

Н.О. КОЗУБ<sup>1,2</sup>, Л.А. ПИЛИПЕНКО<sup>1</sup>,  
І.О. СОЗІНОВ<sup>1</sup>, Я.Б. БЛЮМ<sup>2</sup>, О.О. СОЗІНОВ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Інститут захисту рослин НААН України, Київ  
E-mail: sia1953@mail.ru

<sup>2</sup> ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України», Київ

## ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНІ РОСЛИНИ ТА ПРОБЛЕМИ ЗАХИСТУ РОСЛИН: ДОСЯГНЕННЯ І ОЦІНКА ПОТЕНЦІЙНИХ РИЗИКІВ



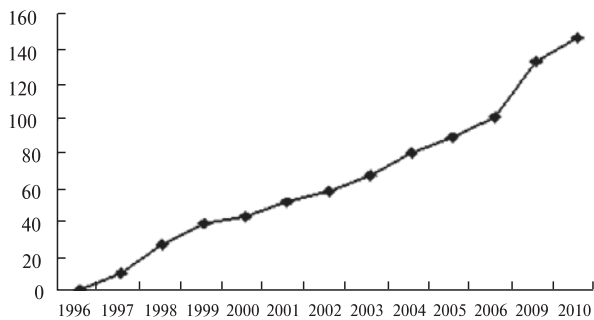
*Проаналізовано досягнення та перспективи у створенні трансгенних рослин. На даний час практично всі комерційно вирощувані генетично модифіковані рослини створено з метою вирішення проблем захисту рослин – вони несуть трансгени, що забезпечують стійкість до гербіцидів, шкідників та вірусів. Розглянуто підходи, які використані для створення комерційних генетично модифікованих рослин зі стійкістю до гербіцидів, комах, вірусів, а також стратегічні підходи і перспективи створення комерційних генетично модифікованих рослин зі стійкістю до грибних і бактеріальних патогенів та нематод. Зазначено екологічні (включаючи питання агрономічного характеру) і соціальні ризики, пов'язані з комерційним вирощуванням трансгенних рослин.*

© Н.О. КОЗУБ, Л.А. ПИЛИПЕНКО, І.О. СОЗІНОВ,  
Я.Б. БЛЮМ, О.О. СОЗІНОВ, 2012

**Вступ.** Найвизначнішим досягненням біотехнології у сільському господарстві є створення та успішне комерційне вирощування генетично модифікованих (ГМ) рослин, яких ще називають трансгенними або біотехнологічними. В 2010 р. трансгенні рослини (соя, кукурудза, бавовник, ріпак, цукрові буряки) вирощували у світі на площі 148 млн га (рисунок), і майже 100 % комерційно вирощуваних ГМ рослин створено з метою вирішення проблем захисту рослин – вони несуть трансгени, що забезпечують стійкість до шкідників та гербіцидів [1].

За деякими розрахунками використання ГМ рослин зі стійкістю до комах та гербіцидів з 1996 по 2009 рр. дозволило знизити пестицидне навантаження на 8,8 % [2]. Проте, крім позитивних наукових та економічних аспектів [3], комерційне вирощування ГМ рослин породжує неоднозначні оцінки екологічних [4, 5] та соціальних наслідків [6], що ускладнює правове регулювання проблеми на національному рівні [7]. Саме ці обставини спонукали авторів даного огляду проаналізувати досягнення та перспективи створення трансгенних рослин та узагальнити екологічні та соціальні ризики у разі їх комерційного вирощування.

Перші трансгенні рослини отримали на початку 80-х років методом трансформації з використанням векторів на основі Ті-плазмиди з *Agrobacterium tumefaciens* (Ті – tumorigenic) [8, 9]. Бактерія *A. tumefaciens* має природну властивість трансформувати рослину-господаря, заражену нею, шляхом вбудовування фрагмента ДНК Ті-плазмиди (Т-ДНК) в геном рослини-господаря та експресія бактеріальних генів призводить до утворення пухлин на інфікованих рослинах [10]. Для створення ГМ рослин ген, котрий кодує ознаку, яку необхідно перенести, вбудовують у Т-ДНК невірулентної плазмиди (у якої вирізано гени, що визначають неопластичний ріст), трансформують цією конструкцією штам агробактерії, що має «допоміжну» плазмиду, та отриманою агробактерією заражають рослинні клітини [11]. Для відбору трансформованих клітин (з інтегрованим трансгеном) необхідні селективні маркери. Першим із таких маркерів був ген неоміцинфосфотрансферази (*nptIII*), який надає стійкість до канаміцину [11].



