

**Захаренко В.А.**

**БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И ПОТЕНЦИАЛ  
ПРОДУКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ  
ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ В  
АГРОЭКОСИСТЕМАХ РОССИИ**

# Новизна исследований

*Впервые в России проведены комплексные исследования НИИ Отделения защиты Россельхозакадемии, совместно с Центром «Биоинженерия», по созданию генетически модифицированных растений (ГМР), устойчивых к вредным организмам (на примере устойчивости отечественных сортов картофеля к колорадскому жуку, возбудителям болезней и к гербицидам), продуктивности и качества урожая, включая биологическую опасность для человека, и полезных организмов, экологической опасности загрязнения окружающей среде ГМР.*

# Исполнители и регламентация работ

- *Непосредственные исследователи: ученые ВНИИФ, ВНИИБЗР, ВИЗР, ДВНИИЗР, Среднерусской научно-исследовательской фитопатологической станции в координации с Центром «Биотехнология» РАН. Учреждения получили официальное право проведения работ с генетически модифицированными организмами (ГМО), представленное Министерством промышленности, науки и технологий России и разрешение Межведомственной комиссией по проблемам генно-инженерной деятельности на выполнение исследований в лабораторных и полевых условиях на специализированных полигонах для изучения ГМО.*

## **Методы двухэтапной оценки характеристик генетических конструкций при создании модифицированных растений( ГМР) в лабораторных и полевых условиях.**

- **Первый этап:** получение ГМР включал этапы: отбор на листьях картофеля личинок колорадского жука, погибших от кристалликов энтомотоксина, выделяемых бактериями *Bt*, присутствующих на листьях картофеля; выделение бактерий после посева и выщивание на питательной среде; выделение из бактерий *Bt*, плазмид, несущих ген эндотоксина; обработка плазмиды рестрицирующей эндонуклеазой, (фермент расщепляющий ДНК в определенных местах) для получения фрагментов плазмиды *Bt*, добавление плазмиды, обработанной той же рестрицирующей эндонуклеазой, что и плазмиды *Bt* для клонирования в клетках *Escherichia coli* (*E.coli*), соединение лигирующим путем добавления лигазы (фермент соединяющий разрезанные цепочки ДНК) и получение рекомбинантных ДНК –молекул-химер, части которых взяты из различных источников и соединены в одну молекулу); выделение рекомбинантной плазмиды с генами энтомотоксина; перенос гена в *Ti*- плазмиду агробактерии (агробактерии-почвенные бактерии, обладающие свойством переносить свои гены в геном двудольных растений, в данном случае картофеля); трансформация растительных клеток ( кусочки растений, выращенные в стерильных условиях –экспланты путем культивирования с агробактериями, содержащими *Ti*- плазмиду, во время совместного культивирования в кюветах *Ti*- плазмиды переносятся в геном растения. Полученные растения со встроенным в их геном ДНК и с селектирующим геном; с использованием антибиотика канамицина отбираются трансформированные экспланты в которых функционирует ген устойчивости к канамицину, а с добавлением второго антибиотика избавляются от ненужных агробактерий; отобранные трансгенных регенерирующих бактерий и доращивание их в камерах искусственного климата для испытаний в поле .Этот уровень работ осуществлялся Центром «Биоинженерия» РАН и фирмой Монсанто,
- **Второй этап** относящийся к полевым исследованиям , включал:
- методы и показатели оценки возможной вертикальной передачи гена ГМР дикорастущим родственным растениям; горизонтальной передачи гена фитопатогенным и сапрофитным бактериям, грибам и другим низшим организмам;
- методы и показатели оценки воздействия ГМР на целевые организмы и трофически сопряженные с ними не целевые; состояния и поведения генетических конструкций, встроенных в геном растений (работа целевого гена и побочные эффекты ГМР - поражаемость культурных растений вредителями и возбудителями болезней, влияние на почвенную микрофлору и другие элементы агроэкосистем, в полевых условиях. Этот уровень работ осуществлялся НИИ Отделения защиты растений; Госкомиссией по сортоиспытанию Минсельхоза России в части принятых оценочных показателей при испытаниях.

