



United Nations Environment Programme

The Global Environment Facility

Национальный координационный
центр биобезопасности

Совместный проект Правительства Республики Беларусь и
Программы ООН по окружающей среде (UNEP)

«Разработка национальной системы биобезопасности для Республики Беларусь»

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Институт картофелеводства НАН Беларуси

Обзор по высвобождению генно-инженерных организмов в окружающую среду в Республике Беларусь

Известно два случая документально оформленного высвобождения генно-инженерных организмов в окружающую среду на территории Республики Беларусь. Первый из них касался испытания трансгенных растений картофеля с генами устойчивости к колорадскому жуку от *B.thuringiensis* v. *tenebrionis* и геном устойчивости к Y-вирусу картофеля (геном белка оболочки Y-вируса картофеля) в РУП «Институт картофелеводства НАН Беларуси в 1994-2003 гг (п. Самохваловичи минского р-на). Второй случай – испытания трансгенного сорта сахарной свеклы с геном устойчивости к гербициду глюфосинату аммония (фирменное название Liberty, Basta, Finale) селекции немецкой фирмы AgrEvo (в настоящее время Bayer), проводимые в РУП Институт защиты растений НАН Беларуси (п. Прилуки Минского р-на) в 1999 г. Ниже приведены детали проведенных испытаний.

1. Испытания трансгенного картофеля в условиях *in vivo*.

Оценка фенотипического проявления целевого признака в вегетативном и генеративном поколениях трансгенного картофеля.

В лаборатории биотехнологии РУП «Институт картофелеводства НАН Беларуси» в условиях *in vivo* анализировали два типа трансгенных растений белорусских сортов картофеля:

I трансгенные растения сорта Темп с частично модифицированным геном δ-эндотоксина из *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*;

II трансгенные растения сорта Белорусский 3 с геном белка оболочки (БО) Y-вируса картофеля (YVK).

Оба типа трансгенных растений были получены из Центра «Биоинженерия» РАН. Процедуры, связанные с получением трансгенных растений включая создание кассет экспрессии целевых генов, агробактериальную трансформацию стеблевых сегментов растений из культуры *in vitro*, определение экспрессии целевых генов в трансгенном картофеле сортов Темп и Белорусский 3 опубликованы в открытой печати [1-3].

Кассеты экспрессии содержали маркерный ген неомицинофосфотрансферазы II (*npt*), кодирующий в трансформированных клетках растений устойчивость к антибиотику канамицину. Для трансформации стеблевых сегментов сортов Темп и Белорусский 3

использовали штамм LBA4404 *Agrobacterium tumefaciens*. Первичный отбор трансформантов проводили на среде для регенерации растений в присутствии канамицина (50-100 мкг/л) и антибиотиков карбенициллина (200 мкг/л) и (или) цефотаксима (100-350 мкг/л) для снижения агробактериального заражения. Побеги укореняли и пассировали на среду с канамицином (100-150 мкг/л).

Кассета экспрессии частично модифицированного гена δ -эндотоксина из *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* содержала клон гена бациллярного токсина Vt (Vt77), в котором первые 66 и последние 27 н.п. заменены синтезированной последовательностью. В первичной последовательности гена Vt были проведены точечные замены природных кодонов на оптимизированные для растений [2]. Причем оптимизированные последовательности составили лишь 5% от полного гена (личное сообщение И.В. Гулиной). Частично модифицированный ген Vt77 был помещен под контроль 35S промотора и pos-терминатора [2].

Интеграцию гена Vt77 в геном растений картофеля подтверждали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами, специфичными к последовательностям промотора 35S и гена Vt77.

Уровень синтеза δ -эндотоксина в трансгенных растениях картофеля, определенный методом блот-иммуногибридизации белков (Western blot) составил 0,005-0,02 % от количества суммарного белка [2,3].

Кассеты экспрессии гена белка оболочки Y-вируса картофеля (БО YVK) несли кодирующую область гена белка оболочки YVK с искусственным иницирующим кодоном под контролем 35S-промотора и 35S-терминатора вируса мозаики цветной капусты с укороченным 5'-лидером X-вируса картофеля (XVK) или полинкерным лидером. Интеграция гена БО YVK в геном растений картофеля, укоренившихся на селективной среде с канамицином подтверждена методом ДНК-блот-гибридизации и (или) ПЦР с праймерами, специфичными к последовательностям промотора 35S и 5'-концу гена YVK. Экспрессия чужеродного белка (Western blot) в трансгенных растениях картофеля, аналогичных использованных нами при наличии 5'-лидера XVK составила 0,004-0,02 % суммарного белка, а мРНК (Northern blot) БО YVK – 0,0005-0,002% от суммарной РНК. В трансгенных растениях, аналогичных использованных нами и не содержащих укороченный лидер XVK белок оболочки не обнаружен, а уровень мРНК БО YVK был в среднем в 10 раз ниже, чем уровень мРНК БО YVK в трансгенных растениях с лидером XVK[1].

Трансгенные линии сортов Темп и Белорусский 3 получены из Центра «Биоинженерия» в рамках Договоров о творческом содружестве на 1994-1995 гг. и 1996-2000 гг. в виде растений *in vitro*. Они были размножены и высажены в условия теплицы, где было получено 1-ое клубневое поколение.

Для завязывания ягод от свободного опыления и скрещиваний трансгенных образцов с селекционными образцами их выращивали в условиях теплицы «на кирпичках». Следует отметить, что сорт Темп в естественных условиях не завязывает ягод вследствие опадания цветков.

Ботанические семена вводили в культуру *in vitro* и трансгенное половое потомство отбирали по укоренению сеянцев на среде с канамицином (100-150 мкг/л) [4].

При полевых испытаниях участок с трансгенными растениями изолировали 4-мя рядами защитных посадок картофеля. Площадь полевого участка с трансгенными растениями варьировала в различные годы экспериментов (1994-2003), но не превышала 0,1 га.

