

17. Кравченко Л.В., Боровков А.В., Пшикрил Э. Возможность биосинтеза ауксинов ассоциативными азотфиксаторами в ризосфере пшеницы // Микробиология. 1991. Т. 60. Вып. 5. С. 927–931.
18. Кулаева О.Н. Цитокинины, их структура и функции. М.: Наука, 1973. 253 с.
19. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / Под ред. А.И. Нетрусова. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 608 с.
20. Лукаткин А.С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. 208 с.
21. Муравьева Д.А., Бубенчикова В.Н., Беликов В.В. Спектрофотометрическое определение суммы антоцианов в цветках василька синего // Фармация. 1987. Т. 36. С. 28–29.
22. Физиологические и биохимические методы анализа растений: Практикум / Авт.-сост. Г.Н. Чушахина. Калининград: Калинингр. ун-т, 2000. С. 9–10.
23. Zhou H. Green Plant Regeneration from Anther Culture in Cereals // In Vitro Haploid Production in Higher Plants / Eds Jain S.M., Sopory S.K., Veilleux R.E. Dordrecht: Kluwer, 1996. V. 2. P. 169–187.
24. Izawa T., Ohnishi T., Nakano T., Ishida N., Enoki H., Hashimoto H., Itoh K., Terada R, Wu C., Miyazaki C., Endo T., Iida S., Shimamoto K. Transposon Tagging in Rice // Plant Mol. Biol. 1997. V. 35. P. 219–229.
25. Costa S., Shaw P. ‘Open Minded’ Cells: How Cells Can Change Fate // Trends Cell Biol. 2007. V. 17. P. 104–106.
26. Leyser O. Auxin Distribution and Plant Pattern Formation: How Many Angels Can Dance on the Point of PIN? // Cell. 2005. V. 121. P. 819–822.
27. Gaponenko A.K., Petrova T.F., Sozinov A.A. Cytogenetics of in vitro cultured somatic cells of cereals (Hordeum vulgare L., Triticum aestivum L., T. durum Desf) // XIV Int. Bot. Cong.: Abstr. Berlin. 1987. App. 2. P. 485.
28. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М. 1993. 272 с.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 08-04-13590-офи_ц.

УДК 591: 579.253.2: 575.21

К проблеме контроля над распространением и использованием трансгенных растений

© 2010. А. В. Бакулина¹, аспирант, С. В. Дармова², аспирант, В. М. Бакулин², к.т.н., н.с.,

¹ ГНУ Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства,
Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого РАСХН,

² Вятский государственный университет,
e-mail: drugaeana1@rambler.ru

В статье рассматривается современное состояние распространения и использования генетически модифицированных растений. Особое внимание уделено вопросам безопасности и разработки эффективных методов идентификации чужеродной ДНК в пищевых продуктах, растительном сырье и продуктах его переработки.

The current state of genetically modified plants spreading and usage is considered in the article. Special attention is paid to the aspects of safety and working out effective methods of identification of alien DNA in foodstuff, vegetative raw materials and products of its processing.

Ключевые слова: генетическая модификация (ГМ), трансгенные растения,
пищевые продукты, чужеродная ДНК, ПЦР-идентификация

Key words: genetic modification, transgenic plants, foodstuffs,
alien DNA, PCR-identifications

Генетически модифицированные растения давно перешагнули из области научных экспериментов в область промышленно-коммерческого использования, что вызывает озабоченность органов, контролирующих безопасность продуктов питания [1 – 3]. Ши-

рокое распространение получили трансгенные сельскохозяйственные культуры растений, обладающие различными признаками, отсутствовавшими у данных культур в природе. Помимо высокоурожайных сортов устойчивых к неблагоприятным условиям среды,

Таблица 1

Соотношение площадей трансгенных и нетрансгенных линий ведущих биотехнологических культур в мире

Культура	Площади (млн. га) под культурами	
	трансгенными	нетрансгенными
Соя	67,5	22,5
Хлопчатник	16,5	16,5
Кукуруза	39,5	118,5
Масличный рапс	6,2	24,8

гербицидам, насекомым-вредителям, вирусным и бактериальным инфекциям, сегодня конструируют растения-суперпродуценты (или, так называемые, «растительные био-реакторы»), способные к крупномасштабному синтезу различных веществ для нужд медицины, пищевой, химической и других областей промышленности [4, 5].