Загальна площа під ГМ рослинами у світі, млн га

Відповідно, з клітин, що вижили на середовищі з канаміцином, регенерують дорослі рослини. Обмеженням методу трансформації з використанням агробактеріального вектора була здатність агробактерії інфікувати лише дводольні рослини. Подальші удосконалення методики трансформації за допомогою агробактерії, зокрема створення супербінарного вектора, що несе гени вірулентності *virB*, *virG* і *virC*, дозволили провести успішну трансформацію за допомогою *A. tumefaciens* і однодольних рослин, таких як рис, сорго, цибуля та ін. [12]. Другим ефективним методом перенесення генів у рослини є бомбардування мікрочастинками (біолістика). Золоті або вольфрамові частинки діаметром 0,4–1,2 мкм покривають ДНК і «вистрілюють» ними зі спеціальної «рушниці». Частинки розганяються до швидкості 300–600 м/с і пробивають клітинну стінку та мембрани рослинної клітини. Цей метод широко використовується для багатьох культур, у тому числі для злаків і бобових. Розроблено також ряд інших методів, зокрема метод агролістичної трансформації [12].

Для експресії гена конструкція, якою трансформують клітини, крім послідовності заданого гена, має містити промотор – ділянку ДНК, з якою зв'язується РНК-полімераза, що супроводжується ініціацією транскрипції відповідного гена. Найбільш широко вживаним промотором у трансгенних рослин є 35S промотор вірусу мозаїки цвітної капусти (CaMV 35S), 35S промотор вірусу мозаїки ранника (FMV 35S), також широко використовують убіквітиновий промотор з кукурудзи, актиновий промотор з рису, синтетичний промотор SCP1 (super core promoter) [13–15].

Як вже згадувалось, для відбору трансформованих клітин (з введеним геном) необхідні селективні маркери. Хоча першим і найбільш поширеним маркером був і залишається ген неоміцинфосфотрансферази (*nptIII*), як селективну маркерну систему також застосовують гени, що забезпечують стійкість до антибіотиків гігроміцину, блеоміцину, гербіцидам бромоксинілу, гліфосату, фосфінотрицину (в даному випадку ген цільової ознаки – стійкості до гербіциду є одночасно і маркерним геном). Використання генів стійкості до антибіотиків як маркерів викликало побоювання про небезпеку цих маркерних генів для здоров'я людини у зв'язку з можливим горизонтальним переносом цих генів у бактерії та формуванням резистентних штамів. Тому в останні роки розробляються маркерні системи, що базуються на позитивному відборі, а також методи для видалення генів селективних маркерів через сайт-специфічну рекомбінацію із використанням різних рекомбінаційних систем [16]. Серед позитивних селекційних систем у комерційних ГМ рослинах використовується ген фосфоманозоізомерази, який каталізує зворотне перетворення манозо-6-фосфату в фруктозо-6-фосфат і дає можливість трансформованим клітинам використовувати манозу в поживному середовищі. Досліджуються також інші маркерні системи – використання гена ксилозоізомерази, арабітолдегідрогенази, треоніндезамінази, лізинрацемази, гена солестійкості *gstB*, який дає можливість трансформованим клітинам виживати в середовищі з 170 мМ хлоридом натрію. Нами розроблено векторні системи для селекції трансгенних ліній рослин *in vitro*, що базуються на використанні мутантного гена тубуліну рослинного походження, як селективного маркера. Цей маркерний ген забезпечує стійкість додинітроанілінових гербіцидів [17, 18].