# Эффективность ГМР картофеля в защите растений от колорадского жука

- Выполнена оценка эффективности **85 трансгенных линий Вt-картофеля**, созданных Центром «Биоинженерия» РАН, на основе отечественных сортов Невский, Луговка и Елизавета, полученных Центром «Биоинженерия» РАН и зарубежных сортов Суперитор НЛ и Рассет Бербанк НЛ фирмы Монсанто в полевых условиях юга России, . В опытах оценивалось состояние развития картофеля и заселение растений колорадским жуком в течение периода вегетации растений. Данные опытов свидетельствуют о том, что в вариантах с ГМР колорадский жук подавлялся практически полностью на всех изучаемых вариантах, картофель не повреждался и полностью сохранял листовую поверхность. **Растения картофеля исходных сортов имели высокую заселенность посадок (2-3 яйцекладках, 15-25 личинках на растение) и были уничтожены полностью.**

# Продуктивность ГМР картофеля

Биологическая эффективность и продуктивность ГМР связана с развитием колорадского жука при массовом заселении вредителем посадок картофеля по результатам опытов СРНИИФС, которая наблюдалась в период бутонизации - цветения картофеля. При этом степень заселения нетрансгенных сортов Руссет Бербанк НЛ и Сантане составлял 100%; численность имаго при 1,3-1,5; яйцекладках - 0,6-0,9, личинок I-II возраста - 13,9- 16, III-IV возрастов - 25,1-39,7 личинок на куст.

При высокой численности вредителя к концу вегетации вегетативная масса нетрансгенных сортов была полностью уничтожена вредителем. Растения трансгенных сортов сохраняли листовую поверхность до конца вегетации, в то время как не трансгенных поедались вредителем. **Продуктивность (урожайность нетрансгенных сортов составляла 46,5-75,5 ц/га; трансгенных - 183,7-193,8 ц/га ) повышалась в более чем в 2-4 раза .**

# Плеотропные эффекты ГМР

- *В большинстве испытанных трансгенных линий сортов Луговка и Невский не отмечено различий по срокам прохождения фаз развития (всходы, бутонизация, цветение, начало естественного отмирания ботвы). Однако у отдельных Vt-линий сорта Луговка выявлено существенное ускорение развития растений и отмирание надземных частей стебля; отсутствие фаз начала и полного цветения, ускоренное естественного отмирания надземной части растений на неделю; с четким прохождением фазы цветения, но разной продолжительностью.*
- *Различия наступления фаз развития растений Vt-линий отмечены также и для линий сорта Невский: отсутствие фазы цветения и раннее на 2 недели начало отмирания надземной части стебля у одних линий, по сравнению с другими линиями. Vt-линий в пределах сортов существенно различались по высоте растений, количеству стеблей в кусте, диаметру куста, количеству и средней массе клубней.*
- *Отмеченные существенные изменения роста и развития, модифицированных и немодифицированных растений разных линий в пределах одного сорта представляют следствие изменений генома , сопровождающих генов и структурных элементов, по существу плеiotропные эффекты ГМР.*

# Побочные эффекты действия ГМР картофеля на вредные насекомые

- *В опытах с ГМР картофеля ВНИИБЗР на фоне высокого заселения картофеля проволочником оценено влияние ГМР картофеля на развитие вредителя по степени повреждения клубней при выращивании картофеля Россет Бербанк НЛ, повреждение клубней проволочником составляло 64%; Россет Бербанк -68%; сорта Супериор НЛ - 36% и сорта Санте - 44%. Показатели повреждения проволочником клубней трансгенных растений незначительно различались по степени повреждения не модифицированного картофеля, побочного влияния ГМР. В опытах ДВНИИЗР трансгенный картофель повреждался 28-точечной коровкой, так же как и не трансгенный по сортам Россет Бербанк НЛ и Супериор НЛ и Невский.*
- *За годы исследований ВНИИБЗР при выращивании трансгенного картофеля оценено влияние Vt- токсина на нецелевых насекомых: энтомофагов (на 37 видов из отрядов жесткокрылых, полужесткокрылых, двукрылых, перепончатокрылых, сетчатокрылых); на фитофагов и сапрофагов ( 25 видов из отрядов многохвосток, прямокрылых, жесткокрылых, чешуекрылых, равнокрылых, полужесткокрылых); на энтомопатогенных нематод (2 вида); фитопатогенов ( макроспориоз, фитофтороз, У - вирус). Во всех случаях не выявлено отрицательного воздействия на развитие изучаемой биоты.*