По данным Международной службы по мониторингу за применением агробиотехнологии (ISAAA), в 2009 году трансгенные культуры растений выращивались на рекордных площадях в 134 млн. га. С 1996 года, когда трансгенные культуры впервые вышли на мировой рынок, произошло 80-кратное увеличение площадей биотехнологических культур, что делает биотехнологию самой быстро развивающейся технологией в истории современного сельского хозяйства. Трансгенная соя в 2009 году заняла три четверти из 90 млн. га мировых посевов сои; трансгенный хлопчатник – почти половину из 33 млн. га выращиваемого хлопчатника; трансгенная кукуруза – более четверти из 158 млн. га посевов кукурузы во всем мире; а трансгенный рапс – более пятой части из 31 млн. га посевных площадей данной культуры (табл. 1).

Трансгенные культуры выращивались в 2009 году в 25 странах мира, причем в США, Бразилии, Аргентине, Индии, Китае, Парагвае и ЮАР их площади составляли более 1 млн. га (табл. 2).

Ещё в 32 странах генетически модифицированные растения были разрешены для ввоза и применения в качестве пищевых продуктов и кормов.

Анализ экономического эффекта использования трансгенных культур за период с 1996 по 2008 гг. показал рост прибыли в размере 51,9 млрд. долларов. Прибавка урожая за этот же период составила 167 млн. т., а объем вносимых пестицидов снизился на 356 млн. кг. По прогнозам ISAAA к 2015 г. генетически модифицированные культуры будут применять в 40 странах на площади 200 млн. га [4].

Генетическая модификация растений обладает значительными преимуществами перед классическими методами селекции. Источником целевого гена может быть любой генотип, начиная от прокариотических микроорганизмов и заканчивая животными и человеком, при этом не существует ограничений по фертильности, затрудняющих скрещивание растений. Трансформация растений ускоряет создание сорта, достижение прогнозируемого эффекта по определенному признаку. Но вместе с тем растение приобретает набор качеств, опосредованных плейотропным действием чужеродного гена и свойствами самой встроеной конструкции, в том числе её нестабильностью [5]. Эти непрогнозируемые качества создают потенциальные риски неблагоприятного воздействия трансгенных культур на здоровье человека и животных, а также на окружающую среду при коммерческом выращивании, использовании трансгенных растений и получении на их основе продуктов питания и кормов [6].

Все нежелательные последствия возделывания и потребления генетически модифицированных растений условно объединяют в три группы: пищевые, агротехнические и экологические риски.

Пищевые риски связаны с непосредственным воздействием токсичных и аллергенных трансгенных белков генетически модифицированных организмов (ГМО); с множественным влиянием встроённых конструкций на метаболизм растений; с накоплением гербицидов и их метаболитов в устойчивых сортах сельскохозяйственных растений, а также с горизонтальным переносом трансгенных конструкций в геном симбионтных для человека и животных бактерий (*Escherichia coli*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*).

Агротехнические риски включают снижение сортового разнообразия сельскохозяйственных культур, вследствие массового применения ГМО, полученных из ограниченного набора родительских форм; риски непредсказуемых изменений нецелевых признаков

Таблица 2

Площади трансгенных культур в мире в 2009 году: распределение по странам

Место	Страна	Площади, млн. га	Трансгенные культуры
1	США	64,0	Соя, кукуруза, хлопчатник, масличный рапс, кабачки, папайя, люцерна, сахарная свекла
2	Бразилия	21,4	Соя, кукуруза, хлопчатник
3	Аргентина	21,3	Соя, кукуруза, хлопчатник
4	Индия	8,4	Хлопчатник
5	Канада	8,2	Масличный рапс, кукуруза, соя, сахарная свекла
6	Китай	3,7	Хлопчатник, томаты, тополь, папайя, сладкий перец
7	Парагвай	2,2	Соя
8	ЮАР	2,1	Кукуруза, соя, хлопчатник
9	Уругвай	0,8	Соя, кукуруза
10	Боливия	0,8	Соя
11	Филлиппины	0,5	Кукуруза
12	Австралия	0,2	Хлопчатник, масличный рапс
13	Буркина Фасо	0,1	Хлопчатник
14	Испания	0,1	Кукуруза
15	Мексика	0,1	Хлопчатник, соя
16	Чили	< 0,1	Кукуруза, соя, масличный рапс
17	Колумбия	< 0,1	Хлопчатник
18	Гондурас	< 0,1	Кукуруза
19	Чешская республика	< 0,1	Кукуруза
20	Португалия	< 0,1	Кукуруза
21	Румыния	< 0,1	Кукуруза
22	Польша	< 0,1	Кукуруза
23	Коста Рика	< 0,1	Хлопчатник, соя
24	Египет	< 0,1	Кукуруза
25	Словакия	< 0,1	Кукуруза

модифицированных сортов, вызванные плейотропным действием введенного гена; риски отсроченного изменения свойств трансгенного растения, проявляющиеся через несколько поколений, связанные с адаптацией нового гена; неэффективность трансгенной устойчивости через несколько лет массового использования сорта и использование производителями терминальных технологий для монополизации семенного производства.

