

Комитет по аграрно-продовольственной политике
Совета Федерации Федерального Собрания Российской Федерации
Общенациональная ассоциация генетической безопасности
Центр экологической политики России
Российский региональный экологический центр
Международный Социально-экологический союз
Общероссийское общественное движение "За здоровую Россию"

ГМО – скрытая угроза России

Материалы к Докладу Президенту Российской Федерации

**«По анализу эффективности государственного
контроля за оборотом генетически
модифицированных продуктов питания»**

**(п. 3 «и» Протокола № 4 совместного заседания
Совета Безопасности и Президиума Госсовета РФ
от 13.11.2003 г.)**

**Москва
2004**

Настоящее издание является результатом сотрудничества государственных и общественных организаций России, выступающих за соблюдение принципа предосторожности при использовании Генетически Модифицированных Организмов (ГМО) и их продуктов. В статьях специалистов рассмотрены сельскохозяйственные, экологические, генетические, экономические, юридические и социальные аспекты проблемы биобезопасности, связанные с коммерческим распространением в России ГМО и ГМ-продуктов.

Показано, что при современном состоянии государственного контроля и мониторинга, распространение ГМО и ГМ-продуктов несет серьезные угрозы биологической, продовольственной и экологической безопасности страны. Сформулированы предложения по совершенствованию системы государственного контроля и мониторинга за ГМО и ГМ-продуктами на территории России.

Ответственный редактор – И.В. Стариков, Председатель Комитета Совета Федерации по аграрно-продовольственной политике

ISBN 5-902338-04-2

© 2004, Общенациональная Ассоциация генетической безопасности

© 2004, Центр экологической политики России

Содержание

Предисловие. К принятию Россией решения об использовании ГМО. В.М. Захаров.....	4
ГМО и продукты из них опасны. А.В. Яблоков,А.С. Баранов	6
Роль, место и последствия трансгеноза в современной селекции растений. А.А. Жученко	21
Актуально ли введение в России моратория на производство трансгенных растений? М.С. Соколов,А.И. Марченко	37
ГМО и риски их использования.Куликов А.М.....	47
Диагностика ГМО – проблемы и решения. М.С. Вонский,Е.В. Курчакова,С.Н. Борхсениус.....	73
Стабилизирующий отбор и приспособленность популяций ГМО. Л.А. Животовский.....	94
Готова ли Россия к распространению трансгенных культур? О.А. Монастырский.....	106
Замечания по экономическим аспектам распространения ГМО. Р.А. Перелет	112
Особенности патентной охраны пищевых продуктов, полученных от трансгенных организмов в России и за рубежом. Е.Б. Гаврилова	118
Гражданское общество и ГМО. Совместимы ли эти понятия? В.Б. Колесникова.....	131
«Монсанта» – скрытые риски. Н.Л. Олефиренко.....	135
Об авторах	142

Предисловие.

К принятию Россией решения об использовании ГМО.

В.М. Захаров.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова
Российской Академии Наук, Москва

Возникновение любых новых форм, в конечном итоге, всегда определяется генетическими изменениями. В этой связи развитие современных технологий создания ГМО можно лишь приветствовать. Проблема возникает лишь при поспешных и широкомасштабных планах их выращивания в природе и использования в качестве продуктов питания. Определение сути проблемы и путей ее решения, предполагает оценку опасности использования ГМО для здоровья человека и среды и оценку обоснованности приемлемого риска.

Оценка опасности для здоровья человека и среды. Исходя из общих соображений, трудно ожидать сиюминутного ярко выраженного негативного эффекта от использования ГМО для здоровья человека и здоровья среды. Тем более, что для оценки такого эффекта обычно используются достаточно грубые тесты на токсичность, которой в явном виде в данном случае быть не должно. Выявление сразу же явного негативного эффекта для здоровья человека и среды является скорее “счастливой” случайностью. “Счастливой” в смысле того, что осторожность в широком использовании таких организмов ни у кого не вызовет сомнений. Но число и таких примеров все возрастает. С уверенностью можно говорить о том, что состояние самих новых организмов оставляет желать много лучшего. Введение новых генов обычно нарушает слаженную привычную работу генов (нарушение генетической коадаптации), вызывает изменение состояния организма, ставя под сомнение возможность длительного благополучного существования популяций таких организмов. Как известно из области эволюционной биологии, само появление искомой черты организма не итог, а лишь начало серьезных биологических процессов, а применительно к селекции и уж тем более к геной инженерии, большой работы по ее интеграции вплоть до восстановления необходимого уровня генетической коадаптации. Главная опасность ГМО-технологий в отдаленных последствиях, выявление которых затруднено необходимостью длительных исследований. Причем их опасность для самих этих организмов, природных экосистем, где они существуют, и для здоровья человека крайне высока, при непредсказуемости масштаба последствий в каждом конкретном случае. Именно в такой ситуации необходим принцип предосторожности, согласно которому следует остерегаться технологий, последствия использования которых неопределенны.

Оценка приемлемости риска. Выработка верного управленческого решения предполагает оценку приемлемости риска. При определенных

обстоятельствах, в случае необходимости, приходится идти на определенный уровень вполне очевидного риска. Процесс принятия решения по ГМО представляется одной из наиболее ярких моделей иллюстрации важности соотнесения всех “за” и “против” для оценки целесообразности определенного действия. При всей неопределенности современной ситуации, риск использования ГМО для здоровья человека и здоровья среды не вызывает сомнений. Он мог бы быть оправдан необходимостью “борьбы с голодом”, если бы страна страдала от недостатка урожая основных сельскохозяйственных культур. Даже по официальным данным не мене 10 процентов урожая не убирается, что говорит в пользу того, что в стране не ощущается потребности повышения урожайности сельскохозяйственных культур “любой ценой”.

При оценке приемлемости риска нельзя не учитывать и следующие моменты. Положительное решение вопроса о широком использовании ГМО в России ставит под угрозу несомненное достоинство страны как территории с богатыми природными ресурсами и природным биоразнообразием. Это национальное богатство достаточно высоко оценивается уже сейчас и цена его в будущем несомненно будет все выше и выше, принося его обладателям не только политическое превосходство, но ощутимые преимущества и в прямом экономическом выражении. Причем, если потерять этот статус, как показывает практика многих стран, достаточно просто, то восстановить его будет практически невозможно. Немаловажно и то, что дальнейшее поддержание этих технологий потребует значительных экономических затрат на национальном уровне или поставит страну в зависимость от зарубежных технологий. Политическая и экономическая непривлекательность обоих вариантов не вызывает сомнений. В социальном плане, при выработке решения, наверное, нельзя сбрасывать со счетов и настороженность научного сообщества (за исключением разработчиков ГМО-технологий) и широких кругов общественности.

Суть проблемы: постановка задачи. В целом, “ситуация с ГМО” сейчас все больше напоминает “ситуацию с Киотским протоколом”. Точно так же как после обсуждения проблемы специалистами в области климата, стало ясно, что решение вопроса о целесообразности запуска механизмов Киотского протокола “вышло за рамки” метеорологии, и стало проблемой экономической, социальной и экологической, решение вопроса об использовании ГМО также “вышло за рамки” биологической науки. Сходство ситуации отражает естественный ход развития любой идеи от разработки проблемы (что предполагает научные исследования) до практического использования (когда решение вопроса перерастает рамки научной проблемы и выходит на политическую арену). Таким образом, решение вопроса о перспективности широкого использования ГМО в России предполагает серьезную оценку не только научных данных, но и всех возможных “плюсов” и “минусов” для страны. Мы надеемся, что материалы этого сборника будут полезны для выполнения такой оценки и принятия верного решения.

ГМО и продукты из них опасны

А.В. Яблоков, А.С. Баранов

Центр экологической политики России, Москва

Общенациональная ассоциация генетической безопасности, Москва

Генетически модифицированный (или трансгенный) организм (ГМО) – это организм, в генетический аппарат (геном) которого искусственно вставлен ген/гены другого организма.

Из нескольких десятков используемых в сельском хозяйстве ГМ-растений более двух третей были созданы для того, чтобы культуры выдерживали большие дозы гербицидов. Созданы ГМ-сорта более устойчивые к вирусам и грибам, и ГМ-картофель – ядовитый для колорадского жука. Гены антарктической рыбы, вставленные в геном томата делают его более устойчивым к низким температурам. ГМ-деревья с геном бактерии, влияющим на образование целлюлозы и ГМ-лосось - растут много быстрее обычных. Грибок с геном инсулина человека, вырабатывает человеческий инсулин. Трансгенные бананы и томаты производят «съедобную вакцину» против холеры и диареи. Созданы ГМ-моллюски, ракообразные, травы, насекомые, и микроорганизмы.

Пионером в создании ГМО являются США, где многие сорта сои, кукурузы, картофеля, томатов, сахарной свеклы, горчицы, фруктов являются трансгенными. Всего в мире, в настоящее время, под такими растениями занято 67.7 млн. га посевных площадей и из них 63% приходится на США. В 2002 г. в США ГМ-сорта дали 75% сои и 34% зерновых, и в целом - 2/3 всех мировых ГМ - продуктов.

Казалось бы, правы те, кто говорит о новой эре во взаимоотношении человека с природой – человек конструирует по своему желанию организмы с любыми новыми свойствами. Прекращается бесконечная борьба с вредителями и сорняками, отступает угроза голода, возникающая в связи с численным ростом населения Земли.... Однако, эта картина оказывается утопической. Реальность в том, что человечество в лице ГМО столкнулось с опасностью, ставящей под угрозу нормальное существование всей биосферы и самого человека.

1. Причины распространения ГМ-организмов и ГМ-продуктов

Главной причиной распространения ГМ-организмов в сельском хозяйстве является упрощение агротехники и, соответственно, удешевление производства. Устойчивые к пестицидам ГМ-сорта растений позволяют использовать на полях больше пестицидов, облегчая механизированный уход за растениями. Использование ГМ-продуктов в животноводстве (гормоны, пищевые добавки и др.) позволяет превратить животноводство в индустрию по производству животного белка. Все это дает заметную экономическую выгоду, особенно крупным хозяйствам.

Стимулом при распространении ГМО и их продуктов никогда не было решение продовольственных проблем нуждающихся в этом стран. По комплексу белков, витаминов, незаменимых аминокислот пищевые трансгенные продукты в массе либо на уровне обычных продуктов, либо хуже. По урожайности и продуктивности трансгенные сорта растений и породы животных, как правило, не превосходят традиционных.

Распространение ГМО стимулируется их производителями - транснациональными компаниями, и, в этом смысле, это - одна из черт процесса глобализации. Типичный пример - ГМ-рис, содержащий провитамин-А. Реклама производителя ГМ-риса утверждала, что сорт создан для ликвидации дефицита витамина-А, характерного для Юго-Восточной Азии. Однако, чтобы получить необходимую суточную дозу витамина-А надо съесть ... 9 кг этого риса. Для решения проблемы дефицита витамина-А многократно более дешевым и реалистичским способом является более широкое использование местных фруктов и овощей.

То обстоятельство, что высокие урожаи можно получать «без химии» и без ГМО, на основе селекции и обычной агротехники, противоречит интересам Hi-Tech - корпораций. Они навязывают мировому сельскому хозяйству пути развития, которые увеличивают их прибыли (создание ГМ-сортов, которые способны выдерживать значительные концентрации пестицидов, и применение пестицидов в большем, чем раньше, объеме).

Так же как атомная энергетика первоначально возникла, чтобы частично оправдать колоссальные затраты на атомное оружие (а не из реальных потребностей энергетике), а пестициды – как субпродукт химического оружия, так и трансгенные технологии исходно были созданы для разработки нового поколения биологического оружия.

2. Теоретические основания опасности ГМО и ГМ-продуктов

Есть четыре общеметодологические причины, ставящих под сомнение оправданность создания и использования ГМО и ГМ-продуктов в питании человека.

1. ГМ-организмы приобретают не только желаемые их создателями, но и непредсказуемые, неблагоприятные и опасные свойства и признаки. Это связано

с тем, что геном высших растений и животных содержит десятки тысяч генов. Каждый ген взаимодействует со многими сотнями других генов. Встроенный, чужеродный ген, в процессе работы, привносит не только один признак или свойство (желательные для биоинженера), но своим присутствием изменяет много других признаков и свойств в организме. Спектр этих изменений заранее определить невозможно (Подробнее см. статью Л.А. Животовского в этом сборнике).

Продукты работы такого встроенного гена в чуждой для него генетической среде оказываются незнакомыми для внутриклеточных систем. Предполагать, что в результате изменений, обязательно вносимых чуждым геном в эволюционно отлаженный геном, не будут возникать токсичные, аллергенные, канцерогенные и мутагенные продукты (вещества) недопустимо с научной точки зрения.

Как показывают исследования Л. Омельченко (Институт цитологии и генетики СО РАН) соотношение обычных рецессивных и доминантных негативных (токсичных) мутаций составляет 100:1. То есть 1 % всех возникающих в результате искусственной трансформации геномного материала мутаций могут оказаться токсичными. Поскольку обычный темп мутационного процесса составляет 10^{-5} – 10^{-6} , а число клеток в организме высших растений и животных достигает 10^{12} – 10^{14} , у каждой особи в каждой системе органов могут возникать такие токсичные мутации.

2. Не существует надежных методов определения последствий распространения ГМО и их продуктов для природы и человека. Многие негативные эффекты ГМО проявятся лишь в чреде поколений. Поскольку предусмотреть все негативные последствия использования ГМО невозможно, существующие методы определения биобезопасности (экологической, генетической, канцерогенной, тератологической, пищевой и др.), используемые при определении безопасности, недостаточны для оценки риска распространения ГМО и их продуктов. Это же относится и к оценкам возможного экономического ущерба, связанного с ГМО.

Для того, чтобы обнаружить все опасности ГМО, нужно изучить последствия выращивания/разведения ГМО во всех условиях, а также воздействие ГМ-продуктов на все группы живых организмов (животных, растений, грибов и простейших), проследить возможные генетические, тератологические, иммунологические и эндокринологические изменения во всех системах органов всех этнических и половозрастных группах людей. Ни теоретически, ни практически такие исследования провести невозможно.

Нельзя даже в первом приближении считать достаточными исследование последствий потребления ГМ-продуктов на нескольких десятках крыс, мышей или кроликов на протяжении нескольких месяцев (типичные материалы, которые представляют производители ГМО в обоснование их безопасности). Нельзя под «исследованиями безопасности» ГМО, как это обычно происходит, лишь «анализировать» данные, представленные компаниями-разработчиками. Опыт использования пестицидов в XX веке показывает, что рискованно верить данным по безопасности, представляемым даже самым уважаемыми компаниями.

3. Опасна технология создания ГМО. Чужой ген вставляется в цепочку ДНК хозяина с помощью бактерии-переносчика. При этом нельзя заранее определить в какой участок хромосомы попадет вставляемый ген. Кроме того, помимо целевых генов, в геном встраивается и технологический мусор в виде частиц бактерий (например, Ti-плазмиды агробактерий). Действия биотехнологов здесь напоминают действия алхимика - смешать, растереть, нагреть и посмотреть, что получилось. Однако в отличие от алхимика, который в худшем случае отравится или взорвется, генная инженерия создает монстров, которые могут изменить весь мир.

4. Невозможно контролировать распространение ГМО и их продуктов в природе. Пыльца ГМ-растений разносится насекомыми-опылителями на многие, а с ветром и водой – на сотни километров. Пыльца ГМ - рапса обнаружена на поле генетически чистого сорта на расстоянии до 5 км, а во взятке пчел – до 11 км.

Для эффективного контроля за ГМО и ГМ-продуктами в мире надо создавать сеть из сотен тысяч хорошо оборудованных лабораторий, с многомиллионным штатом квалифицированных контролеров. Затраты на организацию такого контроля многократно превысят всю возможную прибыль от распространения этих технологий.

3. Риски распространения ГМО и ГМ-продуктов для живой природы и человека

Сейчас ясны не менее девяти групп рисков распространения ГМО и ГМ-продуктов для живой природы и человека.

- возникновение новых опасных свойств у вирусов и бактерий. Вирусы могут стать более агрессивными и менее видоспецифичным (например, вирусы растений могут стать опасными для животных).
- неблагоприятное воздействие на здоровье человека. Распространение разных форм аллергии. В частности, подозревают, что детские молочные смеси, в которые входит ГМ-соя, стали вызывать в большей степени, чем, раньше аллергию у детей. Встроенный ген может перейти из ГМ-продукта в микрофлору кишечника. В результате она может стать нечувствительной к антибиотикам. Как следствие – распространение новых штаммов болезнетворных бактерий. То, что такой перенос чужеродной ДНК возможен, доказывает существование онкогенов (генов, переносимых вирусом и вызывающих опухоли у хозяина) и апоптозных генов (генов, переносимых вирусом, и препятствующих уничтожению зараженных вирусом клеток).
- угроза естественному (природному) биоразнообразию. Распространение ГМО приводит к сокращению видового разнообразия растений, животных, грибов и микроорганизмов обитающих на полях, где они выращиваются и вокруг них. Быстрорастущие ГМ-организмы (деревья, рыбы и др.) могут вытеснять обычные виды из естественных экосистем.

- угроза разнообразию аборигенных пород и сортов. Распространение ГМО ведет к снижению разнообразия других сортов и пород. Это разнообразие – основа устойчивости сельского хозяйства.
- появление новых сорняков и вредителей. Гены устойчивости к пестицидам, попадая от ГМО к диким видам, превращают ранее не опасные для сельского хозяйства виды в сорняки и вредители.
- засорение традиционных сортов трансгенными формами. В результате неконтролируемого опыления не-трансгенных сортов происходит ухудшение свойств и потеря чистоты традиционных сортов.
- переход традиционных вредителей на новые культуры. Если какие то сорта растений с помощью ГМ-технологий делаются непривлекательными для вредителей (например, картофель с помощью *Bt*-токсина), это может подтолкнуть вредителей к освоению новых, ранее массово не поражаемых таксономически близких растений (других пасленовых – томатов, перца, баклажанов).
- нарушение естественного контроля вспышек численности вредителей. В природе у каждого вида есть естественные враги и паразиты, не позволяющие одному виду чрезмерно размножаться. Воздействие токсинов ГМ-растений на свободноживущих хищных и паразитических насекомых приведет к нарушению сложнейших отлаженных миллионами лет эволюции взаимодействий в экосистемах, и в том числе – к неконтролируемым вспышкам численности одних видов, и вымиранию других.
- истощение и нарушение естественного плодородия почв. ГМ-растения с генами, ускоряющими рост и развитие, в значительно большей степени, чем обычные, истощают почву и нарушают ее структуру; в результате подавления токсинами ГМ-растений жизнедеятельности почвенных беспозвоночных, почвенной микрофлоры и микрофауны происходит нарушение естественного плодородия.

Широкомасштабное коммерческое использование ГМО сопровождается не только названными выше экологическими, медицинскими и сельскохозяйственными рисками, но и проблемам политико-экономического характера. Поскольку вырезанный и вставленный в другой организм ген рассматривается юридически как «изобретение» и «интеллектуальная собственность», компании-производители ГМО имеют право на роялти (лицензионные платежи). Это приводит к зависимости национального аграрного производства от транснациональных биотехнологических корпораций (и тем самым несет угрозу обеспечения национальной продовольственной безопасности).

Примеры реализованных опасностей ГМО и ГМ-продуктов

- Для производства пищевой добавки триптофан в США в конце 80-х гг. была создана ГМ-бактерия. Однако вместе с обычным триптофаном она стала вырабатывать этилен-бис-триптофан. Это соединение явилось причиной тяжелого заболевания (мышечные боли, спазмы дыхательных путей) сотен и гибели десятков человек.
- ГМ-соя с геном бразильского ореха, устойчивая к гербициду раундап, вызывает у некоторых людей сильную аллергию. Устойчивая к одному из вирусов ГМ-папайя также сильный аллерген.
- У крыс, которых 9 месяцев кормили ГМ-картофелем, произошло стойкое нарушение иммунной системы, возникли аномалии в строении желудочно-кишечного тракта, печени, селезенки и головного мозга.
- Божьи коровки, которые питались тлями, жившими на ГМ-картофеле, становились бесплодными.
- В Индии устойчивость к гербицидам ГМ-рапса передалась дикой горчице, которая в результате стала важным сорняком рапса.
- В Канаде стихийно возникло несколько малоценных гибридов ГМ-растений, устойчивых против нескольких гербицидов (кандидаты в супер-сорняки).
- В Канаде возбуждены судебные дела по возмещению убытков от засорения вегетически чистого рапса семенами трансгенных сортов (корпорация «Монтсано» утверждала при получении разрешения на посев ГМ-рапса, что он не может опылять другие сорта).
- Ген бактерии *Bacillus thuringiensis*, включенный в геном картофеля, вырабатывает вещество, вызывающее паралич жевательных мышц колорадского жука и в результате жуки гибнут от голода. (*Bt*-токсин сходным образом действует, по крайней мере, на 150 других видов насекомых, не нападающих на картофель). От жука урожай сокращается максимум на 40 %. Но поскольку ГМ-картофель менее устойчив к гнили, его погибает при хранении до 70 %. Чтобы избежать возникновения нечувствительных к *Bt*-токсину рас картофеля нельзя высаживают в следующий сезон на том же поле, и надо часто менять ГМ-сорта.
- В США и Китае обнаружены популяции насекомых-вредителей нечувствительных к *Bt*-токсину.
- Трехлетнее исследование, проведенное по поручению Министерства сельского хозяйства Великобритании показало, что в агроценозах ГМ-сортов рапса и свеклы, по сравнению с агроценозами обычных культур, общее число диких видов сокращено, в среднем, на 30 %, а число семян и биомасса диких растений сокращены в несколько раз.

4. Как относятся к ГМО в разных странах?

Самое либеральное законодательство по отношению к ГМО существует в США. В Евросоюзе введены жесткие ограничения на производство продуктов питания с включением ГМ-компонент и импорт ГМ-сырья (правила предусматривают маркирование всех продуктов, содержащих более 0,9 % ГМ-компонет). С 2004 г. Евросоюз запретил использование ГМО в продуктах детского питания, предназначенного для детей до четырех лет. Во Франции, Италии и Греции требуются маркировка продуктов, содержащих любое количество ГМ-компонент.

Мораторий на ГМО существует в Новой Зеландии и большинстве стран Африки. В обращении Министров сельского хозяйства ряда стран Африки, озаглавленном *“Давайте продолжать собирать природный урожай”*, говорится: *“Мы решительно возражаем против того, чтобы образ бедных и голодных людей использовался многонациональными корпорациями гигантами для протаскивания технологии, которая не является безопасной, и не несет нам ни экологической, ни экономической выгоды. Мы считаем, что это уничтожит разнообразие, местные обычаи и устоявшиеся аграрные системы, которые наши крестьяне создавали на протяжении тысяч лет, и является миной замедленного действия под нашу способность прокормить самих себя”*.

В Китае и Индии существуют ограничения на использование пищевых ГМ-продуктов. В январе 2004г. США приняли решение о пересмотре ранее выданных разрешений на коммерческое использование несельскохозяйственных ГМО (в том числе рыб, беспозвоночных, деревьев, трав, насекомых и микроорганизмов) для выяснения их возможного влияния на окружающую среду.

5. ГМО в России

ГМ-продукты в Россию официально поставляют более 50 фирм. Эти поставки составляли в 2002 г. около 500 тыс. тонн в год и их объем растет. По данным Института питания РАМН в 2003 г. трансгенные соя и кукуруза присутствовали в 61 продуктах (муке, колбасах, напитках, пищевых добавках, детском питании).

По сведениям Минздрава в 2003 г. России зарегистрированы 59 пищевых ГМ-продуктов (в том числе 11 напитков и коктейлей, 4 специализированных продуктов для спортсменов, 22 пищевых добавки, 3 вида мороженого, три вида вегетарианских бургеров, 16 других белковых продуктов). А.Н. Лаврентьевым и Т.В. Замолотских, из Центра Госсанэпиднадзора Свердловской области, в 2003 г. было зарегистрировано на территории области 20 предприятий, использующих, в среднем, ежемесячно 23,6 т ГМ-сырья, для производства 57 наименований соусов из: соевых бобов, белка «Супра», белка ДАН-ПРО-НВ, «АРДЕКС», концентратов соевого белка «Майкон Гекс 70» и АРКОН-Ф, соевой муки разных сортов и крахмала.

Поданным российского ГРИНПИС, все 12 крупнейших международных пищевых корпораций поставляют в Россию не менее 77 пищевых ГМ-продуктов (многие сотни наименований кондитерских и хлебно-булочных изделий, жиров, приправ, напитков). Анализы ГРИНПИС показывают, что до 40 % обычных продуктов питания в крупных супермаркетах Москвы содержат ГМ-компоненты.

С 2000 г. в России обязательна маркировка продуктов в которых содержится более 5 % ГМ-компонет. В 2002 г. введена государственная регистрация всех ГМО при их первом выпуске в окружающую среду, промышленном использовании и импорте. Однако, в России нет системы контроля, способной обеспечить выполнение этих, весьма либеральных, требований. За несколько лет, прошедших после принятия Закона о генно-инженерной деятельности, государственный мониторинг ГМ продуктов так и не налажен – есть только отдельные центры сертификации и экспертные советы (Табл. 1).

Таблица 1. Государственные структуры, связанные с ГМО и их продуктами в России к началу 2004 г.

Ведомство	Структура	Примечание
Министерство здравоохранения	Центр сан-эпидемиологического нормирования, гигиенической сертификации и экспертизы Госсанэпиднадзора	Регистрация продуктов из ГМ-источников (с 1 июля 1999г.)
	Ин-т питания РАМН, Ин-т вакцин и сывороток РАМН, НИИ Гигиены Минздрава, Центр «Биоинженерия» РАН, Медико-генетический НЦ РАМН, МГУ прикладной биотехнологии	Оценка биобезопасности ГМ-продукции
Министерство сельского хозяйства и продовольствия	Экспертный совет по биобезопасности ГМ-кормов (приказ министра от 10 сентября 2002 г. № 701)	Регистрация кормов полученных из ГМ-источников (с 18 февраля 2002 г.)
Министерство промышленности, науки и технологии	Экспертный совет по проблемам биобезопасности (Приказ министра от 10 июля 2001 г., № 264)	Рекомендации по внедрению ГМО
	Комиссия Минпромнауки по представлению экспертного совета по биобезопасности и Межведомственной комиссии по проблемам ГИД.	Регистрация ГМ-организмов (микроорганизмов, растений, животных) с 16 февраля 2001 г.

Таблица 1. Продолжение

Ведомство	Структура	Примечание
Министерство природных ресурсов	Государственная экологическая экспертиза действующая в рамках ФЗ «О экологической экспертизе» (от 23 ноября 1995 г.)	Разрешение на выпуск ГМ-организмов в окружающую среду и занесение в государственный реестр
Межведомственная комиссия по проблемам генно-инженерной деятельности		Координация исследований и ОКР

К 2004 г. в России зарегистрировано девять ГМ-сортов: четыре – кукурузы (устойчивых к гербицидам и кукурузному мотыльку), два – картофеля (устойчивых к колорадскому жуку), два – сои, один – сахарной свеклы. Все они созданы на основе генов, полученных от зарубежных транснациональных компаний. В пищевой промышленности России к 2003 г. было разрешено использование ГМ-продуктов девяти ГМО (Табл. 2).

Таблица 2. Список ГМ-культур, зарегистрированных и разрешенных к использованию в пищевой промышленности России в 1999–2002 гг. (по Материалам международной научно-парактической конференции «Трансгенные растения – новое направление в биологической защите растений», Краснодар, 2003)

Культура	Производитель
Картофель Russet Burbank Newleaf, устойчивый к колорадскому жуку	“Монсанто” (США)
Картофель Superior Newleaf, устойчивый к колорадскому жуку	“Монсанто” (США)
Кукуруза линии GA21, устойчивой к глифосату	“Монсанто” (США)
Кукуруза линии MON 810, устойчивой к стеблевому мотыльку	“Монсанто” (США)
Кукуруза линии T-25, устойчивой к глюфосинату аммония	“Авентис Кроп Сайенс ГмБХ” (ФРГ)
Кукуруза линии NK-603, устойчивой к глифосату	“Монсанто” (США)
Соя линии 2704-12 и линии 5547-127, устойчивых к глюфосинату аммония	“Авентис Кроп Сайенс ГмБХ” (ФРГ)
Соя линии 40-3-2, устойчивой к глифосату	“Монсанто” (США)
Сахарная свекла линии 77, устойчивой к глифосату	“Монсанто” (США), “Сингента Сидс” (Франция)

При анализе фирм присутствующих на нашем рынке следует отметить, что они являются широко известными биотехнологическими фирмами, специализирующимися на разработке и выпуске биотехнологической продукции. При патентовании данных изобретений на территории РФ основными заявителями являются: США (52%), России (16%), Германии (7%), Японии (6%), Нидерландов (4%), Канады (2%), Швейцарии (2%), остальные страны (11%).

В целом, совершенно ясно, что ГМО и ГМ-продукты достаточно свободно проникают и слабо контролируются в России. Поэтому положения, сформулированные в «Основах государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации» (Пр-2194 от 04.12. 2003г.): «... обеспечение безопасности продуктов питания и лекарственных средств, производимых из генетически измененных материалов, ...создание системы государственного контроля за оборотом генетически модифицированных материалов» являются весьма актуальными.

6. О стратегии развития сельского хозяйства России

России не следует копировать американский путь развития сельского хозяйства (в части широкого распространения ГМО) по четырем причинам.

1. Явный риск для здоровья человека и окружающей живой природы и весьма неявные выгоды для общества. В России, с ее демографическим кризисом (каждый год число россиян уменьшается на 1 млн.), желательнее избегать любой дополнительной угрозы для здоровья населения. До 30 % преждевременных смертей в России обусловлено экологическими причинами. Нужно уменьшать экологические факторы риска, а не добавлять новые. Американский путь (использование нездоровой пищи, а потом эффективное восстановление здоровья), невозможен в России, где затраты на медицинское обслуживание во много раз меньше, чем в США.

2. В России не нужны сверх-устойчивые к пестицидам ГМ-сорта, поскольку проблемы подавления пестицидами выращиваемых растений практически не существует. У нас (в отличие от большинства развитых стран) есть огромные резервы для ведения традиционного сельского хозяйства без пестицидов. Урожайность в России не сократилась, а несколько выросла за последние 14 беспестицидных лет. И мировой, и российский опыт показывают, что без химии, с органическими удобрениями (навоз, солома), с парами, щадящей вспашкой, с умеренным применением минеральных удобрений, можно получать до 30–35 центнеров зерновых с гектара. Если это будет сделано, то Россия (вместе с Украиной) сможет снова, как это было в начале XX века, обеспечивать зерном всю Европу.

3. Распространение ГМ-картофеля в российских условиях просто опасно. По американскому регламенту, чтобы не возникли супер-вредные (устойчивые к Vt-токсину) расы колорадского жука необходимо одновременное соблюдение трех условий:

- ежегодная смена полей;
- ежегодная смена сортов;
- сохранение внутри каждого картофельного поля островков дикой растительности, где могли бы размножиться естественные враги и паразиты этого жука.

В России невыполнимо каждое условие, не говоря уже обо всех вместе.

Добавим к этому, что практически весь собираемый картофель в США долго не хранится, поскольку сразу идет на переработку. Поэтому такое свойство ГМ-картофеля, как слабая лежкость (в процессе хранения гибнет 60–100 % клубней) не беспокоит американских фермеров.

В условиях России в результате распространения ГМ-картофеля, во-первых, повсеместно возникнут сверх-устойчивые популяции колорадского жука и, во-вторых, катастрофически возрастут потери картофеля при хранении. Следующим последствием будет утрата здоровья людьми, в пищевом рационе которых картофель является «вторым хлебом» (это не менее 20 млн. человек).

4. Продукция российского сельского хозяйства станет все более привлекательной на мировом продовольственном рынке при условии сохранения ее экологической чистоты. Распространение ГМО навсегда лишит наше сельское хозяйство этого стратегического преимущества.

7. Как снизить риски от распространения ГМ-организмов и ГМ-продуктов?

Для снижения рисков от агрессивного распространения ГМ-технологий надо использовать уже накопленный мировым сообществом опыт снижения риска опасных технологий (ядерно-радиационных и др.) и создать во всех странах государственные агентства по трансгенным продуктам и организмам, а под эгидой ООН – соответствующий международный орган.

«основными направлениями государственного регулирования в области генно-инженерной деятельности в России являются:

- (а) улучшение условий жизни человека и охрана здоровья,
- (б) охрана и восстановление окружающей среды, сохранение биологического разнообразия,
- (в) повышение эффективности сельского хозяйства.»

«Генно-инженерная деятельность должна быть основана на принципах:

- (а) безопасности граждан,
- (б) общедоступности сведений о безопасности генно-инженерной деятельности,
- (в) сертификации продукции, содержащей результаты генно-инженерной деятельности, с указанием полной информации о методах получения и свойствах данного продукта.

Из ст. 5 закона РФ «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности (1996 г.).»

Применяемые методы оценки риска ГМО и ГМ-продуктов, разработанные столетия назад для оценки безопасности химических веществ и фармацевтических препаратов, принципиально не достаточны для оценки рисков ГМО и ГМ-продуктов для человека и биосферы. Поэтому государства, берущие на себя ответственность перед своими гражданами, разрешая распространять ГМО и ГМ-продукты, должны принять меры для объективной (независимой от создателей и распространителей ГМО и ГМ-продуктов) оценки мутагенных, канцерогенных и других негативных эффектов для здоровья человека и биосферы. Это потребует многолетних экспериментов и наблюдений на большом спектре видов с применением генетических, иммунологических, эндокринологических и других методов исследований. Не исключено, что стоимость таких исследований будет не меньшей, чем стоимость разработки и распространения ГМ-технологий. Пока же, для обеспечения экологической безопасности общества и природы в связи с распространением ГМО необходимо:

- разделять нормальную и трансгенную продукцию на всех этапах производства – от поля до магазина;
- создать специальные банки генетически чистых аборигенных сортов.

С каждым годом экологические, медицинские, экономические и социальные риски при распространении и использовании ГМО и ГМ-продуктов питания становятся все более явными. Мир в результате распространения ГМО становится не благополучней, а опасней.

В интересах национальной и глобальной безопасности необходима скорейшая разработка и принятие мер по снижению риска от этих технологий, и прежде всего – жесткие ограничения их распространения в сельском хозяйстве и пищевой промышленности.

Литература

- «Трансгенные растения – новое направление в биологической защите растений». 2003. Материалы международной научно-практической конференции, Краснодар, 245 с.
- Баранов А.С. Кревер О.Н., Разбаш О.А. (Ред.). 2002. Обеспечение экологической безопасности при использовании генетически модифицированных организмов. Сб. материалов Круглого стола Всероссийской конференции по экологической безопасности (4–5 июня 2002 г.), Москва, 255с.
- Вельков В.В. 2000. Трансгенные микробы – оценка риска. Агро XXI, № 11, с. 14–15.

- Вельков В.В. 2000. Оценка риска при интродукции генетически модифицированных микроорганизмов в окружающую среду. *Агрохимия*, №8, с. 76–86.
- Вельков В.В. 2003. Оценка агроэкологических рисков производства трансгенных энтомоцидных растений. *Агрохимия*, №2.
- Йорыш А.И., Красовский О.А. 1997. Правовые аспекты генной инженерии. *Государство и право*, № 3, с.112–115.
- Коломбет Л.В. 2000. Вероятность возникновения резистентности к энтопатогенным эндотоксинам *Bt*- у колорадского жука и других насекомых. В сб.: *Современные системы защиты и новые направления в повышении устойчивости картофеля к колорадскому жуку*, М., с. 59–62.
- Соколов М.С. 2000. Устойчивость сорняков к гербицидам и её преодоление. *Агро XXI*, № 9, с. 2–4.
- Соколов М.С., Филипчук О.Д. 1999. Биотопно-популяционная адаптация сорняков к средствам борьбы. *Сельскохозяйственная Биология*, № 1, с. 3–16.
- Храмова Ю.П. 2002. Правовое регулирование оценки рисков генетически модифицированных объектов. *Экологическое право России*, Вып. 3, М., с. 201–210.
- Advice on the implications of the farm-scale evaluations of genetically modified herbicide tolerant crops 2004. Advisory Committee on Releases to the Environment. 13 January (http://www.defra.gov.uk/environment/acre/advice/pdf/acre_advice44.pdf).
- Anderson. T. 2004. GM uptake figures are not accurate SciDev.Net6 26 January (<http://www.scidev.net/editorletters/index.cfm?fuseaction=readeditorletter&itemid=25&language=1>).
- Benbrook C. M. 2003. Impacts of Genetically Engineered Crops on Pesticide Use in the United States: The First Eight Years. *BioTech InfoNet Tech. Paper*, # 6, 46 pp. (http://www.biotech-info.net/Technical_Paper_6.pdf).
- Californian county bans transgenic crops. 2004. *Nature*, № 428, p. 107, 11 March.
- Concern about Tryptophan Supplement. 1998. (<http://www.cce.cornell.edu/food/index.html>).
- Gathura G. 2004. GM technology fails local potatoes. *The Daily Nation (Kenya)*, January 29 (<http://www.connectotel.com/gmfood/dn290104.txt>).
- Global Status of Commercialized Transgenic Crops. 2003. ISAAA Briefs No. 30-2003 (http://www.isaaa.org/Press_release/Briefs30-2003/es_b30.pdf).
- Hardin P. 2004. FDA, Monsanto need to reveal truth about growth hormone. *The Capital Times*, February 2 (<http://www.madison.com/captimes/opinion/column/guest/66560.php>; <http://www.connectotel.com/gmfood/ct020204.txt>).
- Labelling GM Foods. 2002. The Parliamentary Office of Science and Technology, # 172 (<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/gmlabelleg>; www.parliament.uk/post/home.htm).

- Mason J. 2004. GM oilseed rape could harm the environment. Financial Times, January 28 (<http://www.connectotel.com/gmfood/ft280104.txt>; <http://news.ft.com/servlet/ContentServer?pagename=FT.com/StoryFT/FullStory&c=StoryFT&cid=1073281380197>).
- Pollack A. 2004. Rethinking Regulation of Engineered Crops. January 23, The New York Times (<http://www.connectotel.com/gmfood/ny230104.txt>)
- Pusztai A. 2000. GM Foods and Denial of Rights and Choices: Frontline (India), November 10.
- Rutter D. O. 2003. Hard to Swallow. Debunking the propaganda behind genetically modified foods (<http://seedsofdeception.com/Review-from-Catalyst.php>).
- Stilwell M., Van Dyke B. 1999. An Activist's Handbook On Genetically Modified Organisms and the WTO. Center for Int. Environ. Law. (<http://www.google.com.ru/search?q=cache:WXhS4dKYAb8J;www.consumerscouncil.org/policy/handbk799.htm+GM+organisms&hl=ru&ie=UTF-8>).
- Scott A. 2003. No lifting of Euro GM ban, yet. The Scientist, December 11 (<http://www.biomedcentral.com/news/20031211/03>).
- Italian region orders GM maize fields destroyed. 2003. ABC News Online, 12 July (<http://www.abc.net.au/news/justin/weekly/newsnat-12jul2003-8.htm>).
- Sharma A. B. 2004. Genetically Engineered Food Tech Will Not Eliminate Hunger. The Financial Express, January 12 (<http://www.connectotel.com/gmfood/fe110104.txt>; http://www.financialexpress.com/fe_full_story.php?content_id=50321).
- Smith J.M. 2003. Seeds of Deception. Exposing industry and Government Lies About the Safety of the Genetically Engineering Foods You're Eating. Yes! Books Publ., Fairfield (www.seedsofdeception.com).
- Vidal J. 2004. Scientists suspect health threat from GM maize. February 27, The Guardian.
- Weiss R. 2004. Engineered DNA Found in Crop Seeds. Tests Show U.S. Failure to Block Contamination From Gene-Altered Varieties. Washington Post, February 24, p. A02

Роль, место и последствия трансгеноза в современной селекции растений^{*)}

А.А. Жученко

Российская академия сельскохозяйственных наук, Москва

«Между крайними точками
зрения лежит не истина,
а проблема»
И.В. Гете

Введение

Генетическая инженерия растений — выдающееся достижение человеческого разума. Оно не нуждается в вымыслах и преувеличениях, а требует всесторонней, объективной оценки. Очевидно, что наряду с принципиально новыми возможностями, которые связаны с передачей наследственной информации между таксономически отдаленными организмами (принадлежащими к различным царствам, родам, семействам и видам), будет непрерывно увеличиваться и число направлений, по которым методы геномной инженерии будут интегрироваться в современную технологию селекции растений. Современная геномная инженерия — хотя и исключительно важный, но лишь один из многочисленных методов управления генетической изменчивостью организмов, широко используемых в селекционной практике. И если число трансгенных сортов в настоящее время исчисляется сотнями, то обычных — десятками тысяч и охватывает не 150, а свыше 5 тыс. культивируемых видов растений. Задачи традиционной селекции значительно шире: они включают как продукционные, так и средоулучшающие направления, а также введение в культуру новых видов. Современные методы селекции позволяют манипулировать одновременно десятками признаков, включая полигенные, тогда как возможности трансгеноза пока ограничиваются единичными генами.

В дискуссиях по проблемам генетической инженерии обычно основной упор делается на критериях, показателях и методах оценки пищевой безопасности генетически модифицированных организмов (ГМО) и получаемых из них продуктов. Между тем главное внимание, на наш взгляд, должно

*)Извлечение из авторской статьи по итогам научной дискуссии, посвященной проблемам селекции и производства трансгенных растений «Роль генетической инженерии в адаптивной системе селекции растений (Сельскохозяйственная биология, 2003, 1, с.3 - 33). Там же см. список использованной литературы.

быть уделено эволюционной, биологической и экологической безопасности ГМО. Вся история развития сельского хозяйства (да и цивилизации в целом) многократно доказывала пагубность подмены широкого научного базиса узким сиюминутным прагматизмом и всякого рода целесообразностью — экономической, политической, конъюнктурной и пр.