Трансгенные образцы сорта Темп с частично модифицированным геном δ -эндотоксина из *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* (1993-2000 гг.) и их канамицинустойчивое половое потомство (1997-2000 гг.) оценили в лабораторных условиях на инсектицидность по отношению к колорадскому жуку. Растения трансгенных

образцов и семян для определения инсектицидности выращивали в теплице. В экспериментах использовали личинки вредителя, отродившиеся в лаборатории и не начавшие питаться растительной тканью. Кладки жука собирали с растений необработанных посевов картофеля в Минской области. На один лист изучаемого образца в чашке Петри высаживали по 10 личинок (3-7 чашек Петри на образец). Корм меняли через день. При достижении личинками 3-его позднего – 4-ого возрастов их пересаживали в садки с землей для окукливания и последующего развития до имаго. Имаго (взрослые жуки) уничтожали. В опытах учитывали гибель и вес личинок вредителя, количество отродившихся жуков. При выращивании в поле (1994-2000) трансгенные растения и сеянцы высаживали на отдельном участке. Во время вегетационного сезона участок обрабатывали инсектицидами во избежание появления резистентных форм колорадского жука [5]. По итогам экспериментов выделены трансгенные образцы Т1, Т3, Т5, Т6, Т7, сохраняющие повышенную по сравнению с исходным сортом Темп, но не полную инсектицидность к колорадскому жуку по 1-3-м из учитываемых показателей при многолетнем (1994-2000) вегетативном размножении [2,3,5]. Среди канамицинустойчивого полового потомства отобранных образцов выделены сеянцы с повышенной относительно исходных сорта и трансгенных образцов, но опять-таки частичной инсектицидностью к колорадскому жуку. Отобранные сеянцы сохраняли повышенную инсектицидность в течение 2-х лет размножения клубнями и имели урожайность на уровне и выше исходных трансгенных образцов и нетрансформированного сорта [5].

Испытания *in vivo* трансгенных образцов сорта Белорусский 3 с геном БО УВК начаты в 1996 г. и продолжаются по настоящее время, в том числе с 1997 г. в полевых условиях. Для определения устойчивости к УВК трансгенные растения сорта Белорусский 3 (Б3) с геном БО УВК, “Bin” (без БО УВК) и нетрансформированного Б3 механически инокулировали УВК (1996 г.) с интервалом через неделю. На следующий год (1997) заражение повторили. При выращивании в полевых питомниках анализируемые образцы чередовали с сильно пораженными У-вирусом растениями картофеля [6]. В течение 1996-2002 гг. вегетативного размножения растения тестировали методом ИФА на стадии бутонизации-цветения. Растения исходного нетрансформированного сорта после двукратного заражения (1996-1997 гг.) не образовали полноценных клубней [6]. Среди трансгенных образцов с геном БО УВК отобраны 8, сохранившие устойчивость к УВК при шести летнем вегетативном размножении после двух годичного инфицирования вирусом. Один из них с12 проявил иммунитет к УВК согласно данным трех биологических тестов: искусственное заражение исследуемых образцов вирусом, тест на индикаторных растениях, тест прививкой на зараженные растения-накопители [7]. Сок бессимптомных (по фенотипу и ИФА) и с симптомами поражения УВК полевых растений 2001 г. был использован для механической инокуляции в теплице индикаторных растений (табак Samsun). Симптомы системной инфекции вирусом и высокая концентрация вируса согласно тесту ИФА были обнаружены на растениях табака в случае их инокуляции соком полевых растений нетрансформированного сорта, при инокуляции соком полевых растений с12 индикаторные растения табака не содержали вируса. Прививка на зараженные УВК растения томата, выращиваемые в теплице с последующим тестированием ИФА дала различную картину для клонов трансгенных образцов: чистые и инфицированные у с1, с3; чистые и с резко выраженной реакцией сверхчувствительности - у с4; чистые – у с12 [7]. Трансгенные образцы картофеля с геном БО УВК сохраняли урожайность на уровне и выше нетрансформированного сорта [6]. Анализ канамицинустойчивого полового потомства трансгенного картофеля с геном БО УВК в условиях *in vivo* начат с 2001 г., в том числе с 2002 г. в полевых условиях. Среди канамицинустойчивого полового потомства выделены сеянцы, сохранившие устойчивость к УВК после искусственного инфицирования вирусом [8].

ЛИТЕРАТУРА

1. Пугин М.М., Соколова М.А., Шульга О.А., Скрыбин К.Г. Влияние 5'-лидера X-вируса картофеля на экспрессию гена белка оболочки Y-вируса картофеля в трансгенных растениях *Solanum tuberosum* // Молекулярная биология. - 1994. – Т. 28, Вып. 4. – С. 752-759.
2. Экспрессия частично модифицированного гена δ-эндотоксина из *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* в трансгенных растениях картофеля / Гулина И.В., Шульга О.А., Миронов М.В., Ревенкова Е.В., Краев А.С., Помозгова Г.Е., Яковлева Г.А., Скрыбин К.Г. // Молекулярная биология. - 1994. – Т. 28, Вып. 5. – С. 1166-1175.
3. Plant Gene Technology / Bagyan I.L., Gulina I.V., Kraev A.S., Mironov V.N., Padegimas L.V., Pooggin M.M., Revenkova E.V., Shchennikova A.V., Shoulga O.A., Sokolova M.A., Vicente-Garbajosa J., Yakovleva G.A., Skryabin K.G. // Genome Structure and Function. From Chromosomes Characterization to Genes Technology. (Ed. Claudio Nicoli) – Dordrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publishers. NATO ASI Series, 1997. – P. 279-318.
4. Родькина Г.А., Яковлева Г.А. Устойчивость к канамицину полового потомства трансгенных растений картофеля с разными целевыми генами // Сельскохозяйственная биотехнология: Матер. II международной научно-практической конференции (Горки, 3-6 декабря 2001 г.) / МСХиП РБ, НАН Беларуси, БСХА. – Горки, 2002. – С. 274-277.
5. Яковлева Г.А., Родькина И.А., Семанюк Т.В., Монархович С.В. Трансгенные растения и соматические гибриды картофеля – новые источники устойчивости к болезням // Материалы Юбилейной конференции, посвященной 100-летию профессора А.Р. Жебрака и 70-летию образования кафедр генетики в Московской сельскохозяйственной академии имени К.А. Тимирязева (Москва, 26-27 февраля 2002 г.) / МСХА, – Москва, 2002. – С. 374-377.
6. Яковлева Г.А., Родькина И.А., Яценко Н.П. Проявление устойчивого к Y-вирусу фенотипа при полевых испытаниях трансгенных растений картофеля с геном белка оболочки YВК / Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук, 2001. - №2. – С.5-8.
7. Родькина И.А., Г.А. Яковлева Определение иммунности трансгенного картофеля с геном белка оболочки YВК к Y-вирусу // Актуальные проблемы генетики: Материалы 2-ой конференции Московского общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова, посвященной 115-летию со дня рождения академика Н.И. Вавилова (Москва, 0-21 февраля 2003 г.) / Московское общество генетиков и селекционеров имени Н.И.Вавилова, МСХА, Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова, МГУ – Москва, 2002. – Т.2.- С. 175-176.
8. Яковлева Г.А., Родькина И.А., Семанюк Т.В., Подобед Н.И. Проявления целевого признака в половом потомстве трансгенных растений и соматических гибридов картофеля // Agriculture and Natural Resources: Abstracts of the 3rd International IRAN and RUSSIA Conference (September 18-20, 2002, Moscow) / Moscow Timiriazev Agricultural Academy, - Moscow, 2002 – P.67.