Значительное беспокойство общественности вызывают экологические риски, к которым относят следующие нежелательные явления:

- появление «суперсорняков» вследствие неконтролируемого переноса трансгенных конструкций (особенно обуславливающих устойчивость к гербицидам, вредителям и возбудителям болезней растений) в результате скрещивания с родственными дикорастущими видами;
- риски быстрого появления устойчивости к используемым трансгенным токсинам

у бактерий, грибов насекомых-фитофагов и других вредителей;

- риски неконтролируемого горизонтального переноса трансгенных конструкций в микрофлору ризосферы;
- риски появления «суперпатогенных» штаммов фитовирусов при взаимодействии их с конструкциями модифицированного генома вирусоустойчивого растения, проявляющими нестабильность и, тем самым, являющимися мишенью для рекомбинации с вирусной ДНК;
- риски проявления отдаленного плейотропного эффекта трансгенных конструкций, заключающиеся в появлении видов растений с повышенной чувствительностью в отношении факультативных фитопатогенов, например, многочисленных видов плесневых микромицетов рода *Fusarium*;
- негативное влияние на биоразнообразие нецелевых насекомых, микрофлору почвы и нарушение трофических связей пу-

тём воздействия токсичных трансгенных белков [6 – 8].

В настоящее время убедительно доказано наличие экологических рисков при выращивании трансгенных растений, которые касаются загрязнения и безвозвратной потери ценных традиционных сортов важнейших сельскохозяйственных культур, а также загрязнения окружающей среды химикатами [6].

Генно-инженерные технологии и трансгенные организмы действительно могут быть объектами риска, но он может быть сведен к минимуму с помощью научного мониторинга за осуществлением трансгеноза, тестирования ГМО в лабораторных и полевых условиях. Выращивание и потребление трансгенных растений требует тщательной медико-биологической оценки безопасности генетически модифицированных культур, которая включает проведение домаркетинговой экспертизы безвредности и потенциальных рисков использования трансгенного растения, регистрацию трансгенных культур и пострегистрационный мониторинг за обращением трансгенных растений [7, 9, 10]. Вопросы биологической безопасности при обращении с ГМО регулирует международный Картахенский протокол, вступивший в силу 11 сентября 2003 г. Он определяет обязанности стран-экспортёров и импортёров ГМО, которые, в частности, должны уведомлять о разработке новых ГМП, информировать потребителей об их свойствах, создавать банки данных.

В большинстве европейских стран на законодательном уровне введены строгие ограничения выращивания ГМО и их использования в составе продуктов питания. Согласно Инструкции ВОЗ установлена обязательная маркировка пищевых продуктов, содержащих генетически модифицированные компоненты в количестве более 0,9%. Наша страна тоже начала следовать правилам ЕС: так, в 2004 г. вышло постановление главного государственного санитарного врача России Г.Онищенко, по которому продукт специально маркируется, если содержание ГМ в нём превышает 0,9%. В Корее же маркировка обязательна для продуктов, содержащих более 3, а в Японии – более 5% генетически модифицированного компонента [11, 12].

В Российской Федерации на 1 декабря 2004 года прошли полный цикл всех необходимых исследований и разрешены для использования в пищевой промышленности и реализации населению 13 линий трансгенных расте-

ний [13]. В 2007 г. для использования в пищу населением было зарегистрировано, по данным сайта biosafety.ru, уже 17 сортов трансгенных растений с примечанием об отсутствии в открытом доступе информации о перерегистрации сахарной свеклы линии 77, сертификат на которую истёк в 2006 г. В 2010 г. государственную регистрацию прошли еще два генетически модифицированных сорта: кукуруза линии 3272 и соя линии MON 89788 (по информации Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека) [14]. Таким образом, число «легальных» сортов трансгенных культур, по нашим подсчетам, варьирует от 13 до 20. На сегодняшний день потребитель не имеет возможности точно определить количество официально «одобренных» в России ГМ-сортов. Такая ситуация, конечно, ставит под сомнение осуществляемый в России контроль качества и безопасности продуктов питания, полученных на основе растительного сырья. В таблице 3 мы приводим информацию о 20 линиях трансгенных культур, зарегистрированных в России с 1999 г. по настоящее время, без учета сроков действия выданных им сертификатов и перерегистрации [15 – 20].