Санитарно-гигиеническая и медико-биологическая экспертизы играют хотя и важную, но только вспомогательную роль, когда речь идет об эволюции организмов, действительно управляемой волей человека. Кроме того, следует соотносить угрозу голода (которая вполне реальна) с действительными возможностями биоинженерии вообще и генетической инженерии, в частности в обеспечении продовольственной безопасности населения в предстоящий период. Можно считать доказанным, что целостность генома вида (а во многих аспектах и сорта) защищена каскадом генетических систем, канализирующих процессы генетической изменчивости и ограничивающих спектр доступных естественному и искусственному отбору рекомбинантов (особенно интрогрессивных и трансгрессивных). Другими словами, status quo генофонда высших эукариот количественно и качественно поддерживается множеством механизмов. Разумеется, роль канализированности генетической изменчивости, весьма относительная при естественной эволюции, оказывается существенной в селекции, когда на создание новых сортов растений со все большей продуктивностью и комплексом хозяйственно ценных признаков отводятся лишь считанные годы. Бесспорно, мы еще весьма далеки от полного использования той генетической изменчивости, которая обеспечивается за счет традиционных методов селекции. Однако необходимость расширения и качественного изменения спектра доступной отбору генотипической изменчивости культурных растений стала очевидной и неотложной.

Сочетание методов адаптивной системы селекции и генетической инженерии растений

Рекомбинационная селекция обеспечивает непрерывное расширение спектра доступной отбору генетической изменчивости хозяйственно ценных и адаптивно значимых признаков, в том числе постоянное увеличение числа идентифицированных генетических доноров потенциальной урожайности и экологической устойчивости. Для этого широко применяют методы эндогенного и экзогенного индуцирования генетической изменчивости, преодоления половой несовместимости между видами одного семейства, гаметофитного отбора, позволяющего на основе больших популяций пыльцы идентифицировать на искусственных фонах генотипы, функционально эквивалентные искомым спорофитам и т.д.

Рассматривая возможности интеграции адаптивной системы селекции и генетической инженерии следует, прежде всего, определить принципиально новые приоритеты самой селекции растений, вытекающие из современного понимания:

- роли интегрированности генома и всего идиотипа у высших эукариот, проявляющейся в формировании блоков коадаптированных генов и

- сохранении их status quo при передаче наследственной информации от одного поколения к другому;
- необходимости перехода от управления изменчивостью моногенных признаков к комбинаторике количественных (полигенных) признаков, многие из которых относятся к хозяйственно ценным;
 - первостепенной роли мейотической рекомбинации (а не мутаций) в формировании потенциальной, свободной и доступной отбору генетической изменчивости у цветковых растений; роли абиотических и биотических факторов внешней среды, определяющих не только направление и темпы естественного отбора («формирующее» влияние биоценотической среды), но и выступающих в качестве индукторов генетической изменчивости (мутационной, рекомбинационной, репарационной, транспозиционной);
 - необходимости сочетания в сортах и гибридах высокой потенциальной продуктивности, устойчивости к действию абиотических и биотических стрессоров, а также продукционных и средообразующих (почвоулучшающих, фитомелиоративных, фитосанитарных, ресурсовосстанавливающих, дизайн-эстетических и др.) функций;
 - важности развития новых направлений селекции, включая фито(био)ценотическое, биоэнергетическое, экотипическое, экологическое, симбиотическое, а также апомиктическое, гаметное и др.;
 - возможности использования «доместикационного синдрома» с целью введения в культуру новых видов и экотипов растений (экологическая и экотипическая селекция).

В то же время, современная селекция характеризуется целым рядом трудностей и нерешенных проблем, важнейшими из которых являются следующие.

1. Чем больше признаков селекционер стремится объединить в одном сорте или гибриде, тем ниже темпы естественного отбора, тем больше времени требуется для создания нового сорта. Наличие отрицательных генетических и биоэнергетических по своей природе корреляций между признаками существенно снижает темпы создания новых сортов.
2. Возможности традиционной селекции особенно ограничены при использовании зародышевой плазмы таксономически неродственных и отдаленных видов. Основным препятствием при этом являются генетически детерминированные презиготические и постзиготические барьеры. При использовании в качестве доноров ценных признаков диких сородичей культурных растений продолжительность и масштабы селекционного процесса резко возрастают.
3. Дальнейший рост урожайности по важнейшим культурам сдерживается уже достигнутым высоким индексом урожая (0,5–0,8).
4. Усиление зависимости варибельности величины и качества урожая от нерегулируемых факторов внешней среды, доля которых по основным зерновым культурам превышает 60%.

5. При внесении высоких доз минеральных удобрений и мелиорантов, использовании полного набора пестицидов и средств механизации происходит экспоненциальный рост затрат исчерпаемых ресурсов на каждую дополнительную единицу урожая, в том числе пищевую калорию, усиливается зависимость продуктивности агроэкосистем от техногенных факторов, а в конечном счете – возрастают масштабы загрязнения и разрушения агроландшафтов.
6. Антиэволюционные тенденции в селекции и конструировании агроэкосистем, проявляющиеся в увеличении генетической однородности сортов и однотипности агроценозов в противовес их агроэкологической специализации, гетерогенности и дизайно-эстетической привлекательности.
7. При интеграции селекционно-агротехнических и генно-инженерных программ в большинстве случаев оказывается неизвестной генетическая природа хозяйственно ценных количественных признаков, а также эффектов их взаимодействия.
8. Наконец, как в традиционной селекции, так и при трансгенезе использование новых генетических доноров, как правило, требует значительной предварительной селекционной работы.

Анализ достижений селекции второй половины XX столетия свидетельствует также о том, что большинство улучшенных агрономических признаков, обусловивших рост урожайности, имеет полигенный, комплексный характер. Созданы сорта и гибриды с широкой агроэкологической адаптацией, замедленным старением листьев, устойчивостью к полеганию, толерантностью цветков к абортированию в условиях жары и засухи, горизонтальной устойчивостью к болезням и др. В современных селекционных программах основное внимание также уделяется сочетанию высокой потенциальной продуктивности сортов и способности противостоять действию абиотических и биотических стрессоров. В числе основных причин такой ориентации – тенденции к увеличению разрыва между рекордной и средней урожайностью по важнейшим сельскохозяйственным культурам (обычное соотношение 4:1), повышение зависимости величины и качества урожая от применения энергоемких техногенных средств, а также погодных флуктуаций (вариабельность урожайности по годам на 60–80% обусловлена «капризами» погоды). Дальнейшее успешное развитие современной селекции растений требует использования качественно новых методов, технологий и биологических концепций.

Известно, что генетика количественных признаков, игнорируя реальную генетическую природу их структурной организации и функционирования, длительное время базировалась на методах, сводящих сложные признаки к простым («главным факторам» и пр.). В дальнейшем была признана динамичность формирования количественных признаков в морфогенезе, обуславливающая многовариантность реализации матричных структур (на пути ген-признак), перераспределение экспрессии генов и коадаптированных блоков генов в процессе формирования сложного признака и т.д.

В настоящее время количественные признаки обычно рассматривают как динамичную многовариантную целостность, выявить генетическую природу всех составляющих которой практически невозможно. Что же касается генетических маркеров (marker-assisted-selection – MAS), реализующих свой эффект в отношении количественных признаков, то их идентификация остается весьма сложной, а практическое использование в селекции пока ограниченным.

Поскольку с помощью генетической инженерии не создают, а только улучшают уже адаптированные к определенным условиям (внешней среды, а также технологиям возделывания) сорта и гибриды, в комплексных селекционно-агротехнических программах должны быть изначально определены цели и этапы использования классических и биоинженерных методов управления наследственной изменчивостью при реализации конкретной морфофизиологической и агроэкологической модели сорта (гибрида). Показано, например, что высокая адаптивность озимой пшеницы Мироновская 808, получившей широкое распространение в самых разных почвенно-климатических и погодных условиях возделывания, объясняется идеальной агроэкологической «подогнанностью» генома и цитоплазмы (плазмона) этого сорта, что и определяет высокую зимостойкость и гомеостатическую способность колоса, а также его выносливость при загущенном стеблестое (Хангильдин, 1996).

Особенно большие возможности генетической инженерии открываются, на наш взгляд, в плане использования методов трансгеноза для индукции мейотической рекомбинации на основе переноса в межвидовые гибриды растений эндогенных индукторов кроссинговера (Жученко, 1980, 1988, 2001). В последние годы доказано, что перенос гена *rec A* в растения табака позволяет увеличить рекомбинационную изменчивость. В опытах Авдеева с соавт. (2000) установлено, что у регенерантов и гибридов трансгенных растений томата, несущих ген энтомоцидного белка (дельта-эндотоксина), повышается частота выщепления «редких» мутаций. В наших опытах обнаружено изменение частоты рекомбинации между локусами *ful-e* у гибридов томата, полученных при участии трансгенной формы с *Ds*-элементом в 4-й хромосоме. Одновременно отмечены и изменения расщепления по фенотипическим классам (Соловьев и др., 2002).

В процессе интеграции методов адаптивной системы селекции и трансгеноза первостепенное внимание должно быть уделено повышению устойчивости сортов и гибридов к болезням, вредителям и сорнякам. О важности этого направления селекции свидетельствует уже тот факт, что общее число потенциально вредоносных для агроэкосистем видов достигает 80–100 тыс., в том числе свыше 30 тыс. возбудителей грибных, бактериальных и вирусных заболеваний, около 10 тыс. членистоногих вредителей и др. Несмотря на рост ассортимента пестицидов, применяемых в сельском хозяйстве к началу XXI столетия, потери урожая составляют в среднем 33%. Общая же цена потерь урожая сельскохозяйственных растений в мире, согласно имеющимся оценкам, только от болезней достигает 50 трлн долл. в год. В этой связи большие перспективы представляет сочетание методов традиционной селекции и

трансгеноза при создании сортов с вертикальной устойчивостью, а также многолинейных и синтетических сортов. Связано это с тем, что методы геной инженерии позволяют встраивать в растение-реципиент сразу несколько разных генов устойчивости, создавая, таким образом, «пирамиду генов», обеспечивающую комплексную резистентность сорта. Однако нет оснований утверждать, что геной инженерия якобы сокращает время выведения сортов с требуемыми характеристиками (Шеламова, 2001 и др.), так как для этого всегда используют сорта, уже приспособленные к местным условиям внешней среды (климату, почве, погоде, технологиям возделывания), для создания которых необходимо 5–10 лет и более.

Поскольку гаметная селекция, базирующаяся на прямом (свойства самой пыльцы) и косвенном (корреляция между признаками гаметофита и спорофита) отборе пыльцы, позволяет значительно ускорить селекционный процесс, очевидна не только возможность, но и целесообразность сочетания методов гаметной селекции и трансгеноза. В основу такой интеграции может быть положена гибридизация трансгенных форм с сортами-реципиентами, а также использование самой пыльцы в качестве генетически модифицируемого объекта. Главные преимущества сочетания методов гаметной селекции и геной инженерии состоят, на наш взгляд, как в возможности оценки громадного числа гамет для прямого отбора искомым генотипов на специально созданных и сравнительно легко регулируемых фонах, так и в увеличении вероятности идентификации ценных спорофитов на основе корреляционного анализа (косвенный гаметофитный отбор).

В интеграции методов современной селекции и биоинженерии исключительно важную роль играет возможность с помощью последней решать две принципиально разные, но одинаково приоритетные для селекции и семеноводства растений задачи: различать генотипы растений и паспортизировать сорта, а также выявлять гены, контролирующие хозяйственно ценные и адаптивно значимые признаки (Хавкин, 2000).

Итак, в XXI веке роль сочетания методов адаптивной системы селекции и трансгеноза в формировании величины и качества урожая, а также средоулучшающих и ресурсовосстанавливающих функций агроэкосистем может не только существенно возрасти, но и оказаться решающей при целенаправленном управлении наследственностью и изменчивостью культурных растений. При этом основополагающее значение селекции в дальнейшем наращивании производства сельскохозяйственной продукции обусловлено тем, что применение техногенных средств интенсификации в развитых странах уже достигло порога антропогенного насыщения агробиогеносов, а для большинства развивающихся стран по-прежнему остается недоступным. Поскольку уже практически полностью использованы резервы расширения площадей продуктивных почв или запасов пресной воды для их орошения, а затраты невозполнимых ресурсов на каждую дополнительную единицу урожая и масштабы деградации природной среды имеют постоянную тенденцию к росту, будущее цивилизации во многом зависит от возможностей биологизации и экологизации интенсификационных процессов в системе сельскохозяйственного природопользования.

Ограничения и опасности генетической инженерии

При оценке возможностей генетической инженерии важно учитывать те ограничения и опасности, которые вытекают из законов генетической и экологической изменчивости живых организмов. Известно, что генетическая сложность цветковых растений на много порядков выше, чем бактерий. При этом барьеры, обуславливающие половую несовместимость и инконгруэнтность у высших растений, весьма многочисленны и вовсе не исчерпываются известными предзиготическими и постзиготическими механизмами. Поскольку многие закономерности генетической инженерии неизвестны, и мы не знаем, сколько времени потребуется на их познание, было бы весьма опасным пренебрегать традиционными методами селекции, которые сегодня кормят население Земли.

Высоко оценивая роль генетической инженерии в селекции растений, особенно в плане преодоления барьеров несовместимости любого уровня, следует, однако, учитывать и ограничения, обусловленные следующими причинами.

1. Полигенность признаков

Большинство хозяйственно ценных и адаптивно значимых признаков являются полигенными по своей природе; они контролируются коадаптированными в масштабе хромосом, генома и даже идиотипа ядерными и цитоплазматическими детерминантами; из более чем 50 тыс. генов, контролирующих идиотип высшего растения, лишь у некоторых видов изучены 200–300 генов (локализованных в хромосомах), большинство же адаптивно и хозяйственно значимых полигенных признаков остаются генетически не идентифицированными и биохимически не охарактеризованными; методы генетической инженерии разработаны пока только для небольшого числа культур и т.д.

Наиболее распространенной ошибкой является отождествление гена с признаком. Однако именно на этом базируется рабочая концепция трансгеноза как метода «переноса генов». Между тем любой ген – это лишь одна из важнейших, но не единственная предпосылка проявления признака, в том числе его пенетрантности, экспрессии, плейотропных эффектов и т.д.

2. Неопределенность конечного результата трансгеноза

Подобно индукции мутаций возможности переноса целевых генов пока ограничены. Эта ситуация обусловлена рядом причин:

- отсутствие методов сайт-направленной интеграции генов, или вставки интродуцируемых генов в определенный сайт ДНК-хозяина. Между тем без точной и мишень-направленной генной хирургии тДНК будет встраиваться в геном растения-хозяина случайно;
- быстрый выход из строя ГМР (генетически модифицированных растений), полученных на основе бактериальных генов, под воздействием

систем инактивации чужеродной ДНК, с помощью которых растения обычно защищаются от вторжения вирусов (silencing – подавление активности трансгенов);

- наряду с чужеродным геном трансгенные растения нередко содержат немало «строительного мусора», включающего нежелательные генетические элементы вектора (маркерные гены и пр.);
- невозможность использования агробактериального вектора (*Agrobacteria* sp.) для переноса генов с помощью Ti-плазмид в однодольные растения, к которым принадлежат многие хозяйственно ценные виды;
- поиск генных векторов для хлоропластов и митохондрий, так как Ti-плазмиды переносят гены исключительно в ядро;
- недостаточные знания о структуре, функциях и регуляции генов, определяющих большинство хозяйственно ценных и адаптивно значимых признаков.

Остается также неисследованным влияние трансгеноза на экспрессию собственных генов хозяина (реципиента); место интеграции ДНК в геноме хозяина при безвекторном переносе оказывается случайным; возможны феномены запуска (индукции) непрогнозируемых событий «инсерционного» мутагенеза, усиления вариабельности трансгенной экспрессии, а также проявление нежелательных плейотропных эффектов трансгена. Опасность случайности генно-инженерных последствий связана и с тем, что чужеродные гены могут активировать «молчащие» гены, а также индуцировать эндогенные системы мейотической и митотической рекомбинации.

3. Элиминация трансгена или его экспрессии

Каждый вид, организм и даже клетка имеют мощную противoinформационную защиту (системы узнавания и репарации, подавляющие функционирование экзогенной ДНК). Кроме того, у высших эукариот функционирует весьма сложная и многоэшелонированная регуляция экспрессии генома (включающая транскрипционный и пост-транскрипционный уровни), причем каждый уровень многократно задублирован. Наличие этого механизма, с одной стороны, предотвращает получение эволюционно неапробированных генетических вариантов, то есть усиливает биобезопасность трансгеноза, а с другой – сдерживает получение нетрадиционных генетических вариантов, что является главной задачей самой генетической инженерии и селекции в целом.

4. Опасность глобального нарушения экологического равновесия естественных и антропогенных экосистем

Широко известны многие нетрадиционные пути обмена генетической информацией между организмами, принадлежащими к разным систематическим группам: трансдукция (встраивание и перенос вирусом фрагментов

чужеродной ДНК), трансформация (естественная или искусственная передача признаков и ДНК от одного организма к другому), обратная транскрипция и др. В числе природных векторов, способных переносить информацию от одного вида к другому, – плазмиды, вирусы, транспозоны, инсерции (Кордюм, 1982). Например, плазмиды могут переносить самые различные признаки – от патогенности грибов до фертильности или стерильности растений. Подробно исследован перенос генов из бактерий в грибы, растения и клетки млекопитающих. В результате возможно не только локальное, но и глобальное нарушение экологического равновесия в естественных и антропогенных экосистемах. Вместе с тем, например, спутниковые сорные виды и расы пшеницы, ячменя, овса, риса, рапса, сорго, подсолнечника, земляники, редиса, моркови, лука и других культур (всего около 50 видов) являются «резервуарами» генетического разнообразия и составляют основу интрогрессивного обогащения генофонда соответствующих культурных видов растений. При этом интрогрессия у ряда культур достигает 30–50% и более, а возможность передачи пластидного материала пыльцой у некоторых видов растений делает незащищенной не только ядерную, но и цитоплазматическую наследственность. Особенно велика вероятность перекрестного опыления у аутбридинговых и, в первую очередь, энтомофильных видов растений. Определенную опасность представляет и неконтролируемое распространение семян самих трансгенных растений.

Важно также учитывать, что сохранение, например, свойств гербицидоустойчивости в ауткроссинговых популяциях диких сородичей не требует постоянного давления гербицидного фона. Уже известно более 40 видов сорных растений, которые очень быстро приобрели устойчивость к производным сульфонилмочевины. Зарегистрирован ряд видов злаковых и бобовых сорняков, устойчивых к глифосату. Кроме того, широкое распространение гербицидоустойчивых сортов увеличивает не только масштабы применения гербицидов и вытеснения альтернативных методов борьбы с сорной растительностью (многовидовые «поликультурные» севообороты, разные способы обработки почвы, безгербицидные технологии и т.д.), но и способствует обеднению видового состава полезной энтомо- и орнитофауны в агроэкосистемах, а также загрязнению природной среды и пищевых продуктов остатками этих токсикантов. Особую опасность в этой связи представляет разрушение механизмов и структур биоценотической саморегуляции агроландшафтов, что неизбежно приводит к дальнейшему увеличению затрат пестицидов на защиту агроценозов от вредоносных видов. В результате образуется замкнутый порочный круг, при котором в конечном счете наносится все больший ущерб экологической безопасности человека.

С учетом вероятности и опасности неконтролируемого переноса наследственной информации от ГМР к их диким сородичам, в том числе сорнякам, важно учитывать следующие особенности гаметофитного отбора: конкурентная способность пыльцы является наследуемой и играет важную роль в эволюции покрытосеменных, обуславливая неслучайное опыление; степень конкурентоспособности пыльцы влияет на фенотип потомства, может уве-

личивать всхожесть и энергию прорастания семян, усиливать рост сеянцев; пыльцевая функция культурных растений обычно ослаблена по сравнению с дикорастущими видами и полукультурными разновидностями; между проявлением хозяйственно ценных и адаптивно значимых признаков на гаметофитной и спорофитных стадиях роста растений может существовать как положительная, так и отрицательная корреляция.

Очевидно, что если трансформируемый ген прямо или косвенно усиливает конкурентоспособность пыльцы (а этой возможностью в гаплоидной пыльце обладают и рецессивные аллели) или спорофита (начиная с прорастания семян), то он будет подхвачен естественным отбором и может предопределять доминирование соответствующих генотипов в гетерогенных популяциях. Вероятность «утечки» трансгенной информации зависит от степени совместимости культурного вида и базисного сорта с дикими, в том числе сорными видами, характера размещения последних во времени и пространстве (малые или большие группы), а также расстояния, на которое может быть перенесена пыльца ГМ-растения и др. В повышении вероятности такого переноса особенно большую роль могут играть полиплоидные формы дикорастущих видов растений, способных как «губка» впитывать экзогенную наследственную информацию.

В настоящее время широко используют устойчивые к вредителям трансгенные растения, в том числе с высоким содержанием Vt-токсина, который может переноситься с пыльцой и фитофагами в другие организмы экосистемы. Попадая в ризосферу, Vt-токсин способен накапливаться в почве, оказывая влияние на биогеоценоз и грунтовые воды. Трансгенные культуры, устойчивые к фитовирусам, могут изменять вирулентность существующих вирусов, приводить к появлению новых вирулентных штаммов. Возможен также прямой перенос генов вирусостойчивости от трансгенных растений к диким сородичам. В результате неконтролируемого переноса трансгенов, появления устойчивых к гербицидам и эндотоксинам вредоносных видов, снижения биологического разнообразия агроценозов может быть существенно нарушено экологическое равновесие в агроэкосистемах. Не случайно, например, в США для предотвращения или снижения темпов естественного отбора вредных насекомых, устойчивых к Vt-токсинам, создают «убежища» для восприимчивых к Vt-токсинам фитофагов из обычных (нетрансгенных) сортов той же культуры.

Вероятность неконтролируемого распространения трансгенов значительно возрастает и в результате индуцированного рекомбинационного геноза. Известно, что рекомбинация является главным механизмом передачи трансформированных генов близкородственным видам высших эукариот (совместимых при половом скрещивании). Однако показано, что при действии экологических стрессоров может увеличиваться не только частота и спектр кроссоверов, но и идти отбор на увеличение рекомбинационного потенциала популяции (Жученко и др., 1985; Parsons, 1988). А это, в свою очередь, означает, что в неблагоприятных и особенно экстремальных условиях внешней среды рекомбинационная изменчивость растений, включая передачу трансформированных генов, может быть значительно увеличена.

5. Опасность сокращения биологического и генетического разнообразия экосистем

Все возрастающие масштабы использования ГМ-растений требуют более тщательного рассмотрения вопроса о связи биологического разнообразия агроэкосистем с их генетической и экологической уязвимостью. Известно, что непрерывное использование лучших сортов в качестве исходного селекционного материала приводит к концентрации в селекционном пуле генов, полученных из ограниченного числа коммерческих источников. Последние в большинстве случаев не включают представленные на уровне соответствующего вида разные аллели того или иного признака. Генетическое разнообразие, возможно, будет снижаться также по мере того, как трансгенные сорта начнут занимать все большие площади. В результате генетическая база некоторых важнейших видов растений может оказаться крайне узкой, что неизбежно повысит их экологическую уязвимость, в т.ч. опасность массового поражения агрофитоценозов вредными видами.

Очевидно, что имеющиеся генно-инженерные варианты одного и того же признака пока несопоставимы с соответствующим аллельным полиморфизмом, представленным в коллекциях местных сортов, примитивных форм и т.д. Так, в семенном банке CIMMYT в Мексике хранится и поддерживается 13000 линий кукурузы. По мере увеличения идентифицированной по ценным признакам части коллекции генетическое разнообразие исходного материала постоянно увеличивается. Однако большинство геноисточников не может быть использовано непосредственно и необходима большая работа по их предварительной селекции, что ограничивает биоразнообразие и трансгенных вариантов.

6. Эффект «пестицидного бумеранга»

Особую опасность представляет повсеместное использование неизбирательных гербицидов и энтомотоксинов, что неизбежно приведет (и уже приводит) к эффекту «пестицидного бумеранга». Так, при широкомасштабном и длительном применении гербицидов с одним и тем же спектром фитотоксического действия (типа раундапа) малораспространенные, но не чувствительные к гербицидам сорные виды растений могут оказаться в агроценозах доминирующими. Известно, например, что только за последние годы десятки видов сорных растений сравнительно быстро приобрели устойчивость к производным сульфонилмочевины. Аналогичные проблемы «пестицидного бумеранга» возникают при длительном применении однотипных инсектицидов и фунгицидов. При этом из-за повышения пестицидоустойчивости растений приходится увеличивать дозы этих средств защиты, что, в свою очередь, резко снижает возможность экологичного и рентабельного использования химических средств для защиты растений. Кроме того, широкое применение неизбирательных пестицидов является причиной нарушения трофических связей и экологического равновесия в агробиогеоценозах.

7. Монополизация биотехнологического бизнеса

Международные корпорации («Монсанто», «Дау АгроСаенсес», «Сингента» и др.), в которых в настоящее время сосредоточена основная часть работ по генетической инженерии растений, стремятся к монопольному контролю за рынком ГМ-сортов, а следовательно, и за рынком продовольствия. Так, «Монсанто» владеет около 94% всех трансгенных растений, выращиваемых в мире. Известно также, что гербицид раундап был создан этой фирмой в конце 70-х годов. Со времени внедрения сортов сои, устойчивых к раундапу (1995 г.), его использование возросло с 20 до 62% (2000 г.) общей площади, обрабатываемой гербицидами. На более чем 62 млн. га, занятых ГМ-растениями в 2003 г., преобладают глифосатоустойчивые сорта сои, кукурузы, хлопчатника, масличного рапса, доля которых составляет примерно 85%; остальная часть – Bt-защищенные культуры.

Начиная с 70–80-х годов прошлого столетия, идет быстрое слияние крупных химических, фармацевтических и энергетических компаний с селекционно-семеноводческими фирмами. Между тем сугубо коммерческие интересы транснациональных компаний ограничивают число сортов и гибридов, реализуемых во всем мире, что неизбежно снижает генетическое разнообразие агроэкосистем. Другими словами, монополизация в области биотехнологического бизнеса, в том числе собственности на трансгенные сорта (эксклюзивные права на сою как культуру, семена и разновидности этого растения; создание частных банков генов и т.д.), при которой получение сверхприбыли является самодавяющим фактором, может иметь крайне отрицательные последствия для всего мирового сообщества.

8. Опасность терминаторных и двойных технологий

По своей сути генетическая инженерия относится к числу двойных технологий. Так, некоторыми фирмами были начаты разработки «терминаторных технологий», имеющих своей целью ограничение продолжительности жизнеспособности семян и, таким образом, обеспечение физической защиты авторских прав создателей трансгенных растений. В дальнейшем «по политическим соображениям» эти работы были прекращены. И все же возможности практической реализации подобных технологий на основе использования методов генетической инженерии очевидны.

9. Экологическая опасность Bt-защищенных трансгенных растений

Наибольшую тревогу ученых, промышленников и законодателей вызывает использование Bt-трансгенных растений в полевых условиях (спонтанный перенос генов), а также употребление конечных продуктов таких ГМ-растений. Так, еще в 70-х годах было установлено, что одна из форм *Bacillus thuringiensis* продуцирует экзотоксин (турингиензин А), подавляющий не

только вредных насекомых и фитопатогенных нематод, но и негативно влияющий на млекопитающих из-за ингибирования синтеза РНК-полимеразы (Bond et al., 1971; Prasad et al., 1972; Smuckler et al., 1972 и др.).

Особую опасность представляет возможное влияние ГМО на аллергические реакции человека. К настоящему времени идентифицированы сотни индукторов аллергии, от которой страдает около 10% населения. Необходимо тщательная оценка потенциальной аллергенности трансгенных растений и полученных из них продуктов. Причиной заболевания могут быть также продукты экспрессии маркерных (репортерных) генов. Поскольку аллергенный потенциал привнесенного с помощью трансгеноза белка в растение-реципиент обусловлен большим числом факторов, применение даже всех имеющихся на сегодня методов тестирования аллергенности не может дать полную гарантию пищевой безопасности ГМ-продукта (Семенов, 2001), тем более, что широко используемые сельскохозяйственные растения содержат более десятка тысяч различных белков, часть которых изначально является аллергенами.

Сложность методов контроля многочисленных возможных последствий широкого использования трансгенных организмов хорошо известна. Так, в Германии проверка на безвредность ГМ-растений, животных и микроорганизмов продолжается от 5 до 6 лет. В то же время, реальная ценность многих оценок (аналогичных испытаниям пестицидов) остается весьма сомнительной. Обусловлено это несовершенством методов определения безопасности (риска) использования ГМ-растений из-за слабой пока научной базы экологических, медико-биологических и токсиколого-гигиенических оценок последствий широкого распространения трансгенных растений и, в частности, Bt-защищенных культур. В этой связи практически невозможно пока доказать как полную безопасность использования трансгенных растений, так и *a priori* спрогнозировать возможные негативные последствия их производства.

Противоречивые оценки последствий ГМ-продукции связаны не только с их возможным влиянием на здоровье и окружающую среду, но и неоднозначным отношением к этому вопросу людей по нравственным и религиозным соображениям. А это, в свою очередь, предполагает широкое привлечение всего массива соответствующих знаний, в том числе обоснованных «общих соображений» и «здорового смысла». Для этого, однако, необходимо выйти за пределы медико-гигиенических проблем использования ГМО, включив эволюционные, социально-экономические и морально-этические критерии оценок. Недопустимо, во всяком случае, чтобы интересы межнациональных корпораций были выше интересов всего общества, а население бедных стран служило в качестве дешевого испытательного полигона для ГМ-продукции. Исторический опыт развития цивилизации свидетельствует о том, что когда достижения науки используются, главным образом, с позиций политической и экономической целесообразности, преграда, отделяющая добро от зла, действительно оказывается хрупкой и ненадежной (Лопухин, 2001).

10. Трансгеноз и трансгенез

Обычно при обосновании безопасности использования ГМО, в том числе трансгенных растений, ссылаются на аналоги, происходящие в природной среде (спонтанное скрещивание между близкородственными видами растений; перенос генов между видами с помощью конъюгативных плазмид, вирусов и пр.). Действительно, имеются многочисленные доказательства горизонтального переноса генов в процессе эволюции растений. Считается, например, что хлоропласты произошли эндосимбиотически от фотосинтезирующих бактерий, то есть от общего предка (Jacob, 1982). Вместе с тем при обсуждении примеров горизонтального переноса генов обычно замалчивается тот факт, что наряду с положительными природными аналогами имеются и негативные примеры.

11. Плейотропный эффект трансгеноза и резистентность фитофагов к инсектицидным Cry-белкам

К числу опасностей широкого использования ГМ-растений относят возможность влияния целенаправленного изменения содержания какого-либо одного белка на изменение других белков. Показано также, что в полевых условиях устойчивая к глифосату трансгенная соя неожиданно оказалась чувствительной к действию высоких температур (Gertz et al., 1999). Широкое использование трансгенных растений, обеспечивающих устойчивость к вредным насекомым за счет синтеза специфических белковых токсинов (эндотоксины Bt), а также протеолитических ферментов, осложняется крайне низкой эффективностью экспрессии интродуцированных генов вследствие нестабильности матричной ДНК. Так, обычно на долю накопленного Cry-протеина приходится лишь 0,0002–0,002% от общего количества растворимых протеинов, которых, как правило, оказывается недостаточно для защиты растений от вредителей. Именно поэтому (в соответствии с требованиями Агентства по охране окружающей среды США) в Bt-сортах в течение всей вегетации содержание энтомотоксинов должно быть достаточно высоким для эффективного уничтожения наиболее вредоносных фитофагов. И все же если учесть, что к настоящему времени уже известно более 500 видов членистоногих вредителей, популяции которых обладают устойчивостью к инсектицидам, то вероятность преодоления фитофагами устойчивости Bt-защищенных сортов и гибридов также достаточно велика. Кстати, использование таких сортов не освобождает фермеров от необходимости проведения всех остальных мероприятий по борьбе с вредными организмами.

Заключение

Современная селекция растений, история которой насчитывает более 10 тыс. лет, впитала в себя не только эмпирический опыт многих поколений безымянных селекционеров, но и достижения в области синтетической теории эволюции, физиологии, биохимии, цитогенетики, экологии, фитоценологии и других фундаментальных наук. Именно синтетическая направленность в

развитии селекции как науки позволила ей успешно преодолеть многочисленные «вызовы» XX столетия (демографический «взрыв», эпифитотии, наращивание техногенных средств интенсификации, освоение неблагоприятных и даже экстремальных территорий и пр.), обеспечив практически непрерывное повышение урожайности сельскохозяйственных культур.

В целом, степень риска при использовании трансгенных организмов следует оценивать с учетом долговременных интересов жизнеобеспечения всего общества. Бесспорно, произвольная изменчивость высших растений ограничивается «системой саморегуляции» и в этом одна из эволюционных гарантий безопасности использования методов трансгеноза в селекции растений. Многие опасности в научно-техническом прогрессе обусловлены, как известно, неопределенностью тех или иных знаний, а нередко и ошибочностью отдельных положений. Утверждается, например, что биобезопасность генной инженерии якобы обусловлена использованием «природных генов», присутствующих в растениях на протяжении всей их эволюции. Между тем известно, что характер проявления любого экспрессируемого гена и даже нейтральной мутации зависит от ее локуса в геноме и генотипической среды (Четвериков, 1924).

Бесспорно, пока нет веских оснований сдерживать исследования в области получения трансгенных растений и животных, как, впрочем, и для многообещающих заявлений по этому поводу. Ошибочно было бы рубить яблоню только из-за того, что на ней могут появиться червивые плоды. В то же время, нельзя и отрицать наличие определенного биологического и экологического риска при широком использовании трансгенных организмов. Само же использование трансгенных растений требует не только модифицированных технологий возделывания культур, но и значительно более высокого уровня экологического и фитосанитарного мониторинга, маркировки трансгенной продукции и т.д.

Следует также учитывать, что ДНК-технологии представляют собой активное вмешательство человека в эволюционное развитие биосферы, последствия которого во многом пока остаются не ясными. Не случайно в соответствии с Национальной стратегией сохранения биологического разнообразия России (2001 г.), важнейшей задачей является «предотвращение распространения генетически измененных форм живых организмов, используемых в биотехнологиях, в открытые агроэкосистемы и природные экосистемы». Бесспорно, методы генетической инженерии значительно расширяют возможности управления наследственностью и изменчивостью сельскохозяйственных культур. Однако при этом они всегда будут оставаться лишь дополнительным, но не замещающим фактором в арсенале адаптивной системы селекции растений.

С появлением методов генетической инженерии возможности человека в «управлении формообразовательным процессом по произволу» необычайно возросли. Однако весь исторический опыт развития адаптивной системы селекции, а также особенности методов самой генной инженерии свидетельствуют о том, что единственная возможность эффективного ис-

пользования последней лежит на пути интеграции соответствующих методов и подходов. Необходимость таковой вытекает не только из ограниченных возможностей самой генной инженерии, но и основополагающей роли громадной функционирующей сети и инфраструктуры селекционных центров в обеспечении эффективной системы сортосмены, сортообновления и семеноводства. Вместе с тем следует постоянно иметь ввиду, что как и любое другое крупномасштабное новшество, генетическая инженерия, наряду с достижениями, несет с собой и опасности.

Среди широких возможностей генной инженерии можно и нужно выделить как заведомо положительные аспекты, так и те, практическая реализация которых преждевременна и даже опасна. Бесспорно, например, что генная инженерия позволяет значительно расширить сферу поиска генетических доноров хозяйственно ценных и адаптивно значимых признаков, причем не только среди высших растений, но и всего биологического разнообразия, включая микроорганизмы и пр. Это особенно важно для тех видов культивируемых растений, имеющийся генофонд которых беден или не имеет необходимых генов. Однако генетическая инженерия в корне меняет возможности человека в управлении формообразовательными процессами живых организмов, делая их практически беспредельными, причем не только в целях добра, но и зла.

Итак, очевидно, что проблемы широкого распространения ГМ-растений требуют теоретического осмысления, разработки объективных методов и критериев оценки риска, интеграции с другими областями знаний и, наконец, выбора оптимальных возможностей широкого распространения конечного продукта. Следовательно, должно быть построено соответствующее «дерево» логически связанных проблем. Поскольку, однако, только логических рассуждений для этого недостаточно, необходимо ступенчато наложенные проблемы такого «дерева» свести к уже известным составляющим или, по крайней мере, использовать соответствующие модели. Известно из истории науки, что нетрадиционность возникших проблем и предлагаемые способы их решения вызывают не только сомнения, но и сопротивление. Поэтому вполне резонно замечание Root-Bernstein (1982) о том, что как задавать вопросы природе и о чем – является центральным вопросом самой науки. Разумеется, это вовсе не означает игнорирования мнения общественности. И все же поставить критические вопросы по обсуждаемой проблеме могут только ученые.

Актуально ли введение в России моратория на производство трансгенных растений?

М.С. Соколов, А.И. Марченко

Научно- исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов Минздрава России, Серпухов, Московская область

Выдающиеся успехи молекулярной биологии, генетики и селекции позволили в последней трети XX века создать разнообразные генетически модифицированные организмы (ГМО). При этом впервые осуществлена панмиксия организмов, т.е. преодолены генетические барьеры между всеми царствами живого. ГМО продуцируют разнообразные, полезные для человека продукты – пищу, корма, медицинские препараты, различное сырье, удобрения, средства защиты растений и животных. В 2003 г. за рубежом площади посевов трансгенных растений (ТР, трансгеников), устойчивых к неизбирательным гербицидам и вредителям, превысили 60 млн. гектаров.

Однако все вышесказанное – это одна сторона медали, другая ее сторона – это отсутствие ответов на целый ряд вопросов, связанных с введением трансгеников в агросферу, их широким практическим использованием в растениеводстве. Этот, как кажется на первый взгляд, частный вопрос выходит далеко за рамки любой прикладной сельскохозяйственной науки. Он имеет несколько аспектов – биологической безопасности, экономической выгоды, социальной, правовой и международной политики. Рассмотрим лишь первую из названных проблем.

Бюро Отделения биологических наук РАН 25 ноября 2003 г. отметило, что при разработке проблем ГМО особую актуальность приобретают вопросы биобезопасности, связанные с оценкой степени риска использования генно-модифицированных (ГМ) продуктов для здоровья человека, а также экологические последствия выпуска ГМО в окружающую среду. Признано, что конкретные исследования должны быть направлены на изучение и разработку:

- а) критериев биобезопасности ГМО;
- б) оптимизированных методов тестирования продуктов и препаратов из ГМО;
- в) проблемы «утечки генов», взаимодействия и сосуществования трансгеников с традиционными (изогенными) сортами растений, с природными штаммами микроорганизмов;

г) влияния ГМО на биоразнообразие и динамику популяций, на плодородие почвы и качество лесных, водных, сельскохозяйственных экосистем.

Президиум Россельхозакадемии на недавнем заседании /1/ отметил, что Институтами академии (ВНИИФ, ВНИИБЗР, ВИЗР, ВНИИСБ) совместно с Центром «Биоинженерия» РАН проведены исследования, позволившие получить отечественные ГМ-сорты картофеля, устойчивые к колорадскому жуку, плодовые культуры, устойчивые к болезням, гербицидоустойчивые полевые культуры, а также оценить в агроэкосистемах биобезопасность ТР. Признано целесообразным организовать при Президиуме Россельхозакадемии Научный Совет по координации исследований в области создания и изучения биобезопасности ТР.

К сожалению, в резолюциях обеих академий по проблеме ГМО не только не указаны пути исключения или минимизации конкретных биологических рисков, связанных с производством ТР в реальных условиях АПК России, но эти риски даже не обозначены.

Биологические аспекты проблемы трансгенных растений

Безопасность ГМО – это отсутствие нежелательного сопутствующего воздействия ГМО на человека, сельскохозяйственных животных и нецелевую биоту. Поскольку биобезопасность не может быть ни вечной, ни абсолютной, необходимо выявить, по возможности, все реальные факторы риска, связанные с потреблением и производством ГМ-продуктов. Поэтому потенциальная опасность ТР для биоты оценивается по медико-биологической и экологической категориям. Эти оценочные категории методологически обоснованы и изучены в неодинаковой степени. В соответствие с медико-биологическими показателями вредности, продукция ТР подвергается токсиколого-гигиенической и зоогигиенической оценкам. Экологические последствия культивирования ТР в настоящее время оценить достаточно сложно, поскольку аналогов производства таких растений в истории земледелия не было! Большинство показателей и экологических критериев, по которым принято фиксировать изменения и/или нарушения, происходящие в агроландшафте вследствие пресса ТР, характеризуются вероятностной оценкой, т.е. со значительной долей неопределенности.

Токсиколого-гигиеническая (зоогигиеническая) оценка продукции ТР

Риск при потреблении продуктов ТР человеком или домашними животными возникает вследствие снижения питательной ценности пищи и возможности побочных эффектов из-за изменения состава продукта: увеличения содержания токсических веществ (например, гликоалколоидов в картофеле), появления новых веществ (аллергенных белков, других опасных ингредиентов). Среди возможных причин этих изменений: плейотропный эффект, мутации трансгенов или экспрессия «молчащих» генов генома ТР, экстремальные экоресурсы в период вегетации трансгеников.

При определении безопасности ТР, продуцирующими новые белки (продукты трансгена), используются те же самые методологические подходы, что и в отношении потенциально опасных химических соединений – ксенобиотических или природных. Продукты ТР исследуются: а) по молекулярным, биохимическим и химическим параметрам, б) на соответствие их органолептических свойств, пищевой ценности и содержания природных токсических веществ исходным нетрансгенным сортам, в) на содержание остатков пестицидов. ГМ пищевые продукты оцениваются в хронических экспериментах на животных и микроорганизмах с широким набором биотестов (иммунный ответ, аллергенность, мутагенность, эмбриотоксичность, репродуктивная токсичность, тератогенность, канцерогенность, продолжительность жизни подопытных животных). На основании этих данных разрабатываются гигиенические нормативы, уточняются регламенты применения гербицидов и других пестицидов, осуществляется государственная регистрация химических средств защиты для применения на посевах ТР.