2. Высвобождение в окружающую среду трансгенного сорта сахарной свеклы, устойчивой к гербициду глюфосинату аммония (коммерческое название Liberty)

Заявитель – фирма Hoechst Schering AgrEvo GmbH (Германия) обратилась в Национальный координационный центр биобезопасности Республики Беларусь (заявка № 1 от 23 марта 1999 г.) по поводу проведения оценки риска для здоровья человека и окружающей среды планируемого высвобождения (проведение полевых испытаний)

генно-инженерного организма (ГИО) – сахарной свеклы сорта Edda, устойчивой к гербициду глюфосинату аммония. Проведенная экспертиза безопасности ГИО (экспертиза проведена гл. науч.сотрудником Института генетики и цитологии НАН Беларуси докт. биол. наук А.П.Ермишиным, вед. науч. сотрудником Института генетики и цитологии НАН Беларуси канд. биол. наук Б.Ю. Аношенко, аспирантом А.В. Писарчиком) показала следующее:

1. Характеристика реципиентного организма.

Сахарная свекла *Beta vulgaris ssp. altissima* (семейство *Chenopodiaceae*) относится к растениям, размножающимся половым путем при перекрестном опылении, в основном с помощью ветра, а также с помощью насекомых. Особых факторов, влияющих на репродуктивную способность нет. При высокой влажности возрастает роль опыления с помощью насекомых. Может переопыляться диким видом *Beta maritima*. Естественный период полового развития – 2 года. Будучи двулетником, сахарная свекла может сохраняться в природной среде двумя способами: семенами и корнями. Выживаемость в целом невысокая: растения, возобновившие рост на следующий год, легко уничтожаются при культивировании почвы. Рассеивание свеклы возможно при участии человека (потери при транспортировке) и животных. В естественных условиях отсутствуют какие-либо особые взаимодействия сахарной свеклы с организмами, отличными от растений.

2. Характер генетической модификации. Характеристика модифицированного организма.

Цель генетической модификации – включение в геном реципиентного организма и активность в нем РАТ-гена, кодирующего синтез фермента фосфинотрицин ацетилтрансферазы, который, собственно, и определяет устойчивость растения к гербициду.

Исследуемый ГИО содержит, по сравнению с исходным сортом, вставку чужеродной ДНК, представляющую собой генетическую конструкцию, которая включает генетический материал следующих организмов:

Синтетический РАТ-ген соответствует РАТ-протеину грибка *Streptomyces viridochromogenes* обеспечивает устойчивость растения к глюфосинату путем специфического N-ацетилирования гербицида в растительной клетке.

35S промотор и терминатор – от вируса мозаики цветной капусты (CaMV) – использован для экспрессии РАТ-гена.

NOS/OCS промотор и терминатор из бактерии *Agrobacterium tumefaciens* – использован для экспрессии NPT II гена.

NPT II – ген, кодирующий синтез фермента неомицинфосфотрансферазы – используется как маркерный ген для отбора трансформантов.

riAN7 из бактерии *E.coli* – не имеет функций в растении.

Левый и правый края конструкции от *A. tumefaciens* – используется для трансформации генетической конструкции – не имеет функций в растении.

Все перечисленные организмы не являются опасными для здоровья человека (по классификации ВОЗ). Следует однако заметить, что содержащийся в конструкции маркерный ген устойчивости к канамицину, является излишним и его присутствие в некоторых случаях у ГИО (используемых для производства продуктов питания или кормов без существенной переработки) нежелательно. РАТ-ген устойчивости к гербициду может использоваться и в качестве маркерного гена.

Как показали результаты блот-гибридизации по Саузерну (прилож. 2 заявки), только одна копия вставки стабильно интегрирована в геном реципиентного организма, а именно, в хромосомную ДНК. Это обеспечивает предсказуемый (простой моногенный) характер наследования приобретенного признака при гибридизации. Стабильность интеграции высокая: после трех генераций ГИО 99% растений имели устойчивость к гербициду.

В состав вектора входит генетический материал широко используемых в генетической инженерии плазмид pRK 290 и pOCA 18/As от бактерии *E. coli* и Ti плазмиды от *Agrobacterium tumefaciens*. Плазмиды pRK 290 и pOCA 18/As не могут самостоятельно перемещаться от одного организма к другому без участия так называемой хэлперной плазмиды (у них отсутствует основание *ori*-сайта мобилизации). Поскольку хэлперная плаزمида отсутствует у *Agrobacterium*, то и сама плазмида отсутствует в геноме трансформированного организма.

Экспрессия привнесенных генов оценивается степенью устойчивости ГИО к глюфосинату аммония (экспрессия PAT-гена) и канамицину (маркерный ген). ГИО проявляет устойчивость при обработке растений гербицидом в концентрациях до 1500 г д.в./га, исходный сорт погибает при концентрациях 300-1000 г д.в./га. Устойчивость к гербициду проявляется во всех частях облиственного растения, за исключением пыльцы.

Культурная сахарная свекла не относится по своей природе к сорнякам. ГИО не отличается от исходного сорта по показателям репродуктивной способности, выживаемости и рассеивания в окружающей среде. Генетическая модификация не дает ГИО какого-либо селективного преимущества, и не приводит к формированию у ГИО каких-либо веществ, которые могут оказывать влияние на другие организмы.

3. Возможность переноса трансгенов другим организмам

Потенциальная возможность переноса трансгенов может быть реализована в случае попадания пыльцы от ГИО к обычным (немодифицированным) сорта сахарной свеклы или к популяциям дикой свеклы *B. maritima*. Перенос трансгенов другим сортам сахарной свеклы нежелателен с точки зрения их сортовой чистоты. Однако если это случится, то не скажется отрицательно на их потребительских свойствах.

Перенос трансгенов дикой свекле не должен привести к изменению ее конкурентоспособности в окружающей среде и, соответственно, к каким-либо изменениям в естественных биоценозах, где присутствует этот вид. Другая ситуация, если рассматривать *B. maritima* в качестве сорняка. Приобретение устойчивости к гербициду должно существенно повысить его агрессивность и усложнить борьбу с ним (в случае использования глюфосината). Однако рассматриваемая ситуация для Беларуси неактуальна, поскольку этот вид дикой свеклы в ее флоре не представлен.