В Государственный реестр пищевых продуктов и продовольственного сырья из генетически модифицированных источников (ГМИ) уже в 2000 году было внесено 64 вида пищевой продукции. Разрешено использовать в пищевых целях и на фураж импортируемую продукцию глифосатустойчивых сои и сахарной свеклы. Допущены также для использования в качестве продовольственного и фуражного сырья две линии генетически модифицированной кукурузы (устойчивые к глифосату, стеблевому мотыльку и другим чешуекрылым вредителям). В то же время, продукты питания и корма, содержащие ГМИ, давно заполнили российский рынок. Ежедневно российскую границу пересекают тонны сырья и готовых продуктов с генетически изменёнными компонентами, содержание которых не контролируется. Данная ситуация складывается из-за несовершенства российского законодательства и лоббирования своих интересов транснациональными компаниями-производителями [21]. Безусловно, трансгенные продукты потребляются людьми в их повседневной жизни, что остро ставит вопрос контроля над распространением и использованием трансгенных растений [22].

Доктрина продовольственной безопасности, утвержденная Президентом Российской

Федерации Д. А. Медведевым и опубликованная на сайте Президента РФ www.kremlin.ru 1 февраля 2010 года, содержит в качестве одного из требований – исключения «...бесконтрольного распространения пищевой продукции, полученной из ГМО...».

В настоящее время для выявления генетически модифицированных источников в растительном материале могут использоваться следующие методы:

- 1) химический (выявление наличия продуктов распада гербицидов, изменение содержания белка и т. п.)
- 2) иммуноферментный анализ (выявление модифицированного белка с использованием специфичных антител),
- 3) полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Наиболее используемым среди существующих методов обнаружения генетически модифицированного материала растительного происхождения является метод ПЦР, который, в отличие от химических и иммуноферментных методов, позволяет обнаружить непосредственно рекомбинантную ДНК. За счёт высокой чувствительности ПЦР-метода выявить рекомбинантную ДНК возможно практически в любом пищевом материале и в очень низких концентрациях. Метод ПЦР отличается простотой, высокой чувствительностью и эффективностью, время анализа составляет несколько часов [23].

Выявление рекомбинантной ДНК основывается на обнаружении структурных элементов генетических конструкций, интегрированных в геном растения. Генетическая конструкция, вводимая в растительную клетку, как правило, состоит из маркерного гена, целевого гена и регуляторных элементов – промоторов, терминаторов, энхансеров и т. п. [9]. В качестве целевых генов промышленные сорта трансгенных культур содержат чаще всего гены устойчивости к гербицидам, насекомым, возбудителям заболеваний и т. д. Мар-

керные гены необходимы при производстве ГМ растений на этапе отбора трансформированных клеток. Это могут быть гены устойчивости к антибиотикам и гербицидам. В качестве регуляторных элементов обычно используют вирусные или растительные промоторы и вирусные или бактериальные терминаторы.

На рисунке изображена структура генетической конструкции, встраиваемой в геном растений, при использовании наиболее распространённого на сегодняшний день вектора на основе Ti-плазмиды *Agrobacterium tumefaciens*. Она содержит экспрессионную кассету целевого гена, включающую белок-кодирующую структурную последовательность и регуляторные элементы транскрипции и трансляции; а также маркерный ген и участки, направляющие интеграцию трансгенной конструкции в геном растительной клетки. Эти структурные элементы ДНК-вставки являются чужеродными для растения и могут служить мишенями для выявления рекомбинантной ДНК [24, 25].

Задачу выявления чужеродной ДНК в геноме растения усложняет то обстоятельство, что при генетической модификации растений применяют десятки различных маркерных и целевых генов. В то же время большинство распространённых векторов для трансформации включает ограниченный спектр регуляторных элементов. В таблице 3 приведены структурные элементы встроённых генетических конструкций для сортов и линий трансгенных растений, официально зарегистрированных в Федеральном реестре Российской Федерации. Анализ доступной нам информации из различных баз данных [15 – 20, 26] показал, что большинство разрешённых к использованию в РФ трансгенных сортов и линий содержат в качестве регуляторных элементов в составе введённой генетической конструкции промотор 35S р-РНК вируса мозаики цветной капусты (CaMV) и терминатор гена

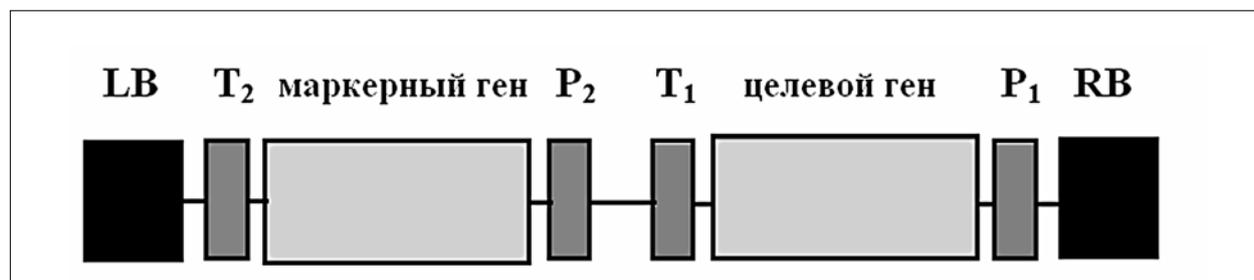


Рисунок. Структура генетической конструкции, встраиваемой в геном растений при использовании вектора на основе Ti-плазмиды *Agrobacterium tumefaciens*