Попав в гербицидоустойчивое ГМ-растение, например, в сою, глифосат *in vivo* практически не разлагается, а лишь «разбавляется» по мере нарастания ее надземной фитомассы, локализуясь в различных органах. В вегетирующих посевах сои, других позднеспелых гербицидоустойчивых ТР для уничтожения «волн сорняков» глифосат должен использоваться, как минимум, 2–3 раза за сезон /2/. В 2003 г. временный максимально допустимый уровень (ВМДУ) содержания глифосата в зерне сои регламентирован 150 мкг/кг. Однако во всех доступных нам публикациях отечественных разработчиков ТР фактические данные о динамике этого гербицида в сое не сообщаются! В сертификатах качества импортируемых в нашу страну продуктов (соя, кукурузы, рапса, других ГМ глифосатустойчивых растений), также отсутствуют сведения о содержании остатков глифосата и других гербицидов.

Экологическая оценка последствий производства ТР

К трем основным экологическим последствиям распространения ГМ-растений относятся:

1. возникновение резистентности к пестицидам и энтомотоксинам у вредной биоты;
2. снижение биоразнообразия экосистем;
3. интрогрессия трансгена и инвазия ТР в экосистемы (в том числе – в агроэкосистемы).

Важно подчеркнуть необратимость по крайней мере первого и третьего из названных феноменов в случае их реализации. Методология экспериментальной оценки перечисленных биологических эффектов, связанных с инвазией ТР, как и процедуры их фитосанитарного мониторинга, нигде в мире еще не разработаны. По аналогии с медико-токсикологическими испытаниями, в ряде стран Европейского Союза (ЕС) для эколого-токсикологической оценки энтомоцидных ТР пытаются использовать те же самые подходы, что и для экотоксикологической экспертизы химических инсек-

тицидов (см. например, /3/). Подобный подход нельзя признать корректным. Экотоксикологическая оценка ГМ энтомоцидных растений должна проводиться применительно не ко всей нецелевой биоте (что желательно, но практически не осуществимо), а к репрезентативным, индикаторным организмам агроценоза (как *in situ*, так и *ex situ*).

Анализ имеющихся данных относительно экологических и экотоксикологических последствий использования ТР свидетельствует о том, что в краткосрочных (двух–трехлетних) полевых экспериментах выявить подобные сопутствующие эффекты производства трансгеников невозможно. В какой-то степени их можно смоделировать в лабораторных экспериментах, и с помощью компьютерных моделей. Однако и это до сих пор нигде не сделано, поскольку разработчики ТР в этом не заинтересованы.

Индукция ТР резистентности целевых вредных видов к гербицидам и Bt-защищенным растениям

К феномену возникновения резистентности сорняков к гербицидам и вредителей к Bt-защищенным растениям, индуцируемой распространением ТР, следует быть готовым до начала массового и повсеместного внедрения ТР. Явление такой резистентности порождено как специфической природой агробиоценозов, так и интенсивным антропогенным воздействием на них. Следствием подобного «техногенного давления» является ускоренное формирование у консорбентов агроэкосистем широкого спектра экологических адаптаций. В популяциях, образующих экосистемы видов вследствие микроэволюционных процессов, избирательно накапливаются более приспособленные особи генотипов подавляемого вида, обладающие новыми приспособительными свойствами. Рост резистентности вредителей к Bt-токсинам (продуцируемым ТР), генетически детерминированная устойчивость сорняков к глифосату существенно ускоряются из-за моногоенного контроля трансгеником признака энтомо- или гербицидоустойчивости.

В разных регионах мира уже появились в посевах глифосатустойчивых ТР резистентные к этому гербициду сорняки. Из посевов ГМ-сои в США через три года после их обработки глифосатом выделена устойчивая к гербициду популяция злостного двудольного сорняка мелкопестника канадского *Coniza canadensis* /4/. В Малайзии обнаружена глифосатустойчивость у злакового сорняка риса элевзины (*Eleusine indica*) и идентифицирован соответствующий *epsps*-ген устойчивости. Противодействие подобному феномену внесением повышенных доз гербицида не оправдано ни с экологических, ни с экономических позиций, т.к. оно лишь ненадолго замедлит рост гербицидоустойчивости.

Подобная ситуация отмечается и с Bt-защищенными ГМ-культурами. Мутации устойчивости к Bt-токсину могут возникать у любого организма, изначально чувствительного к нему. Так, у фитонематоды *Caenorhabditis elegans* обнаружено 10 рецессивных мутантов, устойчивых к Bt-токсину /5/. Чувствительные к Bt-токсину популяции фитофагов постепенно будут вытес-

няться популяциями *Bt*-устойчивых фитофагов, что сделает экономически неоправданным как возделывание *Bt*-защищенных ТР, так и использование для защиты от вредителей микробных *Bt*-препаратов. В США и Франции показано, что у мутантных устойчивых к Cry1Ab-токсину особой кукурузного мотылька (*Ostrinia nubilalis*), при постоянном содержании токсина в пище устойчивость к *Bt*-токсину увеличилась в 32 раза. Культивирование в лабораторных условиях хлопковой моли (*Pectinophora gossypiella*) на диетах, содержащих Cry1Ac-токсин, привело к отбору мутантов, устойчивость которых к токсину повысилась более, чем в 100 раз. Скрещивание исходных (восприимчивых к токсину) и мутантных насекомых показало, что устойчивость к малым концентрациям токсина доминантна, к промежуточным – частично рецессивна, к высоким концентрациям токсина – полностью рецессивна /6/.

Агентство охраны окружающей среды США разрешило в 1995 г. коммерческое использование ГМ-культур картофеля, кукурузы и хлопчатника при условии реализации специальной антирезистентной стратегии (high-dose/refuge strategy). В частности, основное содержание этих рекомендаций по выращиванию *Bt*-картофеля сводится к следующему /7/:

- не выращивать *Bt*-картофель два года подряд на одном и том же участке;
- выращивать *Bt*-картофель как можно дальше от того места, где его возделывали в предшествующем году;
- размещать посадки *Bt*-картофеля как можно ближе к «убежищам» или «безопасным островам» (где в посадках нетрансгенного картофеля должна размножаться та часть популяции колорадского жука, которая восприимчива к *Bt*-токсину; при этом картофель либо защищают от фитофага инсектицидами, либо не защищают вообще). Площадь таких убежищ должна составлять от 25 до 40% от общей площади картофельного массива.

Эта антирезистентная стратегия, разработанная в США и Канаде для всех *Bt*-защищенных культур, не приемлема для России, где более 90% всего картофеля производится в условиях личных подсобных хозяйств, из года в год на одном и том же месте.

В Центре «Биоинженерия» РАН на основе широко районированных отечественных сортов («Невский», «Луговской», «Голубизна») получены ТР, устойчивые к гербициду глюфосинату /8/. Возникает вопрос, какая необходимость применять такой дорогостоящий препарат как глюфосинат, если еще в 60-х годах XX в. в России была отработана полная технология механизированного ухода за посевами картофеля, не требующая применения гербицидов?

Снижение биоразнообразия экосистем вследствие воздействия Bt-защищенных ТР

Вследствие воздействия на нецелевую биоту энтомотоксинов, продуцируемых *Bt*-защищенными ТР, происходит снижение биоразнообразия экосистем.

Известны разнообразные природные *Bt*-энтомотоксины, нейротоксины скорпионов и пауков, лектины, ингибиторы протеаз и другие вторичные метаболиты растений, используемые в генной инженерии для обеспечения инсектицидного действия ТР в отношении целевых видов биоты (целевой вид – фитофаг, причиняющий существенный ущерб сельскохозяйственной культуре, против которого направлено действие энтомотоксина и изначально обладающий повышенной чувствительностью к нему). В то же время, *Bt*-токсины вызывают гибель и нецелевых насекомых-фитофагов из разных отрядов, а также и других животных, в частности, нематод /5/, трематод, клещей, моллюсков, простейших /9/.

Энтомотоксины ГМ-культур представляют реальную опасность и для почвенной нецелевой биоты. Они попадают в почву и с экссудатами ТР, и вследствие отмирания их остатков, заделываемых в почву после уборки культуры.

Как правило, агроэкосистемы весьма сложны, поскольку представлены множеством взаимодействующих между собой популяций различных консорбентов – представителей всех царств живого. Виды простейших, грибов, растений и животных находятся в агроэкосистемах как в конкурентных, так и в симбиотических взаимоотношениях. Все они объединены сложными и разветвленными трофическими связями. Определение и качественное описание популяций даже доминантных видов агроэкосистем, количественная характеристика их взаимодействий как друг с другом, так и со средой – задача чрезвычайно трудоемкая и при современном уровне знаний едва ли выполнимая.

Еще более не предсказуем косвенный агроэкологический эффект, связанный с уменьшением биоразнообразия агроценоза вследствие внедрения такого радикального агроэкологического приема, как производство ГМ-сортов энтомоцидных культур. В опытах А. Hilbeck /10/ обнаружена повышенная гибель (67%) энтомофага златоглазки (*Chrysperla carnea*), питавшейся личинками кукурузного мотылька, выращенными на *Bt*-кукурузе (содержащей Cg1Ab-токсин), по сравнению с имаго златоглазки, питавшимися личинками фитофага, выращенными на изогенной кукурузе (37%).

Элиминация целевого фитофага и изменение численности какого-либо нецелевого вида – консорбента агроэкосистемы, вызванное энтомотоксином ГМО, неизбежно приведет к последующему изменению численности популяций других консорбентов (не только находящихся, в частности, в отношениях типа «хищник – жертва») и в конечном счете – к нарушению структуры триотрофа агроценоза.

Предсказать реальные последствия возделывания ГМ-растений на снижение биоразнообразия природных агроценозов из-за нарушения тро-

фических связей биоты и косвенного влияния энтомотоксинов ни сейчас, ни в обозримом будущем не представляется возможным.

Интрогрессия трансгенов и инвазия трансгеников в элементах агроландшафта

Насколько велик риск того, что родственные нетрансгенные растения, произрастающие по соседству с трансгениками, подвергнутся генетическому загрязнению целевыми или маркерными генами из-за переопыления с ТР вследствие так называемого «вертикального переноса»? По данным ООН мировое разнообразие видов растений, используемых в сельском хозяйстве, за последнее время уменьшилось на 75%. Интрогрессия трансгенов с производственных посевов ТР неизбежно ускорит этот опасный и необратимый процесс.

Генцентры происхождения культурных растений характеризуются большим генетическим разнообразием. Это стратегически ценный природный резервуар важнейшего исходного материала для селекции (например, в Мексике – центр происхождения кукурузы, в Таиланде – центр происхождения риса). Согласно расчетам, максимальное расстояние, которое может преодолеть нативная пыльца кукурузы, переносимая ветром, составляет 32 км. Это – без участия насекомых-опылителей и других переносчиков. После инцидентов с загрязнением природной кукурузы трансгенным материалом сорта Новартис *Bt-11* /6/ на территории Мексики посевы трансгенной кукурузы были вообще запрещены.

Если ГМ-культуры будут иметь селективные преимущества по сравнению с не-трансгенными сородичами, то в ряде ситуаций их можно считать сорняками (падалицей) в посевах культурных растений. Это свойство присуще падалице подсолнечника, рапса, кориандра, других растений и хорошо известно земледельцам.

Особую озабоченность вызывают ситуации, когда ГМ-культуры устойчивы к различным биотическим или абиотическим стрессам. При этом устойчивость к гербицидам приведет к тому, что при обработке гербицидом ТР будут инвазивны в отношении изогенных культур. Устойчивость к насекомым-фитофагам приведет к тому, что в присутствии вредителей ТР будут инвазивны в отношении к чувствительным растениям. Устойчивость к различным абиотическим стрессорам (избытку солей, экстремальным температурам, дефициту влаги и т.д.) приведет к тому, что при действии стрессора ТР будут инвазивны по отношению к традиционным растениям.

Bt-защищенный рапс (*Brassica napus*) во всех вариантах в присутствии фитофага проявил себя более конкурентоспособным в сравнении с его нетрансгенной формой /6/. В штате Огайо (США) зарегистрированы повышенная семенная продуктивность и другие экологические преимущества у гибрида, полученного от спонтанного переопыления сорнополевого подсолнечника с *Bt*-защищенным трансгенным сортом /11/. При возделывании ГМ гербицидоустойчивого рапса показана высокая вероятность его скрещивания и получения жизнеспособного потомства не только от

переопыления с нетрансгенными сортами, но и с крестоцветными сорняками (рода Brassica); при этом признак устойчивости к глифосату оказался доминантным. Возможность скрещивания ГМ-культур с их сородичами выявлена для целого ряда перекрестноопыляемых культур – риса, рапса, подсолнечника, кукурузы, сахарной свеклы и других /6/. Хотя конкретные отдаленные экологические последствия подобного «трансгенного загрязнения» агросферы трудно предсказуемы, ясно, что они не могут быть благоприятными для биосферы.

Заключение

Современная селекция растений взяла на вооружение трансгенную биотехнологию и этот процесс не остановить. В то же время, методология оценки экологического риска производства ГМ-культур еще не разработана. Базируясь на международных и собственных научных разработках, Россия должна иметь отлаженный механизм государственного регулирования производства ТР с обязательным учетом его агроэкологических последствий, не допуская коммерциализации или выпуска ТР, не прошедших всесторонних государственных испытаний /13/.

В настоящее время в России государственная регуляция, учитывающая биологические, экономические, правовые и политические последствия производства трансгенных организмов, в полном объеме не функционируют. Организованные при различных ведомствах временные рабочие группы экспертов, которым предписано (в части, их касающейся) санкционировать или приостанавливать производство ТР, зачастую руководствуются только научной интуицией и прошлым опытом. К тому же эти эксперты работают на общественных началах. В итоге до сих пор в России отсутствуют нормативные документы прямого действия, крайне необходимые для государственного регулирования этой сферы биотехнологии, в частности, экологической экспертизы производства ГМ-растений.

Для успешного решения задачи государственного регулирования производства и распространения ГМО и ГМ-продуктов в России необходимо:

- дальнейшая разработка законодательной базы и создание нормативных документов прямого действия, регламентирующих функции различных ведомств по оценке экологических рисков производства трансгеников, устанавливающих меры ответственности пользователей и переработчиков ГМ-продукции в случае нанесения ущерба экосистемам и/или потребителям;
- создание (например, под эгидой Совета Безопасности России) рабочих групп экспертов различных государственных ведомств, состоящих из ученых и специалистов, не занимающихся разработкой, внедрением или коммерциализацией ГМО и ГМ-продуктов;
- критическое обобщение опыта США, Канады, стран ЕС по государственному регулированию производства ГМО и ГМ-продуктов (от планирования экспериментов до международного мониторинга);

- перевод и издание информационно-справочных документов и фундаментальных монографий по физиологии и экологии видов культурных растений, вовлеченных в генно-инженерную модификацию.

Без реализации этих мероприятий нельзя создать эффективную, работающую, объективную систему контроля за экологическими последствиями производства ГМО и безопасностью продуктов их урожая для здоровья населения и биосферы. Без предварительной реализации подобной системы

внедрять ТР в агропроизводство России по меньшей мере опрометчиво.

« основная ответственность за обеспечение безопасного использования или передачи организмов, имеющих новые признаки, возлагается на пользователя. Соответственно, пользователи должны быть надлежащим образом информированы об этом и полностью

сознавать возложенную на них ответственность /12/.

Россия, с ее мощными школами экологов, генетиков, физиологов растений, экотоксикологов, селекционеров могла бы стать одним из главных организаторов и исполнителей исследований по всесторонней оценке агроэкологических рисков производства ГМО в мировом масштабе.

Литература

1. Постановление Президиума Россельхозакадемии от 20.11.2003 г. «Об использовании генно-модифицированных растений в интересах защиты растений» (не опубликовано).
2. Соколов М.С., Марченко А.И. 2002. Потенциальный риск возделывания трансгенных растений и потребления их урожая. // Сельскохозяйственная биология. № 5. С.3–22.
3. Guidance Document on regulatory testing and Risk Assessment Procedures for Plant Protection Product with no-target Artropods. 2001. 46 pp.
4. Van Gressel M.F. 2001. Glyphosate-resistant horseweed. // Weed Science. V.49. P. 703–705.
5. Marroquin L.D. et al. 2000. Bacillus thuringiensis (*Bt*) toxin susceptibility and isolation of resistance mutants in the nematode *Caenorhaaditis elegans*. //Genetics. V. 155, N 4, p. 1693–1669.
6. Вельков В.В. и др. 2003. Оценка агроэкологических рисков производства трансгенных энтомоцидных растений // Агрохимия. № 2. С. 74–96.
7. Киль В.И. 2003–2004. Управление развитием резистентности колорадского жука к *Bt*-защищенному картофелю. // Агро XX1 Современное растениеводство России: практика и научные достижения., №№ 7–12, с.22–24.
8. Стародубцева и др. 2001. Агро XX1, №7, с.15.
9. Scrieber J.M. 2001. Commentary – *Bt* or not *Bt*: Is that the question? // Proc.

Актуально ли введение в России моратория на производство трансгенных растений?

- Natl. Acad. Sci USA, V. 98, N 22. P. 12328–12330.
10. Hilbeck A. et al. 1998. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn fed prey on the mortality and development time of immature *Chrysoperle carnea*. // Environ. Entomol. V. 17. P. 480–487.
 11. Dalton R. 2002. Superweed stady falters as seed firms deny access to transgene. // Nature, V. 419. P. 655.
 12. Международная Конвенция по биоразнообразию, 1995. М., с. 8.
 13. Вельков В.В. и др. 2003. Проблема государственного регулирования производства трансгенных растений. // Вестник защиты растений, № 3. С. 3–16.

ГМО и риски их использования

Куликов А.М

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской Академии Наук, Москва

Введение

Биотехнологические проекты давно перешагнули из области научного знания в область промышленно-коммерческого использования. Научно-технический прогресс нашел применение результатам фундаментальных биологических и молекулярно-биологических исследований в сельском хозяйстве, пищевой промышленности и фармацевтике, медицине и приборостроении. Особенно широко в последнее время эксплуатируются достижения генетики и молекулярной биологии в сфере производства новых сортов сельскохозяйственных растений и пород животных, обладающих разнообразными новыми признаками, отсутствовавшими у родительских видов/сортов. Быстрое и массовое производство таких сортов, легкость и научная предсказуемость приобретения ими заданных свойств привели к их широкому использованию. Так в настоящий момент посевы ГМО (генетически модифицированных организмов) во всем мире занимают площади более 67.7 млн. гектар. И, вместе с тем, в последние годы резко обозначился вопрос – насколько безопасны данные технологии, насколько адекватно соблюдаются Международные руководящие принципы техники безопасности ЮНЕП в области биотехнологии, принятые еще в 1995 г.

Аргументы сторонников соблюдения принципов предосторожности заставляют в настоящий момент правительства многих стран Европейского союза, Азии и Африки вносить коррективы в сельскохозяйственную политику и отказываться от производства ряда сортов ГМО. В мировой литературе развернулась острая дискуссия об обоснованности декларируемых рисков применения ГМО. Многие аргументы сторонников соблюдения принципов предосторожности получили экспериментальное подтверждение (см. обзоры М.С.Соколова с соавт. (1), М Джованнетти (2)) Цель настоящего обзора – попытаться дать объективную оценку в первую очередь пищевых рисков.

1. Классификация рисков

Встраивание в геном организма-хозяина новых конструкций имеет цель получить новый признак, недостижимый для данного организма путем

селекции или требующий годы работы селекционеров. Но вместе с приобретением такого признака организм приобретает целый набор новых качеств, опосредованных как плейотропным действием нового белка, так и свойствами самой встроеной конструкции, в том числе ее нестабильностью и регуляторным действием на соседние гены. Все нежелательные явления и события, происходящие при возделывании и потреблении ГМО, можно объединить в три группы: пищевые, экологические и агротехнические риски.

1.1. Пищевые риски

1. Непосредственное действие токсичных и аллергенных трансгенных белков ГМО.
2. Риски, опосредованные плейотропным действием трансгенных белков на метаболизм растений.
3. Риски, опосредованные накоплением гербицидов и их метаболитов в устойчивых сортах и видах сельскохозяйственных растений.
4. 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.).

1.2 Экологические риски

1. Снижение сортового разнообразия сельскохозяйственных культур вследствие массового применения ГМО, полученных из ограниченного набора родительских сортов.
2. Неконтролируемый перенос конструкций, особенно определяющих различные типы устойчивости к пестицидам, вредителям и болезням растений, вследствие переопыления с дикорастущими родственными и предковыми видами. В связи с этим снижение биоразнообразия дикорастущих предковых форм культурных растений и формирование «суперсорняков».
3. Риски неконтролируемого горизонтального переноса конструкций в ризосферную микрофлору.
4. Негативное влияние на биоразнообразие через поражение токсичными трансгенными белками нецелевых насекомых и почвенной микрофлоры и нарушении трофических цепей.
5. 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.
6. 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.

1.3. Агротехнические риски

1. Риски непредсказуемых изменений нецелевых свойств и признаков модифицированных сортов, связанные с плейотропным действием введенного гена. Например, снижение устойчивости к патогенам при хранении и устойчивости к критическим температурам при вегетации у сортов, устойчивых к насекомым-вредителям.
2. Риски отсроченного изменения свойств, через несколько поколений, связанные с адаптацией нового гена генома и с проявлением как новых плейотропных свойств, так и изменением уже декларированных.
3. Неэффективность трансгенной устойчивости к вредителям через несколько лет массового использования данного сорта.
4. Возможность использования производителями терминальных технологий для монополизации производства семенного материала.

2. История вопроса

Риски, связанные с производством биотехнологической продукции, начали обсуждаться в научной литературе с 1983 г. (3, 4). К середине 80-х г. в развитых странах вырабатывается государственная политика по биотехнологии. Так, например, в США контроль за использованием ГМО находится в юрисдикции трех агентств, американского Агентства по охране окружающей среды, американского Министерства сельского хозяйства, и американского Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов. Существует так же координационный комитет, осуществляющий согласованную работу всех трех ведомств по данному вопросу. Цели, задачи и законы, регламентирующие деятельность этого комитета, были опубликованы в 1986 г. (5).

Практические оценки влияния ГМО на организм при их пищевом потреблении появились недавно. Первые широкоизвестные работы по пищевым рискам ГМО принадлежат А.Пуштаи, работавшему в Исследовательском Институте Рауэтт, Великобритания (6–8) и стали предметом широко известной дискуссии 1999–2000 гг.

Однако возможность формирования выраженного иммунного ответа на трансгенный белок, являющийся аллергеном и потребляемый в составе растительного продукта, были известны и ранее. Например, за три года до начала этой дискуссии, Х.С.Мэйсон с соавт. показали высокий иммунный ответ у мышей на трансгенный картофель, модифицированный капсидным вирусным белком (9). Поскольку работа была посвящена модели оральной иммунизации животных белками, продуцируемыми в трансгенных системах, результаты этой и подобных работ остались незамеченными для диетологов и аллергологов. Тем не менее, работы, посвященные механизмам иммунного ответа человека на лектины, в частности хлебного дерева и сои, связывающихся с иммуноглобулином IgA1 (10) и приводящим к слипанию эритроцитов (11), были хорошо известны.

А.Пуштаи показал влияние трансгенного картофеля, модифицированного лектином подснежника, на гистологическом уровне – на состояние

слизистой оболочки кишечника, частичную атрофию печени и изменение тимуса, и на физиологическом – на относительный вес внутренних органов крыс, содержащихся 9 месяцев на соответствующей диете, по сравнению с контрольными, питавшимися нетрансформированным картофелем. На страницах «BINAS News» опубликована полемика 1999 года, как критика и опровержение результатов А.Пуштаи, например, Д.Гейтхаусом, Ф.Дали, Р.Д.Брауном, так и позиция сторонников точки зрения А.Пуштаи, Б.Мифлина, Ж.Рифкина и др. (12). Тогда же Е.Дришш и Т.Бег-Хансен публикуют меморандум, поддержавший А.Пуштаи и основанный на экспертной оценке его результатов группой из 20-ти (помимо авторов меморандума) ученых. Собственно, результаты Пуштаи были представлены в научной прессе после проведения экспериментов и подтверждения заявленных результатов сотрудником Абердинского Университета, С.В.Ивенном (5,7).

Позднее появляются работы, проведенные на культурах клеток крови человека и колоректальной карциномы, подтверждающие результаты А.Пуштаи (13, 14), начинают разрабатываться методики, посвященные оценке пищевых рисков, связанных с действием потенциальных аллергенов (15, 16). В обзорах по применению ГМО, авторы, в том числе и первоначально критиковавшие А.Пуштаи, указывают на необходимость строгой оценки пищевых и экологических рисков (17, 18).

Показательна история с сортом кукурузы StarLink®, скандал вокруг которой разгорелся в 2000–2001 гг. Эта кукуруза, трансформированная белком-токсином *Bacillus thuringiensis* Cry9C, был разрешен американским Агентством по охране окружающей среды к использованию с ограничениями, как кормовая культура в 1998 г. Ограничение в использовании было вызвано результатами тестирования белка Cry9C на устойчивость к перевариванию пепсином и к нагреванию, показавшими устойчивость выше минимально допустимой (19). В результате неконтролируемого переопыления с пищевыми сортами, урожай из гибридных растений был использован для получения пищевых продуктов. В 2000 г. фирма «Авентис» предоставила материалы, подтверждающие возможность использования сорта StarLink® в пищевых целях (20). Данные экспериментов по оценке токсичности и аллергенности модифицированного продукта всего на 10 крысах, якобы свидетельствовали о его безопасности. В пользу своей точки зрения «Авентис» указывала на 30-летний опыт применения белка Cry9C в США в качестве инсектицида, и отсутствие данных в научной литературе по токсичному и аллергенному действию белка Cry9C. Ряд публикаций, посвященных оценке аллергенности и других возможных воздействий на организм подопытных животных белками Cry9C и родственного ему Cry1Ab, показали отсутствие патогенного действия данных белков в составе ГМО (21–23). Тем не менее, существующие данные по аллергенности токсинов *B. thuringiensis* (24) заставили провести дополнительные исследования аллергенности Cry-белков. Были получены данные, свидетельствующие о выработке антител и, соответственно, формировании аллергичной реакции на белок Cry1Ac (25), и ограниченности методов определения иммунных реакций (26), в частности теста ELISA, не способного оценивать аллергенность гликозилированных эпитопов белков (27). Гликозилирование – особенность многих аллергенов пищи (28),

и известно, что Cry-белки имеют потенциально гликозилируемые участки (29), и взаимодействуют с мембранными аминопептидазами, что свидетельствует о наличии у Cry-белков гликозил-фосфатидилинозитольного мембранного якоря (30). Эти данные подтверждают первоначально осторожную оценку в применимости сорта StarLink® (19, 31) и оправдывают постоянно ведущийся в США мониторинг сортов кукурузы и производимых из них пищевых продуктов на присутствие белка Cry9C (32).

3. Свойства белков, обладающих бактерицидной, фунгицидной и инсектицидной активностью, используемых для трансформации сортов сельскохозяйственных растений

Как правило, токсичным или аллергеным действием обладают трансгенные белки, обеспечивающие устойчивость растений-реципиентов к поражению различными видами насекомых, грибковым и бактериальным заболеваниям. Устойчивость обеспечивается действием белков, обладающих набором специфических свойств. Среди них:

- ферментативная активность к наиболее мажорным компонентам клеточной стенки целевых организмов (например, хитиназы для насекомых и грибов),
- лектиновая активность (лектины и арселины), опосредующая связывание с определенными рецепторами и мембранными гликопротеинами и реакции гликозилирования и приводящая к слипанию клеток желудочно-кишечного тракта и нарушению работы пищеварительных ферментов насекомых – вредителей,
- ингибирование рибосомальных белков (RIPs-белки), приводящее к нарушению синтеза новых белков клетками, контактирующими с RIPs,
- ингибирование функций пищеварительных протеаз и амилаз целевых организмов,
- формирование сквозных каналов в клеточной мембране (Cry- протоксины *Bacillus thuringiensis*, активизирующиеся после протеолитического расщепления), приводящее к лизису атакованных данными полипептидами клеток,
- проникновение в виде фрагментов исходного белка через стенки кишечника и связывание с ганглиозидами клеточных мембран (растительные протоксины: уреазы и канатоксины), что приводит к экзоцитозу клеток различных типов, разрушению кровяных пластинок и сопровождается гибелью целевого организма.

Табл.1 Действие некоторых растительных и бактериальных токсинов на целевые организмы и человека (19–30, 33–72).

Белок		Целевые организмы (семейства)	Действие на млекопитающих
Lectins	Man	Coleoptera, Lepidoptera, Homoptera, Hymenoptera	Противоречивые данные
	GlcNac	Coleoptera, Lepidoptera, Homoptera, Diptera	Токсичен
	GalNac/ Gal	Coleoptera, Lepidoptera, Homoptera, Diptera	Токсичен
RIPs		Coleoptera, Bacteria, Fungus, Viruses	Токсичен
Arcelins		Coleoptera	Не изучен
Serine protease inhibitors		Coleoptera, Lepidoptera, Orthoptera, Hymenoptera	Токсичен
Cystein protease inhibitors		Coleoptera, Hemiptera	Нет эффекта
a-Amylase inhibitors		Coleoptera, Lepidoptera	Токсичен
Modified storage proteins		Coleoptera	Не изучен
Chitinase		Lepidoptera, Bacteria, Fungus	Аллерген
Ureases (including Canatoxin-like)		Coleoptera, Hemiptera	Противоречивые данные
<i>Bt</i> toxins		Coleoptera, Lepidoptera, Homoptera, Diptera, Hymenoptera	Противоречивые данные
Anionic peroxidase		Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera	Лигнин-токсичные метаболиты

Устойчивость к патогенам и вредителям формируется благодаря экспрессии генов этих белков под действием тканеспецифичных промоторов в целевых тканях и органах растения. В настоящий момент практически все перечисленные классы белков используются при создании коммерческих сортов пищевых и кормовых растений.

4. Свойства трансгенных белков, обладающих инсектицидной активностью.

Данные, приведенные в табл.1, свидетельствуют о значительной токсичности или аллергенности представителей большинства указанных классов белков, при их введении перорально. Однако часть из них присутствует и в норме в различных видах употребляемой растительной продукции. Проявление токсичных свойств таких белков будет опосредовано тканевой спецификой

их экспрессии и концентрацией самих белков или синтезируемых при их участии продуктов метаболизма, например, ферментов биосинтеза гликоалкалоидов (в частности, соланина) у пасленовых. Для оценки пищевых рисков при создании устойчивых к вредителям сортов необходимо определить допустимую степень воздействия этих белков на организм, используя традиционные сорта пищевых культур – источников белков этих классов в качестве контроля. Так как число оцениваемых параметров потенциально очень велико, принципиальную роль в таких оценках играет информация о механизмах возможных влияний этих белков на человека и животных.

Уреазы редко используются для трансформации растений (32а), так как для млекопитающих хорошо известен токсичный эффект ряда белков этого класса, выраженный при инъекционном введении белка. Вообще все белки этого класса имеют сходный набор ферментативных и лектиновых функций (33, 34). Известно, что канатоксины и уреазы не стойки к кислой среде, и поэтому при попадании с пищей в пищеварительный тракт разрушаются еще в желудке (35). Белки перевариваются в составе растительной ткани, где они содержатся в строго определенных количествах, причем все этапы созревания, транспортировки и запасаения белка идут в соответствии с естественными программами регуляции функций клетки. Как ведут себя трансгенные белки с повышенной экспрессией, насколько они доступны действию желудочного сока в составе трансгенной растительной ткани, необходимо выяснять в каждом конкретном случае. Тем более, что значительное увеличение экспрессии уреазы в трансгенных растениях (за счет плеiotропных эффектов – см. ниже) показано, например, для коммерциализируемого сорта сои 30-4-2, устойчивого к пестициду Раундап (36). Свидетельством важности проверки активности уреаз в трансгенных сортах являются также данные о снижении индекса перевариваемости корма бройлерными цыплятами при повышении активности соевых уреаз в нем, даже не смотря на снижение активности трипсинового ингибитора (37). Неясно также, как изменяется кругооборот азота в трансгенном растении и каковы последствия этих изменений для разных биоактивных метаболитов, так как механизмы индукции активности уреаз растений пока не выяснены (38).

Ингибиторы сериновых протеаз обладают множественными функциями. Выполняя у растений роль запасяющих белков, белков-регуляторов апоптоза и внутриклеточного протеолиза, они дополнительно способны блокировать ферменты пищеварительного тракта насекомых, действуя как неспецифичные субстраты. Пищеварительные ферменты насекомых, в частности их функциональные домены, сохранили высокое структурное сходство с подобными ферментами позвоночных, в том числе и человека, что приводит к сходному действию на них используемых растительных белков-ингибиторов (33, 39–43). Длительное воздействие на крыс соевыми ингибиторами протеиназ, в качестве пищевой добавки, или муки сырой сои, приводило к гипертрофии и гиперплазии поджелудочной железы, вплоть до неопластических новообразований и карциномы. Термальная обработка белков и пищи предотвращает эти эффекты (44). Подобное действие ингибиторов эндопептидаз сои на поджелудочную железу отмечено и для человека (45).

Совершенно отсутствуют работы по трансгенным сортам, модифицированным ингибиторами протеаз, с проведенной оценкой пищевых рисков, связанных с употреблением сырой и переработанной продукции. Тем более, что модификация подобными белками овощных культур, употребляемых в сыром виде, несет непосредственную опасность для потребителя. Здесь же следует отметить, что предлагается использовать в качестве трансгенных белков ингибиторы протеиназ млекопитающих, в частности белка-ингибитора бычьего трипсина, обладающего выраженным инсектицидным действием (46). Однако эффект длительного воздействия этих белков в составе трансгенной пищи вообще не изучен.

Ряд растительных ингибиторов альфа-амилазы формируют комплексы с ферментами слюнных и поджелудочной желез и достигают максимальной активности при температуре от 35 до 50°C (47, 48). Некоторые ингибиторы альфа-амилазы хорошо известны как сильные аллергены, например, тетрамерный ингибитор амилазы пшеницы (49). В работах, посвященных свойствам белков этого класса и их прикладному использованию (50, 51), перечислено значительное количество токсичных и аллергенных растительных ингибиторов альфа-амилазы и указана необходимость строгих оценок их пищевых рисков.

Физиологическое действие арселинов на млекопитающих не изучено, но известно, что они близки по структуре и свойствам к фитогемагглютининовым лектинам и ингибиторам альфа-амилазы (52), что предполагает сходные пищевые риски.

RIP's белки, или ингибиторы рибосомальных белков, имеют узкую видовую специфичность к различным рибосомальным белкам. Они удаляют консервативный аденин из 28S субъединицы РНК, что препятствует сборке рибосом и приводит к гибели клеток. В силу своей видовой специфичности можно подобрать белки, обладающими инсектицидными, фунгицидными или бактерицидными свойствами (53, 54). Растения, трансформированные такими белками под специфическими вирусными промоторами, устойчивы к вирусным инфекциям, супрессируя выработку вирусных белков в инфицированных клетках (55). Но не стоит забывать, что рицин, один из сильнейших ядов, относится именно к этой группе белков. Другой пример: циннамомин, формирующий устойчивость трансгенных растений к личинкам насекомых, специфичен к 28S РНК крысы (56). Поскольку инактивация рибосом происходит необратимо, даже слабая аффинность RIP's к рибосомальным белкам млекопитающих будет приводить к эффекту накопления. Поэтому проверка безопасности таких белков, выделенных в составе экстракта из трансгенного растения, должна проводиться длительное время, в том числе и на культурах человеческих клеток (что не делается).

Лектины были одними из первых трансгенов при формировании устойчивости к насекомым. Связываясь с гликанами на поверхности клетки, они приводят к слипанию клеток и нарушению физиологических функций организма. С этим свойством растительных лектинов связана 40-летняя история их применения в качестве цитотоксических препаратов при химиотерапии раковых заболеваний (57, 58). О формировании иммунного ответа на не-

которые трансгенные лектины мы упомянули в разделе «история вопроса» (6–8, 10, 11). Высокие пищевые риски при использовании лектинов были подтверждены и в других исследованиях. Так, лектин нарцисса, обладающий ярко выраженными свойствами инсектицида, является мутагеном, причем наиболее сильное мутагенное действие показано на культурах лимфоцитов человеческих эмбрионов и из периферического кровотока детей раннего постнатального периода развития (59). Эти данные показывают опасность использования данного лектина и близких к нему в первую очередь для наиболее молодой части человеческой популяции.

Проводимые работы с трансгенными инсектицидными лектинами бразильского ореха *Bertholletia excelsa* были прекращены в связи с их высокой аллергенностью (60, 61). Хитин-связывающие лектины из проростков пшеницы и фасоли обладают огромным инсектицидным потенциалом, но при этом токсичны для млекопитающих. Поэтому первоначально полученные трансгенные сорта кукурузы с широким спектром устойчивости к вредителям оказалось невозможным использовать в пищевых целях (62).

Для трансформации растений ферментами, разрушающими мажорные компоненты клеточной стенки вредителей, обычно хитина, используют растительные хитиназы, и хитиназы бактерий и насекомых (62, 63). Трансгенные конструкции на основе хитиназ сейчас очень популярны: хитиназами модифицированы различные сорта риса (64–66), картофеля (67, 68), пшеницы (69) и других культур. В то же время хорошо известны так называемые «латексные» или «банановые» аллергии, главным аллергеном в которых выступают хитиназы авокадо, бананов, каштана (70, 71). Хотя показана высокая аллергенность только хитиназ 1-го класса, возможная модификация трансгенного белка и близость структур хитиназ разных классов требует тщательной проверки на аллергенность всех трансгенных по хитиназам сортов (что не сделано).

Устойчивость к болезням может также индуцироваться не только белками, но и продуктами обмена веществ – вторичными метаболитами. Сорта кукурузы, табака и томатов с увеличенной экспрессией кислых пероксидаз вырабатывают в листьях повышенное содержание лигнина, препятствующего поражению растений насекомыми-вредителями (72). Продуктами разложения лигнина являются токсичные и мутагенные фенолы и метанол. Поэтому увеличение содержания лигнина в силосной массе, плодах или листьях табака представляет прямую опасность. Картофель, устойчивый к ряду болезней, модифицированный пероксидазой и кислой хитиназой, помимо лигнина содержит сублетальное (для растения) количество перекисных радикалов (68). При этом не изучено, как будут модифицироваться в этих условиях алкалоиды, которыми богаты пасленовые (см. Раздел «Плейотропные влияния трансгенных белков»).

В заключение этого раздела – об аллергиях. Аллергия на продукты питания – явление достаточно распространенное и неуклонно растущее среди населения развитых стран. Это связано, в первую очередь, с неблагоприятной экологической обстановкой, изменением традиционного рациона питания,

к которому каждый народ адаптировался на протяжении многих веков, и современными технологиями пищевой промышленности, приводящими к повышенному содержанию в пище различных ксенобиотиков. И в этом смысле характеристикам трансгенных белков, обладающих инсектицидной активностью, необходимо уделить пристальное внимание, поскольку примерно половина патогенез-зависимых белков растений являются аллергенами (73). Повышение их содержания в устойчивых к заболеваниям сортах растений имеет прямой риск повышения аллергенности продуктов питания, изготовленных на основе этих сортов. Детские аллергии – экссудативный диатез и нейродермит, вообще имеют особый статус в аллергологии. Иммунная система человека окончательно формируется только к 12–14 годам, а кишечная флора, адаптированная к «взрослой» пище – к 3-м годам. Слизистая оболочка пищеварительного тракта ребенка обладает повышенной проницаемостью, как для питательных веществ, так и для патогенов. Это компенсируется высоким содержанием разнообразных иммуноглобулинов и лимфоцитов в крови и слизистой оболочке кишечника ребенка. Детский организм остро реагирует на «чужие» белки, к которым он не адаптирован, отсюда – особенно высокая чувствительность к аллергенам. Исходя из многочисленных наблюдений, фармакологи рекомендовали полностью исключить ГМО из состава детского питания (74). Начиная с 2004 года в странах Европейского Союза использование ГМО в продуктах детского питания, предназначенного для детей до 4-х лет, полностью запрещено.

5. Пищевые риски, связанные с устойчивостью ГМО к гербицидам.

Устойчивость возделываемых сортов к действию пестицидов дает большой экономический эффект – ручная или машинная прополка заменяется быстрой и сравнительно дешевой обработкой пестицидами, приводящей к гибели сорняков. Эта практика ведет к увеличению масштабов использования гербицидов, и, соответственно их воздействия на окружающую среду, а также вызывает быстрый отбор видов-сорняков, обладающих повышенной устойчивостью к применяемым пестицидам (1, 75).

Для придания растению повышенной устойчивости к такому распространённому гербициду, как глифосат, используют конструкции на основе одного из двух генов: EPSPS (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) и GOX (глифосат оксидоредуктаза). Сами по себе эти белки не являются ни аллергенами, ни токсинами.

Для оценки безопасности пищевого применения таких сортов, необходимо знать: какова способность таких сортов к накоплению ядовитых для человека и животных инсектицидов, и не происходит ли накопления других ядовитых метаболитов или аллергенов под действием плейотропных эффектов трансгенных конструкций. Следует иметь в виду, что практически все пестициды токсичны для человека. Глифосат, например, является канцерогеном, вызывающая лимфому (76). Обычно в работах, посвященных получению устойчивых к гербицидам сортов и их свойствам, указывают на отсутствие негативных

свойств, подтвержденных многочисленными проверками (77). Действительно, исходя из правил получения и дальнейшей валидации трансгенной культуры, оценивая перевариваемость белков и состав метаболитов нового сорта, учитывается количество встроенных конструкций и нецелевые изменения свойств сорта, отбираются только стабильные трансформанты. Сотрудниками фирмы «Монсанто» было показано, например, хорошее соответствие состава модифицированной сои, устойчивой к глифосату, и родительского традиционного сорта (78). Но в литературе имеются данные, что при обработке глифосатом устойчивых к нему сортов сахарной свеклы, растения накапливают токсичные метаболиты глифосата (79). Более того, показана способность репродуктивных тканей (!) хлопчатника, устойчивого к глифосату, к очень высокому накоплению этого гербицида – от 0,14 до 0,48 мг/г (80). Это чрезвычайно важно, так как такие дозы при употреблении в пищу будут смертельными (допустимые дозы остаточного глифосата и его токсичных метаболитов в пищевых продуктах в США – 0,02 мг/кг сухого вещества). К сожалению, информация по анализу остаточных концентраций гербицидов в устойчивых сортах в сопровождающих документах и описаниях отсутствует. Насколько широко распространено это свойство устойчивых к глифосату сортов, какова тканевая специфичность накопления глифосата – неизвестно.