Перенос трансгенов может иметь место :

1. в процессе семеноводства ГИО;
2. в результате цветения растений, высвобождение которых в окружающую среду произошло непреднамеренно (перезимовавшие корни, оставшиеся после уборки, перезимовавшие корни растений, выросших из семян, потерянных при транспортировке, рассеянных птицами, животными).

В соответствии с заявкой, семеноводство ГИО в Беларуси не планируется. Следовательно, подлежит рассмотрению лишь второй способ. перезимовка вегетативных частей сахарной свеклы, способных возобновить свой рост на следующий год, в средней полосе Беларуси практически не случается (исходя из опыта специалистов, работающих с сахарной свеклой). Однако, если это произойдет, то возобновившие весной рост растения легко могут быть уничтожены при культивировании почвы. Заявитель обязуется провести все необходимые послеуборочные мероприятия, чтобы не допустить сохранения ГИО в окружающей среде: обработка растительных остатков сульфонилмочевинной (препараты Glean, Granstar), культивирование почвы. На участке в течение трех последующих лет будут выращиваться другие культуры.

ВЫВОДЫ

1. Вставка чужеродной ДНК, содержащаяся в анализируемом ГИО, не имеет генетический материал от организмов, опасных для здоровья человека.

2. Только одна копия вставки стабильно интегрирована в хромосому реципиентного организма, что обеспечивает предсказуемый (простой моногенный) характер наследования привнесенного признака.

3. Использование в векторе генетически иммобилизованных плазмид исключает возможную передачу трансгенов другим организмам с помощью плазмид.

4. Сорта сахарной свеклы по своей природе не относятся к сорнякам. Проанализированный ГИО не отличается от исходного сорта по репродуктивной способности, выживаемости и рассеиванию в окружающей среде. Следовательно он не может рассматриваться как новый сорняк.

5. Заявкой не предусмотрено семеноводство ГИО в Республике Беларусь, поэтому перенос трансгенов другим организмам возможен только в случае перезимовки вегетативных частей ГИО, отрастании растений и их цветении. Вероятность этого события невысока и может быть сведена к нулю при использовании обычных агротехнических мероприятий (культивирование почвы, использование гербицидов, отличных от глюфосината аммония, чередование культур).

6. Дикая свекла *V. maritima*, которой потенциально могут быть перенесены трансгены, во флоре Беларуси не представлена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проанализированный ГИО – сахарная свекла сорта Edda, устойчивая к гербициду глюфосинату аммония, не представляет опасности для окружающей среды при его высвобождении на территории Республики Беларусь.

Основываясь на настоящем заключении Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды РБ выдало заявителю разрешение на контролируемое высвобождение ГИО в окружающую среду для проведения испытаний на устойчивость к гербициду. В соответствии с данным разрешением семена трансгенной свеклы были ввезены в Республику Беларусь и посеяны на опытном поле РУП Институт защиты растений НАН Беларуси. После завершения испытаний были выполнены необходимые мероприятия, направленные на предотвращение несанкционированного высвобождения трансгенного сорта в последующие годы; уничтожение урожая, весеннее культивирование участка для уничтожения перезимовавших корней.

**ЗАЯВКА НА ПОЛУЧЕНИЕ РАЗРЕШЕНИЯ НА ВЫПУСК
ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ ДЛЯ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ЦЕЛЕЙ В СООТВЕТСТВИИ С
ИНСТРУКЦИЯМИ ЕЭС 1992 И 1995 ГГ. О КОНТРОЛИРУЕМОМ
ВЫПУСКЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ В
ОКРУЖАЮЩУЮ СРЕДУ**

Подана

Московским Представительством Хехст Шеринг АгрЭво ГмбХ

Подготовлено

«10» декабря 1997

Московское Представительство Хехст Шеринг АгрЭво ГмбХ

д.9, стр. 3

Борисоглебский пер.

Москва,

Российская Федерация



ТАБЛИЦА СОДЕРЖАНИЙ

Часть А Информация, необходимая для уведомления о выпуске генетически модифицированных высших растений (ГМВР)
А/1 (17)

Приложение 1:

Плазмидная карта

Свойства между левой и правой границей

Молекулярные свойства

Последовательность между левой и правой границей

Приложение 2:

Геномная характеристика введенной конструкции:

Текст

Анализ Сазерн 1

Анализ Сазерн 2

Конверсия *PPT*

Приложение 3:

Уменьшенная аминокислотная последовательность гена, кодирующего фосфинотрицин-ацетил-трансферазу, из культуры *Streptomyces viridochromogenes*

Документ №: 55138

Приложение 4:

L-фосфинотрицин N-ацетилтрансфераза: Биохимическая характеристика

Документ №.: 50188

Приложение 5:

Карта места выпуска

**МОСКОВСКОЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВО АГРЭВО:
ЗАЯВКА НА ПОЛУЧЕНИЕ РАЗРЕШЕНИЯ НА ВЫПУСК ГЕНЕТИЧЕСКИ
МОДИФИЦИРОВАННОЙ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ ДЛЯ НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ЦЕЛЕЙ В СООТВЕТСТВИИ С ОФИЦИАЛЬНЫМИ
ИНСТРУКЦИЯМИ ЕЭС 1992 И 1995 ГГ. О КОНТРОЛИРУЕМОМ ВЫПУСКЕ
ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ В
ОКРУЖАЮЩУЮ СРЕДУ**

Информация, необходимая для уведомления о выпуске генетически модифицированных высших растений (ГМВР) (*gymnospermae* и *angiospermae*)

Часть А

Общая Информация

1. (а) Заявитель:

Московское Представительство Хехст Шеринг АгрЭво ГмбХ
д.9,стр. 3
Борисоглебский пер.
Москва,
Российская Федерация

Тел: (095) 956 13 38

(b) Лица, ответственные за выпуск

общая ответственность за планирование выпуска -

Д-р Эрнст Шилли, Московское Представительство Хехст Шеринг АгрЭво
д.9,стр. 3 Борисоглебский пер. Москва
Андрей Гуров, Московское Представительство Хехст Шеринг АгрЭво, д.9,стр. 3
Борисоглебский пер., Москва

Осуществление выпуска

Место осуществления выпуска определяется Национальным Координационным Центром Биобезопасности Республики Беларусь.

2. Название проекта

Выпуск в полевые условия сахарной свеклы, устойчивой к глюфосинату аммония для научно-исследовательских целей.