Починаючи з 80-х років генетично модифіковані рослини створено для понад 90 видів, включаючи найбільш важливі сільськогосподарські культури – зернові, зернобобові, технічні, овочеві, плодові, ягідні та декоративні. Перші комерційні ГМ сорти рослин почали масово вирощувати в 1996 р. У 2010 р. ГМ рослини вирощували на площі 148 млн га [1]

(табл. 1). Станом на 2010 р. база даних генетично модифікованих культур Центру оцінки ризику для навколишнього середовища CERA (Center for Environmental Risk Assessment) містить інформацію про трансгенні лінії та сорти, що отримали регуляторний дозвіл на вирощування в певних країнах, для наступних культур: люцерна *Medicago sativa* L., ріпак *Brassica napus* L., гвоздика *Dianthus caryophyllus* L., щикорій *Cichorium intybus* L., бавовник *Gossypium hirsutum* L., *Agrostis stolonifera* L., льон *Linum usitatissimum* L., кукурудза *Zea mays* L., диня *Cucumis melo* L., папайя *Carica papaya* L., слива *Prunus domestica* L., *Brassica rapa* L., картопля *Solanum tuberosum* L., рис *Oryza sativa* L., соя *Glycine max* L., різновид кабачка *Cucurbita pepo* L. (squash), цукровий буряк *Beta vulgaris* L., тютюн *Nicotiana tabacum* L., томати *Lycopersicon esculentum* L., м'яка пшениця *Triticum aestivum* L. [13]. Не всі зареєстровані ГМ рослини (трансформовані лінії або гібриди, які в англійській літературі називаються також «events» – «події»), що містяться в базі даних, промислово вирощуються (комерціалізовані). База даних ISAAA (the International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications) Міжнародної служби з впровадження агробіотехнологічних розробок, крім інформації про згадані ГМ рослини, містить дані про трансгенні петунію, троянду, тополю *Populus nigra*, солодкий перець *Capsicum annuum* [14].

Незважаючи на широке різноманіття трансформованих культур, основними ГМ культурами у світі за площами вирощування є так звана велика четвірка: соя (50 % загальної світової площі під ГМ культурами), кукурудза (31 %), бавовник (14 %) і ріпак (5 %) (табл. 1).

Посіви основних ГМ культур становлять значну частку від загальних світових площ посівів цих культур (нетрансгенних і трансгенних). У 2009 р. посіви генетично модифікованої сої склали 73 % загальної світової площі під цією культурою (трансгенної і нетрансгенної сої). Для кукурудзи частка площ під ГМ рослинами від загальної площі під культурою становила 26 %, для бавовнику – 49 %, для ріпака – 21 %, для цукрового буряку – 9 % [19]. У 2010 р. ГМ культури вирощували в 29 країнах світу (табл. 2). Більшість ГМ рослин (95 %) вирощуються в шести країнах – США (45 % від світової площі під ГМ рослинами), Аргентині (17 %), Бразилії (15 %), Індії, Канаді (по 6 %) і Китаї, Парагваї, Пакистані (по 2 %). В Європі у 2010 р. трансгенні рослини вирощували на дуже незначних площах у 8 країнах – сумарно на 82 тис. га ([www.foeeurope.org/GMOs/download/FoEE\\_Who\\_benefits\\_fact\\_sheet.pdf](http://www.foeeurope.org/GMOs/download/FoEE_Who_benefits_fact_sheet.pdf)): в Іспанії, Португалії, Чеській Республіці, Словаччині, Румунії, Польщі вирощувалась ГМ кукурудза (Vt-кукурудза, стійка до кукурудзяного стеблового метелика; слід зазначити, що у Франції і Німеччині в 2009 р.,

Таблиця 1

Площа під різними ГМ культурами у світі, млн га [1, 19]

Рік	Соя	Кукурудза	Бавовник	Ріпак	Цукровий буряк	Картопля	Всього
1996	0,5	0,3	0,8	0,1	–	<0,1	1,7
1997	5,1	3,2	1,4	1,2	–	<0,1	11
1998	14,5	8,3	2,5	2,4	–	<0,1	27,8
1999	21,6	11,1	3,7	3,4	–	<0,1	39,9
2000	25,8	10,3	5,3	2,8	–	<0,1	44,2
2001	33,3	9,8	6,8	2,7	–	<0,1	52,6
2002	36,5	12,4	6,8	3	–	–	58,7
2003	41,4	15,5	7,2	3,6	–	–	67,7
2004	48,4	19,3	9	4,3	–	–	81
2005	54,4	21,2	9,8	4,6	–	–	90
2006	58,6	25,2	13,4	4,8	–	–	102
2009	69	42	16	6,4	0,5	–	134
2010	73,3	46,3	20,9	7	0,5	–	148

введено заборону на її вирощування). В Німеччині, Швеції, Чехії у 2010 р. на площі 450 га вирощувалась ГМ картопля Amflora (крохмаль якої містить переважно амілопектин).