Примечание: LB – левая граница T-ДНК; RB – правая граница T-ДНК; P₁ – промотор целевого гена; T₁ – терминатор целевого гена; P₂ – промотор маркерного гена; T₂ – терминатор маркерного гена.

Таблица 3
Структурные элементы, встроенные в геном промышленных сортов ГМ растений, зарегистрированных в Российской Федерации [по данным 13 – 20]

П/П №	Культура	Линия или сорт	Фирма, страна	Целевой ген	Регуляторные элементы целевого гена		Маркерный ген (его регуляторные элементы)
					Промотор	Терминатор	
1	Соя	40-3-2, устойчивая к глифосфату	«Монсанто», США	CP4 epsps	35S	nos	–
2		A 2704-12, у устойчивая к глюфосинату аммония	«Байер Крорп Сайнс», ФРГ	pat	35S	35S	bla
3		A 5547-127, устойчивая к глюфосинату аммония	«Байер Крорп Сайнс», ФРГ	pat	35S	35S	bla
4		MON-89788, устойчивая к глифосфату	«Монсанто», США	CP4 epsps	P-FMV, TSF1	T-E9	–
5	Кукуруза	MON-810, устойчивая к кукурузному бурильщику <i>Ostrinia nubilalis</i>	«Монсанто», США	cry1Ab	35S	нет	–
6		MON-863, устойчивая к жуку <i>Diabrotica spp.</i>	«Монсанто», США	cry3 Bb1	35S	3'- UTR tahsp 17	npt II (промотор 35S, терминатор nos)
7	Кукуруза	NK-603, устойчивая к глифосфату	«Монсанто», США	CP4 epsps	Промотор 1 актина риса, 35S	nos	–
8		GA 21, устойчивая к глифосфату	«Монсанто», США	CP4 epsps	Промотор 1 актина риса	nos	–
9		T-25, устойчивая к глюфосинату аммония	«Байер Крорп Сайнс», ФРГ	pat	35S	35S	bla
10		Bt-11, устойчивая к глюфосинату аммония и кукурузному бурильщику <i>Ostrinia nubilalis</i>	«Сингента Сидс», Франция	cry1Ab, pat	35S	nos	–

Окончание табл. 3

№ п/п	Культура	Линия или сорт	Фирма, страна	Целевой ген	Регуляторные элементы целевого гена		Маркерный ген (его регуляторные элементы)
					Промотор	Терминатор	
11	Кукуруза	Линия 3272, синтезирующая фермент α-амилазу	«Сингента Сидс», США	<i>amy 797E</i>	<i>P-GZein</i>	<i>35S</i>	<i>mpi</i> (промотор – <i>ZmUbiInt</i> , терминатор <i>nos</i>)
12		MON-88017, устойчивая к глифосфату и жуку <i>Diabrotica</i> spp.	«Монсанто», США	<i>CP4 epsps</i> , <i>cry3 Bb1</i>	Промотор 1 актина риса, <i>35S</i>	<i>nos</i> <i>3' - UTR tahsp 17</i>	–
13		MIR604, устойчивая к жуку <i>Diabrotica</i> spp.	«Сингента Сидс», Франция	<i>cry3A</i> , <i>mpi</i>	<i>ZmUbiInt</i>	<i>nos</i>	–
14	Картофель	Superegior New Leaf, устойчивый к колорадскому жуку	«Монсанто», США	<i>cry3A</i>	<i>35S</i>	<i>3' poly (A) signal rbcS</i>	<i>npt II</i> (терминатор <i>nos</i>)
15		Russet Burbank New Leaf, устойчивый к колорадскому жуку	«Монсанто», США	<i>cry3A</i>	<i>35S</i>	<i>3' poly (A) signal rbcS</i>	<i>npt II</i> (промотор <i>35S</i> , терминатор <i>nos</i>)
16	Картофель	Елизавета 2904/1 kgs, устойчивый к колорадскому жуку	Центр «Биоинженерия РАН», Россия	<i>cry3A</i>	<i>P-FMV, pRBSC</i>	<i>nos</i>	<i>CP4 epsps</i> (промотор <i>P-FMV</i> , терминатор <i>T-E 9</i>)
17		Луговской, устойчивый к колорадскому жуку	Центр «Биоинженерия РАН», Россия	<i>cry3A</i>	Нет данных		
18	Сахарная свекла	Н7-1, устойчивая к глифосфату	«Монсанто», США	<i>CP4 epsps</i> ,	<i>P-FMV</i>	<i>3' poly (A) signal rbcS</i>	–
19		Линия 77, устойчивая к глифосфату	«Монсанто», США и «Сингента Сидс», Франция	<i>CP4 epsps</i>	<i>35S</i>	<i>nos</i>	<i>gus</i>
20	Рис	LL 62, устойчивая к глюфосинату аммония	«Байер Крупп Сайнс», ФРГ	<i>bar</i>	<i>35S</i>	<i>3' poly (A) signal 35S</i>	–