Другим эффективным и распространенным гербицидом является атра-зин. Устойчивость картофеля и табака к его действию обеспечивается встраиванием в геном цитохрома CYP1A1, представителя класса P450 цитохромов (81, 82). Вместе с тем, известно немало работ, посвященных канцерогенным, иммунотоксичным и эмбриотоксичным свойствам этого вещества (например 83, 84). И в этом случае вопрос о накоплении этого гербицида в устойчивых к нему сортах не привлекает внимания разработчиков. А пищевой риск такого накопления огромен.

Риски, связанные с плейотропными влияниями трансгенных белков и конструкций, определяющих устойчивость к гербицидам, мы рассмотрим в следующем разделе.

6. Модификация метаболизма и плейотропные влияния трансгенных белков.

Пищевые риски могут быть связаны с действием плейотропных эффектов как самих трансгенных белков, так и регуляторным действием встроенных конструкций. Выше уже упоминалось усиление активности уреаз в трансгенном сорте сои, устойчивой к гербициду раундап (36). Несмотря на правила валидации трансгенных сортов, обнаружить нецелевые изменения метаболизма, активности различных белков, включая лектины и фитогормоны, не просто – исследователь не знает точно, что проверять. Изменения могут быть не количественными, а качественными, например, состава минорных фракций гликоалкалоидов, которые совместно могут обладать многократным синергетическим усилением мембранолитической активности. Существуют ли объективные основания для таких опасений? С конца 90-х годов проводилось изучение биосинтеза флавоноидов, природных антиоксидантов,

участвующих в защите тканей растения от негативных последствий фотохимических реакций, на модели трансгенных растений (85). В настоящий момент существуют трансгенные сорта помидоров (86) и картофеля (87) с усиленной продукцией флавоноидов. Принято считать, что повышенное содержание флавоноидов на организм человека положительно. Но такое изменение метаболизма растений может приводить к росту пищевых рисков. Так, масс-спектрофотометрический анализ трансгенного картофеля показал резкое изменение состава минорных фракций гликоалкалоидов (87). Для оценки пищевых рисков в таких случаях необходимо проведение долговременных тестов, которые пока не проводятся.

Проводя работы по созданию трансгенных растений с устойчивостью к стрессующим факторам и для увеличения урожайности, используют ключевой фермент синтеза полиаминов – аргинин декарбоксилазу (88). Результатом гиперэкспрессии этого фермента у трансгенных табака и риса является повышенное содержание агматина – его непосредственного метаболита, и в ряде случаев – рост концентрации вторичных метаболитов путрисцина, спермидина и спермина (88, 89). При этом как агматин, так и его производные, являются биологически активными веществами, способными взаимодействовать с адренэргическими, имидазолиновыми и глутаматными рецепторами, выступая для организма человека в роли как нейромедиаторов, так и активаторов митоза и способствуя опухолеобразованию (90, 91). Будучи небелковой природы, эти вещества легко усваиваются организмом. Адекватность используемых в настоящий момент тестов для проверки таких рисков сомнительна.

Не обойдены вниманием производителей и цитокинины – растительные гормоны, производные пурина. Сорта томатов, модифицированных генами изопентилтрансферазы и бактериальной фитоэнсинтазы, обладают повышенной продуктивностью (92, 93). Однако сложнейшая регуляторная сеть, включаемая действием цитокининов в организме растения и затрагивающая как метаболизм, так и разнообразные тканевые и ростовые процессы, только изучается (94), и предсказать все эффекты от такого рода изменений пока невозможно. Но показано, что содержание фитогормона зеатина пуринового ряда и его производных растет (94а). Известны сильнеешие эффекты этих гормонов на клетки человека и млекопитающих различных типов (95, 96), за счет модуляции Ras – опосредованных клеточных сигнальных каскадов (97), ацетилхолинэстеразной активности (98), активности пуринорецепторов (99). Пока допустимые безопасные концентрации используемых фитогормонов в растительных продуктах не будут определены, остается высоко вероятным пищевой риск с использованием этих технологий.

У сорта пшеницы, модифицированного кислотной глюконазой и хитиназой, наблюдалась гиперэкспрессия специфической фенилаланин-аммоний лиазы и связанное с этим накопление салициловой кислоты, приводящее к некрозам растительной ткани (100). Сама салициловая кислота обладает массой полезных свойств, и в модифицированном виде хорошо известна как аспирин, вот только в качестве пищевой добавки к хлебу или макаронным изделиям она может не подойти.

7. Риски производства фармацевтических препаратов в ГМО.

В 2003 г. возник термин «Фармагеддон» (101). Основанием служит большое число сортов риса и кукурузы, разрабатываемых и культивируемых различными биотехнологическими компаниями, несущих биологически активные вещества, в том числе: вакцины, гормоны роста, факторы свертывания крови, индустриальные ферменты, человеческие антитела, контрацептивные белки, подавляющие иммунитет цитокины и вызывающие аборт препараты. Существуют (101, 102) следующие риски неконтролируемого использования такой продукции:

- угроза переопыления и неконтролируемого распространения таких сортов среди пищевых;
- риск неконтролируемого экспонирования пищевых вакцин беременным;
- распространение вакцин и биоактивных веществ, выделяющихся в естественных условиях из растительных остатков через почвенные и поверхностные воды.

Насколько обоснованы эти риски?

При переносе пыльцы растений ветром или насекомыми на места произрастания других сортов этого же вида, а также при случайном смешивании сортового материала, образуются гибридные растения, несущие признаки обоих сортов. Пример с сортом кукурузы StarLink® – не единственное подтверждение реальности таких рисков. В Мексике и Гватемале дикорастущие виды кукурузы уже плотно насыщены трансгенными вставками, за счет переопыления с возделываемыми культурными сортами (1). В то же самое время, на рисовых полях Калифорнии среди пищевых сортов риса проводятся открытые полевые испытания сортов риса, несущего человеческие белки лактоферрин и лизозим, используемые в фармакологии при энзимотерапии. Американская компания «Эпицит» недавно сообщила о создании и испытаниях сорта кукурузы, вырабатывающего человеческие антитела на поверхностные белки спермы, с целью получения противозачаточных препаратов (102). Неконтролируемое переопыление такого сорта с пищевыми может привести к серьезным демографическим последствиям на территориях, где производится подобная продукция.

Неконтролируемое распространение вакцин в составе пищевых продуктов обладает не меньшим риском. В ходе эмбриогенеза формирующаяся иммунная система «учится» распознавать «свои» белки, не путая их в дальнейшем с «чужими». Белки, экспонируемые клеткам иммунной системы во время эмбриогенеза, запоминаются как «свои». Если белок вакцины в это время попадет в кровотока эмбриона, то родившийся ребенок не сможет вырабатывать иммунитет к данному заболеванию, всегда распознавая данную бактерию или вирус как «свой».

При сборе урожая любой пищевой культуры огромная масса растительных остатков – листы, стебли и корни, остается на полях. Вероятность

прямого распространения в почвенных водах белков, входящих в состав растений, низка, хотя значительно выше вероятность горизонтального переноса трансгенных конструкций в почвенных и других бактерий (см. далее). Но, кроме этого, существует еще один аспект рисков – это неконтролируемая вакцинация птиц и млекопитающих, обитающих в данной местности. Если трансгенные вакцины направлены против бактерий и вирусов, имеющих местных животных в качестве переносчиков (или бактерий, родственных человеческим болезнетворным бактериям), то такая вакцинация спровоцирует мощный отбор среди патогенов и формирование суперинфекций.

8. Риски горизонтального переноса трансгенных конструкций.

Горизонтальный перенос генов широко известен в царстве бактерий. В ходе эволюции обмен генами осуществлялся как между ними, так и между бактериями и эукариотами. Способность обмениваться участками генома бактерии сохраняют до сих пор. И это свойство бактерий имеет прямое отношение к экологическим и пищевым рискам использования ГМО. Нахождение в желудочно-кишечном тракте в составе пищи собственно ферментов, использующих антибиотик как субстрат, практически безопасно для человека и животных. Ферментам необходимы строго определенные условия для проявления активности, поэтому белки, осуществляющие внутриклеточный метаболизм, функционировать будут только в составе живой клетки.

Вероятность встраивания трансгенной конструкции из растения в геном млекопитающих и человека ничтожно мала. Следует учитывать, что клетки высших эукариот имеют несколько изолирующих барьеров, эффективно препятствующих горизонтальному переносу. Даже в случае такого переноса клетка, как правило не размножается, находясь в терминальной стадии дифференцировки. Перенос конструкции в половые клетки вообще невероятен, учитывая гемато-тестикулярный барьер, не проницаемый для крупных молекул. Но не следует забывать, что человек имеет эндосимбионтов, в частности, кишечную бактериальную флору. Известно, что бактерии способны к трансформации как кольцевыми, так и линейными формами ДНК с инвертированными повторами (103). Фрагменты трансгенной ДНК в содержимом кишечника, крови и молоке животных, питающихся ГМО (у коров – 104, у свиней – 105). При этом, в соответствии с часто применяемой методикой отбора трансгенных конструкций под действием антибиотиков, эти фрагменты несут репортерные гены устойчивости к антибиотикам в качестве маркерных последовательностей (77, 106). Эти гены могут быть как молчащими, так и нормально экспрессирующимися. В любом случае, трансформация ими симбионтных или патогенных бактерий может «включить» их уже в составе бактериального генома, например, путем рекомбинации и возникновения т.н. химерных белков, обладающих ферментативной активностью по отношению к антибиотику. Это ведет к формированию устойчивости к антибиотикам или самих симбионтных бактерий, или патогенной флоры. Результатом использования антибиотика при заболевании будет быстрый отбор бактерий, устойчивых к нему, и антибиотик либо начнет

перерабатываться непосредственно в кишечнике, не достигая целевых патогенных бактерий, либо не будет оказывать влияния на резистентные к нему патогены. Поскольку основные бактерии-симбионты живут в толстой кишке, риск метаболизма антибиотиков бактериями кишечной флоры касается, в основном, плохо всасывающихся антибиотиков, например неомицина и канамицина. Трансгенные конструкции, несущие в качестве маркерного признака устойчивость как раз к таким препаратам, и были широко использованы биотехнологическими компаниями.

Сценарии риска трансформации бактерий растительными конструкциями подвергались критике, например А.Л.Коновым (107), на основании экспериментальных данных, демонстрирующих низкую частоту передачи наследственного материала от ГМО-организмов болезнетворным бактериям. Обратимся к цифрам и фактам. Порядок частот трансформации для разных штаммов бактерий при обнаружении трансформированных колоний составлял 10^{-4} – 10^{-8} , при отсутствии таковых – не выше 10^{-16} . Число симбионтных бактерий в одном грамме содержимого кишечника достигает 10^{11} . При пересчете на общее содержимое кишечника это даст вполне высокую вероятность трансформации бактерий-симбионтов. Для *Escherichia coli* давно известно большое число патотипов, имеющих различия от нескольких до 1387 новых генов, расположенных в штамм-специфических кластерах и приобретенных в разное время путем горизонтального переноса (108, 109). То-есть, горизонтальный перенос генов для нее не исключительное событие. Что касается передачи устойчивости к антибиотикам между различными бактериями, то это вполне доказанное явление. Был показан перенос устойчивости к антибиотикам от патогенных *Acinetobacter baumannii* к *E.coli* и *Proteus mirabilis* (110). Действительно, эффективная бактериальная система переноса генов устойчивости к антибиотикам представлена IncQ-подобными плазмидами, передающимися между *E.coli*, *Acinetobacter sp.* и другими штаммами бактерий (111). И вероятность формирования рекомбинантных плазмид, несущих новые гены из конструкций, с новой устойчивостью к пока эффективным антибиотикам, пока никак не оценивалась.

В связи с изложенным выше материалом по свойствам белков с инсектицидной активностью возникает еще один риск – формирования новых патогенных штаммов *E.coli*. Показано, что широко используемый в трансгенных конструкциях 35S промотор вируса СаMV, контролирующей экспрессию целевого гена, распознается транскрипционным комплексом широкого спектра видов бактерий (112, 113). При этом велика вероятность получения химерных белков с непредсказуемыми свойствами. Какова специфичность экспрессии других используемых промоторов – предстоит оценить, и без такой оценки говорить о безопасности используемой ГМ-технологии.

В некоторых работах оценка рисков горизонтального переноса проводится на основе анализа методами ПЦР (полимеразной цепной реакции) мускулатуры животных, питающихся трансгенной растительной пищей (114). Очевидно, подобный подход совершенно не обоснован, и отсутствие маркеров конструкций в мускулатуре, вполне ожидаемое, никак не связано с реальными рисками горизонтального переноса.

Характеристики плейотропных влияний (или отсутствие таковых) встроенных генов и конструкций, проведенные с непосредственно полученным сортом, должны меняться с течением времени. Это связано с нестабильностью ряда конструкций, способных к перемещению в геноме и амплификации с течением времени. Уже известны примеры по изменениям в геноме трансгенных растений, связанные с наличием «горячих точек» рекомбинации в конструкциях (115). Эти процессы резко снижают надежность и устойчивость однажды заявленных производителями свойств новых трансгенных сортов.

Критика метода отбора трансформированных культур по устойчивости к антибиотикам привела к тому, что использование репортерных генов устойчивости к антибиотикам запрещено для получения новых пищевых сортов, такие сорта изымаются из обращения. Тем не менее, во многих случаях использование плазмид, содержащих нетранскрибируемые копии генов устойчивости к антибиотикам продолжается. И продолжается использование таких запрещенных сортов: согласно сообщению Mr. Morley от 25 июня 2003 года в Английском парламенте, в Англии на полях с ГМО сортами растений были найдены сорта, несущие гены устойчивости к канамицину и неомицину, ампициллину и амоксициллину, и к гидромицину. (115a)

Заключение

Отмеченные выше факты неблагоприятного воздействия трансгенов на организм человека и животных не свидетельствуют о порочности технологии создания ГМО как таковой. Мы обращаем внимание на актуальность проблемы анализа пищевых и прочих рисков использования ГМО, на необходимость выработки норм экспертизы и тестирования новых сортов, с учетом уже известных рисков и постоянному жесткому контролю ГМО по исходным, не модифицированным сортам. Безусловно, оценка таких рисков всегда будет относительна – любые употребляемые нами продукты питания способны осуществлять разнообразные воздействия на организм, а в процессе производства любой пищевой продукции происходит вмешательство человека в окружающую природу.

Имеющиеся данные, лишь часть которых была кратко описана в настоящем обзоре, показывают, что есть немало уже доказанных случаев реальных пищевых рисков, связанных с использованием генетически модифицированных организмов по сравнению с исходными организмами. Однако в условиях монополизации и производства семенного материала, и его экспертизы одной или несколькими крупными биотехнологическими корпорациями трудно ожидать объективных оценок этих рисков. В результате, проблема «регуляции рисков» может превратиться в проблему «рисков регуляции» (116, 117).

Литература

1. Соколов М.С., Вельков В.В., Медвинский А.Б. 2002. Государственное регулирование трансгенных растений и оценка экологических рисков их производства. В сб. «Обеспечение экологической безопасности при использовании генетически модифицированных организмов», М., с.17–27.
2. Giovannetti M. 2003. The ecological risks of transgenic plants. *Riv. Biol.* vol. 96, #2, pp.207–223.
3. Miller H.I. 1983. Report on the World Health Organization Working Group on Health Implications of Biotechnology. *Recomb. DNA Tech. Bull.*, vol.6, #2 pp.65–66.
4. Petricciani J.C. 1983. An overview of safety and regulatory aspects of the new biotechnology. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* vol. 3, #4, pp.428–433.
5. Office of Science and Technology Policy. 1986. Coordinated framework for regulation of biotechnology: announcement of policy and notice for public comment. *U.S. Fed. Reg.* Vol. 51, 23302–23350.
6. Ewen S.W., Pusztai A. 1999. Effect of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine. *Lancet*, vol. 354, # 9187, pp. 1353–1354.
7. Pusztai A, Bardocz G.G., Alonso R., Chrispeels MJ, Schroeder HE, Tabe LM, Higgins TJ. 1999 Expression of the insecticidal bean alpha-amylase inhibitor transgene has minimal detrimental effect on the nutritional value of peas fed to rats at 30% of the diet. *J Nutr.* vol.129, #8, pp.1597–1603.
8. Ewen SW, Pusztai A. 1999 Health risks of genetically modified foods. *Lancet*. vol. 354; #9179, p.684.
9. Mason HS, Ball JM, Shi JJ, Jiang X, Estes MK, Arntzen CJ. 1996 Expression of Norwalk virus capsid protein in transgenic tobacco and potato and its oral immunogenicity in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* vol.93; #11, pp.5335–5340.
10. Skea DL, Christopoulous P, Plaut AG, Underdown BJ. 1988 Studies on the specificity of the IgA-binding lectin, jacalin. *Mol Immunol.* vol.25, #(1) pp.1–6.
11. Antoniuk VO. 1992 [Isolation of lectin from horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) seeds and study of its interaction with carbohydrates and glycoproteins] *Ukr Biokhim Zh.* ;64(5):47–52.
12. BINAS Monitor, in BINAS News, 1999, vol.5, Iss.1&2, pp.12–19. http://binas.unido.org/~binas/binasnews/bn1_2_99.pdf
13. Fenton B, Stanley K, Fenton S, Bolton-Smith C. 1999 Differential binding of the insecticidal lectin GNA to human blood cells. *Lancet.* ; vol.354, #9187:1354–1355.
14. Gabor F, Stangl M, Wirth M. 1998 Lectin-mediated bioadhesion: binding characteristics of plant lectins on the enterocyte-like cell lines Caco-2, HT-29 and HCT-8. *J Control Release.* vol;55, #2–3, pp:131–142.

15. Lauterslager TG, Florack DE, van der Wal TJ, Molthoff JW, Langeveld JP, Bosch D, Boersma WJ, Hilgers LA. 2001 Oral immunisation of naive and primed animals with transgenic potato tubers expressing LT-B. Vaccine. vol.19, #17-19, pp.2749-2755.
16. Dearman RJ, Caddick H, Stone S, Basketter DA, Kimber I. 2001 Characterization of antibody responses induced in rodents by exposure to food proteins: influence of route of exposure. Toxicology. vol.167, #3: pp.217-231.
17. Dale PJ. 1999 Public concerns over transgenic crops. Genome Res. vol.9, #12: pp.1159-1162.
18. Halford NG, Shewry PR. 2000 Genetically modified crops: methodology, benefits, regulation and public concerns. Br Med Bull.;vol.56, #1: pp.62-73.
19. U.S. Environmental Protection Agency. 1998 *Bacillus thuringiensis* subspecies *tolworthi* Cry9c protein and the genetic material necessary for its production in corn; exemption from the requirement of a tolerance. Fed Reg 63:28258-28261.
20. U.S. EPA. 2000 Assessment of Scientific Information Concerning StarLink Corn Cry9C Bt Corn Plant-Pesticide. Docket PF-867B. Arlington, VA:U.S. Environmental Protection Agency, Fed Reg:65:65245-65251.
21. Okunuki H, Teshima R, Shigeta T, Sakushima J, Akiyama H, Goda Y, Toyoda M, Sawada J. 2002 Increased digestibility of two products in genetically modified food (CP4-EPSPS and Cry1Ab) after preheating. Shokuhin Eiseigaku Zasshi. vol.43, #2: pp.68-73.
22. Teshima R, Watanabe T, Okunuki H, Isuzugawa K, Akiyama H, Onodera H, Imai T, Toyoda M, Sawada J. 2002 Effect of subchronic feeding of genetically modified corn (CBH351) on immune system in BN rats and B10A mice. Shokuhin Eiseigaku Zasshi. vol. 43, #5: pp.273-279.
23. Phipps RH, Deaville ER, Maddison BC. 2003 Detection of transgenic and endogenous plant DNA in rumen fluid, duodenal digesta, milk, blood, and feces of lactating dairy cows. J Dairy Sci. vol.86, #12: pp.4070-4078.
24. Bernstein IL, Bernstein JA, Miller M, Tierzieva S, Bernstein DI, Lummus Z, Selgrade MK, Doerfler DL, Seligy VL. 1999 Immune responses in farm workers after exposure to *Bacillus thuringiensis* pesticides. Environ Health Perspect. vol.107, #7:pp.575-582.
25. Vazquez-Padron RI, Moreno-Fierros L, Neri-Bazan L, Martinez-Gil AF, de-la-Riva GA, Lopez-Revilla R. 2000 Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* HD 73 in mice. Braz J Med Biol Res. vol. 33, #2: pp.147-155.
26. Bernstein JA, Bernstein IL, Bucchini L, Goldman LR, Hamilton RG, Lehrer S, Rubin C, Sampson HA. 2003 Clinical and laboratory investigation of allergy to genetically modified foods. Environ Health Perspect. vol.111, #8: pp.1114-1121.
27. Raybourne RB, Williams KM, Vogt R, Reissman DB, Winterton BS, Rubin C. 2003 Development and use of an ELISA test to detect IgE antibody to Cry9c

- following possible exposure to bioengineered corn. *Int Arch Allergy Immunol.* vol.132, #4: pp.322–328.
28. U.S. EPA. 2000 FIFRA Scientific Advisory Panel. Assessment of Scientific Information Concerning StarLink Corn. Arlington, VA:U.S. Environmental Protection Agency, 28 pp..
 29. Oltean DI, Pullikuth AK, Lee HK, Gill SS. 1999 Partial purification and characterization of *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxin receptor A from *Heliothis virescens* and cloning of the corresponding cDNA. *Appl Environ Microbiol.*, vol.65, #11: pp.4760–4766.
 30. Rajagopal R, Agrawal N, Selvapandiyan A, Sivakumar S, Ahmad S, Bhatnagar RK 2003 Recombinantly expressed isoenzymic aminopeptidases from *Helicoverpa armigera* (American cotton bollworm) midgut display differential interaction with closely related *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins. *Biochem J.* vol.370, Pt 3, :971–978.
 31. Bucchini L, Goldman LR. 2002 Starlink corn: a risk analysis. *Environ Health Perspect.* vol,110, #1: pp.5–13.
 32. Orlandi PA, Lampel KA, South PK, Assar SK, Carter L, Levy DD. 2002 Analysis of flour and food samples for cry9C from bioengineered corn. *J Food Prot.* vol. 65, #2:pp. 426–431.
 - 32a. Brodzik, R., Koprowski, H., Yusibov, V. & Sirko, A. 2000 Production of urease from *Helicobacter pylori* in transgenic tobacco plants. *Cell Mol.Biol. Lett.* vol. 5, pp.357–366.
 33. Carlini C.R., Grossi-de-Sa M.F. 2002 Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. *Toxicon* vol..40, Is.11 ,, pp.1515–1539.
 34. Follmer C, Barcellos GB, Zingali RB, Machado OL, Alves EW, Barja-Fidalgo C, Guimaraes JA, Carlini CR. 2001 Canatoxin, a toxic protein from jack beans (*Canavalia ensiformis*), is a variant form of urease (EC 3.5.1.5): biological effects of urease independent of its ureolytic activity. *Biochem J.* vol.360, Pt 1: pp.217–24.
 35. Carlini CR, Guimaraes JA. 1991 Plant and microbial toxic proteins as hemilectins: emphasis on canatoxin. *Toxicon.*; vol.29, #7): pp.791–806.
 36. Kawata M. 2001 Inspection of the Safety Assessment of Genetically Modified, the Roundup Tolerant Soybean: Monsanto's Dangerous Logic as seen in the Application Document submitted to Japan, By Masaharu Kawata, Assistant Professor, School of Science, Nagoya University, Japan, 2001. in http://www.biotech-info.net/safety_inspection2.html
 37. Navarro G.H., Lopez C.C., Garcia E., Forat S.M. 2001 Field Evaluation of a Fullfat Soybean Meal Obtained with the Use of an Expander in Commercial Broiler Rations. FE/SBM 107-2001 - E in http://www.asa-europe.org/online/Navarro_ExFFSBM.pdf
 38. Witte CP, Tiller SA, Taylor MA, Davies HV. 2002 Leaf urea metabolism in potato. Urease activity profile and patterns of recovery and distribution

- of (15)N after foliar urea application in wild-type and urease-antisense transgenics. *Plant Physiol.* vol.128, #3: pp.1129–1136.
39. Holm H, Jorgensen A, Hanssen LE. 1991 Raw soy and purified proteinase inhibitors induce the appearance of inhibitor-resistant trypsin and chymotrypsin activities in Wistar rat duodenal juice. *J Nutr.* vol.121, #4: pp.532–538.
40. Struthers BJ, MacDonald JR. 1983 Comparative inhibition of trypsin from several species by soybean trypsin inhibitors. *J Nutr.* vol.113, #4: pp.800–804.
41. Reseland JE, Holm H, Jacobsen MB, Jenssen TG, Hanssen LE. 1996 Proteinase inhibitors induce selective stimulation of human trypsin and chymotrypsin secretion. *J Nutr.* vol.126, #3: pp.634–642.
42. Krogdahl A, Holm H. 1981 Soybean proteinase inhibitors and human proteolytic enzymes: selective inactivation of inhibitors by treatment with human gastric juice. *J Nutr.* vol.111, #12: pp.2045–2051.
43. Tan-Wilson AL, Wilson KA. 1986 Relevance of multiple soybean trypsin inhibitor forms to nutritional quality. *Adv Exp Med Biol.*;vol.199, pp.391–411.
44. Liener IE. 1995 Possible adverse effects of soybean anticarcinogens. *J Nutr.* vol.125 #3 Suppl: pp.744S–750S.
45. Liener IE, Goodale RL, Deshmukh A, Satterberg TL, Ward G, DiPietro CM, Bankey PE, Borner JW. 1988 Effect of a trypsin inhibitor from soybeans (Bowman-Birk) on the secretory activity of the human pancreas. *Gastroenterology.* vol.94, #2: pp.419–427.
46. Christeller JT, Burgess EP, Mett V, Gatehouse HS, Markwick NP, Murray C, Malone LA, Wright MA, Philip BA, Watt D, Gatehouse LN, Lovei GL, Shannon AL, Phung MM, Watson LM, Laing WA. 2002 The expression of a mammalian proteinase inhibitor, bovine spleen trypsin inhibitor in tobacco and its effects on *Helicoverpa armigera* larvae. *Transgenic Res.* vol.11, #2: pp.161–173.
47. Yoshikawa H, Kotaru M, Tanaka C, Ikeuchi T, Kawabata M. 1999 Characterization of kintoki bean (*Phaseolus vulgaris*) alpha-amylase inhibitor: inhibitory activities against human salivary and porcine pancreatic alpha-amylases and activity changes by proteolytic digestion. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* vol.45, #6: pp.797–802
48. Suehiro I, Otsuki M, Yamasaki T, Ohki A, Sakamoto C, Yuu H, Maeda M, Baba S. 1981 Effect of alpha-glucosidase inhibitor on human pancreatic and salivary alpha-amylase. *Clin Chim Acta.* vol.117, #2: pp.145–152.
49. Kusaba-Nakayama M, Ki M, Kawada E, Sato M, Ikeda I, Mochizuki T, Imaizumi K. 2001. Intestinal absorbability of wheat allergens, subunits of a wheat alpha-amylase inhibitor, expressed by bacteria. *Biosci Biotechnol Biochem.* vol.65, #11: pp.2448–2455.
50. Svensson B., Fukuda K., Nielsen P.K., B nsager B.C. 2004 Proteinaceous -amylase inhibitors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins & Proteomics*, Volume 1696, Is.2, , pp. 145–156.

51. Franco O.L., Rigden D.J., Melo F.R., Grossi-de-S M.F. 2002 Plant -amylase inhibitors and their interaction with insect -amylases. Structure, function and potential for crop protection. *Eur. J. Biochem.*, vol.269, #2, pp. 397–412.
52. Fabre C, Causse H, Mourey L, Koninkx J, Riviere M, Hendriks H, Puzo G, Samama JP, Rouge P. 1998 Characterization and sugar-binding properties of arcelin-1, an insecticidal lectin-like protein isolated from kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. RAZ-2) seeds. *Biochem J.* vol.329, Pt 3: pp.551–560.
53. Park S-W., Stevens NM., Vivanco JM. 2002 Enzymatic specificity of three ribosome-inactivating proteins against fungal ribosomes, and correlation with antifungal activity. *Planta.* vol.216, #2: pp.227–234.
54. Nielsen K, Boston RS. 2001 RIBOSOME-INACTIVATING PROTEINS: A Plant Perspective. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* vol.52: pp.785–816.
55. Desmyter S, Vandenbussche F, Hao Q, Proost P, Peumans WJ, Van Damme EJ. 2003 Type-1 ribosome-inactivating protein from iris bulbs: a useful agronomic tool to engineer virus resistance? *Plant Mol Biol.* vol.51, #4: pp.567–576.
56. He WJ, Liu WY. 2003 Cinnamomin: a multifunctional type II ribosome-inactivating protein. *Int J Biochem Cell Biol.* vol.35, #7: pp.1021–1027.
57. Aub JC, Sanford BH, Cote MN. 1965 Studies on reactivity of tumor and normal cells to a wheat germ agglutinin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* vol.54, #2: pp.396–399.
58. Aub JC, Sanford BH, Wang LH. 1965 Reactions of normal and leukemic cell surfaces to a wheat germ agglutinin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* vol.54, #2: pp.400–402.
59. Summers C, Forrest J, Norval M, Michael Sharp J. 2002 The potentially insecticidal *Narcissus pseudonarcissus* lectin demonstrates age-related mitogenicity. *FEMS Immunol Med Microbiol.* vol.33, #1: pp.47–49.
60. Lehrer S.B. 2000 Potential health risks of genetically modified organisms: How can allergens be assessed and minimized. In: G.J. Persley and M.M. Lantin (Eds.), *Agricultural Biotechnology and the Poor*, Consultative Group on International Agricultural Research, Washington DC, USA, pp. 149–155.
61. Nordlee J.A., Taylor S.L., Townsend J.A., Thomas L.A., Bush R.K. 1996 Identification of Brazil nut allergen in transgenic soybeans. *N. Engl. J. Med.* vol.334, #11, pp. 666–692.
62. Hilder V.A., Boulter D. 1999 Genetic engineering of crop plants for insect resistance – a critical review, *Crop Prot.* vol.18, , pp.177–191.
63. Herrera-Estrella A, Chet I. 1999 Chitinases in biological control. *EXS.*; vol.87: pp.171–184.
64. Itoh Y, Takahashi K, Takizawa H, Nikaidou N, Tanaka H, Nishihashi H, Watanabe T, Nishizawa Y. 2003 Family 19 chitinase of *Streptomyces griseus* HUT6037 increases plant resistance to the fungal disease. *Biosci Biotechnol Biochem.* vol.67, #4: pp.847–855.

65. Datta K, Baisakh N, Thet KM, Tu J, Datta SK. 2002 Pyramiding transgenes for multiple resistance in rice against bacterial blight, yellow stem borer and sheath blight. *Theor Appl Genet.* vol.106, #1: pp.1–8..
66. Kim JK, Jang IC, Wu R, Zuo WN, Boston RS, Lee YH, Ahn IP, Nahm BH. 2003 Co-expression of a modified maize ribosome-inactivating protein and a rice basic chitinase gene in transgenic rice plants confers enhanced resistance to sheath blight. *Transgenic Res.* vol.12 #4: pp.475–484.
67. Esposito F, Fogliano V, Cardi T, Carputo D, Filippone E. 2002 Glycoalkaloid content and chemical composition of potatoes improved with nonconventional breeding approaches. *J Agric Food Chem.* ;vol.50 #6: pp.1553–1561.
68. Wu G, Shortt BJ, Lawrence EB, Leon J, Fitzsimmons KC, Levine EB, Raskin I, Shah DM. 1997 Activation of Host Defense Mechanisms by Elevated Production of H₂O₂ in Transgenic Plants. *Plant Physiol.* vol.115 #2: pp.427–435.
69. Anand A, Zhou T, Trick HN, Gill BS, Bockus WW, Muthukrishnan S. 2003 Greenhouse and field testing of transgenic wheat plants stably expressing genes for thaumatin-like protein, chitinase and glucanase against *Fusarium graminearum*. *J Exp Bot.* vol.54, #384: pp.1101–1111.
70. Palacios S. A. 2001 Latex allergy. Diagnosis and therapeutic aspects *Allergol Immunopathol (Madr).* vol.29, #5: pp.212–221.
71. Sussman GL, Beezhold DH, Kurup VP. 2002 Allergens and natural rubber proteins. *J Allergy Clin Immunol.* vol.110, #2 Suppl: pp.S33–S39.
72. Down P.F., Herms D.A., Berhof M.A., Lagrimini L.M. 2000 Mechanisms of insect resistance in transgenic plants (over)expressing a tobacco anionic peroxidase. *Plant Peroxidase newsletter*, is.14, pp. 93–101.
73. Hoffmann-Sommergruber K. 2002 Pathogenesis-related (PR)-proteins identified as allergens. *Biochem Soc Trans.* vol.30, Pt 6: pp.930–935.
74. Cantani A, Micera M. 2001 Genetically modified foods and children potential health risks. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* vol.5, #1: pp.25–29.
75. Wauchope RD, Estes TL, Allen R, Baker JL, Hornsby AG, Jones RL, Richards RP, Gustafson DI. 2002 Predicted impact of transgenic, herbicidetolerant corn on drinking water quality in vulnerable watersheds of the mid-western USA. *Pest Manag Sci.* vol.58, #2: pp.146–160.
76. Hardell L., Eriksson M. A 1999 Case-Control Study of Non-Hodgkin Lymphoma and Exposure to Pesticides, *CANCER*, vol.85, No.6, pp.1353–1360
77. Felsot A. 2000 Herbicide Tolerant Genes. Pt. 1: Squaring Up Roundup Ready Crops. *Agrichemical and Environmental News*, September, Is.173 (<http://www.aenews.wsu.edu/Sept00AENews/Sept00AENews.htm#anchor5301120>)
78. Padgett SR, Taylor NB, Nida DL, Bailey MR, MacDonald J, Holden LR, Fuchs RL. 1996 The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. *J Nutr.* vol.126, #3: pp.702–716.
79. Muller BP, Zumdick A, Schuphan I, Schmidt B. 2001 Metabolism of the herbicide glufosinate-ammonium in plant cell cultures of transgenic

- (rhizomania-resistant) and non-transgenic sugarbeet (*Beta vulgaris*), carrot (*Daucus carota*), purple foxglove (*Digitalis purpurea*) and thorn apple (*Datura stramonium*). *Pest Manag Sci.* vol.57, #1: pp.46–56.
80. Pline W.A., Price A.J., Wilcut J.W., Edmisten K.L., Wells R. 2001 Absorption and translocation of glyphosate in glyphosate-resistant cotton as influenced by application method and growth stage. *Weed Science*, vol.49: pp.460–467.
81. Yamada T, Ishige T, Shiota N, Inui H, Ohkawa H, Ohkawa Y. 2002 Enhancement of metabolizing herbicides in young tubers of transgenic potato plants with the rat CYP1A1 gene. *Theor Appl Genet.* vol.105, #4: pp.515–520.
82. Bode M, Stobe P, Thiede B, Schuphan I, Schmidt B. 2004 Biotransformation of atrazine in transgenic tobacco cell culture expressing human P450. *Pest Manag Sci.* vol.60, #1: pp.49–58.
83. Birnbaum LS, Fenton SE. 2003 Cancer and developmental exposure to endocrine disruptors. *Environ Health Perspect* vol.111, #4: pp.389–394.
84. Cooper RL, Goldman JM, Stoker TE. 1999 Neuroendocrine and reproductive effects of contemporary-use pesticides. *Toxicol Ind Health.* vol.15, #1–2: pp.26–36.
85. Bevan M, Shufflebottom D, Edwards K, Jefferson R, Schuch W. 1989 Tissue- and cell-specific activity of a phenylalanine ammonia-lyase promoter in transgenic plants. *EMBO J.* vol.8, #7: pp.1899–1906.
86. Sevenier R, van der Meer IM, Bino R, Koops AJ 2002. Increased production of nutriment by genetically engineered crops. *J Am Coll Nutr.* vol.21, #3 Suppl: pp.199S–204S.
87. Stobiecki M, Matysiak-Kata I, Franski R, Skala J, Szopa J. 2003 Monitoring changes in anthocyanin and steroid alkaloid glycoside content in lines of transgenic potato plants using liquid chromatography/mass spectrometry. *Phytochemistry.* Vol.62, #6: pp.959–969.
88. Burtin D, Michael AJ 1997. Overexpression of arginine decarboxylase in transgenic plants. *Biochem J.* vol.325, Pt 2: pp.331–337.
89. Bassie L, Noury M, Lepri O, Lahaye T, Christou P, Capell T. 2000 Promoter strength influences polyamine metabolism and morphogenic capacity in transgenic rice tissues expressing the oat *adc* cDNA constitutively. *Transgenic Res.* Feb;9(1):33–42.
90. Цырлин В.А., Кузьменко Н.В., Плисс М.Г 2001. Роль имидазолиновых рецепторов в центральной регуляции кровообращения (история и современное состояние вопроса) *Вестник Аритмологии*, № 21, , сс.92–97.
91. Nicoletti R, Venza I, Ceci G, Visalli M, Teti D, Reibaldi A. 2003 Vitreous polyamines spermidine, putrescine, and spermine in human proliferative disorders of the retina. *Br J Ophthalmol.* vol.87, #8: pp.1038–1042.
92. Fraser PD, Romer S, Shipton CA, Mills PB, Kiano JW, Misawa N, Drake RG, Schuch W, Bramley PM. 2002 Evaluation of transgenic tomato plants expressing an additional phytoene synthase in a fruit-specific manner. *Proc Natl Acad Sci U S A.* vol.99, #2: pp.1092–1097.

93. Bartoszewski G., Malepszy S., Smigocki A.C., Niemirowicz K. 1998 Preliminary characteristics of transgenic tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants with the isopentil transferase gene. TEKTRAN, Agricultural Research Service, <http://www.nal.usda.gov/ttic/tektran/data/000009/46/0000094647.html>
94. Haberer G., Kieber J.J. 2002 Cytokinins.. New Insights into a Classic Phytohormone. *Plant Physiol*, February, Vol. 128, #2, pp.354–362.
- 94a. Redig P, Schmulling T, Van Onckelen H. 1996 Analysis of Cytokinin Metabolism in *ipt* Transgenic Tobacco by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Plant Physiol*. vol.112, #1: pp.141–148.
95. Mookerjee BK, Ballard J, Bentzel CJ, Allen JC, Jung CY. 1979 Effects of plant cytokinins on human lymphocyte transformation. *J Reticuloendothel Soc*. vol.25, #3: pp.299–314.
96. Vermeulen K, Strnad M, Krystof V, Havlicek L, Van der Aa A, Lenjou M, Nijs G, Rodrigus I, Stockman B, van Onckelen H, Van Bockstaele DR, Berneman ZN. 2002 Antiproliferative effect of plant cytokinin analogues with an inhibitory activity on cyclin-dependent kinases. *Leukemia*. vol.16, #3: pp.299–305.
97. Vesely DL, Hudson JL, Pipkin JL Jr, Pack LD, Meiners SE. 1985 Plant growth-promoting hormones activate mammalian guanylate cyclase activity. *Endocrinology*. vol.116, #5: pp.1887–1892.
98. Heo HJ, Hong SC, Cho HY, Hong B, Kim HK, Kim EK, Shin DH. 2002 Inhibitory effect of zeatin, isolated from *Fiatoua villosa*, on acetylcholinesterase activity from PC12 cells. *Mol Cells*. vol.13, #1: #113–117.
99. Frolidi G, Gallo U, Ragazzi E, Caparrotta L. 1999 6-Benzylaminopurine: a plant derived cytokinin inducing positive inotropism by P2-purinoceptors. *Planta Med*. vol.65, #3: pp.245–249.
100. Anand A, Schmelz EA, Muthukrishnan S. 2003 Development of a lesion-mimic phenotype in a transgenic wheat line overexpressing genes for pathogenesis-related (PR) proteins is dependent on salicylic acid concentration. *Mol Plant Microbe Interact*. vol.16(10):916–25.
101. Ho MW. Pharmageddon. *Science in Society*, 2003, 17, 23–4.
102. McKie R., . GM corn set to stop man spreading his seed. *Guardian Anlimited*. September 9, 2001. (<http://www.guardian.co.uk/gmdebate/Story/0,2763,549002,00.html>)
103. Lin CT, Lin WH, Lyu YL, Whang-Peng J. 2001 Inverted repeats as genetic elements for promoting DNA inverted duplication: implications in gene amplification *Nucleic Acids Res*. vol.29, #17: pp.3529–3538
104. Phipps RH, Deaville ER, Maddison BC. 2003 Detection of transgenic and endogenous plant DNA in rumen fluid, duodenal digesta, milk, blood, and feces of lactating dairy cows. *J Dairy Sci*. vol.86, #12: pp.4070–4078.
105. Chowdhury EH, Mikami O, Nakajima Y, Hino A, Kuribara H, Suga K, Hanazumi M, Yomemochi C. 2003 Detection of genetically modified maize DNA fragments in the intestinal contents of pigs fed StarLink CBH351. *Vet Hum Toxicol*. vol.45, #2: pp.95–96.

