метод определения активности супероксиддисмутазы	169
2.2.5 Метод определения пероксидазы	169
2.2.6 Метод определения активности каталазы	170
2.2.7 Метод определения витамина С	171
2.2.8 Метод определения витамина А	172
2.2.9 Методика определения витамина Е	172
2.2.10 Метод контроля безопасности ГМО на белых лабораторных мышах	173
2.2.11 Методы оценки биохимических показателей крови	175
Раздел 3. Исследование содержания и состава белков методом ЭФ в семенах генно – инженерных растений	177
3.1 Содержание сырого протеина в семенах сои и кукурузы	177
3.2 Исследование состава белков методом электрофореза	180
Раздел 4. Исследование активности АТФ-азы	182

Раздел 5. Изучение влияния генно-инженерных трансформаций на активность антиоксидантных ферментов и низкомолекулярных компонентов	187
5.1 Высокомолекулярные компоненты	188
5.1.1 Изучение активности супероксиддисмутазы	188
5.1.2 Изучение активности каталазы	190
5.1.3 Изучение активности пероксидазы	193
5.2 Низкомолекулярные соединения	196
5.2.1 Изучение содержания малонового диальдегида	196
5.2.2 Витамин А	199
5.2.3 Витамин Е	201
5.2.4 Витамин С	204
Раздел 6. Контроль безопасности растений с генно-инженерными трансформациями на белых лабораторных мышах	209
Раздел 7. Разработка рекомендаций по использованию методов экспресс-маркирования в исследованиях на наличие генетически трансформированных изменений	236
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	244
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ К ЧАСТИ 2	247
ПРИЛОЖЕНИЯ К ЧАСТИ I	254
ПРИЛОЖЕНИЯ К ЧАСТИ 2	294
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	
Фото семян сои и кукурузы в процессе роста	294
ПРИЛОЖЕНИЕ 2	
Активность ингибиторов протеиназ в семенах сои	297
ПРИЛОЖЕНИЕ 3	
Показатели малонового диальдегида, нмоль/г	298
ПРИЛОЖЕНИЕ 4	
Показатели витамина А, мкг/100г	299
ПРИЛОЖЕНИЕ 5	
Показатели витамина Е, мг/100г	300
ПРИЛОЖЕНИЕ 6	
Показатели фермента АТФ-азы, мкмоль/г	301
ПРИЛОЖЕНИЕ 7	
Показатели фермента ацетилхолинэстеразы, мкмоль/г	302

ПРИЛОЖЕНИЕ 8	
Динамика активност фермента супероксиддисмутаза в проростках сои (Е/г сырой массы)	303
ПРИЛОЖЕНИЕ 9	
Динамика активност фермента супероксиддисмутаза в проростках кукурузы	304
ПРИЛОЖЕНИЕ 10	
Динамика активност фермента каталаза в проростках сои	304
ПРИЛОЖЕНИЕ 11	
Динамика активност фермента пероксидаза в проростках сои	305
ПРИЛОЖЕНИЕ 12	
Динамика активност фермента пероксидаза в проростках кукурузы	305
ПРИЛОЖЕНИЕ 13	
Динамика активности витамина С в проростках сои, мг/100г	306
ПРИЛОЖЕНИЕ 14	
Динамика активности витамина С в проростках кукурузы, мг/100г	306
ПРИЛОЖЕНИЕ 15	
Условия содержания животных, препарирование	307
ПРИЛОЖЕНИЕ 16	
Методы определения показателей крови лабораторных животных	309
ПРИЛОЖЕНИЕ 18	
Интеллектуальная продукция	325