Примечание: «–» – маркерный ген не используется, либо элиминируется после стадии отбора трансформантов

nos из Ti-плазмиды *Agrobacterium tumefaciens*. Поэтому не случайно большинство коммерческих ПЦР-тест-систем для выявления ГМИ в продуктах питания и продукции растениеводства основано на обнаружении именно этих последовательностей [27].

Промотор 35S-РНК CaMV является эффективным промотором для двудольных растений и очень широко применяется в генетической инженерии растений, однако его использование для надзора за оборотом ГМ растений имеет ряд ограничений. Так, следует помнить, что существует не менее 8 различающихся вариантов промотора 35S, используемых при создании трансгенных растений. Кроме того, в состав промотора 35S входит последовательность, играющая роль «горячей точки рекомбинации», что может серьезно дестабилизировать геном. Существенный недостаток промотора 35S как молекулярного маркера, выявился с появлением трансгенных растений, относящихся к семейству капустных *Brassicaceae* (масличный рапс, белокочанная капуста): достаточно высокий уровень зараженности посевов вирусом CaMV. Этот вирус поражает не только растения указанного семейства *Brassicaceae*. Некоторые штаммы вируса могут также вызывать болезни растений из семейств паслёновых *Solanaceae* и бобовых *Fabaceae*. Зараженность анализируемого растительного материала вирусом CaMV может являться причиной ложного выявления генноинженерных конструкций.

Использование другого универсального молекулярного маркера-терминатора гена нопалинсинтетазы (*nos*) *A. tumefaciens*, в свою очередь, лимитировано тем, что праймерные системы, сконструированные на основе его нуклеотидной последовательности, часто амплифицируют неспецифические продукты при исследовании многокомпонентных пищевых образцов, затрудняющих проведение точного анализа [28].

Таким образом, обнаружение 35S-промотора и (или) терминатора *nos* в растительном материале не всегда свидетельствует о наличии генно-инженерной конструкции. Эти последовательности имеются в природе и их обнаружение возможно при попадании в образец природного носителя данной последовательности (вируса, бактерии).

Достоверность исследования существенно повышается при обнаружении в пробе «стыков» последовательностей регуляторных элементов и целевых генов, которые свидетельствуют о наличии несуществующей в природе конструкции. Но данный подход

не дает однозначного ответа на вопрос об интеграции трансгенной конструкции в геном растения, поскольку вектор может находиться в свободном состоянии.

Наиболее достоверно присутствие трансгенного материала определяется по наличию в пробе участков стыка генома растения и регуляторных элементов встроенной чужеродной ДНК. Участок интеграции рекомбинантной ДНК индивидуален для каждой линии трансгенного растения, что дополнительно позволяет идентифицировать данную линию трансгенного растения. Но в этом случае возникает необходимость разработки и применения значительного количества различных тест-систем.

Для количественного определения ГМИ в растительном сырье и продуктах его переработки, как правило, используют тест-системы, основанные на методе ПЦР с детекцией результатов амплификации «в реальном времени» [27]. Количественное определение ГМИ-компонента в пище основано на расчете отношения количества ДНК определённой линии (сорта) ГМО к общему количеству ДНК организма данного вида. Например, таким образом можно определить процентное содержание ГМ сои в соевой муке, составленной из нескольких сортов сои. Поэтому данный подход не дает возможности оценить количество генно-модифицированных источников в продукте (для этого нужно знать его точную рецептуру) и фактически бесполезен, поскольку не даёт представления о содержании собственно «потенциально вредных веществ», а определяет лишь соотношение ГМИ-компонента к компоненту в целом [26 – 29]. Исключением является определение содержания ГМИ в гомогенных продуктах переработки растений, таких как мука или крупа. Гораздо более информативным могло бы стать химическое или количественное исследование, но данные методики обладают недостаточной чувствительностью.