106. Khan MS, Maliga P. 1999 Fluorescent antibiotic resistance marker for tracking plastid transformation in higher plants. *Nat Biotechnol.* vol.17, #9: #910–915.
107. Конов А.Л. 2002 Биотехнология и “горизонтальный” перенос генов: Можно ли съев ГМ-продукты, приобрести устойчивость к антибиотикам? *Экология и жизнь.* №2. сс.66–68.
108. Perna NT, Plunkett G 3rd, Burland V, Mau B, Glasner JD, Rose DJ, Mayhew GF, Evans PS, Gregor J, Kirkpatrick HA, Posfai G, Hackett J, Klink S, Boutin A, Shao Y, Miller L, Grotbeck EJ, Davis NW, Lim A, Dimalanta ET, Potamousis KD, Apodaca J, Anantharaman TS, Lin J, Yen G, Schwartz DC, Welch RA, Blattner FR 2001. Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Nature.* vol.409, #6819: pp.529–533.
109. Bekal S, Brousseau R, Masson L, Prefontaine G, Fairbrother J, Harel J 2003. Rapid identification of *Escherichia coli* pathotypes by virulence gene detection with DNA microarrays. *J Clin Microbiol.* vol.41, #5: pp.2113–2125.
110. Blahova J, Kralikova K, Krcmery V Sr, Kubonova K, Vaculikova A, Mikovicova A, Klokocnikova L, Hanzen J, Jezek P. 2001 Transferable antibiotic resistance in multiresistant nosocomial *Acinetobacter baumannii* strains from seven clinics in the Slovak and Czech Republics. *J Chemother.* vol.13, #2: pp.143–147.
111. Smalla K, Heuer H, Gotz A, Niemeyer D, Krogerrecklenfort E, Tietze E. 2000 Exogenous isolation of antibiotic resistance plasmids from piggery manure slurries reveals a high prevalence and diversity of IncQ-like plasmids. *Appl Environ Microbiol.* vol.66, #11: pp.4854–4862.
112. Jacob D, Lewin A, Meister B, Appel B. 2002 Plant-specific promoter sequences carry elements that are recognised by the eubacterial transcription machinery. *Transgenic Res.* vol.11, #3: pp.291–303.
113. Ho MW, Ryan A and Cummins J. 2000 Hazards of transgenic plants with the cauliflower mosaic viral promoter. *Microbial Ecology in Health and Disease:* vol.12: pp.6–11.
114. Ho MW, Cummins J. and Ryan A. Cauliflower Transgenic Instability. *ISIS Reprints, ISIS Publications 2002: www.i-sis.org.uk*
115. Jennings JC, Kolwyck DC, Kays SB, Whetsell AJ, Surber JB, Cromwell GL, Lirette RP, Glenn KC. 2003 Determining whether transgenic and endogenous plant DNA and transgenic protein are detectable in muscle from swine fed Roundup Ready soybean meal. *J Anim Sci.* vol.81#6: pp.1447–1455.
- 115a. The United Kingdom Parliament. 2003 The Commons Hansard Written Answers text for Wednesday 25 June 2003, Volume No.407, Part No.416, <http://www.parliament.the-stationery-office.co.uk/pa/cm200203/cmhansrd//vo030625/index/30625-x.htm>
116. Nap J.P., Metz P.L.J., Escaler M, Conner A.J. 2003 The release of genetically modified crops into the Environment. Part I. Overview of current status and regulations. *The Plant Journal* The release of genetically modified crops

into the Environment. Part II. Overview of ecological risk assessment. The Plant Journal vol.33, #1, pp.1–18.

117. Conner A.J., Glare T.R., Nap J.-P. 2003 The release of genetically modified crops into the Environment. Part II. Overview of ecological risk assessment. The Plant Journal vol.33, #1, pp.19–46.

Диагностика ГМО – проблемы и решения

М.С. Вонский, Е.В. Курчакова, С.Н. Борхсениус
Институт цитологии Российской академии наук, г. Санкт-Петербург

Агробиотехнология, основанная на генетической модификации важных сельскохозяйственных культур, открывает новые перспективы для производства продуктов питания, кормов, волокон, древесины и другого агропромышленного сырья. За 10 лет, прошедших после внедрения первого генетически модифицированного организма (ГМО), площади, занятые несколькими наиболее популярными сортами ГМО достигли более 60 млн. гектар, что составляет свыше 6% мировых сельхоз угодий.

ГМО определяют как организм, генетический материал (ДНК) которого модифицирован искусственным, в природе невозможным образом. Введение новых генов в растения позволяет обеспечить синтез новых белков, придающих устойчивость к вредителям (насекомым и вирусам), гербицидам или позволяющих улучшить качество продукта питания (содержание жирных кислот, витаминов).

В России, как и в странах Европейского Союза (ЕС) и во многих других странах применение ГМ технологии, последующий выпуск ГМО в окружающую среду, их применение в сельском хозяйстве, производстве и продаже продуктов питания строго регламентированы. Наиболее динамично соответствующее законодательство развивается в ЕС и пересматривается Европарламентом практически каждый год. В настоящий момент применение ГМО в ЕС в основном регламентировано директивой 65/2004/ЕС и постановлениями 1829/2003 и 1830/2003.

В законодательстве ЕС по-разному определены правила применения ГМО в сельском хозяйстве, и в производстве продуктов питания. Если для продуктов питания определена минимальная граница допустимого содержания в продуктах питания генетически модифицированных источников (ГМИ), то для семян/посевного материала она не предусмотрена. Этот норматив позволяет в случаях, когда содержание ГМИ в продукте не достигает порогового значения (относительная концентрация 0,9% для ЕС), не маркировать данный продукт как содержащий ГМИ. При этом норматив максимально допустимого содержания ГМИ действует на уровне ингредиента, и порог 0,9% установлен для каждого ингредиента, входящего в состав пищевого продукта. Таким образом, если в результате скрининговой качественной диагностики ГМИ были обнаружены в продукте питания, соответствующие ингредиенты должны быть исследованы и установлено содержание ГМИ в каждом из них.

В соответствии с санитарными нормами, действующими в России, пороговое значение вначале было установлено в 5%, причем в данном случае подразумевается абсолютная концентрация ГМИ в продукте питания. В настоящий момент этот уровень в Российской Федерации установлен в 0,9%. Как показывает опыт, большинство диагностических методов позволяют достоверно оценить относительную концентрацию ГМИ, в то время как определить абсолютное содержание растительного ингредиента в сложном продукте питания, прошедшем переработку, в высшей степени затруднительно. Таким образом, несовершенство нормативной базы в России до настоящего времени в значительной степени ограничивает область применения количественной диагностики ГМИ сырьевыми материалами и лишает смысла измерение количественного содержания ГМИ в продуктах питания.

Обнаружение и идентификация ДНК и/или белков может быть значительно затруднена при исследовании прошедших глубокую переработку или очистку ингредиентов, таких как крахмал, сахар или растительные масла. Более того, ряд обработок может приводить к невозможности выявления или идентификации ГМИ в продукте. Предыдущей директивой ЕС был утвержден специальный список продуктов (в т.ч. сахар и растительные масла), которые могли быть не маркированы даже в случае, если они были изготовлены из ГМ-сырья. Настоящее законодательство ЕС обязывает производителя проводить маркировку даже в тех случаях, когда современные методы диагностики не позволяют определить происхождение продукта питания. Для этого введена специальная процедура учета применения ГМО на каждом из этапов – выращивания, сбора урожая, хранения, перевозки, переработки и т.д. Требования ЕС обязывают организации, имевшие отношение к производству или применению ГМО, хранить соответствующую документацию 5 лет, что позволит при необходимости проследить пути распространения ГМО и выявить потенциальные источники контаминации.

Необходимость мониторинга, качественного и количественного исследования присутствия ГМО в сельскохозяйственных культурах и произведенных из них продуктах питания обусловила потребность в аналитических методах, способных обнаруживать, идентифицировать ГМО и определять их количественное содержание в исследуемом образце. Как правило, эти методы основаны на анализе ДНК или белка, как базовых составляющих ГМО. В некоторых случаях, для определенных типов пищевых продуктов, произведенных из ГМИ, таких, как растительные масла, отличающиеся измененным профилем содержания жирных кислот и низким содержанием ДНК и белков, в качестве дополнительных или альтернативных методов могут быть применены хроматография или спектроскопия в ближней инфракрасной области.

Диагностика ГМИ должна также учитывать особенности конструирования конкретных ГМО и биологическую вариабельность. Необходимы методы, позволяющие различить ГМО, при создании которых были использованы одни и те же генно-инженерные конструкции, а также ГМО, несущие одну, две или более конструкций или их копий.

Сертифицированные методы, с помощью которых проводят маркировку ГМО-содержащих продуктов, как правило основаны на детекции специфичных фрагментов ДНК при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) и/или детекции белка энзим-связанным иммуносорбентным методом (ELISA).

Процесс диагностики ГМИ в продуктах питания в общих чертах укладывается в следующую схему:

1. Скрининговая качественная диагностика. На этом этапе исследуют присутствие ГМИ в составе продукта питания или сельскохозяйственного сырья. Необходимо применение высокочувствительных и надежных аналитических методов, обеспечивающих точную и надежную диагностику во всех контролирующих лабораториях, что может быть обеспечено только путем проведения межлабораторных поверок и интеркалибраций.
2. Идентификация. На этом этапе идентифицируют, какие именно ГМИ представлены в тестируемом продукте, а также разрешены ли они к применению.
3. Количественная диагностика. Результаты количественных измерений, проведенные при помощи ПЦР или ELISA, позволяют определить содержание ГМИ и установить, подлежит ли данный продукт обязательной маркировке, уведомляющей о присутствии ГМИ. Для четкого проведения количественных исследований желательнее располагать информацией о видах обработок, которым подвергался тестируемый материал, чтобы учесть прошедшую деградацию ДНК/белка и оценить точность измерений.

В настоящее время наиболее развиты и наиболее широко применяются на всех этапах диагностики методы, основанные на использовании разных видов ПЦР. Однако и другие аналитические технологии – в частности, ДНК-чипы и масс-спектрометрия, могут быть с успехом использованы для целей диагностики ГМИ.

Далее мы остановимся на наиболее важных этапах диагностики.

Отбор образцов

Этот этап во многом определяет достоверность диагностики ГМИ, особенно при исследовании сложных, негомогенных продуктов. Исследуемый образец должен быть репрезентативным, т.е. в нем должны быть статистически достоверно представлены все компоненты, являющиеся потенциальными источниками ГМИ. Таким образом, формирование выборки должно обеспечить репрезентативность, с учетом общего объема обследуемой партии и гомогенности исследуемого материала. Масса проб должна быть достаточно большой, что позволит обеспечить надежную детекцию ГМИ на требуемом уровне чувствительности. Ожидаемые различия между образцами и их однородность, должна зависеть от особенностей анализируемого материала:

1. Сырьевые материалы часто недостаточно хорошо перемешаны при сборе урожая, хранении и т.д., поэтому могут содержать разнородные слои, что

приводит к недостаточной достоверности исследований, проведенных на основании точечной случайно взятой пробы.

2. Ингредиенты, прошедшие переработку, имеют меньшую степень гетерогенности, хотя разные партии одного и того же ингредиента также могут иметь различные характеристики за счет различий в используемом сырье.
3. Готовые продукты питания могут содержать ГМ-компоненты в составе одного или нескольких различных ингредиентов, так что во многих случаях можно ожидать сильной неоднородности материала.

Степень гетерогенности данного образца и фактическое пороговое значение, которое устанавливается для признания присутствия ГМ – материала определяет и число отбираемых образцов, и их массу. Чем больше степень гетерогенности исследуемого материала, тем большее значение приобретает план отбора образцов. Более того, когда допустим только низкий уровень содержания ГМ-компонентов, для обеспечения репрезентативности масса образцов должна быть значительно увеличена. В случае пищевых продуктов уже существует значительный опыт работы и проверенные планы отбора образцов для решения аналогичных проблем детекции.

В Европе, также как и в США, сформулированы и утверждены требования к отбору образцов для проверки на содержание ГМИ. В принятом в Швейцарии руководстве размер образца для диагностики ГМИ составляет 50 г. при тестировании соевых бобов (200 бобов), 30 г при тестировании гомогенных однородных смесей с размерами частиц не более 100 мг (мука и др.), 60 г при тестировании вязких растворов (соевый лецитин и др.).

Руководство по отбору образцов для диагностики ГМ зерна недавно опубликовано в США. Для расчета размера исследуемого образца при однократном отборе и качественном аналитическом тестировании использована формула:

$$N = \frac{\log(1-(G/100))}{\log(1-(P/100))}$$

где **N** – это размер образца (число зерен), **G** – вероятность выявления партии с определенным содержанием ГМО, **P** – процент содержания ГМО в партии, при котором она должна быть отбракована. Для достижения 95% вероятности выявления партии с содержанием ГМО 1%, размер образца должен составлять 299 зерен или бобов. В этом случае «покупательский риск» получения партии с содержанием ГМО более 1% составляет 5%. Если порог определения для ГМО был установлен 0,5% с 95% вероятностью обнаружения, то размер образца должен будет составить 598 зерен. Однако, при размере образца в 299 зерен вероятность отбраковки материала, содержащего более 0,5% ГМО, составит около 78%. Поэтому, для того чтобы обеспечить контроль рисков и для покупателя и для продавца, были разработаны планы отбора множественных проб для качественного аналитического тестирования. План отбора множественных образцов определяется

(1) количеством отобранных и проверенных образцов, (2) максимальным числом положительных результатов, допустимых для данной партии зерна, и (3) количеством зерен в каждом образце. Покупатель и продавец должны согласовать три этих значения, и, таким образом, определить тот маркетинговый риск, который они готовы принять.

Две другие опубликованные методики, относящиеся к количественному аналитическому определению доли ГМО в партии зерна, по-разному определяют размер образца:

1. Рабочая группа «Генетически Модифицированные Пищевые Материалы» Технического Комитета CEN/TC 275 Европейского Комитета по стандартизации (CEN, Брюссель, Бельгия) предполагает, что взятие образца, состоящего из 10 000 зерен приведет к относительной ошибке вследствие забора пробы менее, чем 20%, в случае, если проверяемая партия содержит 1% ГМО.
2. В работе немецких авторов (Hubner et al., 2001) показано, что в случае гомогенного материала минимум 3500 зерен должно быть проанализировано при расчетном содержании 1% ГМО для достижения 95% достоверности и относительной ошибке менее 20%. В случае гетерогенного распределения частиц ГМО размер образца увеличивается до 10 000 частиц.

Такие различия в размере образцов отражают различные требования для качественного и количественного анализа ГМО.

Пробоподготовка – экстракция и очистка препарата

Так как ДНК является относительно стабильной молекулой, а методы детекции ДНК, основанные на ПЦР, очень чувствительны, именно ДНК чаще всего используют в качестве аналита при исследовании всех типов образцов (сырье, ингредиенты, готовая пищевая продукция). В том случае, если исследуемый в лаборатории образец является репрезентативной аликвотой гомогенизированного первичного образца, даже небольшого количества растительного материала (100–350 мг) достаточно для успешной экстракции ДНК. Даже в относительно чистых препаратах растительного масла, крахмала или спирта, в принципе нельзя исключить присутствие примесей исходного сырья в виде клеток или их фрагментов. Тем не менее, до сих пор не было сообщений о выделении ДНК в детектируемых количествах из соевого соуса и рафинированного растительного масла, также как и из рафинированного сахара и очищенного этанола, произведенного из картофеля. Оптимизация методов и использование большего количества исходного материала позволили выделить ДНК из образцов нерафинированного соевого, а также рапсового масла.

Методы детекции, основанные на исследовании белков, требуют сохранения неповрежденной третичной или четвертичной структуры, так как они основаны на иммунологических методах или на сравнении белковых паттернов при 1- или 2-мерном электрофорезе. Применение этих методов, таким образом, возможно главным образом для сырья.

Методы выделения ДНК

Эффективность метода ПЦР, как и остальных методов анализа ДНК, зависит от качества и чистоты выделенной ДНК. Качество ДНК определяется длиной фрагментов и степенью их повреждения под действием тепла, кислот и/или нуклеаз, вызывающих гидролиз, депуринизацию и/или ферментативную деградацию. Таким образом, качество препарата ДНК будет варьировать, в зависимости от исходного материала, степени его нативности и от применяемых методов экстракции. Необходимо иметь в виду, что ДНК, выделенная из прошедших переработку продуктов питания и агротехнических материалов, таких как высушенные листья табака, имеет низкое качество, так как сохранившиеся фрагменты ДНК имеют небольшой размер. Так, экстрагируемые из соепродуктов и переработанных томатов фрагменты ДНК имеют размер всего 100–400 п.о., что необходимо учитывать при выборе праймеров для ПЦР-диагностики.

Чистота ДНК сильно зависит от присутствия различных примесей в составе пищевых продуктов. В качестве примесей могут выступать вещества, входящие в состав исходного образца (полисахариды, липиды и полифенолы), или химические вещества, используемые для выделения ДНК (цетилтриметил аммония бромид (ЦТАБ), гексадецилтриметил аммония бромид, щелочь и т.д.). Например, Таq-полимераза, ключевой фермент ПЦР, ингибируется полисахаридами, этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА), фенолом, додецилсульфатом натрия (ДДС) и рядом других веществ.

К настоящему моменту разработано большое количество методов выделения ДНК, некоторые из которых могут с успехом применяться в диагностике ГМО. В общем, процесс экстракции ДНК должен включать следующие стадии:

1. Разрушение клеточной стенки путем измельчения замороженных в сухом льду или жидком азоте растительных тканей.
2. Разрушение клеточной мембраны при помощи детергента.
3. Инактивация эндогенных нуклеаз при помощи детергента и ЭДТА. При этом связываются ионы Mg^{2+} , являющиеся кофакторами многих нуклеаз. В ряде случаев, особенно при использовании колонок с сорбентом, для расщепления белков добавляют протеиназу К.
4. Отделение ингибирующих полисахаридов.
5. Удаление гидрофобных компонентов, липидов и полифенолов.
6. Окончательное удаление детергента и концентрирование ДНК.
(Стадии 4–6 могут быть заменены очисткой ДНК на колонке.)

Можно выделить три основных подхода к экстракции ДНК из растительных тканей и продуктов питания: ЦТАБ-метод, сорбентный метод (с применением различных коммерческих наборов) и их комбинация. Хотя использование этих методов часто дает достаточно низкий выход ДНК, качество и чистота получаемой ДНК выше по сравнению с другими методами, такими как щелочной метод, Chelex 100 или ROSE.

ЦТАБ-метод был первоначально предложен для выделения и очистки высокомолекулярной ДНК из растительных тканей. Метод является достаточно эффективным для широкого спектра растительных материалов и продуктов питания из них, особенно вследствие хорошего отделения полисахаридов от ДНК, и используется в протоколе детекции ГМО в соевой муке, принятом в Германии (Jankiewicz et al., 1999).

Колонки с сорбентами, связывающими ДНК, позволяют удобно выделять препараты ДНК хорошего качества. Один из коммерческих наборов используется в официальном швейцарском методе детекции ГМО (Swiss Food Manual, 1998). Однако в некоторых случаях полисахариды также связываются с сорбентом колонок, что ухудшает эффективность их отделения от ДНК.

Методы анализа ДНК

Хотя в настоящее время существует значительное количество различных методов анализа ДНК, все официальные, прошедшие валидацию методы этой группы основаны именно на методе ПЦР в различных модификациях.

Метод ПЦР позволяет в миллионы раз увеличивать количество копий последовательности-мишени с высокой чувствительностью и специфичностью, нарабатывая ее до легко выявляемых количеств. При этом два праймера (синтетических олигонуклеотида) ограничивают последовательность-мишень. Каждый праймер комплементарен либо одной, либо другой цепи в двуцепочечной ДНК. Начиная от места посадки праймера на ДНК, термостабильная Taq-полимераза может синтезировать комплементарную копию последовательности-мишени. Благодаря этому в каждом цикле происходит удвоение ДНК-мишени. Таким образом, в последующих циклах количество последовательности-мишени должно увеличиваться в экспоненциальной пропорции, в соответствии с числом циклов.

Подтверждение идентичности конкретного ампликона является необходимым шагом в процессе ПЦР-анализа, для того, чтобы быть уверенным, что ПЦР-продукт точно соответствует мишени и не является результатом неспецифического связывания праймеров. Для этой цели используется несколько методов:

1. Электрофорез в геле является самым простым методом контроля размера ампликонов. Однако, существует опасность того, что может быть амплифицирован неспецифический фрагмент того же размера. Таким образом, ПЦР-продукты необходимо дополнительно проверять, например, рестрикционным анализом.
2. Другим надежным, но занимающим много времени является метод Саузерн-блот, заключающийся в том, что ампликоны разделяются электрофорезом в геле, переносятся на мембрану и гибридизуются со специфической ДНК-пробой (зондом). Этот метод может быть значительно упрощен и ускорен в случае применения ДНК-чипов.
3. Гнездовая ПЦР позволяет разделить специфичные и неспецифичные продукты амплификации. При этом первичный ПЦР-продукт выступает

как матрица для амплификации с использованием другой пары праймеров, комплементарных внутреннему участку исходной последовательности-мишени.

4. Наиболее достоверным способом подтверждения подлинности ПЦР-продукта является определение нуклеотидной последовательности (секвенирование). Единственным недостатком этого метода является то, что немногие лаборатории имеют соответствующее оборудование. Как следует из литературных данных, лишь некоторые авторы сообщают об использовании этого метода.

Скрининг и идентификация ГМО при помощи ПЦР

Любая стратегия детекции, основанная на методе ПЦР, требует детального знания нуклеотидной последовательности не только трансгенной ДНК, но и фланкирующих ее областей в геноме растения, так как от этого зависит подбор подходящих олигонуклеотидных праймеров.

В зависимости от выбранной мишени, ПЦР-диагностика может иметь разную специфичность. Так, если выбранные праймеры соответствуют последовательностям регуляторных промоторных или терминаторных элементов, наиболее часто используемых при конструировании ГМО, проводимая ПЦР будет поисковой, скрининговой. В случае, если мишенью выбран структурный ген, определяющий вводимый в ГМО признак, ПЦР-диагностика позволит выявлять группу ГМО, объединенную этим признаком (т.н. устойчивостью к определенному гербициду). Если сайты узнавания праймеров локализованы в разных элементах трансгенной ДНК, например, в промоторном элементе и в структурном гене, данная диагностика будет специфически выявлять определенную генноинженерную конструкцию, которая может быть использована для создания целого ряда линий ГМО (т.н. кукурузы линий Mon809 и Mon810). И, наконец, использование праймеров, один из которых соответствует последовательности трансгенной ДНК, а другой – последовательности геномной ДНК растения, фланкирующей вставку, позволяет проводить специфическую диагностику ГМО определенной линии.

К сожалению, фирмы-разработчики ГМО как правило предоставляют только общие сведения о структуре вводимой в геном растения генноинженерной конструкции, относя информацию о точной нуклеотидной последовательности к области коммерческой тайны. В связи с отсутствием официальной достоверной информации Институтом Контрольных Материалов и Методов (IRMM, Бельгия) разработано только 4 сертифицированных контрольных материала, применение которых необходимо для обеспечения достоверности проводимой диагностики ГМО.

Для целей скрининга в качестве мишеней обычно выбирают последовательности, характерные для как можно большей группы ГМО. Регуляторные элементы, такие как 35S промотор вируса мозаики цветной капусты (*P-35S CaMV*) и NOS-терминатор из *Agrobacterium tumefaciens* (*T-nos3'*) а также гены резистентности к антибиотикам (т.н. ген *nptII*) присутствуют во

многих ГМО, используемых сейчас в сельском хозяйстве. Первые методы для скрининга ГМО, разработанные в Швейцарии и Германии, основаны именно на детекции *P-35S* и *T-nos3'*. Однако к настоящему времени создано и сертифицировано к применению уже свыше 120 ГМО, в большинстве которых используются другие регуляторные элементы. *P-35S* присутствует только в 39% ГМО, *T-nos3'* – в 33%. Нельзя также забывать, что существует не менее 8 различающихся вариантов промотора *P-35S*, используемых при создании ГМО. Вероятно, в дальнейшем, при создании ГМО будут избегать не только использования селективных маркеров антибиотикоустойчивости, как того требует Директива 2001/18/ЕЕС, но и последовательностей вируса мозаики цветной капусты, в том числе промотора *P-35S*, так как показано, что в его состав входит последовательность, играющая в геноме роль «горячей точки» рекомбинации, т.е. дестабилизирующая геном. Таким образом, кроме *P-35S* и *T-nos3'* для гарантии полноценного скрининга необходимо использовать дополнительные последовательности-мишени. Важнейшим аспектом проблемы является выбор праймеров, позволяющих выявлять как можно большее число вариантов маркерных последовательностей ГМО. Однако надо подчеркнуть, что выявление этих маркеров позволяет только предположить присутствие в анализируемом образце ДНК ГМО, но не позволяет идентифицировать это ГМО.

Для четкой идентификации ГМО в качестве праймеров должны быть выбраны последовательности, характерные для индивидуального трансгенного организма, то есть на основе пограничного участка между сайтом интеграции и трансформируемым генетическим элементом (так называемые «краевые фрагменты») конкретной линии ГМО.

В общем случае, в качестве мишеней для диагностики ГМО не рекомендуется использовать последовательности, которые могут появляться в образце благодаря естественной контаминации – т.н. последовательности вирусов и бактерий растений, вследствие риска получения ложноположительных результатов. Образец, дающий положительный сигнал в скрининговой ПЦР на *P-35S/T-nos3'* должен быть проанализирован на присутствие собственно *CaMV* и *A. tumefaciens*, соответственно. Однако при этом следует учитывать, что круг хозяев, инфицируемых *CaMV*, ограничен крестоцветными, такими как масляничный рапс, а последовательности терминатора *T-nos3'* обнаружены только в нескольких штаммах *A. tumefaciens*, патогенных для определенных видов растений. В то же время, часто обнаруживаемые в почве *A. tumefaciens*, не вирулентны, т.е. не несут *Ti*-плазмиду с *T*-ДНК и онкогенами. Таким образом, ген *nos3'* вместе с регуляторными элементами не присутствуют в этих распространенных в природе штаммах.

Еще одной стратегией идентификации ГМО является метод анализа полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (AFLP). Этот метод применяют для установления межвидовых различий и идентификации не только растений, но и полученной из них продукции. AFLP позволяет одновременно проводить мониторинг присутствия ГМО и их идентификацию.

Один из вариантов AFLP, так называемый «заякоренный» (anchored)

ПЦР, может быть использован для разработки метода диагностики ГМО, специфичного для определенной линии. После рестрикционного гидролиза ДНК ГМО и последующего лигирования адаптерного олигонуклеотида к концу рестрикционного фрагмента, синтезируют адаптер-специфический праймер. ГМО-специфичные «якорные» праймеры конструируют в соответствии с маркерными последовательностями использованных при создании ГМО промоторов и терминаторов. В результате ПЦР с такой комбинацией праймеров возможна амплификация пограничных областей, фланкирующих трансгенную вставку. Последующее секвенирование ампликонов позволяет выявить специфичные для данной линии ГМО последовательности в области интеграции и создать праймерную систему, обеспечивающую селективную детекцию данной линии ГМО.

В целом, хотя AFLP-анализ и высокоинформативен, он обладает целым рядом недостатков, к которым можно отнести высокую сложность методики, длительность выполнения, и необходимость применения радиоактивных материалов.

Только проведением постоянного анализа всей доступной информации, относящейся к ГМО, особенно – к вводимым генетическим конструкциям и сайтам их интеграции, причем касающейся не только к ГМ растений, разрешенных к применению, но и проходящих полевые испытания, может быть гарантирован полный и достоверный мониторинг ГМО. В странах ЕС создан и развивается регистр ГМО – база данных, содержащая значительный объем информации, необходимой для мониторинга. В то же время, результаты исследований полевых образцов генетически модифицированных растений, проведенные во Франции и Бельгии в 2003 г. показали, что в ряде случаев структура и копияность трансгенных конструкций в составе растительного генома отличается от заявленной организацией-разработчиком (Collonier et al., 2003). Причиной найденных расхождений может служить как нестабильность геномов ГМО, так и недостаточность исследований или недостоверность информации, предоставленной разработчиком. Таким образом, создание достоверных диагностикумов может потребовать не только изучения данных, представленных разработчиком, но и проведения независимых исследований структуры ДНК ГМО.

Применение ПЦР для количественного исследования

Главным недостатком традиционной ПЦР является невозможность получения точной количественной информации вследствие изменения в процессе реакции эффективности амплификации. Если бы эффективность реакции для каждого цикла амплификации оставалась постоянной, концентрация ДНК после ПЦР была бы прямо пропорциональна начальному числу ДНК-мишеней. К сожалению, этот параметр не является постоянным, особенно на поздних циклах ПЦР, когда накопление продукта идет с неизвестной скоростью, неэкспоненциально. Регистрация результатов традиционной ПЦР основана на измерениях, проведенных в конце реакции, в условиях, когда реакция вышла из экспоненциальной фазы вследствие истощения какого-либо из компонен-

тов. В последнее время развиваются другие методы на основе ПЦР (количественная конкурентная ПЦР (КК-ПЦР), ПЦР в реальном времени (РВ-ПЦР)), которые основаны на установлении связи между количеством ДНК-мишени и количеством ПЦР-продукта, образующегося в процессе амплификации.

Для определения относительного содержания ГМО в сложных пищевых смесях и продуктах оценка количества ГМ-маркера должна быть нормализована относительно референсного гена, специфичного для растений данного вида. На практике точное определение относительного количества может достигаться комбинацией двух абсолютных количественных реакций: одной для ГМО-специфичного гена и другой – для референсного гена. Предполагая, что ГМ материал прошел ту же обработку что и «не-ГМ материал», измерения могут быть выражены в процентном соотношении как геном/геном (Г/Г) или вес/вес (В/В).

В настоящее время продолжается обсуждение вопроса, как выражать концентрацию ГМО, полученную в результате количественных исследований. Хотя этот вопрос несет несколько академический характер, он имеет и практическую значимость. В лабораториях сперва измеряют концентрацию ДНК в образце, и затем эквивалентные количества ДНК используют для определения числа копий ГМО-специфичных и растение-специфичных последовательностей. Соотношение этих значений, с учетом числа копий маркерных последовательностей, определяет процентное содержание ГМО в препарате. Однако необходимо учитывать, во-первых, известные трудности с точным определением концентрации ДНК. Во-вторых, соотношение Г/Г не может быть прямо пересчитано в весовые эквиваленты, поскольку различия в размере генома у разных групп растений внутри одного и того же вида может достигать 25%. Вследствие этого для количественных исследований была разработана новая группа методов, в которых количественное определение референсного гена и маркерной последовательности ГМО выполняется в одной реакционной смеси – метод мультиплексной ПЦР. В рамках этого метода соотношение копиинности маркеров ГМО к числу геномов определяют без учета размера геномов и определения количества ДНК, взятого на исследование. Получаемый результат интерпретируют как отношение ГМ клеток к нативным клеткам, что в общем должно совпадать с соотношением В/В. Однако пока что признано, что наиболее корректно использование соотношения Г/Г.

Применяемые для количественных измерений аналитические стратегии могут быть разделены по двум основным используемым подходам:

1. Ко-амплификация целевого анализатора и внутреннего стандарта позволяет корректировать снижение эффективности амплификации (КК-ПЦР, мультиплексная КК-ПЦР).
2. Проведение регистрации ампликонов на ранней стадии реакции, когда эффективность еще постоянна и концентрация продукта хорошо соответствует начальной концентрации исследуемых молекул (ПЦР-ELISA, РВ-ПЦР),

КК-ПЦР заключается в ко-амплификации неизвестного количества специфического гена-мишени и известного числа копий конкурентной

контрольной матрицы в одной и той же реакционной смеси с одной и той же парой праймеров. Небольшое различие в размере мишени и контроля (до 40 п.о.) позволяет различить продукты амплификации. Каждый образец амплифицируют в серии реакций с увеличением количества конкурентной матрицы, выдерживая постоянную концентрацию исследуемого образца. Количественная оценка достигается установлением точки эквивалентности, в которой продукты обеих реакций амплифицированы с одинаковой эффективностью, что может быть установлено при анализе окрашенного геля после электрофореза. Эта реакция основана на предположении, что амплификация обеих мишеней, исследуемой последовательности и внутреннего стандарта происходит с одинаковой эффективностью в течение всей реакции, в том числе и в фазе «плато».

Метод КК-ПЦР был с успехом применен для количественного исследования ГМ сои линии 40-3-2 (Roundup Ready) и кукурузы Maximizer, и апробирован в межлабораторном испытании, в котором приняли участие 12 лабораторий ЕС (Studer et al., 1998). Кроме того, на основе КК-ПЦР разработан метод скрининга, используемый для количественного исследования маркерных последовательностей - промотора *P-35S* и терминатора *T-nos3'*. Однако при использовании этого метода необходимо учитывать, что разные ГМО, и даже разные линии ГМО несут различное число копий маркерных последовательностей.

Разработан также метод двойной КК-ПЦР, позволяющий учесть ошибки, связанные с выделением ДНК из исследуемого материала. Однако вследствие сложности построения калибрационных кривых и зависимости точности анализа от большого количества плохо контролируемых параметров, обычно используют одну конкурентную реакцию (т.н. 1% или 5%), относительно которой можно измерить концентрацию ГМ ДНК в тестируемом образце. Таким образом, этот метод может быть использован в случаях, когда необходимо установить, содержится ли ГМ-материал в образце в большем или меньшем количестве, чем в калибровочном стандарте. При этом все же нельзя избежать некоторой степени неточности.

Метод ПЦР-ELISA относится по стратегии ко второй группе и может быть использован как количественный, если ПЦР остановлена до достижения значительного снижения эффективности амплификации. Сам по себе метод ELISA используют для определения относительно небольших количеств ПЦР-продуктов. Несмотря на то, что относительная количественная детекция с использованием ПЦР-ELISA применяется в различных областях, и что существует коммерческий набор для ПЦР-ELISA (G-Genos, Angers, France), этот метод не получил широкого признания и редко применяется для точного количественного определения ГМО.

Метод ПЦР в реальном времени (РВ-ПЦР), также относящейся по стратегии ко второй группе, значительно повышает точность, специфичность и производительность ПЦР-диагностики. Этот метод был разработан в 1992г. и быстро приобрел популярность благодаря введению полностью автоматизированного приборного комплекса. Уникальной особенностью этого метода

является возможность прямого наблюдения за амплификацией ДНК-мишени путем мониторинга образующегося продукта. Классическая реакция ПЦР адаптирована так, что амплификация диагностического фрагмента приводит к генерации сигнала, интенсивность которого соответствует количеству образующегося продукта. Детекция в РВ-ПЦР основана на постоянном измерении флуоресценции. Количество циклов ПЦР, необходимых для генерации сигнала, статистически достоверно превышающего «шум», считается мерой количества и называется «пороговым циклом» (Ct). Значение Ct логарифмически обратно пропорционально исходному количеству молекул ДНК-мишени до тех пор, пока эффективность реакции еще постоянна.

На сегодняшний день доступны различные методики для проведения мониторинга в РВ-ПЦР. При использовании ПЦР в реальном времени для детекции ГМО важно учитывать различия между специфическим и неспецифическим мониторингом ПЦР. Специфичность ПЦР в реальном времени зависит как от реагентов, используемых для мониторинга реакции амплификации, так и от прибора, который используют для детекции сигнала. Специфический мониторинг уменьшает или совсем исключает необходимость подтверждающего тестирования, так как неспецифическая амплификация в этом случае не регистрируется. Более того, этот метод может позволить проводить одновременный мониторинг нескольких специфических ПЦР (мультиплексная РВ-ПЦР, например, трансгенной ДНК и эндогенного референсного гена) в одной реакционной смеси. При неспецифичном мониторинге, например, с использованием красителя SYBR Green I, необходимо дополнительное подтверждающее тестирование, чтобы подтвердить, что наблюдаемый сигнал генерирует амплификация именно нужной последовательности-мишени. Очевидно, что в случае неспецифичного метода одновременный мониторинг нескольких различных реакций невозможен.

Благодаря выше упомянутым преимуществам, РВ-ПЦР широко применяется для детекции ГМО. Описано применение РВ-ПЦР для относительного количественного определения ГМ сои сорта Roundup Ready и кукурузы сорта Maximizer в различных пищевых продуктах (Vaitilingom et al., 1999). Мультиплексная РВ-ПЦР в обоих случаях позволила совместить определение количества ГМ маркера и эндогенного референсного гена в одной реакции. При таком подходе количественный анализ каждого образца не зависит от случайных изменений экспериментальных факторов (таких, как недостаточный уровень очистки ДНК или погрешность пипетирования), так как внутренний стандарт является лучшей гарантией от ложно-негативных результатов. Применение мультиплексной РВ-ПЦР для количественного определения обеспечивается применением различных флуоресцентных красителей, которые могут раздельно детектироваться в одной пробирке. Мультиплексные реакции не только экономичнее обычной ПЦР, они также позволяют точно определить относительное количество без предварительной оценки количества ДНК или числа копий. Применение мультиплексной ПЦР позволяет установить прямую зависимость между процентным содержанием ГМО и результатом РВ-ПЦР. Это уменьшает вариабельность и позволяет точно интерпретировать данные, используя простую статистическую

оценку полученных количественных результатов.

На основе РВ-ПЦР уже разработан целый ряд методов не только для количественной детекции индивидуальных ГМО, но и скрининговой детекции промотора *P-35S* и терминатора *T-nos3'*. Показано, что порог чувствительности РВ-ПЦР в диагностике ГМО составляет 0,01% на фоне немодифицированной растительной ДНК.

Кроме возможности точного количественного анализа, к преимуществам ПЦР в реальном времени относится повышение производительности, так как пост-ПЦР анализ сводится к обработке данных. Более того, поскольку и амплификация и детекция в РВ-ПЦР проводятся на одном этапе без открывания пробирки, минимизируется риск контаминации продуктами ПЦР и получения ложноположительных результатов.

Таким образом, в настоящее время РВ-ПЦР является наиболее мощным инструментом для выявления и количественного анализа ГМО в широком спектре сельскохозяйственных и пищевых продуктов. Мультиплексная ПЦР в реальном времени с использованием внутреннего референсного гена способна увеличить точность, достоверность и производительность диагностики ГМО. Однако для обеспечения стабильности метода и достоверности получаемых результатов должна быть разработана панель сертифицированных контрольных материалов с определенным содержанием ГМО. Существующие в настоящий момент стандартные препараты к 4-м ГМО производства IRMM – Fluka (Бельгия) ограничены областью содержания ГМО 0.0 – 5.0%, что затрудняет проведение количественных исследований в широком диапазоне. Необходима также организация межлабораторного контроля качества, что позволит лучше оценить протоколы исследований, используемые в разных лабораториях, их точность и воспроизводимость. Кроме того, необходимо учитывать, что копияность трансгенных конструкций или их фрагментов в ряде ГМО отличается от заявленной фирмой-разработчиком, что может существенно исказить результаты количественных измерений.

Стандартизация и валидация методов ПЦР для диагностики ГМО

Все большее число лабораторий, контролирующих пищевую продукцию, останавливается метод ПЦР для детекции ГМО. Первые официальные методы, прошедшие валидацию в ходе межлабораторных испытаний, были разработаны в Швейцарии и Германии. Однако, международная стандартизация и валидация методов анализа ГМО, согласование и стандартизация протоколов все еще находится в начальной стадии. Организации, отвечающие за стандартизацию, такие как CEN и French Standardisation Association (AFNOR, Paris, France) активно работают в этой области и подготавливают предварительные руководства по стратегиям и планам отбора проб, методам пробоподготовки, выделения ДНК и детекции ГМО.

Цель валидации метода аналитического ПЦР состоит в подтверждении того, что правильно проведенные процедуры отбора пробы, экстракции ДНК и анализа дают результат с удовлетворительной точностью, достоверностью

и воспроизводимостью для данного анализа в указанном матриксе. Процесс валидации позволяет сопоставлять результаты, полученные независимыми методами.

При валидации метода различные параметры могут приниматься во внимание в зависимости от характера поставленной задачи, проведения качественного (скрининг/идентификация) или количественного исследования. Для валидации аналитической качественной тест-системы должны быть оценены специфичность/селективность, чувствительность (с учетом влияния матрикса на ингибирование реакции, порога определения (LOD)), точность/достоверность (повторяемость, средняя точность, воспроизводимость) и надежность. Для количественной тест-системы, кроме этих параметров, также важен порог количественного измерения (LOQ), точность/достоверность и линейность/рабочий диапазон.

Специфичность определяют как вероятность получения отрицательного результата при условии, что в данном образце не содержится детектируемое вещество (аналит). Она может быть установлена определением процента правильно классифицированных не содержащих анализ образцов, как ГМО-негативных (т.е. 100% за вычетом ложноположительных результатов). Так, недавно было показано, что при использовании специфичной для кукурузы системы для РВ-ПЦР (аналит – ген инвертазы кукурузы) сигнал может быть получен не только при тестировании специфичных образцов, но и при тестировании риса и просо, хотя его интенсивность и будет значительно ниже.

Чувствительность определяют как вероятность получения положительного результата, при условии, что анализ содержится в данном образце. Она может быть установлена определением процента корректно классифицированных анализ-содержащих образцов как ГМО-позитивных (т.е. 100%, за вычетом ложноотрицательных результатов). Для исключения ложноотрицательных результатов вследствие ингибирования реакции из-за недостаточной очистки препарата ДНК может быть проведена ко-амплификация внутреннего контроля. Кроме того, следует ставить еще два контроля: негативный контроль для исключения контаминации и положительный контроль на уровне порога детекции для проверки чувствительности.

Порог обнаружения (LOD) определяют при анализе образца с известной концентрацией анализа, устанавливая минимальную достоверную концентрацию, которая может быть определена. LOD определяют как концентрацию, которая дает сигнал в 95% случаев (95% чувствительность) и может быть экспериментально определена как минимум в трех сериях разведений исходного препарата, причем каждое разведение анализируют в 8 повторностях.

При этом необходимо учитывать, что в некоторых растениях (например, в кукурузе) количество ДНК, измеряемое в гаплоидных копиях генома на клетку, может изменяться более чем в 2 раза, что приводит неконтролируемую погрешность в измерениях. Для повышения достоверности диагностики в подобных случаях необходимо проведение статистически значимого числа измерений, приготовление разведений непосредственно на стадии взятия

лабораторного образца, а также отбор большего количества материала для анализа.

В полуколичественном исследовании предела чувствительности официального немецкого метода ПЦР §36 LBBG 23.02.22-1 были сопоставлены результаты определения модельного LOD, определенного путем серийных разведений ДНК-мишени в присутствии фоновой ДНК и практического LOD, определенного при исследовании сертифицированных контрольных материалов, с учетом влияния матрикса в процессе выделения ДНК. В то время как модельный LOD составил 0,05% ГМО/не-ГМО (весовые проценты), что соответствует расчетным 30 копиям гаплоидного генома сои Roundup Ready или 9 копиям гаплоидного генома *Bt*-кукурузы, практический LOD оказался значительно (в 20 раз) выше – 0,1% ГМО/не-ГМО (в/в), что соответствует 596 копиям гаплоидного генома RR сои или 185 копиям гаплоидного генома *Bt*-кукурузы. Однако сведения об использовании сертифицированных контрольных материалов с более низким содержанием ГМО отсутствуют.