Часть Б

Информация касательно (А) реципиента или (Б) (где возможно) родительских растений

1. Полное название:

- а) Семейство : *Chenopodiaceae*
- б) Род : *Beta*
- в) Вид : *vulgaris*
- г) Подвид : *vulgaris var altissima*
- д) Сорты (гибриды) : КВС 0195 и КВС 8191
- е) Общеупотребительное название : сахарная свекла

2. Информация по репродукции:

а) Репродукция растения

i) Способ или способы репродукции

Репродукция происходит половым путем аллогамией, в основном за счет опыления ветром, хотя и опыление насекомыми при определенных условиях может оказаться важным.

ii) Факторы, влияющие на репродукцию

Особых факторов, влияющих на репродукцию нет за исключением условий повышенной влажности когда опыление с помощью насекомых приобретает более важное значение.

iii) Длительность цикла размножения

В природных экосистемах время размножения составляет два года.

б) Половая совместимость с другими культурными или дикорастущими видами растений

Существует множество доказательств межвидовой гибридизации и также интрогрессии от дикорастущей или приморской свеклы (*B. maritima*) к сахарной свекле. Доказательства обратной интрогрессии от сахарной свеклы к дикорастущей установить сложнее.

3. Способность к выживанию

а) Способность к формированию структур для выживания или периода покоя

Сахарная свекла представляет собой двулетнее растение, выживает из года в год за счет образования семян, хотя в коммерческой практике запаса семян обычно не остается. Следующий способ выживания – это формирование корнеплода и надземной части (короны), превращающейся в растение, позволяющее выжить на второй год. Обычно подобные остатки культуры разрушаются при культивации и при естественном распаде в почве. В самом худшем случае степень выживаемости вряд ли будет выше 2-3% от первоначальной культуры, и то только при предположительном условии, что превентивных обработок (мониторинга и механического или химической уничтожения остатков) не проводилось совсем.

б) Особые факторы, влияющие на выживаемость

Особых факторов, отрицательно влияющих на выживаемость, нет.

4. Пространственное распространение растения

а) Средства и степень распространения

Распространение возможно посредством переноса семян или корнеплодов человеком и животными. Со стороны человека распространение либо контролируемое, когда семена выращиваются специально с целью производства семян либо случайное, вызванное потерями при посевных или уборочных работах или ненадлежащей транспортировкой. Также распространять семена могут звери и птицы.

б) Особые факторы, влияющие на распространение растения
Специфических факторов нет.

5. Географическое распределение растения

Сахарная свекла выращивается по всей Европе и по всему миру, особенно в регионах с умеренным климатом. В России сахарная свекла главным образом выращивается во всех регионах Центрального Черноземья и на Северном Кавказе (Краснодарский и Ставропольский край) и некоторых других.

6. Естественные места произрастания (для завезенных разновидностей)

Не существенно.

7. Потенциально значимое взаимодействие с организмами, отличными от растений

Данные о взаимодействии с организмами, отличными от растений, в экосистемах, где обычно произрастает сахарная свекла, отсутствуют.

Часть В

Информация, касающаяся генетической модификации

1. Описание методов, использованных для генетической модификации

Стандартная ослабленная *Agrobacterium* – опосредованная трансформация.

Синтетический ген ФАТ, определяющий устойчивость к обработке гербицидом сплошного действия на основе глюфосината аммония (фосфинотрицин-ацетил-трансфераза, далее в тексте используется англ. название – ПАТ, что также относится и к другим названиям генов, их комбинаций и плазмидов), соединяют с промоутером/ терминатором 35S на плазмиде рUC в *E. Coli*. Данную комбинацию генов ПАТ-35S затем удаляют из плаزمиды рUC и встраивают в плазмид рOCA18, широко встречающийся у большого числа растений-хозяев (Olszewski et al, 1988, Nucleic Acids Research 16, 10765-10785), между синтетически полученной левой и правой границами определенных последовательностей плазмиды Тi для *Agrobacterium tumefaciens* с целью получения плазмидного вектора рOCA/Ас. Происходит плазмидный обмен со штаммом *A. tumefaciens*, ослабленным за счет удаления всех формирующих генов, которым потом инфицируется сахарная свекла. Таким образом происходит перенос гена ПАТ-35S вместе с синтетическими границами и мы получаем ГМР (генетически модифицированное растение), устойчивое к гербициду глюфосинат аммония.

2. Природа и использованный источник переносчика (вектора)

Природа : плазмид
Идентификационное название : рOCA 18/Ас
Организм получен из : *E. Coli*

Вектор получен от плазмиды рRK290, встречающегося на большом количестве растений-хозяев, описанного в литературе (Ditta et al, 1980. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 77, 7347-7351). Плазмиды рRK290 и рOCA18/Ас могут быть мобилизованы только при высокой частоте и только при помощи вспомогательного плазмиды. Способностью к самостоятельному переносу они не обладают. Плазмид рOCA18/Ас все-таки происходит в ходе репликации, полученной из плазмиды Рi AN7 от *E. coli*, но это не содержит сайтосную основу

мобилизации и, следовательно, не может стать подвижным без вспомогательного плазида. Это означает, что без вспомогательного плазида вектор не может быть перенесен в другие бактерии. Такой вспомогательный плазмид отсутствует в *Agrobacterium*, а сам плазмид отсутствует в трансформированном геноме сахарной свеклы.

Генетическая карта представлена в Приложении 1

3. Размер, функции и донор каждого фрагмента вставки

Единственный фрагмент, предназначенный для вставки – это синтетический ген 1.3 kb *pat* и ген-промоутер /терминатор 35S от CaMV; ген *nptII* приводится в действие синтетическим промоутером синтетазы нопалина, происхождение репликаций PiAN7 из сайта *E. coli* cos бактериофага Лямбда вместе с синтетически полученными лево- и правосторонними границами.

Часть Г

Информация касательно генетически модифицированного растения (ГМР)

1. Внедренные/модифицированные признаки и характеристики

Цель модифицирования - вставить определенные последовательности ДНК, кодирующие фермент фосфинотрицин ацетилтрансферазу (ген *pat*) в нетрансгенную селекционную линию сахарной свеклы, передавая ей таким образом выносливость к гербициду глюфосинату и устойчивость к канамицину. Коммерческий гербицид продается в виде соли глюфосинат-аммония под торговым названием Баста для использования в полеводстве и садоводстве (зарегистрирован в России и других странах СНГ и мира)

Все остальные характеристики растения остались без изменения.

2. Вставленная последовательность

а) Размер, структура и методы анализа

Одна копия вставки устойчиво интегрирована в геном сахарной свеклы. Это можно проверить при помощи анализа Сазерн Блот.
См. Приложение 2

б) Удаленные участки

Нет

в) Расположение вставки в клетках растения

Интегрирована в хромосомы.