# Побочные эффекты действия ГМР катофеля на фитопатогены

При искусственном заражении тканей клубней *Fusarium solani* ткани ГМР сортов Россет Бербанк НЛ и Супериор НЛ не заражались грибом, в то время как не трансгенные Россет Бербанк и Санте - заражались. Иная закономерность отмечена при искусственном заражении изолированных листьев и клубней картофеля фитофторой (*Phytophthora infestans*) картофеля, выращиваемого в полевых опытах. Установлен более высокий уровень поражения клубней ГМР Россет Бербанк НЛ-11,3% и Супериор НЛ-13,1%, в сравнении с не трансгенными сортами соответственно -3 и 6%. Различия устойчивости клубней по поражению гнилями связаны, по мнению исследователей, меньшей зрелостью клубней трансгенных сортов по сравнению с нетрансгенными.

В других опытах не установлены различия поражаемости клубней картофеля паршой (*Streptomyces scabies*) и ризоктонией (*Rhizoctonia solani*) при использовании естественного инфекционного фона; возбудителем мокрой бактериальной гнили (*Pectobacterium carotovora*) и зараженности листьев картофеля в фазу цветения вирусами X, M и S

# Перечень ГМР картофеля по группам устойчивости

Центр «Биоинженерия» при проведении работ решал задачу трансформации группы наиболее широко распространенных в России сортов картофеля, для придания им свойства устойчивости к колорадскому жуку. В результате **получены трансгенные растения картофеля**, экспрессирующие частично модифицированный ген дельта - эндотоксина из *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* (сорт Темп). Аналогичным методом получены **трансгенные растения картофеля, экспрессирующие модифицированный ген bar**, устойчивые к гербициду фосфинотрицину (сорт Пригожий); **трансгенные растения картофеля, экспрессирующие ген белка оболочки X-вируса картофеля (сорта Зарево и Львовянка), экспрессирующие ген белка оболочки Y-вируса картофеля, устойчивого к Y вирусу картофеля (сорт Белорусский).**

## ГМР картофеля, внесенные в Госриестр сортов Российской Федерации

- *Проведен завешенный цикл предпроеизводственного освоения ГМ картофеля: от этапа создания до регистрации сортов картофеля Госкомиссией по сортоиспытания Российской Федерации . В Российской Федерации впервые прошли государственную регистрацию и внесены в государственный реестр сортов созданные в Центре «Биоинженерия» РАН отечественные ГМР два сорта ГМ картофеля – «Елизавета 2904/kgs» и «Луговской 1210 амк» отечественной селекции. Роспотребнадзором разрешено использование трансгенного картофеля в пищевой промышленности и реализации населению на территории Российской Федерации. На территории Российской Федерации ГМР не выращиваются, что связано с протестным общественным движением .*

# Заключение

- *Представленные данные свидетельствуют о возможностях создания системы получения ГМР отечественного картофеля, устойчивого к колорадскому жуку. ГМР, полученные Центром «Биоинженерия» РАН и испытанные Отделением защиты растений Россельхозакадемии внесены в Госриестр сортов Российской Федерации.*
- *Важным этапом практического освоения производства является организация системы селекции и семеноводства ГМР картофеля. Требуется реальная оценка рациональных объемов товарного и семенного ГМР картофеля. Более продвинутый опыт создания и изучения ГМР картофеля (Роспотребнадзором разрешено использование трансгенного картофеля в пищевой промышленности и реализации населению на территории Российской Федерации) может быть использован для развития ГМР других культур.*

Сообщение окончено

Благодарю за внимание