Практично 100 % комерційно вирощуваних ГМ рослин несуть модифіковані ознаки, пов'язані з вирішенням проблем захисту рослин. У 2010 р., як і від самого початку ма-

Таблиця 2

Площа під ГМ рослинами у різних країнах у 2010 р. [1]

Країна	Площа, млн. га	ГМ культура
США	25,4	Кукурудза, соя, бавовник, ріпак, цукровий буряк, люцерна, папайя
Бразилія	22,9	Соя, кукурудза, бавовник
Аргентина	9,4	Соя, кукурудза, бавовник
Індія	8,8	Бавовник
Канада	3,5	Ріпак, кукурудза, соя, цукровий буряк
Китай	2,6	Бавовник, папайя, тополя, томати, солодкий перець
Парагвай	2,4	Соя
Пакистан	2,2	Бавовник
Південна Африка	1,1	Кукурудза, соя, бавовник
Уругвай	0,9	Соя, кукурудза
Болівія	0,7	Соя
Австралія	0,5	Соя, ріпак
Філіппіни	0,3	Кукурудза
М'янма	0,3	Бавовник
Буркіна Фасо	0,1	Бавовник
Іспанія	0,1	Кукурудза
Мексика	<0,1	Бавовник, соя
Колумбія	<0,1	Бавовник
Чилі	<0,1	Кукурудза, соя, ріпак
Гондурас	<0,1	Кукурудза
Португалія	<0,1	Кукурудза
Чеська Республіка	<0,1	Кукурудза, картопля
Польща	<0,1	Кукурудза
Єгипет	<0,1	Кукурудза
Словаччина	<0,1	Кукурудза
Коста Ріка	<0,1	Бавовник, соя
Румунія	<0,1	Кукурудза
Швеція	<0,1	Картопля
Німеччина	<0,1	Картопля

сового вирощування, основну частку площ займали ГМ рослини, які несуть стійкість до гербіцидів (61 % загальної площі під ГМ рослинами). Це соя, кукурудза, ріпак, бавовник, цукровий буряк, люцерна, в які введено гени, що надають стійкість до гліфосату (Раундап) або глюфосинату амонію (Ліберті). Лідером серед ГМ культур є стійка до Раундапу соя (50 % всієї світової площі під ГМ рослинами). На друге місце вийшли біотехнологічні продукти, які поєднують комбінації двох або трьох генів (stacks), що забезпечують стійкість до гербіцидів та комах (22 %). Наприклад, в США у 2010 р. частка площ під ГМ кукурудзою з комбінаціями генів становила 78 %, бавовнику – 67 %; найбільш швидко зросли площі під кукурудзою з потрібною комбінацією генів, які надають стійкість до двох комах-шкідників та до гербіциду [1]. На третьому місці за поширенням у світі – ГМ сорти, що несуть стійкість до комах (17 %). Комерціалізовані рослини зі стійкістю до вірусів (генетично модифіковані папайя, солодкий перець, кабачок) становлять незначну частку (<0,1 %). Серед інших ознак, які модифікуються, у ГМ рослин, наявних в базах даних CERA [13] і ISAAA [14] – затримка досягання плодів (томати, диня), засухостійкість (кукурудза, яка експресує білок холододового шоку, несе ген CspV з *Bacillus subtilis*), підвищений рівень лізину (кукурудза), змінений колір квіток (гвоздика, троянда), модифікований вміст жирів (ріпак, соя), знижений вміст нікотину (тютюн), модифікована амілаза (кукурудза), модифікований крохмаль (картопля, крохмаль якої містить переважно амілопектин).

Нижче розглянуто підходи, які використано для створення комерційних ГМ рослин зі стійкістю до гербіцидів, комах, вірусів, а також стратегії і перспективи створення комерційних ГМ рослин зі стійкістю до вірусних і бактеріальних хвороб та нематод.