До сих пор ни один из официальных или прошедших валидацию методов не утвержден как официальный аналитический метод для детекции ГМО в растительном сырье и продуктах из него. Целый ряд методик в настоящее время проходит через межлабораторные испытания в странах ЕС.

Два скрининговых качественных метода, прошедших валидацию в Объединенном Исследовательском Центре (JRC) ЕС основаны на детекции *P-35S* и *T-nos3'*. Участники межлабораторных испытаний самостоятельно выбирали метод выделения ДНК, в ходе испытаний требовалось оптимизировать условия проведения ПЦР для конкретного используемого оборудования и применяемых реагентов. Единственным общим неизменным фактором было использование праймеров с определенной последовательностью. ПЦР продукты анализировали при помощи электрофореза и сравнивали со стандартами (195 п.о. для *P-35S*, и 180 п.о. для *T-nos3'*). Идентичность ампликонов подтверждалась рестрикционным анализом. Проведенные испытания показали высокую специфичность (96%) и чувствительность (93%) праймерной системы.

Были проведены три межлабораторных испытания официального немецкого метода на основе ПЦР для специфичного выявления ГМО в растительном сырье: для картофеля, сои и томатов. Они включали описание процедуры выделения ДНК, ПЦР анализа и подтверждающих тестов. В рамках испытаний ПЦР проводили с соответствующими праймерами специфическими для исследуемых ГМО, амплификацию выделенной ДНК проверяли при помощи внутреннего контроля в ПЦР-реакции. Соответствие ампликонов расчетному размеру проверяли электрофорезом, после чего их идентичность подтверждали гибридизацией. Проведенные испытания показали достоверность полученных результатов около 97%.

Межлабораторные испытания методов количественного ПЦР включали четыре полуколичественных КК-ПЦР, один ПЦР-ELISA, один двойной КК-ПЦР и два РВ-ПЦР. Для валидации методов количественной детекции применяли различные статистические методы. Однако различия в проведении экспе-

риментов и недостаточное количество данных не позволяют сравнивать результаты этих испытаний.

Методы обнаружения ГМО, основанные на исследовании белков

Процесс создания ГМ растений включает введение трансгенных конструкций, кодирующих синтез новых белков. Таким образом, появляющиеся в растении в результате генетической модификации белки могут служить маркерами генетической модификации.

Иммунологические методики широко применяются в исследованиях физиологии, биохимии и молекулярной биологии растений. Они привлекательны главным образом высокой специфичностью иммунологических реакций, позволяющей точно выявлять антигены даже в присутствии примесей и различных мешающих компонентов. Эти методики применяют для быстрой очистки, детекции и количественного определения белков, полисахаридов и даже низкомолекулярных веществ. Однако все иммунологические методы имеют существенные ограничения по применимости. На точность и достоверность проводимой с их помощью диагностики в значительной степени влияет усложнение состава анализируемого препарата. Снижение специфичности иммунологической диагностики может быть обусловлено неспецифическим связыванием антител с белками, присутствием поверхностно-активных веществ или фенольных соединений, денатурацией антител в присутствии жирных кислот а также присутствием эндогенных фосфатаз и ингибиторов в составе сложных препаратов. Кроме того, детекция и количественные измерения при помощи иммунологических методов могут быть затруднены низким уровнем экспрессии трансгенных белков, их деградацией вследствие термической обработки и низкой афинностью коммерческих препаратов антител.

Тем не менее, к настоящему времени разработано несколько тест-систем для детекции ГМО, основанных на иммуоферментных методиках, в основном на ELISA с антителами, специфичными к маркерным белкам, используемым при создании ГМО. В качестве маркерного белка часто выступает неомицин фосфотрансфераза II (продукт гена *nptII*), показана экспрессия этого белка в ряде линий ГМ хлопка, картофеля, томатов. Одна из подобных тест-систем основана на детекции фермента 5-енолпирувил-шикимат-3-фосфат синтазы (CP4 EPSPS), экспрессируемого в генетически модифицированной сое, устойчивой к гербициду Roundup. На рынке представлен целый ряд коммерческих тест систем на основе ELISA, позволяющих детектировать инсектицидные бактериальные белки Bt Cry1Ab, Cry1Ac, Cry3A, Cry2A, Cry9C, а также определяющий устойчивость к гербициду белок PAT. Конечно, метод ELISA позволяет автоматизировать диагностику и обеспечить высокий уровень производительности. Однако при диагностике даже не прошедшего переработку растительного материала необходимо учитывать, что трансгенные белки неравномерно распределены по растению. Так, в кукурузе ГМ белки накапливаются в первую очередь в листьях, и только в

незначительной степени – в зернах.

Заслуживают внимание методы экспресс-диагностики на основе ELISA, выполненные в формате тест-полосок. Они обеспечивают полуколичественную диагностику и незаменимы при проведении полевых исследований.

В соответствии с результатами, полученными в ЕС в ходе межлабораторных испытаний по качественному определению CP4 EPSPS, иммуноферментный метод дает 99% достоверности при концентрации ГМО (соя Roundup Ready) 2%, при этом LOD составил 0,35%. В то же время, в аналогичных испытаниях было показано, что количественная иммуноферментная тест-система основанная на антителах к белку Cry1Ab обеспечивает достоверное измерение относительной концентрации ГМ кукурузы MON810 в пределах от 0,15% до 2%.

Альтернативные методы детекции ГМО

Хроматографические методы. В случаях, когда генетическая модификация приводит к содержанию жирных кислот или триглицеридов, для детекции ГМО могут быть применены методы традиционной хроматографии. Возможность подобного рода диагностики с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии была показана для растительного масла, полученного из ГМ рапса. Анализ фракционируемого масла проводили при помощи масс-спектрометрии. Однако подобный вид диагностики возможен только в случаях, когда в химическом составе растения вследствие генетической модификации происходят значительные изменения. Кроме того, проводимая сложная инструментальная диагностика носит качественный характер, вследствие значительной природной вариабельности химического состава растений.

Спектроскопия в ближней инфракрасной области. В ряде случаев генетические модификации могут приводить к изменению структуры волокон в растениях при отсутствии заметных изменений в белковом или жирнокислотном составе. Подобный тип изменений наблюдается, например, у сои линии 40-3-2 (Roundup Ready Soy). Эти изменения могут быть выявлены при помощи спектроскопии в ближней инфракрасной области. Однако диагностические возможности этого метода для выявления присутствия ГМО в низких концентрациях явно недостаточны.

Технология ДНК-чипов. Одной из основных проблем в диагностике ГМО является рост числа коммерчески применяемых ГМО, использование при проведении генетической модификации все большего набора генов и регуляторных элементов. С одной стороны, эта тенденция заставляет внимательнее относиться к развитию биоинформатики, созданию и развитию банка данных, регистра последовательностей, используемых при создании ГМО. С другой стороны, возникла необходимость в проведении большого числа исследований, охватывающих все возможные маркерные последовательности и, соответственно, снижении себестоимости диагностики. Возможности, которые предоставляют ДНК-чипы, кажутся особенно привлекательными для решения этой задачи. После проведения реакции (или

реакций) мультиплексной ПЦР, продукты реакции могут быть автоматически проанализированы методом гибридизации с флуоресцентными зондами на ДНК-чипах, что значительно ускоряет и облегчает процесс идентификации присутствующих ГМО. Однако и в этом случае определенные трудности возникают при анализе сложных, комплексных образцов. Метод выглядит очень перспективным для проведения скрининговой диагностики и идентификации ГМИ, однако проводимая таким образом диагностика является качественной.

Заключение

Развитие агробιοтехнологии может в ближайшие десятилетия в значительной степени изменить не только сельское хозяйство, но и мировую экономику в целом в случае, если предполагаемые технологические достоинства ГМ сортов будут реализованы в соответствии с заложенной в них идеологией. В настоящее время происходит сертификация и выход на рынок все большего количества ГМО, так что до окончательного выяснения вопроса об их биологической безопасности все более остро встает вопрос о мониторинге распространения ГМО, диагностике ГМО как в семенном материале, так и ГМИ в агропромышленном сырье и пищевых продуктах.

К сожалению, развитие методов диагностики не успевает за внедрением новых агробιοтехнологических разработок крупными фирмами. Разработаны, прошли валидацию и применяются тест-системы только для некоторых значимых ГМ культур. Из-за отсутствия достоверной информации о структуре вводимых при генетической модификации генноинженерных конструкций не могут быть разработаны тест-системы для идентификации, не говоря уже о количественном измерении не только для появляющихся новых линий ГМО, но даже и для большого количества присутствующих на рынке.

Недостаточный уровень контроля за чистотой семенного материала привел повсеместной контаминации традиционных сортов сои генетически модифицированными сортами. ГМИ обнаруживают даже в продуктах, маркируемых производителями как «натуральные» и «не содержащие ГМИ», по существу необходимо признать, что контроль за распространением генетически модифицированной соей утрачен. Поскольку ГМ соя – наиболее широко применяемый вид ГМО, на ее примере явно видна недостаточность существующих мер по контролю за распространением ГМО, используемых в сельском хозяйстве. Отсутствие необходимых диагностик может ускорить неконтролируемое распространение не только пищевых сортов ГМО, но и не позволит обнаружить утечку технических ГМО, не предназначенных для употребления в пищу.

Наряду с разработкой новых диагностических тест-систем требуется обратить внимание на отработку схем отбора проб для исследования различного рода пищевых материалов и продуктов, оптимизацию методов экстракции ДНК. Необходимо развитие взаимодействия лабораторий, участвующих в диагностике ГМИ, не только внутри страны, но и на международном уровне.

Поскольку ГМИ-содержащие материалы пока могут поступать в Россию только из-за рубежа, применяемые для диагностики методы должны получить международное признание, что еще раз возвращает нас к необходимости организации межлабораторных испытаний и контроля качества.

ЛИТЕРАТУРА

- Anklam E., Gadani F., Heinze P., Pijnenburg H., Van Den Eede G. 2002. Analytical methods for detection and determination of genetically modified organisms in agricultural crops and plant-derived food products. *Eur. Food Res. Technol.*, # 214, p. 3–26.
- Collonier C., Berthier G., Boyer F., Duplan M.-N., Fernandez S., Kebdani N., Kobilinsky A., Romanuk M., Bertheau Y. 2003. Characterization of commercial GMO inserts: a source of useful material to study genome fluidity. Poster presented at ICPMB: International Congress for Plant Molecular Biology (n. VII), Barcelona, 23–28th June, 2003.
- Jankiewicz A., Broll H., Zagon J. 1999. The official method for the detection of genetically modified soybeans (German Food Act LMBG #35): a semi-quantitative study of sensitivity limits with glyphosate-tolerant soybeans (Roundup-Ready) and insect-resistant Bt maize (Maximizer). -*Eur. Food Res. Technol.*, # 209, p. 77–82.
- Hübner P., Studer E., Häfliger D., Stadler M., Wolf C., Looser M. 1999. Detection of genetically modified organisms in food: critical points for quality assurance. *Accred. Qual. Assur.*, # 4, p. 292–298.
- Hübner P., Waiblinger H.U., Pietsch K., Brodmann P. 2001. Validation of PCR methods for quantitation of genetically modified plants in food. *J. AOAC Int.*, vol. 84, # 6, p.1855–1864.
- Schweizerisches Lebensmittelbuch (Swiss Food Manual). 1998. In: Bundesamt für Gesundheit (Ed.) Chap 52B: Molekularbiologische Methoden. Eidgenössische Drucksachen- und Materialzentrale, Bern, Switzerland.
- Report on the molecular characterization of the genetic map of event Ms8 xRf3, 16 June 2003, Sci. Inst. of Public Health, Service of Biosafety and Biotechn., IPH/1520/SBB/03-0406.
- Report on the molecular characterization of the genetic map of event Bt11, 16 June 2003, Sci. Inst. of Public Health, Service of Biosafety and Biotechn., IPH/1520/SBB/03-0325.
- Report on the molecular characterization of the genetic map of event T25, 16 June 2003, Sci. Inst. of Public Health, Service of Biosafety and Biotechn., IPH/1520/SBB/03-0407.
- Report on the molecular characterization of the genetic map of event Mon 810, 16 June 2003, Sci. Inst. of Public Health, Service of Biosafety and Biotechn., IPH/1520/SBB/03-0409.
- Report on the molecular characterization of the genetic map of event Bt176, 16 June 2003, Sci. Inst. of Public Health, Service of Biosafety and Biotechn., IPH/1520/SBB/03-0408.

- Studer E., Rhyner C., Luthy J. 1998. Quantitative competitive PCR for the detection of genetically modified soybeans and maize. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A.*, # 207, p. 207–213.
- Vaitilingom M., Pijnenburg H., Gendre F., Brignon P. 1999. Real-time quantitative PCR detection of genetically modified Maximizer maize and Roundup Ready soybean in some representative foods. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 47, p. 5261–5266.

Стабилизирующий отбор и приспособленность популяций ГМО

Л.А. Животовский

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва

Последствия выпуска генетически модифицированных организмов (ГМО) в природу трудно предсказуемы. Однако ширящаяся вольная или невольная интродукция их в природные системы заставляет искать возможности прогноза таких последствий. Нет сомнений относительно пользы в создании трансгенных организмов для производства ингредиентов лекарственных препаратов, улучшения свойств экономически важных видов растений и животных, борьбы с сорняками и распространяющимися болезнями насекомыми и т.п. Однако прямая польза от ГМО может не перекрыть ущерба от них, если они попадут в природные популяции и смогут неподконтрольно размножиться.

Принципы охраны природы при выпуске ГМО в природу требуют (SWGБ 1998):

- оценить, когда проявятся вредные последствия выпуска ГМО на здоровье человека и природные системы;
- выявить, когда ГМО или их продукты окажутся вредными, если они попадут в продукты потребления;
- определить, действительно ли ГМО дают тот положительный эффект, ради которого они были созданы;
- гарантировать, что исключен какой-либо ущерб человеку или природе, когда ГМО появятся в различных регионах мира и различных экосистемах.

Настоящая работа касается первого и последнего из этих вопросов: сделана попытка понять, какие микроэволюционные процессы ожидаются в популяции с того момента, как в ней появляются генетически модифицированные особи.

Микроэволюционные процессы в ГМО-популяциях

Судьба популяции, в которой есть генетически модифицированные особи (ГМО-популяция), неопределенна. Быстрый рост, устойчивость к вредителям и т.п. могут на первых порах гарантировать особям с встроенным геном большую конкурентоспособность по сравнению с естественными, «дикими» формами. Пример – большие темпы роста, обусловленные введением гена гормона роста (Pandian et al., 1999) или промотора гена гормона роста (Delvin et al., 1999) у рыб. Нетрудно предсказать, что сильные доминантные эффекты внедренного гена могут обусловить успешное размножение трансгенных особей даже при наличии вредных плеiotропных эффектов (Lande, 1983). При этом в начальной фазе микроэволюционного процесса частота генетически модифицированных особей в популяции будет увеличиваться из поколения в поколение. Однако долговременная динамика может быть совсем иной, чем в первых поколениях после интродукции трансгенных особей. Возможны следующие два варианта дальнейшего развития микроэволюционного процесса в ГМО-популяциях.

Первый – это изменение внешней среды, индуцированное действием чужеродного гена, в результате чего конкурентоспособность трансгенных особей будет ослаблена. Например, вредитель, чувствительный к продукту встроенного гена, может мутировать к форме нечувствительной к нему или заместиться другим, устойчивым к этому продукту биологическим видом. Кроме того, сам встроенный ген может оказаться неустойчивым, если он находится в эписоме, а не в хромосоме (Braig and Yan, 2002). При этом трансгенные особи перестанут быть конкурентами «дикой» формы и начнут исчезать из популяции. Однако возврата к прежнему состоянию у популяции не будет, поскольку она будет существовать уже в измененной экосистеме, т.е. в другой внешней среде – с иными градиентами отбора.

Второй вариант – отсутствие «отторгающей» реакции внешней среды, в результате чего трансгенные особи с большей конкурентоспособностью могут полностью или частично вытеснить дикую форму. Но и в этом случае судьба ГМО-популяции однозначно не предсказуема. Действительно, успех особей определенного генотипа при внутрипопуляционных взаимодействиях, в частности скрещивании, не означает большей приспособленности этого генотипа при межгрупповом отборе и на уровне экосистемы (Fisher 1930, Muir and Howard, 1999). Более того, после вытеснения «дикой», немодифицированной формы, впрочем как и в процессе ее вытеснения, популяция может оказаться под усиленным действием стабилизирующего отбора. Отбор на стабилизацию развития (стабилизирующая форма естественного отбора), согласно концепции И.И. Шмальгаузена (1938, 1982), создает коадаптированные генные комплексы и «охраняет» вид путем устранения генотипов, обуславливающих развитие признаков, которые отклоняются от пределов, допустимых для данного вида в данных условиях среды. Выживет ли ГМО-популяция, если встроенный ген дестабилизирует эволюционно возникшие комплексы генов и признаков? Если нет, то появление генетически

модифицированных особей окажется губительным для популяции: вначале вытиснится нормальная дикая форма, не выдержав конкуренции с трансгенными особями, а затем начнется элиминация последних, в результате чего популяция исчезнет из данной экосистемы. Возможно ли такое? Это зависит от того, насколько уменьшится приспособленность ГМО-популяции по сравнению с приспособленностью исходной популяции под действием стабилизирующего отбора. Этот вопрос еще не исследовался, и в данной заметке он изучается на моделях стабилизирующего отбора по комплексу признаков (Животовский, 1984).

Модель

Пусть имеется популяция генетически не-модифицированных особей «дикого» фенотипа, которые характеризуются комплексом n адаптивных количественных признаков, распределенных по многомерному нормальному закону:

$$P(x, a, C) = \frac{1}{(2\pi)^{n/2} |C|^{1/2}} \exp\left(-\frac{1}{2} (x-a)' C^{-1} (x-a)\right) \quad (1)$$

где $x = \{x_1, x_2, \dots, x_n\}$ – это вектор признаков, $a = \{a_1, a_2, \dots, a_n\}$ – вектор средних, $C = \|c_{ij}\|$ – ковариационная матрица, $|C|$ – ее определитель, C^{-1} – обратная матрица (Крамер, 1975). Упростим модель, предположив, что все признаки равноправны в смысле их статистического распределения и действия отбора на них. Формально это означает равенство их дисперсий и равенство всех попарных коэффициентов корреляций друг с другом. В таком случае ковариационная матрица пропорциональна корреляционной

матрице $R = \begin{pmatrix} 1 & r & \dots & r \\ r & 1 & \dots & r \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ r & r & \dots & 1 \end{pmatrix}$ и равна $C = \sigma^2 R$, где σ^2 – дисперсия

признака (σ – стандартное отклонение признака).

В модели рассматривается форма отбора, при которой особи с «оптимальным» значением признаков a_{wild} имеют максимальную приспособленность, принятую за 1, а остальные распределены по гауссовому закону

$$s(x, a_{wild}, S_{wild}) = \exp\left(-\frac{1}{2} (x - a_{wild})' S_{wild}^{-1} (x - a_{wild})\right) \quad (2)$$

где x – это произвольный n -мерный вектор значений признаков,

$$S_{wild} = s^2 R_{wild, wild} = \begin{pmatrix} 1 & wild & \dots & wild \\ wild & 1 & \dots & wild \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ wild & wild & \dots & 1 \end{pmatrix}$$

Допустим, что в популяции уже достигнуто генетическое равновесие между стабилизирующим отбором и изменчивостью количественных признаков. В таком случае ковариационная матрица признаков в равновесной популяции пропорциональна R_{wild} и равна $C_{wild} = \sigma_{wild}^2 R_{wild}$, где σ_{wild}^2 – дисперсия признаков, установившаяся в популяции под действием стабилизирующего отбора. При этом средняя приспособленность популяции равна $\bar{w}_{wild} = \int P(x, a_{wild}, C_{wild}) s(x, a_{wild}, S_{wild}) dx$.

Напомним, что исходная популяция (генетически не-модифицированных особей) предполагается достигнувшей состояния генетического равновесия в ходе отбора; при этом подразумевается, что ее численность стабильна при достигнутом уровне приспособленности. Стабилизирующий отбор приводит к дифференциальной выживаемости особей, и потому лишь плодовитость, не меньшая чем определенная критическая величина, компенсирует в исходной стабильной популяции гибель на ранних стадиях развития. Если генетически модифицированные особи имеют тот же репродуктивный потенциал, что и особи «дикого» фенотипа, то уменьшение приспособленности ГМО-популяции будет автоматически влечь за собой прогрессивное снижение ее численности, пропорциональное тому, насколько уменьшилась средняя приспособленность ГМО-популяции в сравнении с исходной популяцией. Таким образом, основное, что следует определить на модели, – это отношение приспособленностей ГМО- и исходной популяций в «дикой» среде. Обратимся к этому.

Чужеродный ген, встроенный в эволюционно «апробированный» геном, способен привести к «расбалансировке» генома и эволюционно сформировавшихся адаптивных генных комплексов. Такая расбалансировка может выразиться в том, что генетически модифицированные зиготы претерпевают большие отклонения в развитии в сравнении с не-модифицированными, что означает увеличение средовой, «паратипической» компоненты изменчивости признаков в ГМО-популяции. Кроме того, наличие чужеродного гена может по-разному изменить среднюю выраженность признаков на различном генотипическом фоне и, следовательно, увеличить генотипически обусловленную компоненту изменчивости. Оба указанных механизма ведут к увеличению фенотипической изменчивости признаков. Далее, расбалансировка генома может привести к разрушению

адаптивных генных комплексов и соответствующих им эволюционно возникших генетических, паратипических и фенотипических корреляций.

ГМО-популяция обитает в той же среде, что и исходная популяция, однако из-за указанных выше причин изменчивость признаков в ней – иная. Она характеризуется иной матрицей ковариаций – $C_{GM} = \sigma_{GM}^2 R_{GM}$: с большей дисперсией σ_{GM}^2 и с меньшей корреляцией признаков r_{GM} ;

R_{GM} – это корреляционная матрица ГМО-популяции:

$$\begin{pmatrix} 1 & & \dots & \\ & 1 & \dots & r_{GM} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ GM & GM & \dots & 1 \end{pmatrix}$$

подставляя данные выше ковариационные матрицы и функцию отбора в формулы для \bar{W}_{GM} и \bar{W}_{wild} и проводя ряд алгебраических преобразований, получаем следующее выражение для относительной приспособленности ГМО-популяции (определенное здесь как отношение приспособленностей ГМО- и исходной популяций):

$$\frac{\bar{W}_{GM}}{\bar{W}_{wild}} = \frac{\left(1 + \frac{\sigma_{GM}^2}{s^2} \frac{1 - r_{GM}}{1 - r_{wild}}\right)^{\frac{n-1}{2}} \times \left(1 + \frac{\sigma_{GM}^2}{s^2} \frac{1 + (n-1)r_{GM}}{1 + (n-1)r_{wild}}\right)^{\frac{1}{2}}}{\left(1 + \frac{\sigma_{wild}^2}{s^2}\right)^{\frac{n}{2}}}, \quad (3)$$

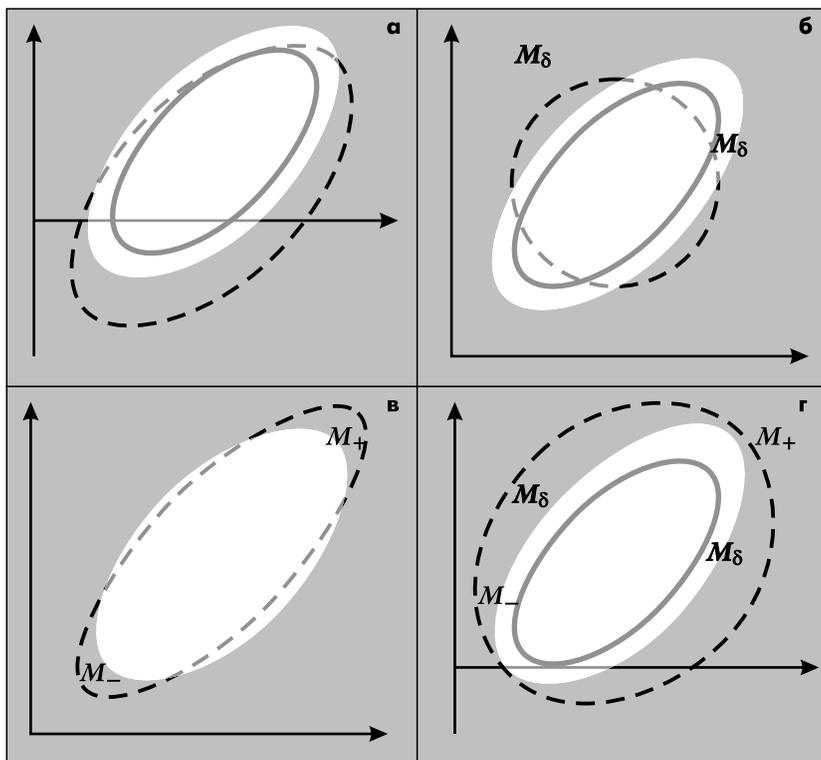


Рис. 2. Стабилизирующий отбор против фенотипических отклонений в ГМО-популяции. Как и на рис. 1, белый овал – это норма стабилизирующего отбора, за пределами которой фенотипические отклонения подвержены значительной элиминации. Сплошная линия – пределы изменчивости исходной популяции, пунктирная линия – пределы изменчивости ГМО-популяции. а) Равномерное увеличение изменчивости комплекса признаков: увеличение дисперсии признаков без изменения коэффициента корреляции. б) Увеличение изменчивости комплекса признаков за счет увеличения доли особей с диспропорциональными значениями признаков (M_{δ}): уменьшение коэффициента корреляции без изменения дисперсии признаков. в) Увеличение изменчивости комплекса признаков за счет увеличения долей «мелких» и «крупных» особей (M_{-} и M_{+}): увеличение дисперсии признаков и усиление корреляции признаков. г) Увеличение изменчивости комплекса признаков за счет увеличения долей всех типов фенотипических отклонений: как особей с диспропорциональными значениями признаков (M_{δ}), так и «мелких» и «крупных» особей (M_{-} и M_{+}): одновременное увеличение дисперсии и уменьшение корреляции признаков.

Обсуждение

Выражение (3) для относительной приспособленности ГМО-популяции при стабилизирующем отборе в «дикой» среде позволяет теоретически «проиграть» различные сценарии популяционных последствий введения чужеродных генов, действие которых сказывается на адаптивных комплексах признаков, подверженных действию стабилизирующего отбора. Реальная оценка таких последствий возможна лишь тогда, когда экспериментально оценены параметры паратипической, генотипической и фенотипической изменчивости и особенности их проявления у трансгенных организмов. В прикладном аспекте важно знать различные компоненты приспособленности с тем, чтобы количественно прогнозировать изменения в популяциях (Prout, 1971, Muir and Howard, 2002). Тем не менее, используя выражение (3), мы можем на качественном уровне представить себе, что может произойти в популяции, если в ней появятся особи с трансгеном, влияющим на коадаптированный комплекс генов.

Действие встроенного чужеродного гена скорее всего разбалансирует, а не «гармонизирует» геном и генотипическую структуру популяции, которая до того длительное время эволюционировала в определенных условиях биотической и абиотической среды. Это должно привести к изменению средних значений и/или увеличению фенотипической изменчивости в этой популяции по комплексам адаптивных признаков. При наличии стабилизирующего отбора по таким признакам [то, что он всегда присутствует, показано многочисленными исследованиями: Шмальгаузен (1938, 1982), Lerner (1954), Dobzhansky (1970), Дубинин (1948) и др.] ожидается уменьшение приспособленности ГМО-популяции по сравнению с популяцией особей «дикого» фенотипа, поскольку ее фенотипическое разнообразие выходит за пределы нормы отбора (рис. 1б, рис. 2). Табл. 1 показывает, что если даже действие чужеродного гена не изменяет средне-популяционных значений признаков, а лишь обуславливает увеличение фенотипической изменчивости, это также может резко снизить приспособленность ГМО-популяции и тем самым привести к ее быстрой элиминации из экосистемы. При этом, чем большее число признаков претерпевают изменения под действием встроенного гена, тем сильнее становится элиминирующее давление стабилизирующего отбора (табл. 1).

Таблица 1. Относительная приспособленность ГМО-популяции при стабилизирующем отборе в зависимости от соотношения коэффициентов корреляции r , отношения стандартных отклонений σ и числа признаков n (по формуле 3).

Влияние фактора	r_{GM} / r_{wild}	$\frac{\sigma_{GM}}{\sigma_{wild}}$	Число признаков (n)			
			3	10	100	1000
дисперсии (рис. 2а)	0.99/0.99	2	0.33	0.19	0.13	0.13
корреляции (рис. 2б)	0.90/0.99	1	0.23	0.03	3×10^{-3}	2×10^{-3}
дисперсии и корреляции (рис. 2г)	0.90/0.99	2	0.05	3×10^{-4}	6×10^{-10}	4×10^{-12}
дисперсии (рис. 2а)	0.90/0.90	2	0.33	0.19	0.13	0.13
корреляции (рис. 2б)	0.50/0.90	1	0.43	0.16	0.07	0.06
дисперсии и корреляции (рис. 2г)	0.50/0.90	2	0.10	3×10^{-4}	10^{-5}	2×10^{-6}
дисперсии (рис. 2а)	0.50/0.50	2	0.33	0.19	0.13	0.13
корреляции (рис. 2б)	0.10/0.50	1	0.84	0.67	0.58	0.58
дисперсии и корреляции (рис. 2г)	0.10/0.50	2	0.25	0.07	0.02	0.01

Увеличение изменчивости в ГМО-популяциях обусловлено ростом частоты фенотипов, выходящих за рамки нормы стабилизирующего отбора. Это может произойти за счет увеличения группы диспропорциональных особей M_8 (у которых одни признаки имеют большие, а другие меньшие значения, чем у оптимального модального фенотипа – рис. 2б), «больших» или «малых» особей (группы M_+ и M_- – рис. 2в), или тех и других – рис. 2а,г (по поводу выделения указанных групп см. Животовский, Алтухов, 1980; Животовский, 1984). В терминах ковариационной матрицы это может проявиться в виде увеличения дисперсии признаков и/или уменьшения их корреляции (см. первый столбец табл. 1), хотя не исключено и формальное усиление корреляции признаков в ГМО-популяции: например, при увеличении частоты групп M_+ и M_- (рис. 2в).

Популяционно-генетические механизмы увеличения популяционной изменчивости также различны: за счет меньшей стабильности развития и, стало быть, большей средовой (паратипической) вариабельности (Захаров, 1987); за счет уменьшения гомеостаза и, тем самым, увеличения генотипической дисперсии (Lerner 1954); за счет дезинтеграции адаптивных мультилокусных систем, вследствие чего распадаются наследственные коррелятивные связи

признаков (Шмальгаузен 1938; Дубинин 1948; Левонтин, 1978; Животовский, 1984). Все эти механизмы могут реализоваться в ГМО-популяциях и стать причиной большего давления стабилизирующего отбора в них и, как следствие, снижения их численности и последующего исчезновения. Кроме того, бóльшая дисперсия признаков может способствовать тому, что в ГМО-популяциях начнется разрушение селективных барьеров, прежде охранявших их от интрогрессии генов из других популяций и видов (Pytkov et al., 2000), что может усилить развал ГМО-популяций.

Таким образом, исходная цель, ради которой создаются генетически модифицированные организмы, – меньшая подверженность заболеваниям, устойчивость к вредителям, бóльшие темпы роста, увеличение выхода определенного продукта, контролируемого встроенным чужеродным геном и пр. – может быть достигнута ценой риска выпуска геноинженерных конструкций в природу. Оказавшись в популяции, трансгенные особи включаются в процесс ее воспроизводства. С этого момента начинаются вначале незаметные, а затем – в ряду поколений – всё более проявляющиеся изменения генетического состава и приспособленности этой популяции.

Анализ показывает, что стабилизирующий отбор создает ситуацию, когда чужеродный ген играет роль «троянского коня»: трансгенные особи вытесняют особей дикого фенотипа, но сама ГМО-популяция попадает под пресс стабилизирующего отбора из-за выщепления фенотипических отклонений и, не успев адаптироваться, исчезает, приводя, в свою очередь, к динамическим изменениям в соответствующей экосистеме (см. Muir and Howard, 1999).

Не только стабилизирующий отбор, но и другие формы отбора и популяционно-генетические процессы могут привести к изменению приспособленности ГМО-популяций (Muir and Howard, 2002). Более того, встроенный ген может вызвать последствия, аналогичные средовому стрессу, что также приведет к изменению приспособленности (Zhivotovsky, 1997). Все это требует дальнейшего теоретического анализа и экспериментальных исследований в лабораторных условиях и наблюдений в природе. При этом, говоря об экстраполяции экспериментальных данных на природные ситуации, следует иметь в виду, что лабораторные условия (и соответствующие им оценки приспособленности) могут совсем не отвечать факторам отбора в естественной среде (Животовский, 1998, Braig and Yan, 2002). Если же случится так, что встроенный ген прямо или косвенно обеспечит и заметное внутривидовое конкурентное преимущество трансгенных особей, и их лучшее распространение в природе, несмотря на возросшее давление стабилизирующего и других форм отбора, то последствия микроэволюционного процесса в такой популяции и динамика ее численности в составе экосистемы едва ли предсказуемы.

Использованная литература

- Дубинин Н.П. 1948. Экспериментальное исследование интеграции наследственных систем в процессах эволюции популяций. Журн. общ. биол. т. 9, № 3, сс. 203–244.
- Захаров В.М. 1987. Асимметрия животных. М., «Наука», 216 с.
- Животовский Л.А. 1984. Интеграция полигенных систем в популяциях. М., «МИР», 182 с.
- Животовский Л.А. 1998. Приспособленность и популяционный стресс. В сб. «Жизнь популяций в гетерогенной среде». 1998. (ред.: Жукова Л.А. и др.). Изд. «Периодика», Йошкар-Ола. Респ. Марий Эл. Часть 2, сс. 126–140.
- Животовский Л.А., Алтухов Ю.П. 1980. Метод выделения морфологически “средних” и “крайних” фенотипов по совокупности количественных признаков. Докл. академии наук СССР, т. 251, № 2, сс. 473–476.
- Крамер Г. 1975. Математические методы статистики. М., “Мир”, 648 с.
- Левонтин Р. 1978. Генетические основы эволюции. М., “Мир”, 351 с.
- Шмальгаузен И.И. 1938. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. Цит. по кн. «Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии». М., “Наука”, сс. 12–228.
- Шмальгаузен И.И. 1982. Стабилизирующий отбор и эволюция индивидуального развития. В кн. «Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии». М., “Наука”, сс. 351–372.
- Barton N.H. and M. Turelli. 1991. Natural and sexual selection on many loci. *Genetics*, vol. 127, pp. 229–255.
- Braig H.R., and G. Yan. 2002. The spread of genetic constructs in natural insect populations. In: D.K. Letourneau and B.E. Burrows (eds.) *Genetically Engineered Organisms: Assessing Environmental and Human Health Effects*. CRC Press, London-New York, pp. 251–314.
- Delvin R.H., T.Y. Yesaki, C.A. Biagi, E.M. Donaldson. P. Swanson, and W.-K. Chan. 1994. Extraordinary salmon growth. *Nature*, vol. 371, pp. 209–210.
- Dobzhansky Th. 1970. *Genetics of the Evolutionary Process*. N.Y., Columbia Univ. Press. 505 p.
- Fisher R. 1930. *The Genetical Theory of Natural Selection*. Clarendon Press. Oxford. U.K.
- Lande R. 1983. The response to selection on major and minor mutations affecting a metrical trait. *Heredity* vol. 50, pp. 47–65.
- Lerner I.M. 1954. *Genetic Homeostasis*. N.Y., John Willey. 134 p.
- Muir W.M., and R.D. Howard. 1999. Possible ecological risks of transgenic organism release when transgenes affect mating success: Sexual selection and the Trojan gene hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* vol. 96, pp. 13853–13856.

- Muir W.M., and R.D. Howard. 2002. Methods to assess ecological risks of transgenic fish releases. In: D.K. Letourneau and B.E. Burrows (eds.) *Genetically Engineered Organisms: Assessing Environmental and Human Health Effects*. CRC Press, London-New York, pp. 355–383.
- Pandian T.J., T. Venugopal, and R. Koteeswaran. 1999. Problems and prospects of hormone, chromosome and gene manipulations in fish. *Curr. Sci.*, vol. 76, pp. 369–386.
- Prout T. 1971. The relation between fitness components and population prediction in *Drosophila*. *Genetics*, vol. 68, pp. 127–149, 151–167.
- Pylkov K.V., L.A. Zhivotovsky, and F.B. Christiansen. 2000. The strength of the selection barrier between populations. *Genet. Res.* Vol.76, pp. 179–185.
- SWG (Scientists' Working Group on Biosafety). 1998. *Manual for Assessing Ecological and Human Health Effects of Genetically Engineered Organisms*. The Edmonds Institute. Edmonds. WA (www.edmonds-institute.org/manual.html).
- Zhivotovsky L.A. 1997. Environmental stress and evolution: A theoretical study. In: R. Bijlsma and V. Loeschcke (eds.): *Environmental Stress, Adaptation, and Evolution*. Birkhaeuser Verlag, Basel, Switzerland; pp. 241–254.

Готова ли Россия к распространению трансгенных культур?

О.А. Монастырский

Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений Российской академии сельскохозяйственных наук, Краснодар

К 2004 г. генетически модифицированные (ГМ) культуры занимали в мире 15 % посевных площадей и 25 % рынка семян. Наибольший удельный вес приходится на сою, кукурузу и масличный рапс. Более 90 % площадей продовольственных ГМ-культур приходились на США, Аргентину и Канаду. В настоящее время фирма «Монсанто» владеет 94 % генофонда всех возделываемых в мире ГМ-культур и вместе с двумя другими транснациональными корпорациями контролирует 80 % рынка химических пестицидов (в том числе, 90 % рынка производства и продажи гербицида «Раундап»). Эти корпорации готовятся к широкому промышленному внедрению ГМ-риса и пшеницы. Генофонд культур, определяющих продовольственный потенциал всего населения Земли, предполагается сосредоточить в руках 2–3 транснациональных компаний.

Озабоченность в отношении распространения ГМ-культур растет именно за счет неясности последствий и перспектив для человека, сельскохозяйственных животных и агроценозов. Существует широкое разнообразие подходов к перспективе преобразования сельского хозяйства на основе ГМ-культур. Рассмотрим их по отношению к отечественному сельскому хозяйству и сельскохозяйственной науке.

Одна из основных проблем широкого возделывания ГМ-культур – их возможность стать инвазийными, постепенно вытесняющими традиционные сорта. Большое значение в управлении этим процессом будут играть постоянно пополняемые базы данных о фитоструктуре агроценозов. В России существует всего три таких базы данных по всем группам организмов. В США только по инвазийным растениям – 34. В результате разного рода биологических инвазий в XX в. экономика США потеряла 137, Индии – 117, Бразилии – 50 млрд. долл. Нет никаких гарантий, что инвазия ГМ-культур не нанесет российским агроценозам сопоставимого ущерба. В соответствии с Конвенцией о биологическом разнообразии, подписанной Россией, чужеродные инвазийные виды считаются одной из самых серьезных экологических угроз.

При широком распространении ГМ-культур будет сильно затруднена сортосмена, сроки ее будут очень большими. Между тем, именно доста-

точно быстрая сортосмена традиционных сортов (3–5 лет) не позволяет образовываться филогеографическим расам фитопатогенов. Современные традиционные сорта создаются с учетом изменения генофондов вирулентности целевых патогенов. Сорта ГМ-культур лишены этой возможности. В сортах, создаваемых традиционными методами, задаваемая устойчивость соотносится с другими ее типами и соответственно может регулироваться. В случае ГМ-культур это невозможно. ГМ-культуры – это «стойкие оловянные солдатики», легко расплавляющиеся в огне эпифитотий. Эта опасность может оказаться очень большой при создании сортов ГМ-культур, высокоустойчивых к одной болезни. При доминировании в агроценозе они будут создавать сильное давление отбора в пользу штаммов патогенов, преодолевающих устойчивость. При замедленной сортосмене это будет приводить к сильнейшим эпифитотиям и панфитотиям (поскольку во всех странах будут одинаковые «оловянные солдатики»). Уже сейчас возникает такая ситуация с *Bt*-культурами, когда резистентность к ним целевых вредителей быстро нарастает. Если учесть, что *Bt*-культуры выращивают уже в 62 странах, отбор резистентных форм в широком масштабе неизбежен. При этом следует учитывать, что введение в агроценозы всего 5 % посевов ГМ-культур способно необратимо нарушить сложившиеся при возделывании традиционных сортов коадаптированные комплексы агроэкосистем. Эта закономерность справедлива для всех ГМ-культур, устойчивых к гербицидам, вредителям и болезням.

Другим агробиологическим и фитосанитарным ограничением широкого практического возделывания ГМ-культур является отсутствие общепринятых и надежных оценок риска их возделывания и пищевого (кормового) использования. В России пока нет экономических возможностей для создания инфраструктуры оценки этого риска, да и провести такую оценку невозможно, так как данные о безопасности возделывания и использования ГМ-продукции разрозненны, малочисленны и 90 % случаев представлены исследователями, работающими на генно-инженерные фирмы (которые, естественно, не могут считаться объективными в силу конфликта интересов).

Следует упомянуть, что гены, отвечающие за синтез *Bt*-токсинов у ГМ-культур, могут встраиваться в геномы бактерий *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* и других составляющих микрофлоры желудка человека и сельскохозяйственных животных. В результате такой генетической трансформации эти микроорганизмы могут производить токсины, опасные для организма (например, разрушающие слизистую оболочку желудка и кишечника).