Таким образом, применяемые в настоящее время методы идентификации трансгенного растительного материала не являются вполне надежным инструментом для контроля за распространением и использованием ГМИ в продуктах питания, кормах и растительном сырье. Большинство разработанных ПЦР-тест-систем высокоспецифичны, позволяют выявить генноинженерные конструкции лишь определенных линий и их применение для обнаружения трансгенного материала в целом не всегда даёт достоверные резуль-

таты [30]. Более широкие возможности экспрессного анализа геномов открывают современные методы анализа нуклеиновых кислот на основе достижений в области нанотехнологий: создание ДНК-микроматриц, олигонуклеотидных микрочипов, микрофлюидных ПЦР-биочипов; развитие технологий детекции гибридизационного сигнала, которые могут служить основой для экспертизы и тестирования генетически модифицированных растений и продуктов на их основе [26, 28, 29, 31]. Вопрос усовершенствования данных методов с целью повышения точности качественного и, в особенности, количественного анализа чужеродной ДНК в системе контроля за оборотом ГМ-пищевых продуктов сегодня продолжает оставаться актуальным.

Литература

1. Постановление Главного санитарного врача Российской Федерации № 80 от 30 ноября 2007 года «О надзоре за оборотом пищевых продуктов, содержащих ГМО» // Российская Газета. Федеральный выпуск № 4602 от 1 марта 2008 г.
2. Лысыков Ю.А. Безопасность пищи и питания // Жизнь без опасности. 2009. № 3. С. 30–40
3. Глик Б.Р., Пастернак Д.Д. Молекулярная биотехнология: принципы и применение. М.: Мир, 2002. 589 с.
4. Джеймс К. «Статус коммерческих биотехнологических ГМ культур в мире: 2009 год» [Электронный ресурс] – <http://www.isaaa.org/>.
5. Куликов А.М., Митрофанов В.Н. Трансгенные организмы: как уменьшить риски? // Наука в России. 2008. № 2. С. 54–60.
6. Кузнецов, Вл.В. Возможные биологические риски при использовании генетически модифицированных сельскохозяйственных культур // Вестник ДВО РАН. 2005. № 3. 2005. С. 40–54.
7. Куликов А.М. Генетически-модифицированные организмы и риски их использования // Физиология растений. 2005. Т. 52. № 1. С. 115–124.
8. Баранов А. С. Использование генетически модифицированных организмов и вопросы экологической безопасности // Экос-информ. 2007. № 10. С. 46–47.
9. Шевелуха В.С. Биотехнологии и биобезопасность в агропромышленном производстве // Достижения науки и техники АПК. 2004. № 1. С. 6–9.
10. Чесноков Ю.В. Аллергены и генетическая трансформация растений // Сельскохозяйственная биология. 2004. № 3. С. 33–39.
11. Гетман И.А. Мониторинг трансгенных компонентов в продуктах питания растительного происхождения, проведенный на основе исследования ДНК // Экос-информ. 2007. № 10. С. 47–48.
12. Вэйгхард Ф. Анализ образцов пищевых продуктов на присутствие генетически модифицированных организмов. Количественный ПЦР анализ для детекции ГМО // ВОЗ. Европейское Региональное Бюро. Сессия 10. 2008. 22 с.
13. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 31 декабря 2004 г. № 13 «Об усилении надзора за пищевыми продуктами, полученными из ГМИ» [Электронный ресурс] – <http://expert.consultant.ru/doc345646.html>.
14. Реестр продукции, прошедшей государственную регистрацию [Электронный ресурс] – http://www.rospotrebnadzor.ru/directions_of_activity/reestri/.
15. Agbios GM Database [Электронный ресурс] – <http://agbios.com/>.
16. Biodiv LMO Database [Электронный ресурс] – <http://bch.cbd.int/database/organisms/>.
17. European Commission, Joint Research Center, GMO methods database [Электронный ресурс] – <http://mbg.jrc.ec.europa.eu/>.
18. GMO Detections Methods Database [Электронный ресурс] – <http://gmdd.shgmo.org/>.
19. GMO Compass [Электронный ресурс] – <http://www.gmo-compass.com/>.
20. OECD Biotrack Product Database [Электронный ресурс] – <http://www2.oecd.org/biotech/>.
21. Федоренко В.Ф., Буклагин Д.С., Аронов Э.Л. Генетически модифицированные растения и продукты питания: реальность и безопасность. Аналитический обзор. М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2005. 200 с.
22. Зоны, свободные от ГМО. Опыт России / Под ред. В. Б. Копейкиной. Йошкар-Ола: Реклайм, 2008. 56 с.
23. Щелкунов С. Н. Генетическая инженерия : учеб. пособие для студентов вузов. Новосибирск : Сиб. унив. изд-во, 2004. 496 с.
24. Лутова Л. А. Биотехнология высших растений: учебник. СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2003. 228 с.
25. Handbook of plant biotechnology / Ed. by P. Christou, H. Klee. Wiley-VCH. 2004. 1488 p.
26. Wolf C., Scherzinger M., Wurz A., Pauli U., Hubner P., Luthy J. Detection of cauliflower mosaic virus by the polymerase chain reaction: testing of food components for false-positive 35S-promoter screening results // Eur. Food Res. Technol. 2000. V. 210. P. 367–372.
27. ПЦР «в реальном времени» / Под ред. Д.В. Ребрикова. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. 223 с.
28. Булыгина Е.С., Сухачева М.В., Бумажкин Б.К., Кузнецов Б.Б. Применение триплексной ПЦР для идентификации генетически модифицированного источника в пищевых продуктах // Биотехнология. 2010. № 2. С. 81–86.
29. Germini A., Zanetli A., Salati C., Rossi S., Forr C., Schmid S., Marchelli R. Development of a seven-target multiplex PCR for the simultaneous detection of transgenic