**Стійкість до гербіцидів.** Створення ГМ рослин, стійких до гербіцидів, може базуватись на наступних підходах: 1) введення гена, який синтезує додаткову кількість білка, чутливого до гербіциду, в таких кількостях, щоб його вистачало на виконання його функцій і в присутності гербіциду; 2) введення гена,

що кодує фермент, який розщеплює діючу речовину гербіциду, тобто інактивація гербіциду в рослині у ході метаболізму. Перший підхід використано для створення рослин, стійких до гліфосату (гербіцид Раундап). Гліфосат – інгібітор 5-енол пірувілшикімат-3-фосфатсинтази (EPSPS), ферменту, який відіграє важливу роль в синтезі ароматичних амінокислот у бактерій і рослин. Трансгенні рослини сої, бавовнику, цукрового буряку, ріпака, кукурудзи, люцерни, пшениці, що синтезують бактеріальну EPSPS (в більшості випадків з *Agrobacterium tumefaciens*) в кількості, достатній для заміни інгібованого гербіцидом рослинного ферменту, стійкі до гліфосату і не гинуть при обробці на відміну від бур'янів [20]. Подібний підхід використано і для створення сої, стійкої до гербіцидів хімічного класу імідазоліонів. В рослини введено ген *csr1-2* з *Arabidopsis thaliana*, що кодує фермент АНАС (acetohydroxyacid-synthase), який діє в першій фазі синтезу розгалужених амінокислот (валін, лейцин, ізолейцин) у рослин і мікроорганізмів [13, 14]. Синтез зміненого ферменту і надає стійкість до гербіциду.

За допомогою другого підходу створено ГМ рослини, стійкі до глюфосинату амонію (Ліберті). Діюча речовина цього гербіциду – фосфінотрицин, який інгібує глутамінсинтазу рослин. Для отримання стійкості в рослину вводять ген, який кодує фермент фосфінотрицин ацетилтрансферазу (ген *pat* з ґрунтової бактерії *Streptomyces viridochromogenes* або *bar* з *S. hygrosopicus*), що руйнує фосфінотрицин. Таким чином отримано стійкі до глюфосинату амонію рослини кукурудзи, ріпака, бавовнику, кукурудзи, рису, сої, цукрового буряку [13, 14]. За таким же принципом створено ГМ рослини ріпака, бавовнику, тютюну, стійкі до гербіцидів родини оксинілу, зокрема бромоксинілу (Вістріл). В рослини введено ген, що кодує бактеріальний фермент нітрилазу з *Klebsiella pneumoniae*. Нітрилаза гідролізує гербіциди іюксиніл та бромоксиніл з утворенням нефітотоксичних сполук. Зокрема, нітрилаза розщеплює бромоксиніл до 3,5-дібром-4-гідроксибензойної кислоти, елімінуючи його

гербіцидну активність. При створенні бавовнику, стійкого до гербіциду Дикамба, в рослини введено ген дикамба-о-деметилази [21].

**Стійкість до комах.** Для створення ГМ рослин, стійких до комах-шкідників, розроблено різні стратегії. Найбільш поширеним є введення гена, котрий кодує інсектицидний токсин бактерії *Bacillus thuringiensis*. Це широко розповсюджена грампозитивна спороутворююча ґрунтова бактерія, що формує білкові включення, які називають кристалічними білками (Cry) або  $\delta$ -ендотоксинами. Різні підвиди *B. thuringiensis* синтезують токсини, специфічні до певних груп комах, наприклад, підвид *kurstaki* – до лускокрилих, *tenebrionis* – до твердокрилих, *israelensis* – до двокрилих. Існує велике різноманіття штамів *B. thuringiensis* та їхніх токсинів. За токсичністю всі інсектицидні токсини спершу було згруповано в чотири основні класи – CryI, CryII, CryIII, CryIV. Білки CryI токсичні для лускокрилих, CryII – до лускокрилих і двокрилих, CryIII – для твердокрилих, CryIV – для двокрилих [22]. Пізніше на основі спорідненості амінокислотних послідовностей було прийнято інші позначення *cry*-генів та їхніх білків [23]. *Cry*-гени, чий продукт мають менше 45 % гомології амінокислотних послідовностей, позначаються різними арабськими цифрами (числами) (первинний ранг), наприклад, *cryI*, *cry2* тощо. *Cry*-гени в межах одного первинного рангу, чий продукт мають менше 78 % гомології амінокислотних послідовностей, позначаються різними великими латинськими літерами (вторинний ранг), наприклад, *cryIA*, *cryIB* тощо. *Cry*-гени в межах одного первинного і вторинного рангу, чий продукт мають менше 95 % гомології амінокислотних послідовностей, отримують різний третинний ранг, який позначається малими латинськими літерами, наприклад, *cryIAa*, *cryIAb* тощо. *Cry*-генам, чий продукт відрізняється за амінокислотною послідовністю, але на понад 95 % ідентичні між собою, надаються окремі четвертинні ранги, які позначаються арабськими цифрами, наприклад, *cryIAa1*, *CryIAa2* тощо. В новій номенклатурі в основному залишено відповідність назв токсинів (римські цифри замі-

нено арабськими), які відображають специфічність токсичної дії, проте є ряд винятків, наприклад, *cryIG* став *cry9A* (див. табл. 2 з [24]).