г) Количество копий вставки

Анализ Сазерн Блот показывает, что произведена вставка одной копии гена *pat*. См. Приложение 2

3. Проявление признаков вставки

а) Проявление признаков и методов анализа

Вставка ДНК специфична для проявления выносливости к глюфосинату и устойчивости к канамицину. Выносливость легко проверить при простом опрыскивании растений гербицидом глюфосинат-аммония. Выносливые растения могут выдерживать дозу до 1500 г. действующего вещества на гектар, в то время как нетрансгенные растения погибают при дозировке 300 – 1000 г. д. в./га в зависимости от их размера и стадии развития.

б) Местоположение проявления вставки

Выносливость к глюфосинату проявляется во всей лиственной части растения за исключением пыльцы.

4. Различия между ГМР и родителем

а) Репродукция

Различий не отмечено

б) Распространение

Растение ведет себя точно также как и нетрансформированные линии и поэтому различий при распространении не ожидается.

г) Выживаемость

Поведение точно такое же, как и у немодифицированной культуры.

5. Генетическая стабильность вставки

Описываемое здесь ГМР прошло три генерации в полевых испытаниях и осталось стабильным, что подтвердилось выносливостью к глюфосинату на уровне 99 %.

6. Потенциальная возможность генетического переноса

Потенциальная возможность для переноса генетического материала состоит в том, что пыльца может быть перенесена на обычные растения свеклы, выращиваемые в коммерческих целях, и на популяции дикой

свеклы *Beta*. Источником такой пыльцы могут быть либо трансгенные растения, которым позволено дать семена (явление цветущности в первый год развития), либо растения, заново выросшие из случайно оставшихся на поле корнеплодов или корон на следующий год после сбора урожая. Любая пыльца с таких растений может быть перенесена ветром на большие расстояния (по крайней мере на 1000 м.), при этом полной изоляции будет достичь сложно. Ограничить подобный перенос пыльцы можно главным образом за счет предотвращения цветения растений трансгенной свеклы путем тщательного уничтожения зацветших в первый год растений и любых остатков растений после сбора урожая. (Свекла на полях находится только в период вегетации, цветоносы первого года можно легко увидеть и удалить до цветения)

7. Токсичность/вредоносность модификации

Модификация основана на введении в растения свеклы вставки генетических элементов *Streptomyces*, CaMv, *E. Coli*, *A. tumefaciens* и бактериофага Лямбда. Все они классифицируются как организмы группы 1 (не представляющих вреда для здоровья человека или окружающей среды) в соответствии с инструкцией ЕЭС 90/219/ЕЕС.

8. Взаимодействие с целевым организмом

Не относится к данному случаю.

9. Взаимодействие с не целевыми организмами

В отсутствие гербицида данные ГМР ведут себя точно так же, как и нетрансформированная сахарная свекла. Модификация не дает им каких-либо конкурентных преимуществ по отношению к другой естественной флоре за исключением тех случаев, когда используется вышеуказанный гербицид. Поэтому взаимодействия с другими организмами не ожидается.

10. Выявление и методы идентификации ГМ растений

Растения легко выявить по их выносливости к глюфосинату и канамицину. Для генетической и биохимической идентификации ГМР можно применять методы анализа Southern Blot, PCR, ELISA (ИФА).

11. Предыдущие выпуски ГМР

Ранее в ЕЭС выпуск в окружающую среду данного трансформанта осуществлялся под следующими номерами:

Франция:	94.02.18	Нидерланды:	97/06
	95.02.15	Испания:	97/02
	96.02.16	Бельгия:	96/VSP BA
Великобритания:	95/R 19/4	Германия:	97/63
	96/R 19/9		
	97/R 19/13		

Part Д

Информация касательно места выпуска

1. **Расположение и размер делянки(ок) для выпуска в окружающую среду:**

Ниже следует

Пункт 1

Определяется Национальным Центром Биобезопасности Республики Беларусь

Карта: см. Приложение 5

Размер: максимум 1500 кв. м

2. **Экосистема мест выпуска**

Экосистема всех точек испытания представляет собой обычную флору и фауну характерную для мест возделывания сахарной свеклы

3. **Виды, совместимые по половому признаку в местах выпуска в окружающую среду**

Во всех местах трансгенные участки будут посеяны внутри поля с неродственной культурой.

4. **Приближенность к официально охраняемым территориям или центрам происхождения**

Охраняемых территорий и центров происхождения культуры поблизости нет.

Part E

Информация по выпуску в окружающую среду

1. Цель

Целью настоящего выпуска является проведение испытаний на биобезопасность для сбора данных и осуществления регистрации по использованию гербицида глюфосината аммония (продаваемого как Баста) на трансформированной культуре, начиная с 1999г., и гибрида/ сорта сахарной свеклы, начиная с 2000/2001 г.

2. Сроки

В каждом месте в апреле/мае будет произведен один выпуск (посев) сроком до уборки урожая в октябре/ноябре. Первые испытания будут выполнены в 1999. Мы хотели бы обратиться за разрешением на проведение испытаний в течение 5 лет. До начала сезона будет предоставлена и соответствующим образом согласована информация о месте расположения опытов.

3. Способ выпуска

Во всех местах выпуск будет осуществляться в виде посева с помощью обычной сеялки точного высева, предназначенной для проведения испытаний.

4. Подготовка и контроль делянок

На всех делянках почва будет подготовлена обычным способом как и для товарного посева сахарной свеклы. Делянки будут обрабатываться для обеспечения хорошего роста культуры и борьбы с серьезными вредителями или грибковыми заболеваниями. Поскольку целью испытаний является тест на безопасность культуры, а также борьба с сорняками с помощью глюфосината и определение его остаточных количеств, будут применяться различные дозировки в различные сроки. Обработка гербицидом будет производиться вручную специальными мелкоделяночными опрыскивателями. Осенью ко времени уборки весь опытный участок будет подвергнут дискованию или роторной культивации для уничтожения свеклы. Затем поле вспашут и посеют зерновые обычным способом для коммерческих целей. В день обработки глюфосинатом и еще 4 – 5 раз в течение сезона 30-50 растений с каждой делянки будут взяты на анализ. Отобранные экземпляры в упакованном виде отправляются в лабораторию, где они измельчаются до тонкой стружки и подвергаются глубокой заморозке перед отправкой в БелНИИЗР (Белорусский НИИ защиты растений) в лабораторию по определению остаточных количеств. Все отходы после проведения необходимых анализов уничтожаются.