soybean and maize in feeds and foods // J. Agric. Food. Chem. 2004. V. 52. № 11. P. 3275–3280.

30. Marcia, J. Holden The use of 35S and T nos expression elements in the measurement of genetically engineered plant materials // Anal Bioanal Chem. 2010. V. 396. P. 2175–2187.

31. Onishi M., Matsuoka T., Kodama T., Kashiwaba K., Futo S., Akiyama H., Maitani T., Furui S., Oguchi T., Hino A. Development of a multiplex polymerase chain reaction method for simultaneous detection of eight events of genetically modified maize // J. Agric. Food. Chem. 2005. V. 53. №. 25. P. 9713–9721.

УДК 631.811.98:633.37

Влияние физиологически активных соединений на продуктивность разновозрастных посевов козлятника восточного в условиях Центрального региона России

© 2010. В. И. Филатов, д.с-х.н., профессор, В. Н. Мельников, к.с-х.н., доцент,
Т. Ф. Лугинина, соискатель, Н. В. Слабженинова, аспирант,
Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К. А. Тимирязева,
e-mail: t.luginina@edinros.ru

В результате исследований показано, что физиологически-активные соединения (ФАС): минерало-органическое удобрение (Гумисол-М) и биологический препарат природного происхождения (Мивал-Агро) обеспечивают лучшее развитие фотосинтетического аппарата растений козлятника восточного и повышают их продуктивность. Наиболее эффективна обработка семян препаратом Гумисол-М по фону обработки клубеньковыми бактериями, повышающая продуктивность сухой массы на 54,4%. Применение ФАС по вегетирующим растениям в благоприятных для роста растений условиях не эффективно.

The research has shown that physiologically active compounds (FAC): mineral-organic fertilizer (Humisol-M) and biological product of natural origin (Mival-Agro) provide better development of photosynthetic apparatus of plants of eastern kozlyatnik and contribute to its productivity. The most effective means is treating the seeds with Humisol-M as compared with the background treatment with rhizobia, it increases the productivity of the dry mass by 54,4%. Using FAC for vegetating plants in conditions favourable for growth is not effective.

Ключевые слова: козлятник восточный, физиологически активные соединения

Key words: eastern kozlyatnik, physiologically active compounds

Введение

Проблема кормов с высоким содержанием белка для животноводства по-прежнему является актуальной [1], поэтому насыщение структуры посевов многолетними бобовыми травами является экономически оправданным. Посевы таких традиционных бобовых культур как люцерна и клевер склонны к изреживанию, и через 3-4 года использования их продуктивность резко снижается [2]. Для более эффективного развития животноводства, необходимо внедрять в производство продуктивные, высокобелковые культуры, способные длительное время возделываться и сохраняться без выпадения травостоя. Существенным резервом увеличения производства кормов, повышения сбора белка является интродукция в сельскохозяйственное про-

изводство такой многолетней бобовой культуры, как галега восточная или козлятник восточный (*Galega orientalis* Lam.) [3].

Основная ценность культуры обуславливается её кормовыми свойствами. Козлятник восточный – культура универсального назначения. Используется в зелёном конвейере как ранняя, так и поздняя культура. Служит для заготовки сена, сенажа, силоса, изготовления искусственно высушенных кормов (брикеты, гранулы, резка, травяная мука), пригодных для скармливания сельскохозяйственным животным, домашней птице и даже в рыбоводстве [4].

Особую актуальность исследованиям придаёт существующая в настоящее время тенденция применения регуляторов роста в сельском хозяйстве. На сегодняшний день сделаны фундаментальные открытия в области