У параспоральному кристалі інсектицидний білок, наприклад білок Cry1 масою приблизно 130 кДа, знаходиться в неактивній формі. В кишечнику комахи протоксин активується при лужних значеннях рН 7,5–8,0 і під дією травних протеїназ перетворюється в активний токсин масою приблизно 68 кДа. Він вбудовується в мембрану епітеліальних клітин кишечника комахи і утворює іонний канал, через який відбувається витік значної частини клітинного АТФ. Приблизно через 15 хв після формування такого іонного каналу клітинний метаболізм блокується, відбувається зневоднення організму комахи і настає смерть [11]. Препарати з *B. thuringiensis* (спори і суміші кристалів) застосовувались як біоінсектициди в органічному землеробстві ще з початку ХХ століття. Проте їхнє використання обмежувалось відсутністю стабільності (кристалічні білки швидко руйнуються під дією ультрафіолету), неможливістю проникати в тканини і діяти на комах у всіх частинах рослини (вони неефективні проти личинок, що живляться всередині тканин рослини), занадто вузькою специфічністю. Створення трансгенних рослин, що експресують кристалічні білки, дозволило вирішити перші дві проблеми. У них токсин експресується постійно і захищений від руйнування [25].

Проблема вузької специфічності токсинів може бути вирішена одночасною експресією в трансгенних рослинах декількох білків різної специфічності. На даний час відомо понад 300 генів  $\delta$ -ендотоксинів *B. thuringiensis*, велику кількість їх клоновано ([http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil\\_Crickmore/Bt/](http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/)). Для ефективного синтезу токсину (Bt-білка) в ГМ рослині, достатнього для забезпечення захисту від шкідників, рослини трансформують конструкціями не з нативними, а модифікованими *cry*-генами, адаптованими до транскрипційного та трансляційного апарату рослини. Першим комерційним продуктом була трансгенна (Bt) картопля New Leaf (Монсанто, США), в геном якої введено ген модифікованого білка CryIII

(Cry3A) для захисту від колорадського жука. Bt-білок синтезується в листі і бульбах (де його рівень менше 0,01 %) [26]. В комерційних ГМ рослинах кукурудзи використовуються гени *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry9C* (надають стійкість до личинок кукурудзяного метелика *Ostrinia nubilalis*), *Cry1F*, *Cry1A.105* і *Cry2Ab2* (до лускокрилих), *Cry3A*, *Cry3Bb1*, *Cry3AAb1*, *Cry35Ab1* (до діабротики). Для створення інсектицидних ГМ рослин бавовнику застосовувались гени *Cry1Ac*, *Cry1Ab*, *Cry1F* [13, 14]. Крім кристалічних білків, стійкість до комах надає експресія інших білків з *B. thuringiensis* – вегетативних інсектицидних білків, зокрема Vip3A, який має активність проти ряду личинок лускокрилих, в тому числі *Agrotis ipsilon* Hfn., *Spodoptera frugiperda* Smith, *Heliothis virescens* (F.), *Helicoverpa zea* (Boddie). Цей екзотоксин утворюється на вегетативній стадії *B. thuringiensis*, тоді як Cry-білки синтезуються при споруляції. Крім того, його послідовність не є гомологічною до послідовності жодного Cry-білка [27]. Комерційні ГМ рослини, що експресують білок Vip3A, створено у кукурудзи і бавовнику [13, 14].

Крім токсинів з *B. thuringiensis*, вченими досліджуються можливості використання інших білків та сполук для створення рослин, стійких до комах – інгібіторів протеаз, лектинів, біотин-зв'язуючих білків, токсинів з бактеріальних симбіонтів ентомопатогенних нематод, хітиназ, ферментів синтезу ароматичних альдегідів, пептидів отрути павуків, енхансину з комах, дефенсинів рослин, рослинних гормонів [28]. Наприклад, оригінальний підхід використано для створення кукурудзи, стійкої до шкідників кореневої системи. В геном кукурудзи було введено ген (E)- $\beta$ -каріофіленсинтази з материнки звичайної *Origanum vulgare* L., який відповідає за синтез летучої молекули (E)- $\beta$ -каріофілену. Корені трансгенної кукурудзи виділяють цей сесквітерпен, який приваблює ентомопатогенні нематоди, що, в свою чергу, знищують личинки діабротики [29].