Сложна проблема возделывания гербицидоустойчивых ГМ-культур. Их выращивание не уменьшает (а, тем более, не снимает) пестицидный пресс на агроценозы, и лишь привлекает растениеводство к гербицидозависимым технологиям, при которых выбор гербицидов строго ограничен. Такие ГМ-культуры устойчивы к гербицидам, но не препятствуют накоплению гербицидов и их метаболитов в тканях растений. Когда суд в США заставил корпорацию раскрыть состав глифосата, оказалось, что в нем, кроме активного соединения, содержатся другие токсичные вещества. В России же Раундап продается без указания на токсичность самого гербицида и

его метаболитов, которые способны долго находиться и накапливаться в тканях растений. Возделывание ГМ-культур не улучшит, и не стабилизирует продовольственную безопасность России, где продажа пестицидов слабо контролируется и более 80 % техники для защиты растений непригодно для использования.

ГМ-культуры, обладающие комплексной устойчивостью к вредителям и гербицидам, имеют все недостатки ГМ-культур с одним типом устойчивости и могут стать источником возникновения рас вредителей и штаммов фитопатогенов с перекрестной устойчивостью. Это тем более вероятно, что все типы ГМ-культур поражаются болезнями и вредителями (кроме целевых), наравне с традиционными сортами. Спектр устойчивости ГМ-культур к фитопатогенам не шире, чем у традиционных сортов. В то же время, если для последних мы можем спрогнозировать долговременные последствия их устойчивости к отдельным видам фитопатогенов и быстро реагировать на экстремальные ситуации, то для ГМ-культур это невозможно. Другими словами, возделывание трансгенных культур не освобождает от проведения химической борьбы с вредителями и болезнями. Непредсказуема фитопатологическая ситуация при возделывании ГМ-культур и с точки зрения их генетики. Выявлено, что трансгенная соя содержит несколько фрагментов ДНК, происхождение и функции которых установить невозможно. Разрешение на использование этих фрагментов при регистрации ГМ-сои получено не было. Можно предположить, что и другие ГМ-культуры содержат «лишние» фрагменты ДНК, которые могут нарушать процессы, отвечающие за синтез нормальных, в том числе и защитных, белков. Фирмы-производители ГМ-культур не информируют о таких вставках, и предсказать поведение этих культур в агроценозе невозможно. При массовом возделывании ГМ-культур генетическое загрязнение исторически возникших выращиваемых культур станет необратимым.

Рекомендованные в производство ГМ-культуры, устойчивые к некоторым вредителям и гербицидам, в генетическом плане достаточно просты, так как их устойчивость олигогенна. При создании ГМ-культур, устойчивых к фитопатогенным бактериям и особенно грибам, такая устойчивость будет коммерчески неэффективна, а с точки зрения фитопатологии вредна. Как показывает весь опыт селекции на устойчивость к болезням, «олигогенная» устойчивость сортов, высеваемых на больших площадях, всегда приводит к эпифитотиям. Примером являются эпифитотии гельминтоспориоза (раса Т) на кукурузе, пирикулярриоза на рисе, бурой ржавчины на пшенице и других грибных и бактериальных заболеваний. Возможность возникновения эпифитотии на ГМ-культурах повышается и за счет того, что они могут быть значительно более плодовиты, чем традиционные сорта. Установлено, что устойчивая к гербицидам горчица дает в двадцать раз больше семян, чем ее генетически неизменный аналог. Объясняется это тем, что интродуцированный ген нарушил последовательность и активность генов, ответственных за опыление и фертильность. Такая же особенность отмечена для трансгенных сои и рапса.

«Утечка» ГМ-растений в культуры традиционной селекции (что в промышленных посевах очень трудно обнаружить), может многократно усилить и ускорить возникновение эпифитотии. Такая «утечка» генов зарегистрирована для всех ГМ-культур, а для рапса, сои, кукурузы она становится угрожающей.

Важным фактором, благоприятствующим эпифитотиям, могут стать почвы под ГМ-культурами. Поскольку фитомасса *Bt*-кукурузы значительно снижает общую метаболическую активность почвы, это может негативно влиять на супрессивность почвы в отношении возбудителей корневых гнилей.

Коммерческое выращивание *Bt*-картофеля, *Bt*-кукурузы, устойчивых к раундапу сои и сахарной свеклы станет возможным, если будет достоверно доказано, что это экономически выгодно, технологически обеспечено и безопасно с фитосанитарной и экологической точек зрения. Пока таких доказательств нет. Коммерческое выращивание трансгенных пшеницы, ячменя, овса и риса, должно быть запрещено, так как связано с угрозой продовольственной безопасности страны.

Если на законодательном уровне в России предусмотрены (хотя и не выполняются) надзор и контроль в области обеспечения качества и безопасности пищевых продуктов и кормов, то в области контроля их фитосанитарного состояния правовой базы нет. Директивы Европейского Союза 2001/18/ЕС и 90/220/ЕС по механизмам оценки экологических рисков возделывания ГМ-культур, тоже не включают фитопатологические риски. Фитосанитарного мониторинга посевов ГМ-культур нет ни в одной стране мира, а значит, и нет оценки возможного вреда. «Руководство по оценке риска для окружающей среды, связанного с генетически модифицированными организмами» Эдмондского института (Великобритания) также не содержит фитосанитарного аспекта.

Сегодня Россия крайне уязвима в отношении распространения ГМ-культур: рынок зерна и семян государством регулируется слабо, положение об обязательной маркировке зерна ГМ-культур, продуктов и кормов, содержащих компоненты, полученные из ГМ-источников не действует; не разработана удовлетворительная методика тестирования ГМ-культур на безопасность; не сформирована стратегия безопасного выращивания ГМ-культур и использования ГМ-продуктов, отсутствует концепция фитосанитарного и экологического мониторинга посевов ГМ-культур и хранящейся продукции.

Вопросы возделывания, переработки, использования ГМ-продукции, с учетом постоянного общегосударственного мониторинга их безопасности, должны быть конкретно сформулированы, а их решение профинансировано государством. Исследования ГМ-культур в России должны проводиться не разрозненно, и фактически только в интересах зарубежных биотехнологических фирм, как это происходит в настоящее время. Такие исследования должны быть организованы в первую очередь в интересах развития (и обеспечения безопасности) отечественного сельского хозяйства. Без таких исследований последствия возможного массового внедрения ГМ-растений в отечественное растениеводство непредсказуемы.

Следует учитывать, что перечень и характеристика рисков возделывания ГМ-культур будет постоянно меняться, так как они интродуцируются в неконтролируемую среду. В России нет рекомендательной литературы, нет утвержденных методик и средств для осуществления фитосанитарного мониторинга, нет официально признанных тест-систем для выявления ГМ-растений, нет технологий их возделывания, встроенных в существующие отечественные технологии возделывания соответствующих культур.

При решении проблемы коммерческого выращивания ГМ-культур нельзя повторять ошибок с внедрением в сельское хозяйство химических пестицидов. Их применение не решило проблему обеспечения продовольствием населения Земли, голодных не убавилось, зато прибавилось проблем, связанных с безопасностью продуктов питания и экологического благополучия населения и природы. В результате, современное сельское хозяйство не может обойтись без пестицидов. Возможно, в будущем оно не обойдется и без некоторых ГМ-культур. Поэтому уже сейчас необходимо решать проблему защиты от ГМ-технологий генетических ресурсов культурных растений, биоразнообразия, а также защиты растений от вредителей и болезней. Необходимо понять, насколько серьезными станут экологические проблемы в результате широкомасштабного распространения ГМ-культур в России.

У культурных растений охарактеризовано всего около 8 % генов. При традиционной селекции идет постоянный отбор лучших семян по комплексу признаков. Из-за малой изученности генома культурных растений пока нет других способов избежать «генетического брака», кроме как проводить искусственный отбор. Для ГМ-культур это невозможно.

Основными направлениями исследований безопасности ГМ-культур должны стать:

- разработку государственной системы фитосанитарного мониторинга посевов ГМ-культур, хранение урожая и последствия использование для пищевых и кормовых целей продуктов их переработки; таким мониторингом должны охватываться все импортируемые ГМ-продукты и ГМ-культуры;
- исследование последствий переноса R-генов; получение в разных гео-климатических условиях достоверных данных по влиянию ГМ-культур на долгосрочную динамику популяций фитофагов и их хищников, на основных возбудителей заболеваний и сорняков и на смену доминирующих видов;
- выяснение допустимых (безопасных) соотношений в посевах одной культуры сортов ГМ-культур и обычных;
- оценку пестицидного пресса на посевах ГМ-культур и его влияния на возникновение резистентных популяций подавляемых видов, возбудителей болезней и сорняков, обитающих на посевах традиционных сортов.

Необходимо создание государственной системы идентификации ГМ-культур и контроля за их использованием, а также установление мер от-

ветственности производителей и переработчиков ГМ-культур за нанесение вреда агроценозам, экосистемам и потребителям.

Когда говорят о широком распространении ГМ-культур в США, как примере для подражания, обычно умалчивают о том, что в США 25 показателей сельскохозяйственного производства находятся под жестким государственным контролем. Например, коммерческое использование *Bt*-защищенных культур было разрешено лишь при условии неукоснительного соблюдения стратегии сдерживания развития резистентности вредителей к *Bt*-токсинам. Возделывание гербицидоустойчивых ГМ-культур при наших технологиях может породить безответственное обращение с пестицидами. Сейчас отечественное сельское хозяйство теряет до 30 % всей продукции от несовершенства технологий, а в целом – до 100 млн зерновых единиц в год от низкого уровня фитосанитарного состояния. Уже сейчас скорость увеличения вредного воздействия антропогенных факторов вышла за пределы скорости приспособления к ним живых систем, в том числе агросистем.

Производство ГМ-культур в России экономически нецелесообразно. По расчетам В.А. Пухальского (Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН), только на поставке экологически чистых сельскохозяйственных продуктов Россия может заработать 100 млрд долл., сформировав при этом экологически чистые ландшафты.

России не только не готова к массовому внедрению в производство ГМ-культур, но и не готовится к этому.

Замечания по экономическим аспектам распространения ГМО

Р.А. Перелет

Института системного анализа Российской академии наук, Москва

Считается, что объем генетически модифицированной (ГМ) сельскохозяйственной продукции за 2003 г. вырос на 15 %. Это был седьмой по счету год, с ежегодным приростом такой продукции в мире более, чем на 10 %. Площади под ГМ-культурами в мире к 2004 г. составили 67 млн. га. Их выращивают около 7 млн. фермеров в 18 странах. 99 % площадей под ГМ-культурами находится в Аргентине, Бразилии, Канаде, Китае, США и ЮАР. В первую десятку стран также входят Австралия, Индия, Румыния и Уругвай. Наибольший прирост таких площадей – на 33% в 2003 г. – наблюдался в Китае и ЮАР (в основном, за счет ГМ-хлопка). Предполагается, что в ближайшие 5 лет ГМ-культуры займут площадь в 100 млн. га в 25 странах мира.

Противники ГМ-культур считают, что вышеприведенные цифры заведомо искажены, с пропагандистской целью убедить население планеты в (кажущемся) успехе ГМ-культур. Эти цифры маскируют растущее отторжение ГМ-продуктов, и неудачи с ГМ-культурами в таких странах, как, например, Индия, а также информацию об экологическом вреде. На самом деле, транснациональные биотехнологические кампании еще несколько лет назад предполагали гораздо более быстрое распространение ГМ-культур в мире. Однако, первое десятилетие коммерческого применения ГМ продукции показало, что в широких масштабах ее удалось внедрить лишь в США, Канаде и Аргентине.

Положительными сторонами ГМ-технологий их сторонники считают:

- увеличение сельскохозяйственной производительности и, таким образом, вклад в обеспечение глобальной продовольственной безопасности, производства кормов и волокнистой продукции;
- сохранение биологического разнообразия, так как ГМ технологии из-за высокой производительности требуют меньших сельскохозяйственных площадей;
- более эффективное использование внешних компонентов для более экономного сельского хозяйства и окружающей среды;
- возрастание стабильности сельскохозяйственного производства, что уменьшает страдания людей в периоды голода из-за значительной нагрузки на абиотические и биотические системы;

- рост экономических и социальных выгод и сокращение крайней бедности в развивающихся странах.

Противники ГМО все эти положения считают ошибочными.

Фермеры, переходящие на возделывание ГМ-культур, полагают, что они получают преимущества в росте урожайности, сокращении производственных факторов (сырья, удобрений) и конкурентоспособности по сравнению с обычными культурами. В 2003 г. глобальная рыночная ценность зерновых ГМ-культур составила 4,50 – 4,75 млрд. долл. США (в 2002 г. – 4 млрд. долл. США), или 15% объема мирового рынка растительной сельхозпродукции. Ожидается, что мировая стоимость ГМ-культур к 2005 г. составит не менее 5 млрд. долл. США (James, 2003). Импорт ГМ-сои в ЕС в 1998 г. был оценен в 1,5 млрд. долл. США.

Осторожный подход Китая к ГМ пищевым продуктам разочаровал американских фермеров, которые ожидали роста экспорта в Китай после того, как он присоединился к ВТО в начале 2002 г. Вместо этого, продажи сои Китаю (основной экспортной культуры) упали на 23% по сравнению с 2001 г. Это произошло в значительной степени из-за введенных Китаем длительных процедур испытаний и лицензирования.

Выращивание ГМО и использование ГМ-продуктов настороженно встречается как многими специалистами, так и населением, обеспокоенных вопросами обеспечения безопасности продовольствия для потребителей, воздействием ГМО на окружающую среду и этическими соображениями. Эта оппозиция наиболее сильна в Европе, но в последние годы стала заметна также в развивающихся странах. В настоящее время, Европейский союз (ЕС) допускает импорт только двух широко распространенных ГМО – *Bt*-кукурузы (устойчивой к сельскохозяйственным насекомым) и стойкой к гербициду глифосату сои. Политика ЕС эволюционирует под влиянием широкой дискуссии по опасностям ГМО в сторону возможного запрещения использования ГМ-семян и импорта ГМ-продуктов. Последствия такой политики могут быть серьезными. В центре дискуссий по ГМО находятся вопросы, каковы экономические, социальные и этические выгоды и затраты, связанные с ГМ-продукцией? Выгоды могли бы включать улучшение экологической ситуации от сокращения химикатов, получение с помощью биотехнологий растений с желательными характеристиками и расширение запасов продовольствия. Издержки могут включать опасности, связанные с небезопасной сельхозпродукцией, а также негативные последствия распространения ГМ-продуктов, если ГМ-технологии возьмут на вооружение крупные фермеры или транснациональные корпорации. Этические соображения связаны с тем, что генная инженерия расширяет вторжение людей в природные процессы, идущее далеко за пределы обычного растениеводства.

Согласно опросам Департамента сельского хозяйства США, до 75% фермеров считают, что основной причиной перехода на ГМ культуры были ожидания роста урожая и, соответственно, прибылей. При этом выделяются пять факторов:

1. Увеличение максимального урожая.

2. Увеличение экономически оптимального урожая.
3. Снижение стоимости выращивания, при неизменном урожае.
4. Улучшение качества продукции.
5. Меньший риск изменения продажной цены.

Однако трудно точно определить экономическую выгоду ГМ-культур. Семена ГМ-культур стоят дороже обычных семян (плата за новые технологии): в США в 1998 г. мешок ГМ-кукурузы стоил 30 долл. США, сои – 5 долл., что на 20 – 30% дороже семян обычных сортов. В Европе, в среднем, стоимость ГМ-семян оказалась на 35 % дороже обычных: 57 евро/га для ГМ-сои по сравнению с 42 евро/га для обычной сои (данные ЕС за 2000 год).

Агротехнически более удобное (простое) выращивание ГМ-культур, оказалось, сложно оценить в трудозатратах, так как требуются новые навыки для их выращивания. Прибыль при сбыте ГМ продукции зависит от урожайности и рыночных цен. Урожайность зависит от многих факторов и их не всегда просто учитывать и сравнивать (Табл. 1).

Таблица 1. Различия в урожайности обычной и ГМ-сои в США (Benbrook, 1998)

Штаты	Урожайность (т/га)		Различие, %
	Обычная соя	ГМ - соя	
Иллинойс	3,9	4,04	+3,5
Айова	4,10	3,83	- 7
Мичиган	4,44	4,30	- 3
Миннесота	4,44	4,10	- 8
Небраска	3,90	3,43	-12
Огайо	4,04	3,90	-3
Южная Дакота	3,30	2,96	-10
Висконсин	4,77	4,64	- 3

Как видно из приведенных в табл. 2 данных, в среднем, урожайность ГМ-сои заметно ниже. В отношении стоимости гербицидов следует отметить, что их применение в США началось в 1960-х гг. и достигло максимума в 1994 г., когда примерно 72% площадей под соей обрабатывались гербицидами. По данным представленным в докладе ЕС по ситуации в Америке, примерно 27 % фермеров высказывались за ГМ-сою из-за меньших расходов на гербициды (на 30–35 €/га).

Таблица 2. Сравнение доходности производства обычно и ГМ-сои (European Union, 2000).

Сорт	Урожайность (т/га)	Стоимость семян (€/га)	Полная стоимость (без земли и труда) (€/га)	Доходность земли/труда (€/га)
ГМ	3,295	57	254	320
Обычная	3,430	42	274	322

Примерно такие же результаты были получены при оценке расходов и прибыли для кукурузы и рапса.

Стратегия маркетинга биотехнологических компаний была прежде всего направлена на работу с фермерами, которые заинтересованы с сокращении расходов на выращивание урожая сельскохозяйственных культур. В отношении культур, устойчивых к гербицидам, стратегия маркетинга была основана на концепции “технологического пакета” – комплексной цены за ГМ-семяна и гербицид. Проводилась широкая рекламная компания по преимуществам ГМ-культур в «кукурузном поясе» США. Компании направляли своих представителей на поля, обеспечивая коммерческую и техническую помощь фермерам, таким образом, формируя новые ожидания прибыли у фермеров.

Сложнее оказалось работать с потребителями ГМ продукции, которые стали выражать большую озабоченность безопасностью ГМ продуктов питания. Кампании против ГМ-продуктов начались с середины 1990-х годов. В 1997 г. были проведены первые глобальные кампании против ГМ продовольственных товаров. Несмотря на это, число выступающих против ГМ-продукции в Европе снизилось от 54% в 1997 г. до 43% в 2000 г. Источниками информации по ГМ-продукции стали, прежде всего, ассоциации потребителей (26% опрошенных получали информацию от них), затем медики (24%) и экологические организации (14%). Подавляющее большинство населения Европы выступает за необходимость специальной маркировки ГМ продукции.

В ЕС основная стратегия по отношению к ГМ-продукции – отказ или ограничение ГМ продуктов питания. Чтобы удовлетворять спрос, в США и Канаде некоторые торговые компании и компании пищевой промышленности начинают отделять ГМ-культуры от традиционных культур. Помимо такого разделения становится все более популярной концепция «сохранения подлинности» (СП, «Identity Preservation»), т.е. незагрязненности ГМ источниками, и маркировки ГМ-продуктов.

Были выявлены три различных подхода к определению подлинности сельскохозяйственной продукции в ЕС (доклад ЕС, 2000):

- добровольное определение СП в отношении определенных свойств ГМО;
- добровольное определение СП для продукции без ГМО;
- обязательное определение СП для ГМ продукции.

Анализ «сохранения подлинности» составляет примерно 6–17% фермерской цены урожая в зависимости от культуры и это именно фермерская цена, по которой они продают свою продукцию (так называемая farm gate prices).

Развитие ГМ-индустрии (включающей и ГМ-хлопок), проходит на фоне значительной озабоченности отсутствием должных знаний о ее долговременных последствиях для здоровья человека и экосистем. В этой связи большое внимание уделяется принципу предосторожности в экономическом развитии.

В соответствии с принципом предосторожности, изложенном в Принципе 15 Декларации Рио по окружающей среде и развитию, целью Протокола по биобезопасности (<http://www.biosafety.ru>) к Конвенции о биологическом разнообразии (2000 г.), является обеспечение адекватного уровня защиты в области безопасной передачи, использования и применения любых ГМО, являющихся продуктом биотехнологии, и способных оказать неблагоприятное воздействие на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия. Протокол по биобезопасности распространяется на трансграничное перемещение, передачу, использование и применение любых ГМО, которые могут оказать неблагоприятное воздействие на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия, а также здоровье человека (Протокол не применяется к трансграничным перемещениям ГМ фармацевтические препараты).

ВТО до последнего времени не рассматривала социально-экономические риски, связанные с ГМО. В частности, то, что экспорт ГМО может привести к исчезновению традиционных культур и подрыву местных культурных традиций в странах-импортерах. В то же время, некоторые соглашения в рамках ВТО, включая Санитарное и Фитосанитарное Соглашение (SPS), Технические барьеры торгового соглашения (TBT) и Соглашение об интеллектуальной собственности в сфере торговли (TRIPS), содержат пункты, посвященные проблеме биобезопасности.

Похоже, что компании, использующие ГМ-продукты, стремительно теряют европейские рынки. Вслед за “Макдональдсом” ГМ-овощи отказываются покупать другие сети “быстрого питания” («fast food»). Все большее распространение в Европе и на других континентах получает движение «slow food» (буквально – «неспешное питание», – основанное на выращивании и использовании в производстве экологически чистых продуктов). Отражая эти тенденции, в США площади, засеянные ГМ-кукурузой уменьшились на 22 %, ГМ-соей – на 15% (<http://www.zol.ru/review/preview.php?newsid=2401>). Не исключено, что именно поэтому производители ГМО особенно активно в последние годы стремятся в Россию.

Литература

- Картаженский Протокола по биобезопасности. <http://www.biosafety.ru>
- ФК-Новости от 22.12.2003. <http://www.zol.ru/review/preview.php?newsid=2401>
- Benbrook, Charles. 1999. "Evidence of the Magnitude and Consequences of the RoundUp Ready Soybean Yield Drag from University-Based Varietal Trials in 1998." AgBiotech InfoNet Technical Paper No. 1.
- European Union. 2000. Economic Impacts of Genetically Modified Crops on the Agri-Food Sector. Working document Rev. 2 Directorate-General for Agriculture. European Union. <http://europa.eu.int/comm/agriculture/publi/gmo/fullrep/intro.htm>
- GMO Economics and Politics The Economics and Politics of Genetically Modified Organisms in Agriculture: Implications for WTO 2000. Bulletin 809, November 1999, University of Illinois College of Agricultural, Consumer and Environmental Sciences
- James C. 2003. Global Status of Commercialized Transgenic Crops: <http://www.agbiotech.net>, http://www.isaaa.org/Press_release/Briefs30-2003/es_b30.pdf
- Oplinger, Ed. 1998. "Performance of GMO's in Northern US." University of Wisconsin-Madison: Department of Agronomy
- The Scientist, 2004, Jan 14, www.the-scientist.com
- Third world network biosafety information service, 3 October 2002, twnet@po.jaring.my
- Wilson, Bill. 1999. Economic Strategies for Coexistence: Testing, Tolerances and Segregations in GM Crops. USDA/IFAS meeting in Coexistence, Minneapolis, November 28, 2001

Особенности патентной охраны пищевых продуктов, полученных от трансгенных организмов в России и за рубежом

Е.Б. Гаврилова

Федеральный институт промышленной собственности при Федеральной службе по интеллектуальной собственности, Москва

В процессе проведения данного исследования был осуществлен сбор и анализ патентной документации РФ и ведущих промышленно развитых стран мира в период 1985–2001 гг., относящейся к пищевым продуктам, полученным из генетически модифицированных (ГМ) источников, а также содержащих ГМ-добавки.

Для сбора и анализа патентной документации были просмотрены 3127 патентных документов по следующим рубрикам Международная Патентная Классификация 7 редакция: C12N15/00-15/62, A01H1/00-17/00, A01K67/00, A01J15/00, 25/00, A21D2/00-17/00, A23C1/00-23/00, A23D 7/00-9/06, A23G 1/00-9/30, A23J 1/00-7/00. Было отобрано 287 патентных документа, имеющих отношение к трансгенным организмам. Из них 62 имели отношение к пищевым продуктам, полученным из ГМ-источников, или содержащими их. Все отобранные патенты были выявлены только в рубриках, относящихся к новым видам растений и животных (A01H и A01K).

На Рис. 1 представлена динамика патентования трансгенных пищевых продуктов с 1985 по 2001 годы.

Первый всплеск изобретательской активности приходится на 1996–1997 гг., второй – на 2001–2002 гг.

Основными компаниями, занятыми исследованиями в области трансгенных культур являются: «Монсанто», «Дюпон», «Доу» (США); «Зенека» (Великобритания); «Новартис» (Швейцария), «Рон-Пуленк-Агро» (Франция), «Агрево» (группа Хехст, Германия).

Наибольшую активность проявили заявители США (38%), затем Японии (21%), Германии (12%), Великобритания (8%), Нидерландов, Италии, Швейцария и Швеция (по 1%), остальные страны (17%). Основными фирмами-заявителями при патентовании Европатента являются: Genentech (22%),

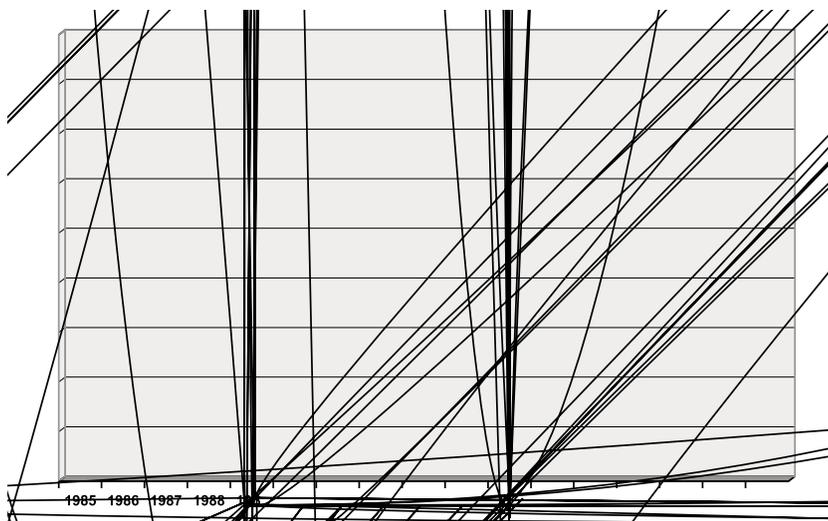


Рис. 1. Динамика патентования трансгенных пищевых продуктов.

Novo-Nordisk (20%), Hoechst (15%), Eli Lilly&Company (12%), Chiron (9%), Gist-Brocades (7%), Merck&Co, Amgen (4%), Genencor (3%), ZymoGenetics (1%), Biogen Inc. (1%), Pioneer Hi-Bred International (1%), а также университеты различных стран (5%).

При патентовании изобретений связанных с ГМО на территории РФ основными заявителями являются заявители США (52%), России (16%), Германии (7%), Японии (6%), Нидерландов (4%), Канады (2%), Швейцарии (2%), остальные страны (11%). Значительное число заявителей России при патентовании исследуемых изобретений в Российской Федерации можно объяснить как высоким потенциалом отечественных биотехнологов, так и высокой стоимостью патентования в зарубежных странах.

Основными Российскими заявителями при подаче заявки на патент РФ являются ГНЦ «Вектор» (40%), Башкирский медицинский институт (30%), ГНЦ Прикладной микробиологии (12,5%), Волгоградский противочумной институт (12,5%).

Основными иностранными фирмами-заявителями при подаче патентов РФ в исследуемой области являются «Рисерч Девелопмент Фаундейшн», США (30%), «Новартис», Швейцария (13%), «Гист-Брокейдс», Нидерланды (10%), «Санкио», Япония (9%), «Апплайд Резеч Системс», Нидерланды (8%), «Займодженетикс», США (7%), «Эли Лилли», США (7%), «Коннот лабораториз Лмд.», Канада (6%), «Пайонир Хай Бред Интерн.», США (4%), «Фармация энд Апджон», Италия (3%), «Хехст», Германия (3%). Названия фирм представлены в транслитерации Патентного ведомства РФ.

При анализе указанных фирм следует отметить, что они являются широко известными биотехнологическими фирмами, специализирующимися на разработке и выпуске биотехнологической, а не пищевой продукции.

Патентный закон РФ не признает патентоспособными генетически измененные растения, животные и трансформированные клетки. В то же время практика Российского патентного ведомства не исключает возможности выдачи патента на способы получения трансформированных биологических объектов, предоставляя, таким образом, указанным изобретениям косвенную охрану.

Охрана пород животных и сортов растений в Российской Федерации осуществляется, в основном, в рамках закона Российской Федерации "О селекционных достижениях". Однако, трансгенные растения и животные составляют особую группу живых организмов, которые отличаются от аналогичных организмов живой природы, и не могут быть отнесены к новым сортам или породам. Они представляют собой результат особых технических манипуляций с природным материалом, которые невозможно осуществить в природных условиях методами традиционной селекции.

Для реализации права потребителей на соответствующую информацию о содержании ГМ-компонентов в РФ с 01.07.2000 г. введена обязательная маркировка такой продукции. Маркироваться должны все трансгенные продукты, в которых генетически модифицировано более 5 %.

Выявление признаков, достаточных для идентификации ГМ-продуктов питания.

Самостоятельной защиты трансгенного пищевого продукта или способа его получения в отобранных патентных документах не выявлено. Защиту пищевого продукта как такового, или композиции ингредиентов, включающих в своем составе данный продукт осуществляют в составе группы изобретений, направленных на создание трансгенного растения или животного, или их частей.

В качестве примера на пищевой продукт, полученный от трансгенного растения можно привести патент РФ №2143496, дата публикации 27.12.1999, С12N15/82, А23L 3/3562, выданный на "Продуцирование трегалозы в растениях", который содержит следующую формулу изобретения.

1. Нуклеиновая кислота, которая при экспрессии в растении или растительной клетке приводит к увеличению содержания тригалазы в указанном растении...

2. Способ получения растения с повышенной способностью к продуцированию трегалозы, отличающийся тем, что....

9. Способ получения трегалозы, включающий стадии выращивания растений, содержащих нуклеиновую кислоту по п.1, в условиях, способствующих продуцированию трегалозы, сбора указанного растения и выделения трегалозы.

10. Применение трегалозы, полученной по п.9 в изготовлении пищевых продуктов.

В качестве следующего примера можно привести заявку № 95115683/13, опубликованную 20.07.1997, в которой заявлен “Способ получения трансгенных растений, ДНК-конструкция, клетка, трансгенное растение, ткань, применение трансгенных растений, фруктаны, применение фруктанов, трансгенные семена, репродуцируемая структура” со следующей формулой изобретения.

1. Способ получения трансгенных растений, имеющих распределение фруктана в своих тканях и клеточных компартментах другое, чем его распределение в нетрансформированных растениях, отличающийся тем, что осуществляют получение ДНК-конструкции, содержащей один или несколько генов фруктозилтрансферазы или их модифицированных вариантов соответствующим образом сшитых с последовательностью промотора, являющимся активным в растении, и последовательностью терминатора, являющимся активным в растении, трансформацию клетки растения с использованием указанной конструкции, регенерацию трансгенного растения из трансформированной растительной клетки.

13. ДНК-конструкция для получения трансгенных растений, которая включает один или несколько генов фруктозилтрансферазы или их модифицированных вариантов, соответствующим образом сшитых со специфической последовательностью промотора и терминатора растения.

16. Клетка трансгенного растения, включающая ДНК-конструкцию по п.13,14 или 15.

17. Трансгенное растение, продуцированное способом по любому из пунктов 1–12 и включающее ДНК-конструкцию по п.13–15.

21. Применение трансгенного растения по п.18 для продуцирования фруктанов.

22. Применение трансгенного растения по п.17 в качестве пищевого продукта.

23. Фруктаны, выделенные из трансгенного растения по п.17.

24. Применение фруктанов по п.23 в изготовлении низкокалорийных пищевых продуктов.

В качестве примера на пищевой продукт, полученный от трансгенного животного можно привести патент РФ № 2095414, дата публикации 10.11.1997, С12N15/79, С12N15/84, С12N5/89, выданный на “Трансген для получения рекомбинантного полипептида в молоке трансгенных коров, способ получения трансгеной коровы (варианты), молоко от трансгенной коровы, пищевой состав” со следующей формулой изобретения.

1. Трансген для получения рекомбинантного полипептида в молоке трансгенных коров, содержащий по меньшей мере фрагмент с 51 - фланкирующей последовательностью гена -S1 - казеина, включающей промотор и энхансер ..., при этом трансген обеспечивает экспрессию секреторно-рекомбинантной ДНК последовательности в секреторных клетках молочной железы коров и рожденной телочки...

20. Способ получения трансгенной коровы, содержащей рекомбинантный полипептид в продуцируемом ею молоке, включающий метилирование трансгена по п.1.

23. Молоко от трансгенной коровы, содержащее рекомбинантный полипептид, продуцируемое трансгенной коровой, полученной по способу, описанному в п.20.

34. Пищевой состав, включающий трансгенное молоко, содержащее рекомбинантный полипептид, продуцируемое трансгенной коровой, полученной по п.20.

Форма защиты пищевого продукта в остальных отобранных патентах практически не отличается от приведенных выше.

Поскольку данное направление в пищевой промышленности развивается, это в свою очередь приведет к увеличению количества заявок на патенты, в которых в качестве исходного сырья будет использовано ГМ-сырье, необходимо выработать единый подход к вопросу отбора признаков для идентификации пищевого продукта, полученного от трансгенного растения или животного.

Для характеристики пищевого продукта или композиции ингредиентов, включающих в своем составе пищевой продукт, используют признаки, которыми охарактеризовано заявленное трансгенное растение или животное. При этом однозначно охарактеризовать в формуле изобретения биотехнологический объект достаточно сложно. Так, для характеристики пищевого продукта, полученного от ГМ-растения, наиболее часто встречались признаки, характеризующие наличие в растении модифицированного элемента генома, затем признаки, характеризующие возможность получения растения в результате целенаправленной модификации его генома, и признаки, характеризующие приобретаемые при этом свойства. То есть в каждой формуле изобретения было показано, что именно подверглось изменению в растении, каким генетическим материалом, химическим или физическим агентом было трансформировано растение, а также какие свойства растение приобрело в результате такой трансформации.

К специфическим признакам, указывающим на то, что именно подверглось модификации в растении, следует отнести, например, наличие в составе растения морфологического элемента с измененным геномом, придающего ему определенные свойства, а также наличие в растении введенного измененного геномного элемента, или модифицированного в нем.

К признакам, раскрывающим средства и методы воздействия, позволяющие получить ГМ-растение, следует отнести целенаправленную модификацию его генома, трансформацию морфологического элемента, а также регенерацию из трансформированного морфологического элемента. Морфологический элемент был указан как обобщенно, например, клетка растения, орган фрагмент, часть, ткань, так и конкретно, например, плод, семя, корневая система, палеца. Генетический материал был представлен фрагментом нуклеиновой кислоты, кодирующую часть гена, геном, вектором, микроорганизм и др.

При анализе отобранных документов, содержащих описание продуктов питания, полученных от ГМ-животных, установлено, что данные продукты питания, содержат белки и ферменты, которые обычным животным того же рода и вида в природе не вырабатываются. Например, в патенте РФ №2085587, дата публикации 27.07.1997, С12N15/63, описана трансгенная овца способная продуцировать фермент, используемый при приготовлении сыра.

При отборе признаков для характеристики пищевых продуктов, полученных от ГМ-животных было установлено, что наиболее часто встречались признаки, характеризующие ген (ДНК), трансформированный в геном животного, кодирующий или экспрессирующий целевой продукт, а также указание на приобретаемые трансгенными животными свойства, которые являются новыми для данного вида, породы животных. В анализируемых формулах, как правило, присутствовало назначение (в случае животного продуцента), а также продуцируемый трансгенным животным продукт, отличающийся от натурального и используемый в качестве пищи, биологического компонента или лечебного свойства.

Все перечисленные выше признаки являются необходимыми для идентификации пищевого продукта, полученного от трансгенного животного, поскольку структуру продукта нельзя считать установленной только на основании знания введенной в клетку полинуклеотидной последовательности, поскольку в процессе экспрессии в чужеродной клетке со структурой, закодированной в последовательности ДНК, могут произойти непредсказуемые изменения.

Данный отбор признаков полностью соответствует пунктами 23 и 24 Директивы ЕС, из которых следует, что последовательность ДНК может быть запатентована, если ее функция раскрыта. Это означает, что в случаях, когда генная последовательность используется для получения протеина, должно быть уточнено, какой протеин производится, и какие функции он осуществляет.

Факторы оценки новизны и изобретательского уровня ГМ-продуктов.

В соответствии с прецедентным правом, широко используемым в Европейской патентной конвенции (ЕПК, 05.10.1973 г.) при оценке "новизны" генетически модифицированных пищевых продуктов следует отказаться от ограничительного подхода к толкованию используемых терминов. При этом следует применять так называемый подход использования всего содержания, включающий в себя интерпретацию, которую специалист в данной области может произвести на основе знаний предшествующего уровня техники.

При анализе заявленного изобретения на его соответствие условию патентоспособности «изобретательский уровень», следует учитывать следующее. В США аргументом, являющимся определяющим для того, чтобы трансгенные продукты не подвергались маркировке является принцип «су-

щественной эквивалентности», согласно которому ГМ-продукты по потребительским и технологическим свойствам ничем не отличается от обычных. Если принять такой подход при рассмотрении заявок, то, в соответствии с теорией эквивалентов, замена обычного картофеля на трансгенный в получаемом пищевом продукте не будет соответствовать условию патентоспособности «изобретательский уровень».

В качестве примера может быть приведена заявка на патент РФ № 97121503, заявитель «Национал Рисерч Кансил оф Канада» на “Модификация липидов растений и масел семян путем использования дрожжевых генов SLC” со следующей формулой изобретения.

1.Плазмида SLC1-1/р., содержащая дрожжевой ген SLC1-1, имеющий нуклеотидную последовательность STQIDNO:1.. или нуклеотидную последовательность STQIDNO:3...

3.Способ получения трансгенного растения....

5.Способ выделения съедобного или несъедобного масла из маслосодержащих семян растений, заключающийся в том, что выращивают маслосодержащее растение, собирают его семена и экстрагируют масло из вышеуказанных растений, отличающийся тем, что вышеуказанные растения является трансгенным, полученным способом по п.3 в геном которого внесен дрожжевой ген дрожжевой ген SLC1-1, имеющий нуклеотидную последовательность STQIDNO:1.. или дрожжевой ген SLC1-1, имеющий нуклеотидную последовательность STQIDNO:3...

Из данного примера видно, что способ выделения масла не претерпел никаких изменений по сравнению с традиционным его извлечением. В данном случае произошла замена сырья традиционного на трансгенное, однако это не внесло никаких изменений в известную технологию. Таким образом, независимый пункт формулы, относящийся к способу извлечения масла из маслосодержащего сырья нельзя рассматривать как соответствующий условию патентоспособности “изобретательский уровень”.

Такие же примеры можно привести на другие изобретения, касающиеся способа получения пищевого продукта, например, чипсов из картофеля, в котором происходит простая замена традиционного картофеля на трансгенный.

При оценке композиционной эквивалентности традиционного и трансгенного сырья проводят сравнение их химического состава. Кроме того, проводят сравнение содержания основных пищевых веществ, микронутриентов и минорных непищевых биологически активных компонентов. Сравнению подвергают также регламентируемое содержание токсичных и антиалиментарных веществ, характерных для данного вида традиционного сырья и привносимых в продукт генетической модификацией.

Так, например, при изучении композиционной эквивалентности двух линий ГМ-кукурузы: GA21 и MON810 фирмы «Монсанто» их традиционному аналогу была выявлена высокая степень их композиционной эквивалентности.

В настоящее время известно три модификации ГМ-сои. К первой модификации относится «Monsanto,s RaundapRedy» (RR), ставшая известной с 1994 г. и одобренная для использования в Аргентине, Бразилии, Канаде, ЕС, Японии, Корее, Мексике, Голландии, России, Швейцарии и Уругвае. Другой модификацией сои, разрешенной для использования с 1996 г. только в США является «AgrEvo,s glufosinate». К третьей, разрешенной с 1997 г. также только в США относится модификация «DuPont». ГМ-соя, независимо от ее модификаций по составу белков, отличается от традиционной на 74%, что не позволяет, в соответствии с методикой оценки композиционной эквивалентности, отнести ее к категории продуктов эквивалентных традиционным.

В зависимости от технологии переработки ГМ-сырья, некоторые продукты их переработки могут не содержать измененный белок или ДНК, поскольку он либо разрушается, либо в конечный продукт измененный белок или ДНК не переходит. Такие продукты переработки ГМ-сырья могут считаться эквивалентными полученным из традиционного сырья. Например, из ГМ-сои, в зависимости от технологии выделения, можно получить масло или лецитин как содержащие, так и не содержащие ГМ-компоненты. Соответственно, пищевые продукты, содержащие такое масло, например, маргарин или майонез, также будут трансгенными или традиционными. То же относится к мороженому или шоколаду, содержащему трансгенный или традиционный лецитин. Вместе с тем, шрот из сои всегда будет содержать ГМ-компоненты. Следовательно, выделенный из него белковый изолят, который вносят в готовые супы, пищевые концентраты, колбасные изделия и т.д. всегда будет вносить в эти продукты ГМ-компоненты. То же относится к кормам и фуражу, полученному с использованием соевого шрота.

Анализ зарубежного законодательства по использованию ГМ- материалов в продуктах питания.

ЕПК предусмотрена защита фармакологических продуктов, пищи и продуктов, производимых химическим путем, а также продуктов, производимых биотехнологическим путем и микроорганизмами. Согласно этой Конвенции, защита новых сортов растений и пород животных исключена из патентной охраны. Для сортов растений могут быть установлены специальные системы защиты. Например, защита сортов растений может осуществляться в соответствии с Конвенцией о Союзе в защиту новых видов растений (UPOV, 1991 г.), которая признает суверенное право каждой страны на свои биологические ресурсы.

Будапештский договор (28.04.1977 г.) о депонировании штаммов микроорганизмов для целей патентной процедуры, предназначен для решения проблемы использования изобретения, основанного на биологическом материале, или представляющего собой биологический материал, и воспроизводства изобретения, а также для решения проблемы раскрытия изобретения до подачи заявки. Принятие Будапештского договора потребовало от стран-участниц внести коррективы в патентное законодательство, касающееся депонирования биологического материала.