Делянки могут быть использованы для демонстрации ГМ культур и применения глюфосината представителям химических, семеноводческих

компаний, фермерам и журналистам. В этом случае разрешается заходить на делянку, не срывая какие-либо части растений.

5. Количество растений, подлежащих выпуску

Выпуск трансгенных растений происходит в виде обычных одноростковых семян с нормой высева 13 – 14 семян на кв. м. После появления всходов проводится ручное прореживание для получения обычной плотности растений - 8 на кв. м. Общее максимальное количество семян, высаженных на каждой опытном поле, составит 20.000.

Часть Ж

Информация по контролю, мониторингу, планированию работы после выпуска в окружающую среду и обращение с отходами.

1. Меры предосторожности:

а) Расстояние между совместимыми в половом отношении видами

В первый сезон свекла достигает только вегетативной стадии, а семена не образуются. Растения с цветоносами легко распознаваемы и должны быть уничтожены до начала цветения. Поэтому специальной защитной границы не предусмотрено.

б) Меры по предотвращению или сведению к минимуму возможного распространения пыльцы и семян.

Риск распространения трансгенной сахарной свеклы возможен только в момент цветения (при распространении пыльцы) и во время образования семян (при разносе животными). В обоих случаях процесс будет находиться под контролем за счет учета и уничтожения всех цветущих частей растения еще до того момента, как появляется пыльца и семена. К тому же, так как модификация является специфичной для устойчивости к глюфосинату, любая утечка не представляет риска для дикорастущей фауны, поскольку трансгенная культура ведет себя точно так же, как и обычная сахарная свекла за исключением устойчивости к гербициду.

2. Способы обработки земли после выпуска

По окончании испытаний опытные поля будут обработаны в соответствии с общепринятой технологией (культивация и/или вспашка).

3. Способы обработки материала ГМР

При уборке надземная часть растений и корнеплоды будут распределены по поверхности земли. Это место будет обработано гербицидом на основе сульфонилмочевины (напр. Глин или Гранстар). Через какое-то время на данном поле будет проведена культивация с последующим высевом в течение трех лет других культур.

3. Мониторинг полей и технические приемы

Делянки будут находиться под постоянным контролем с момента посева семян и до сбора урожая в соответствии с требованиями программы испытаний по разработке регламента применения гербицида глюфосината аммония для использования на данной культуре. В период с июня по август делянки с растениями будут проверяться на наличие цветущих. Любые найденные цветущие растения будут удалены из почвы, разрезаны на 3 – 4 части во избежание их повторного произрастания и оставлены на данном поле.

5. Чрезвычайные меры

Планирование чрезвычайных мер необходимо только в случае незапланированного, неожиданного распространения растений, как например, при прорастании случайно просыпанных семян. В этом случае дальнейшее распространение будет предотвращено за счет уничтожения последствий, например путем сбора максимально возможного числа семян, контроля данного места на прорастание семян и физического /химического уничтожения всех возможно появившихся растений.

Часть 3

Информация о потенциальном воздействии на окружающую среду выпуска генетически модифицированных растений.

1. Персистентность и возможность инвазии ГМР.

ГМР содержит вставленную ДНК, специально необходимую для выражения выносливости к глюфосинату и устойчивости к канамицину. Поэтому нет причин для того, чтобы ГМР вело себя иначе, чем немодифицированная свекла в отсутствие гербицида. Полевые испытания с ГМР не выявили каких-либо характеристик, которые при отсутствии обработки глюфосинатом дали бы растению какие-либо преимущества по сравнению с обычными растениями. ГМР также остается чувствительным к другим гербицидам сплошного действия, например к глюфосату и параквату.



2. Избирательное преимущество генетической модификации по отношению к видам, совместимым по половому признаку.

Единственным избирательным преимуществом генетической трансформации по сравнению с другой культурной свеклой, дикой или морской свеклой является устойчивость к глюфосинату. Так как данный гербицид не применяется для борьбы с этими растениями, то практических преимуществ нет.

3. Воздействие на окружающую среду возможных взаимосвязей между ГМР и целевыми/ нецелевыми организмами.

Целевых организмов нет и не установлено взаимосвязей с нецелевыми организмами.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Национальный координационный центр биобезопасности

УТВЕРЖДАЮ
Директор ИГ и Ц НАН Беларуси
академик НАН Беларуси
Н.А.Картель
« « апреля 1999 г.

ЭКСПЕРТНОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

по результатам оценки безопасности для здоровья человека и окружающей среды генно-инженерного организма – сахарной свеклы, устойчивой к гербициду глюфосинату аммония (коммерческое название Liberty)

Заявитель – фирма Hoechst Schering AgrEvo GmbH (Германия) обратилась в Национальный координационный центр биобезопасности Республики Беларусь (заявка № 1 от 23 марта 1999 г.) по поводу проведения оценки риска для здоровья человека и окружающей среды планируемого высвобождения (проведение полевых испытаний) генно-инженерного организма (ГИО) – сахарной свеклы сорта Edda, устойчивой к гербициду глюфосинату аммония. Проведенная экспертиза безопасности ГИО показала следующее.

1. Характеристика реципиентного организма.

Сахарная свекла *Beta vulgaris ssp. altissima* (семейство Chenopodiaceae) относится к растениям, размножающимся половым путем при перекрестном опылении, в основном с помощью ветра, а также с помощью насекомых. Особых факторов, влияющих на репродуктивную способность нет. При высокой влажности возрастает роль опыления с помощью насекомых. Может переопыляться диким видом *Beta maritima*. Естественный период полового развития – 2 года. Будучи двулетником, сахарная свекла может сохраняться в природной среде двумя способами: семенами и корнями. Выживаемость в целом невысокая: растения, возобновившие рост на следующий год, легко уничтожаются при культивировании почвы. Рассеивание свеклы возможно при участии человека (потери при транспортировке) и животных. В естественных условиях отсутствуют какие-либо особые взаимодействия сахарной свеклы с организмами, отличными от растений.

2. Характер генетической модификации. Характеристика модифицированного организма.

Цель генетической модификации – включение в геном реципиентного организма и активность в нем РАТ-гена, кодирующего синтез фермента фосфинотрицин ацетилтрансферазы, который, собственно, и определяет устойчивость растения к гербициду.

Изучаемый ГИО содержит, по сравнению с исходным сортом, вставку чужеродной ДНК, представляющую собой генетическую конструкцию, которая включает генетический материал следующих организмов:

Синтетический РАТ-ген соответствует РАТ-протеину грибка *Streptomyces viridochromogenes* обеспечивает устойчивость растения к глюфосинату путем специфического N-ацетилирования гербицида в растительной клетке.

35S промотор и терминатор – от вируса мозаики цветной капусты (CaMV) – использован для экспрессии РАТ-гена.

NOS/OCS промотор и терминатор из бактерии *Agrobacterium tumefaciens* – использован для экспрессии NPT II гена.

NPT II – ген, кодирующий синтез фермента неомицинфосфотрансферазы – используется как маркерный ген для отбора трансформантов.

riAN7 из бактерии *E. coli* – не имеет функций в растении.

Левый и правый края конструкции от *A. tumefaciens* – используется для трансформации генетической конструкции – не имеет функций в растении.

Все перечисленные организмы не являются опасными для здоровья человека (по классификации ВОЗ). Следует однако заметить, что содержащийся в конструкции маркерный ген устойчивости к канамицину, является излишним и его присутствие в некоторых случаях у ГИО (используемых для производства продуктов питания или кормов без существенной переработки) нежелательно. PAT-ген устойчивости к гербициду может использоваться и в качестве маркерного гена.

Как показали результаты блот-гибридизации по Саузерну (прилож. 2 заявки), только одна копия вставки стабильно интегрирована в геном реципиентного организма, а именно, в хромосомную ДНК. Это обеспечивает предсказуемый (простой моногенный) характер наследования приобретенного признака при гибридизации. Стабильность интеграции высокая: после трех генераций ГИО 99% растений имели устойчивость к гербициду.

В состав вектора входит генетический материал широко используемых в генетической инженерии плазмид pRK 290 и pOCA 18/As от бактерии *E. coli* и Ti плазмиды от *Agrobacterium tumefaciens*. Плазмиды pRK 290 и pOCA 18/As не могут самостоятельно перемещаться от одного организма к другому без участия так называемой хэлперной плазмиды (у них отсутствует основание *ori*-сайта мобилизации). Поскольку хэлперная плазида отсутствует у *Agrobacterium*, то и сама плазида отсутствует в геноме трансформированного организма.

Экспрессия привнесенных генов оценивается степенью устойчивости ГИО к глюфосинату аммония (экспрессия PAT-гена) и канамицину (маркерный ген). ГИО проявляет устойчивость при обработке растений гербицидом в концентрациях до 1500 г д.в./га, исходный сорт погибает при концентрациях 300-1000 г д.в./га. Устойчивость к гербициду проявляется во всех частях облиственного растения, за исключением пыльцы.

Культурная сахарная свекла не относится по своей природе к сорнякам. ГИО не отличается от исходного сорта по показателям репродуктивной способности, выживаемости и рассеивания в окружающей среде. Генетическая модификация не дает ГИО какого-либо селективного преимущества, и не приводит к формированию у ГИО каких-либо веществ, которые могут оказывать влияние на другие организмы.

3. Возможность переноса трансгенов другим организмам

Потенциальная возможность переноса трансгенов может быть реализована в случае попадания пыльцы от ГИО к обычным (немодифицированным) сорта сахарной свеклы или к популяциям дикой свеклы *V. maritima*. Перенос трансгенов другим сортам сахарной свеклы нежелателен с точки зрения их сортовой чистоты. Однако если это случится, то не скажется отрицательно на их потребительских свойствах.

Перенос трансгенов дикой свекле не должен привести к изменению ее конкурентоспособности в окружающей среде и, соответственно, к каким-либо изменениям в естественных биоценозах, где присутствует этот вид. Другая ситуация, если рассматривать *V. maritima* в качестве сорняка. Приобретение устойчивости к гербициду должно существенно повысить его агрессивность и усложнить борьбу с ним (в случае использования глюфосината). Однако рассматриваемая ситуация для Беларуси неактуальна, поскольку этот вид дикой свеклы в ее флоре не представлен.

Перенос трансгенов может иметь место :

1. в процессе семеноводства ГИО;

2. в результате цветения растений, высвобождение которых в окружающую среду произошло непреднамеренно (перезимовавшие корни, оставшиеся после уборки, перезимовавшие корни растений, выросших из семян, потерянных при транспортировке, рассеянных птицами, животными).

В соответствии с заявкой, семеноводство ГИО в Беларуси не планируется. Следовательно, подлежит рассмотрению лишь второй способ. перезимовка вегетативных частей сахарной свеклы, способных возобновить свой рост на следующий год, в средней полосе Беларуси практически не случается (исходя из опыта специалистов, работающих с сахарной свеклой). Однако, если это произойдет, то возобновившие весной рост растения легко могут быть уничтожены при культивировании почвы. Заявитель обязуется провести все необходимые послеуборочные мероприятия, чтобы не допустить сохранения ГИО в окружающей среде: обработка растительных остатков сульфонилмочевинной (препараты Glean, Granstar), культивирование почвы. На участке в течение трех последующих лет будут выращиваться другие культуры.

ВЫВОДЫ

1. Вставка чужеродной ДНК, содержащаяся в анализируемом ГИО, не имеет генетический материал от организмов, опасных для здоровья человека.

2. Только одна копия вставки стабильно интегрирована в хромосому реципиентного организма, что обеспечивает предсказуемый (простой моногенный) характер наследования привнесенного признака.

3. Использование в векторе генетически иммобилизованных плазмид исключает возможную передачу трансгенов другим организмам с помощью плазмид.

4. Сорта сахарной свеклы по своей природе не относятся к сорнякам. Проанализированный ГИО не отличается от исходного сорта по репродуктивной способности, выживаемости и рассеиванию в окружающей среде. Следовательно он не может рассматриваться как новый сорняк.

5. Заявкой не предусмотрено семеноводство ГИО в Республике Беларусь, поэтому перенос трансгенов другим организмам возможен только в случае перезимовки вегетативных частей ГИО, отрастании растений и их цветении. Вероятность этого события невысока и может быть сведена к нулю при использовании обычных агротехнических мероприятий (культивирование почвы, использование гербицидов, отличных от глюфосината аммония, чередование культур).

6. Дикая свекла *V. maritima*, которой потенциально могут быть перенесены трансгены, во флоре Беларуси не представлена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проанализированный ГИО – сахарная свекла сорта Edda, устойчивая к гербициду глюфосинату аммония, не представляет опасности для окружающей среды при его высвобождении на территории Республики Беларусь.

Эксперты:

Гл. науч.сотрудник Института
генетики и цитологии НАН Беларуси
докт. биол. наук А.П.Ермишин

Вед. науч. сотрудник Института
генетики и цитологии НАН Беларуси
канд. биол. наук Б.Ю. Аношенко

Аспирант А.В. Писарчик