Целями Конвенции о биологическом разнообразии (Рио-де-Жанейро, 05.06.1992 г., подписана 150 странами) являются сохранение биологического разнообразия, устойчивое использование его компонентов и совместное получение на справедливой и равной основе выгод, связанных с использованием генетических ресурсов, в том числе, путем предоставления доступа к генетическим ресурсам и надлежащей передачи соответствующих технологий, с учетом всех прав на такие ресурсы и технологии. При этом «биологические ресурсы» включают генетические ресурсы, организмы или их части, популяции или любые другие биологические компоненты экосистем, имеющие полезность или ценность для Человечества. Основной принцип Конвенции: государства имеют суверенное право разрабатывать свои собственные ресурсы согласно своей политики в области окружающей среды, и несут ответственность за то, чтобы деятельность в рамках их юрисдикции, или под их контролем, не наносила ущерба окружающей среде за пределами действия национальной юрисдикции.

Соглашение о торговых аспектах прав на интеллектуальную собственность (TRIPS) является результатом многосторонних торговых переговоров Уругвайского раунда и представляет собой одно из важнейших международно-правовых инструментов в области прав интеллектуальной собственности. В соответствии с Соглашением, каждая страна сама решает вопросы, связанные с признанием или выдачей патентов на растения, животных или на необходимые биологические процессы их получения.

Директива 98/44/ЕС Европарламента и Совета от 06.07.1998 г. «О правовой защите биотехнологических изобретений» устанавливает, что страны-члены обязаны защищать биотехнологические изобретения согласно национальному патентному праву, которое, при необходимости, должно быть урегулировано в соответствии с положениями настоящей Директивы. Директива не должна препятствовать выполнению международных обязательств стран-членов, и, в частности, по TRIPS и Конвенции о биологическом разнообразии. В Директиве дано определение «биологического материала», как любого материала, содержащего генетическую информацию, способного к самовоспроизводству, или воспроизводимого биологической системой. При этом «биологический материал», который изолирован из окружающей природной среды, или получаемый посредством технического процесса, может служить предметом изобретений.

Положения Директивы нашли отражение в Инструкции к Конвенции о выдаче Европейских патентов, которой предусмотрена охрана биологического материала, трансгенных растений и животных. Патентные законодательства США и Японии также допускают охрану указанных объектов.

В настоящее время в Евросоюзе допущены для распространения только два вида ГМ-растений – соя и кукуруза. На ввоз и продажу остальных продуктов введен мораторий на 3 года. В США, Австралии, Новой Зеландии и Канаде не предусмотрена обязательная медико-генетической экспертиза с последующей маркировкой ГМ-продуктов. Это положение соответствует Соглашению Уругвайского раунда по сельскому хозяйству, которым подтверждается право стран устанавливать собственные стандарты в области здравоохранения и безопасности, в том числе продовольственной.

Из сказанного следует, что существующие международные нормы регулирования охраны биотехнологических объектов предоставляют странам мира право решать вопросы, связанные с патентованием в области биотехнологии, на национальном уровне в соответствии с национальными морально-этическими нормами.

Под эгидой ООН была предпринята попытка согласовать многосторонний документ, который бы регулировал процессы торговли ГМ-продуктами. Переговоры по Протоколу о биологической безопасности проходили в Картахене в 1999 г. с целью предотвращения негативного воздействия на окружающую среду ГМ-продуктов. Сам факт ведения переговоров означает проявление озабоченности стран последствиями быстрого развития и распространения биотехнологии, признание возможности торговли генетически измененными продуктами и стремление создать некое руководство по ее ведению, с учетом аспектов безопасности продуктов питания и охраны окружающей среды. Идея Картахенского протокола (применительно к торговле), заключалась в том, чтобы создать систему поставки генетически измененных продуктов с предварительного согласия импортирующей страны после проведения предварительной оценки воздействия этих продуктов на окружающую среду и представления ее правительству страны импортера.

Во всех промышленно развитых странах созданная новая фармацевтическая продукция не может быть введена в торговый оборот без специального разрешения. Такое разрешение выдают только после проведения соответствующих опытов и апробаций, на которые уходит, как правило, несколько лет. Поэтому для защиты прав разработчиков новых видов продукции срок действия патента может быть продлен по запросу, но не более, чем на пять лет.

Так, в США в 1984 г. впервые ввели продление срока действия патента на изобретения в области фармацевтики и медицины. В настоящее время это распространяется также и на продукты питания. Япония ввела в 1988 г. продление срока действия патента на изобретения в фармацевтической и химической отрасли. В 1992 г. Европейское экономическое сообщество представило гарантии введения свидетельства дополнительной охраны на медицинские продукты. При этом срок продления действия таких патентов в разных странах определяется по разному.

Заключение

ГМ-продукты можно разделить на три категории:

1. Продукты, содержащие ГМ-источники в виде пищевой добавки (в основном, из трансгенной кукурузы и сои). Эти добавки вносят в пищевые продукты в качестве структурирующих, подслащивающих, красящих веществ, а также в качестве веществ, повышающих содержание белка.
2. Продукты, непосредственно изготовленные из трансгенного сырья, (например соевый творог, соевое молоко, чипсы, кукурузные хлопья, томатная паста).
3. Трансгенные овощи и фрукты, непосредственно употребляемые в пищу.

ГМ пищевые продукты относятся к продуктам, использование которых может создавать потенциальную опасность для жизни и здоровья людей, путем возникновения:

- мутаций, в связи с образованием новых веществ в пище в процессе технологической обработки ингредиентов, входящих в состав пищевого продукта;
- развитие ранее неизвестных аллергических реакций;
- снижение питательной ценности пищи, полученной из ГМ-источников;
- переноса генов устойчивости к антибиотикам от ГМ-источников к патогенным бактериям.

При патентной характеристике пищевых продуктов, полученных из ГМ-растений необходимо показать, что именно подверглось изменению в растении, каким генетическим материалом трансформировано растение, какие свойства растение приобретает в результате такой трансформации (указание трансформирующего элемента в формуле изобретения является обязательным).

При патентной характеристике пищевых продуктов, полученных от ГМ-животных необходимо указать: ген (и/или ДНК), трансформированный в геном животного, кодирующий или экспрессирующий целевой продукт; приобретаемые признаки, не свойственные данному виду, породе животных; назначение (в случае животного производителя), а также продуцируемый ГМ- животным продукт, отличающийся от натурального, используемый в качестве пищи, биологического компонента или лечебного свойства.

Поскольку пищевая продукция, полученная из ГМ-источников, должна проходить обязательную гигиеническую экспертизу и государственную регистрацию, патенты на такие изобретения могут быть отнесены к той категории, срок действия которых может быть продлен не более, чем на пять лет. Указанный срок соответствует международной практике выдачи дополнительных свидетельств на фармацевтические продукты и средства защиты растений, и учитывает продолжительность гигиенической экспертизы в РФ (включающей специальные методы исследования на животных и клинические испытания на добровольцах), составляющую не более 3 лет.

Литература

- Федеральный закон РФ № 3517-1 «Патентный закон РФ» от 23.09.1992.
- Федеральный закон РФ № 86-ФЗ «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности» от 05.07.1996 г.
- Федеральный закон № 29-ФЗ «О качестве и безопасности пищевых продуктов», от 02.01.2000 г.
- Постановление Главного санитарного врача Российской Федерации № 7 от 06.04.1999 г. «О порядке гигиенической оценки и регистрации пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников».

- Постановление Главного санитарного врача Российской Федерации № 12 от 26.09.1999 г. "О совершенствовании системы контроля за реализацией сельскохозяйственной продукции и медицинских препаратов, полученных на основе генетически модифицированных источников".
- Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации № 13 от 08.11.2000 г. "О нанесении информации на потребительскую упаковку пищевых продуктов, полученных на основе генетически модифицированных источников".
- Методические указания МУК 2.3.2.970-00. «Медико-биологическая оценка пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников» 2000., Федеральный центр санэпиднадзора Минздрава России, М..
- Методические указания МУК 2.3.2.721-98 "Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище", утверждены Главным санитарным врачом РФ 15.10.1998 г.
- Абрамов В.А. 2000. Сертификация продукции и услуг. М., Изд. "Ось-89".
- Агуреев А.П., Фомичева Т.С., Кузенкова Н.В. 2001. О некоторых дополнительных возможностях, предоставляемых Патентным законом Российской Федерации для защиты объектов химии и биотехнологии. М. ИНИЦ Роспатента.
- «Безопасность России». 2000. Правовые, социально-экономические и научно-технические аспекты. Продовольственная безопасность. М.: МГФ "Знание".
- "Биотехнология и патенты". 2001. Сборник докладов семинара, Москва, 4–5 июня 2001 г.
- Блан М., Лакот К. 1999. Маркировка пищевых продуктов, полученных из генетически модифицированных организмов. «Партнеры и конкуренты», № 2, с.31–32.
- Донченко Л.В., Надыкта В.Д. 1999. Безопасность пищевого сырья и продуктов питания. М., Изд-во «Пищевая промышленность».
- Дудов В.И., Голиков А.Г., Потехин О.Е., Красовский О.А. 1999. Правовые вопросы межграницного перемещения генетически измененных живых организмов. «Биотехнология», № 6, с.80–85.
- Колесников А.П. 2001. Свидетельства дополнительной охраны на фармацевтические продукты и средства защиты растений. Изд. 2-е, исправленное и дополненное, М.
- Комаров В.И. 1996. Проблема безопасности пищевых продуктов. «Пищевая промышленность», № 2, с. 26–27.
- Нечаев А.П., Витол И.С. 1999. Безопасность продуктов питания. М.
- Онищенко Г.Г. 2001. О гигиенических и нормативных аспектах регистрации, маркировки и этикетирования пищевых продуктов, полученных из генетически модифицированных источников. «Вопросы питания», т. 70, № 2, с. 3–7.

- Орлов Д. 1999. Патентная охрана биотехнологических изобретений. "Ремедиум", № 11, с. 28–29.
- Орлов Д. 1999. Что день грядущий нам готовит. "Итоги", 08.06.1999 г.
- Патентование изобретений в области биологии по патентному закону ФГР и в рамках Европейской патентной конвенции. 2000. Дайджест российской и зарубежной прессы, «Патентное дело», № 5, с.31–35.
- Рыбальский Н.Г., Скуратовская О.Д., Старчеус А.П. 1990. Белки в биотехнологии: проблемы и перспективы защиты изобретений. М., Изд. ВАСХНИЛ.
- Силаева Т.П., Кочеткова А..А., Колеснов А..Ю. 1999. Трансгенные пищевые продукты: риск и перспективы. «Пищевая промышленность», № 10, с. 14–15.
- Шершнева Е.С., Ларионов В.Г., Скрыпникова М.Н. 1999. Требования к маркировке пищевых продуктов в США. «Пищевая промышленность», № 11, с. 58–59.
- Birks S. 2000. GM foods, a wider perspective. "World food watch", # 1, p. 37–39.
- Expert report on biotechnology and food. 2000., "Food Technol.", # 54, p.8.
- Mulongoy K. (Ed.). 1997. Trends of Commercialization of Products of Biotechnology. Transboundary Movement of Living Modified Organisms Resulting from Modern Biotechnology. Issues and Opportunities for Policy-Makers., Geneva, International Academy of the Environment, p.79–87.
- Revista R. 1999. Romana de proprietate industrială. # 2, p. 50–55.
- Tingey A. 2000. GM soya the analyst's perspective. "International food ingredients", # 5, p. 79–80.

Гражданское общество и ГМО. Совместимы ли эти понятия?

В.Б. Колесникова

Международный Социально-Экологический Союз, Москва

История общественного протеста. Мировая общественность начала выражать свое настороженное отношение к продуктам генной инженерии – генно-модифицированным организмам (ГМО) в 1996 г. Все началось с первого груза трансгенной американской сои, пришедшего в Европу. Старый Свет усмотрел в этом не только угрозу для своих производителей натуральных продуктов, окружающей среды и здоровья населения, но и наступление на права потребителя. «Корпорации, прочь от нашей тарелки», «Мы не хотим продуктов Франкенштейна», – такова была реакция потребителя на распространение ГМО. В итоге Европейский Союз первым в мире ввел маркировку на трансгенные продукты питания. Но этим дело не ограничилось.

В 1999 г. Евросоюз объявил мораторий на одобрение новых сельскохозяйственных сортов, произведенных на основе генной инженерии. В магазинах они по-прежнему продавались.

Однако 2000 г. стал поворотной точкой в европейской истории трансгенных продуктов. Из-за сильного прессинга потребителей, начавшегося в Великобритании и затем распространившегося на весь Евросоюз, крупнейшие производители (Danon, Kraft Foods, PepsiCo, Unilever) заявили об отказе от использования ГМО. От продажи ГМ-продуктов отказались в Западной Европе ведущие торговые сети – Tesco, Sainsbury, Summerfield, Marks&Spencer, Wal-Mart.

Крупных скандалов, когда производитель или продавец обвинялись в несоблюдении своих обещаний, в Евросоюзе пока не было. Во-первых, там существует система эффективного контроля, позволяющая установить наличие ГМО в продукции. Во-вторых, в европейских странах хорошо известен перечень ГМ-культур, переработкой которых занимаются ограниченное число корпораций.

В 2003 г. де-юре мораторий был снят, но де-факто летом того же года Евросоюз ужесточил требования к маркировке ГМ-продуктов: теперь необходимо помечать все товары, содержащие более 0,9 процента ГМО (это самое жесткое требование в мире). Также с 2003 г. в Евросоюзе маркируют все пищевые ингредиенты, произведенные из ГМ-культур (даже те, которые фактически не содержат ДНК: крахмал, лецитин, подсластители и т.п.).

Основные риски для общества. Россия в условиях формального снятия моратория на ГМ-продукты в Евросоюзе оказывается под ударом. Теперь у сторонников ГМО появился повод заявить, что даже Европа согласилась на ГМ-продукты. Однако те, кто владеют информацией, понимают, что это не так. В новых условиях российские общественные экологические и потребительские организации должны еще более остро поставить вопрос о маркировке продуктов питания, содержащих ГМО. О реальной и честной маркировке. Сегодня ни один потребитель не имеет возможности узнать, что именно он покупает и ест, несмотря на распоряжение Санэпиднадзора об обязательной маркировке ГМ-продуктов с 1 сентября 2002 г. Достоверной информации нет даже на этикетках детского питания, хотя еще в 2002 г. ГРИНПИС России выявил, что как минимум одна известная фирма использует ГМ-ингредиенты в своей продукции для маленьких детей.

Говоря о ГМО и гражданском обществе нужно обязательно учитывать, что в случае выращивания таких культур на полях России, мы будем подвергаться и другим (непотребительским) рискам. Согласно Конституции РФ каждый человек имеет право на благоприятную окружающую среду. ГМ-культуры будут влиять на ее состояние, так как это живые организмы, способные к размножению, скрещиванию, являющиеся частью пищевой цепи. Трансгенные посадки будут загрязнять обычные, так как пыльца с ГМ-культур может разлетаться и передавать различные новые «встроенные» признаки, например, урожаю дачника.

Большую озабоченность вызывают также и экономические последствия использования ГМО, так как контроль над глобальным продовольственным рынком вследствие патентования и использования ГМО приобретут несколько транснациональных корпораций. Внедрив ГМ-продукты, транснациональные гиганты получат контроль над мировым рынком продовольствия и возможность диктовать свои условия, лишив потребителя права выбора между продуктами, выращенными традиционным способом, и ГМ-продуктами.

В России этот процесс уже начался. В текст Патентной заявки внесены поправки, по которым трансгенный сорт растений или порода животных становятся объектом интеллектуальной собственности. При этом сорта, выведенные в результате обычной селекции, подобным образом не охраняются. Получается, что, вырастив якобы российский ГМ-картофель сорта «Невский», созданный в центре «Биоинженерия» РАН, ренту придется отдать американцам, поскольку им принадлежат права на встроенный ген.

Сторонники ГМО считают проблему трансгенов чисто научной. Но это не совсем так. Общество имеет определенные права и нужно отделять предпочтения ученых от интересов потребителя и гражданина. Можно бесконечно приводить научные доводы в пользу ГМ-продуктов. И уговаривать людей есть помидоры с генами рыбы. Однако имеет ли в данном случае наука право указывать, чем нам питаться и что выращивать? Выбирать, что есть и в какой среде жить – неотъемлемое право каждого человека, однако именно этого права пытаются лишить нас западные корпорации и, как ни печально, некоторые ученые.

Решения о разрешении ввоза в Россию, например, ГМ-продукции, о том, что она безопасна, принимались келейно, общественность узнала о них постфактум. Возможно, что после вступления в 2004 г. в силу ГОСТа на метод определения ГМО в продуктах питания обнаружится, что почти вся потребительская корзина содержит ГМО. Так, в Великобритании после введения маркировки выяснилось, что до 60% продававшихся там сои и соевых продуктов были генно-инженерными. Это стало одним из серьезных поводов для разворачивания в стране широкой кампании. По данным ГРИНПИС России, 30% продуктов питания, продающихся в Москве, содержат трансгены. В основном, это продукция с иностранными соевыми наполнителями. Поток соевого импорта продолжает расти. По таможенной статистике, импорт изолята соевого белка из США в 2003 г. возрос в 1,5 раза, а по сравнению с его импортом в 2000 г. – в 150 раз.

Значит ли это, что надо сдаться, смириться с тем, что ГМ-компоненты – везде? Именно на это рассчитана стратегия компаний-производителей ГМ-растений и ГМ-продуктов. Основную массу ГМ-продукции на российском рынке составляет соя. В основном – за счет ее использования в мясных изделиях и различных полуфабрикатах, ведь это дешевое сырье, позволяющее сохранить тот же объем продукции с большей выгодой для производителя.

Еще один аспект проблемы «гражданское общество – ГМО» – иностранная гуманитарная помощь. В последние годы Россия стала объектом внимания, в частности, благотворительных организаций, имеющих контакты с транснациональным биотехнологическим гигантом – компанией «Монсанто». В 1999 г. разразился скандал с продовольственной помощью с участием краснодарской ассоциации «Ассося». Ассоциация подписала контракт с неправительственной организацией США «Накормить детей» на ввоз продовольственной помощи в Краснодарский край для социальных учреждений. После разгрузки корабля в порту Новороссийска было обнаружено, что груз заражен сорняками. Исследование, проведенное расположенным в Краснодаре Институтом биологической защиты растений РАСХН также показало, что соя была трансгенная и поставлялась, разумеется, без маркировки (это было еще до официального разрешения на импорт ГМ-соя в Россию).

После неудачи на Кубани благотворители из «Накормить детей» перенесли за другие регионы. В 2001 г. в Великий Новгород и Белгород были направлены партии сомнительных соевых бобов. Судьба новгородской партии так и осталось неизвестной, предполагалось, что ее направили в социальные учреждения г. Пестово. А вот белгородский след обнаружился. Главный врач региональной СЭС остановил груз, его насторожило отсутствие полагающейся в таких случаях документации. Пытаясь выяснить, в чем дело, главврач несколько раз направлял запросы в Минздрав РФ, но ответа не получил. Не было никаких сомнений, что соя трансгенная, причем с высоким содержанием модифицированных бобов, однако груз не имел обязательной маркировки. По нашим данным, в итоге соя пошла на корм скоту. Ясно, что случаи такой «помощи» далеко не единичные, и в подобной ситуации люди оказываются абсолютно незащищенными.

Есть ли у общества возможность влиять на ситуацию? Число видов продукции, в которой может использоваться ГМО, все же ограничено. А значит, проблему обеспечения пищевой безопасности россиян (и предоставления им права выбора) хотя бы отчасти можно решить, либо запретив использование сои в качестве наполнителя в некоторых видах изделий, либо заменив импортную ГМ-соею на традиционную российскую.

Наличие или отсутствие ГМО в продукте рано или поздно будет влиять на прибыль производителя и в России. Уже сейчас многие производители, предположительно не использующие ГМО, осознали выгоду маркировки «не содержит ГМО». Маркировка такого рода стала появляться на ряде продуктов, содержащих сою, в том числе шоколаде с соевым лецитином, который не содержит ДНК.

По данным аналитических обзоров рынков продуктов питания количество россиян, внимательно относящихся к своей диете, неуклонно растет. Кампания «За биобезопасность» Международного Социально-экологического союза также проводила опросы покупателей в крупных магазинах Москвы. В среднем 80 процентов опрошенных заявляли, что не будут покупать продукт, если он будет содержать ГМ-компоненты.

Есть у российских НПО и опыт анкетирования компаний-производителей. Первый опрос проводился еще в 2001 г. в Москве. Пилотный проект охватывал основных производителей детского питания, в том числе для грудных младенцев. Крупные иностранные производители предпочли не отвечать. Большинство остальных ответили, что не используют ГМО. Тогда проверить это было сложно. Одну из таких компаний позднее тестировал ГРИНПИС. Оказалось, что ГМО в ее продукции есть. Можно предположить, что таковы будут результаты проверки и остальных компаний.

В 2001–2003 г.г. в России проводился ряд региональных опросов, самым громким из которых стал волгоградский. Анкетирование привело к конфликту между экологическими активистами и крупным региональным производителем, от его имени в адрес одного из них поступали угрозы, активисты были вынуждены обратиться за помощью в Министерство внутренних дел РФ.

Проблема ГМО – вопрос здоровья и безопасности не только общества и государства, но и личности. В этом люди обычно не склонны доверять бизнесу (это уже несколько лет назад отмечала в своей секретной записке самая известная PR-компания США Burson-Marsteller, анализируя ситуацию для одной из дочерних компании корпорации «Монсанто»). В этом смысле Россия похожа на большинство цивилизованных стран. У нее есть реальная возможность привлечь общественное мнение и добиться если не запрета на ввоз ГМО, то, по крайней мере, жестких ограничений на распространение ГМ-организмов и ГМ-продуктов, и, естественно, добросовестной их маркировки.

«Монсанто» – скрытые риски

Н.Л. Олефиренко

ГРИНПИС-Россия, Москва

В 2003 г. известная американская консалтинговая фирма «Инновест Стратиджик Вэльго Эдвайзерс» (Innovest Strategic Value Advisors) проанализировала инвестиционные риски компании «Монсанто». Фирма «Инновест» считается одним из мировых лидеров в области аналитики финансового регулирования экологических и социальных вопросов. Рейтинговая шкала (от высшего «ААА» до низшего «ССС») используется инвесторами многих стран для снижения риска капиталовложений. После глубокого анализа направлений и результатов работы компании «Монсанто» ей был присвоен самый низкий рейтинг («ССС»), – показатель высокого инвестиционного риска и слабой системы управления. Настоящий материал подготовлен по материалам отчета Innovest Strategic Value Advisors.

Компания «Монсанто» (США) является мировым лидером по производству и продаже генетически модифицированных семян (в 2002 г. на 91 % площадей, засеянных трансгенными семенами в мире, использовался материал «Монсанто»). Основной целью компании является разработка и внедрение продуктов биотехнологий, прежде всего генетически модифицированных организмов (ГМО) для сельского хозяйства.

Работы по генной инженерии в «Монсанто» были начаты в 70-х годах, первый результат получен в 1982 г. Несмотря на активное продвижение на рынок ГМ-культур “Монсанто”, лишь 11 стран разрешили выращивание ГМ-растений: США, Аргентина, Канада, Китай, Австралия, Мексика, Румыния, Болгария, Индия, Гондурас, Колумбия. Стратегия компании преимущественно ориентирована на продаже ГМ-сои, кукурузы и пшеницы, устойчивых к большим концентрациям гербицидов, которые «Монсанто» поставляет в США и другие страны. Кроме того, компания занимается разработкой новых материалов для производства сельскохозяйственной и фармацевтической продукции.

Официальные представители «Монсанто» заявляют, что ее ГМ-продукция принесет экономическую выгоду фермерам, накормит голодных во всем мире и улучшит экологическую обстановку. Однако, преимущества использования ГМ-продукции могут быть сильно завышены. Например, недавние исследования проведенные по заказу Департамента сельского хозяйства США ставят под вопрос экономическую выгоду от использования ГМ-сои и кукурузы – двух наиболее продаваемых ГМ-продуктов.

Далее кратко рассматриваются основные группы рисков, выделяемых фирмой «Инновест» по отношению к компании «Монсанто».

Экологические риски и риски, связанные с угрозой человеческому здоровью. Неизбежность экологического заражения

Экологическое заражение неизбежно, т.к. практически невозможно предотвратить распространение пыльцы и семян ГМ-культур, переносимых ветром и другими естественными факторами на поля с традиционными культурами. Неизбежность заражения ГМО подтверждается целым рядом примеров.

В 2000 г. ГМ-кукуруза компании «Авентис» Стар Линк, не предназначенная для потребления человеком, была обнаружена в различных продуктах питания. После отзыва с рынка более чем 300 продуктов, содержащих данную кукурузу, компания «Авентис» понесла убытки почти в миллиард долларов. Кроме того, заражение продолжается, и трудно предсказать окончательную стоимость катастрофы с кукурузой Стар Линк.

ГМ-кукуруза, разработанная компанией «Продиджен» для производства свиной вакцины, заразила урожаи продовольственной сои и кукурузы в штатах Небраска и Айова и вынуждена была выплатить за это 3 млн. долларов. Однако и в этом случае угроза дальнейшего заражения сохраняется, т.к. ГМ-материалы могут до сих пор находиться в природе.

Поскольку «Монсанто» занимается производством продукции фармацевтического назначения, она умалчивает о неизбежности заражения. Даже если такие культуры будут выращиваться в закрытых условиях, например, в теплицах, заражение окружающей среды не исключается. И если некоторые потребители могут не возражать против ограниченного присутствия в продуктах питания компонентов ГМ-культур, мало кто согласится употреблять продукты, зараженные ГМ-компонентами фармацевтических культур.

Решая проблему экологического заражения, «Монсанто» не пытается снизить нагрузку на природные экосистемы, однако ищет при этом регулирующие нормы, которые признают и принимают заражение и допускают наличие остаточных количеств ГМ-заражения. Компания пытается убедить правительства, фермеров, производителей продуктов питания и потребителей в том, что они должны принять содержание ГМО (возможно, на уровне от 0,5 до 5 % ГМ-ингредиентов) во всех без исключения натуральных и традиционных (не ГМ) продуктах питания.

Если учесть, что содержание ГМ-ингредиентов может возрасти по мере роста объемов производства и продажи ГМ-продуктов, то выплаты за заражение окружающей среды могут привести к банкротству «Монсанто» и других подобных фирм. При этом решение проблемы борьбы с экологическим ГМ-заражением биосферы ляжет на плечи всего общества.

Риски, связанные с человеческим здоровьем

Многие ученые высказывают свои опасения по поводу использования ГМО в качестве источников продуктов питания. Национальная академия наук США отмечала, что большинство исследований, подтверждающих

безопасность ГМО, проводилось или финансировалось компаниями, занимающимися разработкой и продажей ГМ-материала. Поскольку такие фирмы напрямую заинтересованы в коммерциализации ГМО, подобные исследования не могут считаться объективными.

Не проводились исследования, отслеживающие несколько поколений ГМО. Многие считают, что использование ГМО может привести к непредусмотренным последствиям, таким, как появление новых токсинов и протеинов, вызывающих аллергические реакции и другие проблемы, связанные со здоровьем.

Одним из примеров непредусмотренных последствий может служить ген устойчивости к действию антибиотиков, используемый в производстве ряда ГМ-культур. Исследования показали, что такие гены могут передавать устойчивость бактериям пищеварительного тракта, делая их нечувствительными к действию клинически важных антибиотиков. Евросоюз (ЕС) решил отказаться от использования данного гена к 2008 году. Продовольственный комитет ООН КОДЕКС также рекомендовал отказаться от использования данного гена. Тем не менее, в США отсутствуют какие-либо программы по прекращению использования генов устойчивости к антибиотикам, и «Монсанто» игнорирует данный риск.

Этические проблемы

Этические проблемы сводятся к тому, что ГМ-бизнес продолжает ставить под угрозу генетическое здоровье обитателей биосферы. Созданное природой – более разнообразно, чем все созданное человеком. Безответственно утверждать, что наука, созданная человеком, может производить новые формы жизни и выпускать их в живую природу безнаказанно. Встраивание генов в ДНК произвольным образом создает живые организмы, у которых отсутствуют генетические барьеры, выстраиваемые природой на протяжении миллиардов лет.

Опросы общественного мнения в ЕС и США показали, что большинство потребителей выступают за необходимость обязательной маркировки ГМ-продукции и сырья. Люди имеют право знать какую продукцию они потребляют. Скрытие информации о ГМО (или ее искажение) являются неэтичным. Однако «Монсанто» не принимает во внимание мнение потребителей, делая в своей стратегии ставку на фермеров. Представители этой компании также не принимают во внимание, что снижение потребительского спроса затрагивает всю цепочку поставки продукта: покупатель – торговая сеть – производитель – фермер. Ни один потребительский продукт не встречал такого отказа рынка, как ГМО. Игнорирование данного факта указывает на наличие проблем в стратегических подходах «Монсанто».

Стратегические риски.

Стратегия «Монсанто», направленная на дальнейшее распространение ГМО, может оказаться для инвесторов слишком рискованной. При доходе компании в 4,7 млрд в 2002 г., потери составили 1,7 млрд. долларов, и не-

которые факторы говорят о дальнейшем снижении прибылей. В число этих факторов входят, в частности:

- увеличение числа конкурентных видов для гербицида Раундап (у «Монсанта» истекает срок патента на Раундап);
- необходимость контролировать возрастающую устойчивость сорняков к Раундап;
- трудность доступа к новым рынкам вследствие растущего осознания небезопасности ГМО;
- экономические аспекты использования ГМ-продукции.

В результате проведенных в 2002 г. по заказу Департамента сельского хозяйства США исследований выяснилось, что в ряде случаев ГМ-соя не принесла прибыли фермерским хозяйствам. Также выяснилось, что прибыли от реализации ГМ-кукурузы могли быть получены вследствие занижения на данную продукцию цен теми компаниями, которые стремились захватить рынок.

Другие риски для прибылей могут представлять собой разработку и продвижение новых ГМ-продуктов и риски потери репутации. Некоторые продукты питания «Монсанта» так и не увидели рынка. В настоящее время компания столкнулась с активным нежеланием фермеров США и Канады закупать ГМ-пшеницу, массовые поставки семян которой планировались на 2004–2005 гг. В исследовании, проведенном в университете штата Айова, говорится о том, что США могут потерять более 50% экспорта пшеницы, если на их внутренний рынок будет внедрена ГМ-пшеница.

«Монсанта» продолжает сталкиваться по всему миру с проблемами недоверия к своей репутации. Кроме того, складывается впечатление, что ГМ-продукты активно продвигаются на международный рынок правительством США и ВТО, что вызывает в развивающихся странах протесты. Одновременно с этим «Монсанта» подрывает свой авторитет среди своих партнеров – фермеров, увеличивая количество судебных исков, направленных против них.

Неизбежность экологического заражения и опасения по поводу негативного воздействия на человеческий организм ГМ-культур и ГМ-продуктов питания, содержащих ГМ-ингредиенты, делает данную группу продуктов самой отвергаемой на международном рынке, которая когда-либо существовала. Много ГМ-продуктов были изъяты с рынка (либо не получили коммерческого распространения) из-за отказа рынка принимать данные продукты. Потребители отказались от ГМ-томатов, льна, риса и сахарной свеклы. «Монсанта» отозвала ГМ-томата с рынка в США в 2001 г. после того, как «Мак Дональдс», «Бюргер Кинг», «Мак Кейн» и «Принглз», отказались их покупать под давлением потребителей.

Многие потребители, встречая маркировку, предупреждающую о том, что продукты содержат ГМ-компоненты, отказываются их покупать. Иностранные рынки, особенно те, на которых действуют требования обязательной маркировки, столкнулись с отказом рынка потреблять данную

продукцию. В США, где маркировка не является обязательной, отказ рынка пока минимальный.

Все вышеперечисленные риски приводят к постепенной потере фирмой «Монсанто» рынков.

Отказ иностранного рынка от ГМ-продукции.

Более 35 стран ввели или объявили о вводе в действие законов на ограничение импорта и/или обязательную маркировку продуктов питания, содержащих ГМ-ингредиенты. Европа стала одной из первых стран, ограничивших ввоз и установивших правила обязательной маркировки ГМ-продуктов. Позднее такие крупные импортеры продуктов питания, как Китай, Япония и Корея, ввели законы на ограничение ввоза и обязательную маркировку. Предосторожность в отношении ГМ-продуктов привела к тому, что экспортные сделки США на поставку кукурузы в Европу упали с \$ 305 млн. в 1996 г. до \$2 млн. в 2001 г.. Экспорт американской кукурузы в Республику Корея снизился с \$ 300 млн. до \$ 85 млн.

Вступление в 2004 г. в действие Картахенского протокола по биобезопасности приведет к введению большего числа документов на экспортируемые ГМ-продукты. Возможно, что введение в действие данного Протокола создаст правовую основу, согласно которой экспортеры ГМ-продукции будут нести ответственность за возможное заражение и другие проблемы, связанные с использованием ГМ-семян. С учетом того, как кукуруза «Стар Линк» принесла компании убытки почти в 1 млрд. долларов, будет сложно застраховать риски, связанные с применением ГМ-культур. К примеру, НФУ «Мьючел», – крупнейший страхователь фермеров в Великобритании, – уже отказывается страховать своих клиентов от таких рисков. Все эти ограничения существенно затрудняют возможности конкурирования ГМ-продуктов во всех 103 странах, подписавших Картахенский протокол. Для того чтобы избежать потерь своей доли рынка, экспортеры будут требовать от фермеров США поставок, свободных от ГМ-культур.

В Европе существуют жесткие законодательные меры, ограничивающие ввоз и использование ГМО. Большинство европейских производителей и продавцов продуктов питания строго придерживаются политики недопустимости использования ГМ-ингредиентов в своей продукции. Такими компаниями в настоящее время являются «Юниливер», «Вол-Март», «Кзафор», «Теско» и многие другие. Помимо Европы, достаточно активное противодействие ГМ-продукции наблюдается в Азии и Африке.

Отказ внутреннего рынка от ГМ-продукции

Поставщики ГМ-продукции заявляют, что широкое использование ГМ-компонентов в продукции, производимой в США, является свидетельством того, что потребители США не возражают против такой продукции. Однако, подавляющее большинство людей в США просто не имеют представления, что они употребляют в пищу ГМ-продукты, т.к. компании, занимающиеся продажей ГМ-продукции, с успехом пролоббировали свободную продажу

своей продукции без маркировки. С 1997 г. в США было проведено более 20 опросов населения, в результате которых выяснилось, что потребители выступают в пользу обязательной маркировки ГМ-продукции. По данным Эй-Би-Си Ньюс, 93% американцев выступают за маркировку ГМ-продукции, по данным Рютгерс Университи – 90%, Харрис Пол – 86%, Ю-Эс-Эй Тудэй – 79%, Эм-Си-Эн-Би-Си – 81%, службы Гэллага – 68%, Производителей бакалейных товаров Америки – 92%, Тайм Мэгэзин – 81%, компании «Новартис» – 93%. Опрос 2001 г., проведенный Оксиджен/Маркет Пулс, показал, что 85% американцев поддерживают обязательную маркировку ГМ-продуктов, и только 37% женщин согласны, чтобы их дети употребляли в пищу ГМ-продукты.

Некоторые из этих опросов позволили выяснить, что существенный процент американцев не употреблял бы продуктов, если маркировка говорила о наличии в них ГМ-компонентов (по данным опроса Тайм, 58% потребителей отказались бы от покупки подобных продуктов). Таким образом, очевидно, что если бы маркировка была введена в США, весьма значительное число американцев – около 30% или даже более – отказались от употребления продуктов, содержащих ГМО.

Финансовое будущее «Монсанта».

Финансовое будущее «Монсанта» не безоблачно. В последние годы прибыли компании существенно снизились. Вероятно, что существующие и вновь появляющиеся проблемы усугубят финансовое положение «Монсанта». Снижение прибылей привело к изменению состава руководства компанией, не затронув, однако, ее стратегических позиций. На данный момент у «Монсанта» отсутствуют возможности роста, и при этом увеличиваются все финансовые риски, связанные с генетическим заражением (последствия которого уже ударили по более мелким конкурентам, таким, как «Авентис Кропсайенс» и «Продиджен», практически разорив последнего).

Основной продукт «Монсанта» – Раундап – испытывает растущее давление со стороны конкурирующих продуктов, и в связи с этим компания предвидит возможную потерю доли рынка. Засуха 2002 г. привела к существенному снижению урожаев, получаемых с применением Раундап. 2003 г. также привел к снижению уровня продаж поскольку тоже был засушливым. Кроме того, дополнительные расходы связаны с необходимостью контроля сорняков, получивших устойчивость к Раундап. Однако, несмотря ни на что, основной стратегической целью «Монсанта» остается расширение рынка ГМ-продукции. Одновременно со стремлением завоевать новые рынки, компания пытается усилить свое присутствие и в США, планируя реализовать до 75 % новых сортов кукурузы на существующем рынке.

Потребительский рынок определенно отказывается от ГМ-продукции, и тенденций к снижению требований не предвидится. При этом снижение потребительского спроса затрагивает всю цепочку поставки продукта: покупатель – торговая сеть – производитель – фермер. В случае, если потребитель откажется использовать какой-либо из продуктов (как в случае с

ГМ-пшеницей), «Монсанто» прекратит производство данного вида и начнет продвигать на рынок новый ГМ-продукт.

В отличие от периода конца 90-х гг. в настоящее время сложились крупные финансовые силы, направленные против дальнейшей коммерциализации ГМО. Число судебных исков против «Монсанто» непрерывно растет, и сама компания возбуждает иски против фермеров, защищая патентное право на производство ГМ-продуктов. Все это отнюдь не улучшает отношений между компанией и ее основными партнерами.

Инвесторы и зарубежные партнеры должны быть особенно осторожны при заключении средне- и долгосрочных контрактов по проектам, связанным с производством и продажей ГМ-продукции. Компания должна информировать их о возможных рисках, связанных с данным видом бизнеса. ГМ-соя и кукуруза, производимая «Монсанто», в основном, используется для производства продовольственных товаров. Новые продукты компании, такие, как ГМ-пшеница, предназначены для производства хлеба и макаронных изделий. После того как компания потерпела фиаско с *Bt*-картофелем, вполне вероятно, что ГМ-пшеница также станет дорогостоящей ошибкой.

Анализ показывает, что при существующей политике, уровень продаж компании «Монсанто» будет снижаться. Скорее всего, новые виды ГМ-продуктов не будут реализованы в период 2003–2005 гг., продолжится падение объемов продаж гербицида Раундап. Кроме того, все большая часть прибылей будет отчисляться на покрытие рисков, связанных с распространением ГМ-продукции.

Заключение

В настоящее время «Монсанто» активно ищет возможности компенсировать снижение продаж своей продукции на рынках Северной и Южной Америки за счет более активной работы на рынках России и Китая. Принимая решение о широком внедрении ГМО в российский индустриальный аграрный сектор надо учитывать перечисленные выше риски, связанные с «Монсанто» (и другими подобными транснациональными компаниями), лоббирующими свою продукцию. Основной вывод, который следует из анализа деятельности компании «Монсанто»: производство и использование ГМО – экономически невыгодное и экологически опасное направление человеческой деятельности.

Об авторах

Баранов Александр Сергеевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН; президент Общенациональной Ассоциации генетической безопасности; член координационного Совета по органическому сельскому хозяйству МСХ России; член Комитета «Биологической безопасности пищевых продуктов, кормов и товаров народного потребления» Госстандарта России.

Борхсениус Сергей Николаевич, доктор биологических наук, профессор, зав. лабораторией Института цитологии РАН, Санкт-Петербург.

Вонский Максим Сергеевич, кандидат биологических наук, заведующий отделом медико-биологических проблем Института цитологии РАН; член Комитета «Биологической безопасности пищевых продуктов, кормов и товаров народного потребления» Госстандарта России, Санкт-Петербург.

Гаврилова Елена Борисовна, ведущий государственный патентный эксперт Федерального института промышленной собственности; аспирант Российского государственного института интеллектуальной собственности.

Животовский Лев Анатольевич, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН; профессор Стэнфордского университета, Калифорния, США; почётный профессор университета штата Аляска, США.

Жученко Александр Александрович, действительный член РАСХН, член-корреспондент РАН, вице-президент РАСХН.

Захаров Владимир Михайлович, доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН; директор Центра экологической политики России.

Колесникова Виктория Борисовна, координатор компании Международного Социально-экологического Союза «За биобезопасность»; председатель объединения «Еремурус».

Куликов Алексей Михайлович, кандидат биологических наук, зам. Заведующего лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН; вице-президент Общенациональной Ассоциации генетической безопасности.

Курчакова Елена Владимировна, научный сотрудник Института цитологии РАН, Санкт-Петербург.

Марченко Анатолий Иванович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела экологической биотехнологии НИЦ токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов Управления медико-биологических и экстремальных проблем Минздрава РФ.

Монастырский Олег Александрович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института биологической защиты растений РАСХН; член Высшего экологического совета Государственной Думы России; эксперт по вопросам продовольственной безопасности Государственной Думы, Краснодар.

Олефиренко Наталья Леонидовна, координатор генетической компании ГРИНПИС-Россия.

Перелёт Ренат Алексеевич, кандидат экономических наук, ведущий научный сотрудник Институт системного анализа РАН; действительный член Российской экологической академии и Международной академии информатизации; член Международного общества экологической экономики; эксперт ЮНЕП, ЕЭК ООН, Всемирного банка.

Соколов Михаил Сергеевич, доктор биологических наук, действительный член РАСХН, главный научный сотрудник отдела экологической биотехнологии НИЦ токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов Управления медико-биологических и экстремальных проблем Минздрава РФ; Председатель экспертной комиссии по ГМО Государственной экологической экспертизы Минприроды РФ; Член комиссии по присуждению премий Правительства РФ в области науки и техники;

Яблоков Алексей Владимирович, доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, советник РАН, почетный иностранный член Американской академии наук и искусств; вице-президент Всемирного союза охраны природы (IUCN); президент Центра экологической политики России.

ГМО – скрытая угроза России

Материалы к Докладу Президенту Российской Федерации «По анализу эффективности государственного контроля за оборотом генетически модифицированных продуктов питания»

(п. 3 «и» Протокола № 4 совместного заседания Совета Безопасности и Президиума Госсовета РФ от 13.11.2003 г.)