Небезпекою при постійному вирощуванні рослин, що експресують інсектицидні білки, є створення високого селективного тиску, що призводить до розвитку резистентності у комах до токсину. Щоб уникнути цього, використовують різні підходи. Одним з них є

використання генів токсичних білків з різним способом дії, наприклад, двох різних *cry*-генів або *cry*-гена в комбінації з геном іншого токсину [27]. Другою стратегією в зонах із постійним вирощуванням *Vt*-культури є запровадження буферних посівів: частина поля засівається нетрансгенними рослинами цієї культури. Це дозволяє *Vt*-стійким комахам, що вижили на трансгенних рослинах, схрещуватись з чутливими до токсину комахами з нетрансгенних рослин і попереджує виникнення популяції, гомозиготної за рецесивним або напівдомінантним алелем резистентності. В США Агенцією із захисту довкілля EPA (Environmental Protection Agency) визначено, що з метою запобігання формування резистентності у шкідників при вирощуванні *Vt*-кукурудзи обов'язковою вимогою є 20%-ний буферний посів кукурудзи без *Vt*-генів в зоні вирощування кукурудзи (the Corn-Belt) і 50%-ний буферний посів кукурудзи без *Vt*-генів для посівів *Vt*-кукурудзи в зонах вирощування бавовнику [30].

Як уже зазначалося, значну частку сучасних комерційних ГМ продуктів становлять рослини, що поєднують два-три трансгени – ген стійкості до гербіциду з геном стійкості до комах або два різних гени стійкості до комах. Слід згадати про спільний продукт компаній Monsanto і Dow AgroScience – кукурудзу SmartStax, геном якої поєднує комплекс шести інсектицидних трансгенів проти надземних і підземних шкідників та два трансгени, що забезпечують стійкість до двох гербіцидів – гліфосату та глюфосінату. Контроль надземних шкідників (личинок лускокрилих) у кукурудзі SmartStax здійснюють гени *Cry1A.105*, *Cry2Ab2*, *Cry1F*; проти підземних шкідників (личинок діабротики) введено гени *Cry3Bb1*, *Cry34Ab1*, *Cry35Ab1*. Вирощування кукурудзи SmartStax з комплексом *Vt*-генів дозволяє значно зменшити частку буферних площ кукурудзи без *Vt*-генів: до 5 % – в зоні вирощування кукурудзи і до 20 % – в зоні вирощування бавовнику [31].

**Стійкість до вірусів.** В середині 80-х років групою вчених під керівництвом Р. Бічі було зроблено важливе відкриття: показано, що експресія гена, котрий кодує білок оболонки вірусу, в трансгенній рослині надає їй стійкість

до цього вірусу, при цьому здатність вірусу проникати в рослину і розповсюджуватись в ній значно зменшується [32]. Виявилось, що молекулярним механізмом стійкості до вірусів у трансгенних рослин є посттрансляційна деградація специфічних послідовностей РНК вірусу, що програмується послідовністю РНК, кодуваною трансгеном (яку ще називають РНК-сайленсинг або інтерференція РНК (RNAi)) [33]. Процес інтерференції РНК включає наступні стадії: 1) дволанцюгові РНК розщеплюються ферментом Dicer-подібною РНК-азою III на короткі дволанцюгові РНК (siРНК) розміром 21–25 нуклеотидів; 2) siРНК включаються в мультикомпонентний нуклеазний комплекс RISC (RNA-induced silencing complex); 3) фермент гелікази розкручує дволанцюгову siРНК, активуючи RISC (в комплексі залишається одноланцюгова siРНК); 4) mРНК, комплементарна до siРНК, присутньої в RISC, розпізнається та розщеплюється на фрагменти розміром близько 22 нуклеотидів [34]. За допомогою введення гена білка оболонки певного вірусу отримано стійкі до вірусів трансгенні рослини понад 30 культур (папайя, тютюн, картопля, рис, томати, кабачки, соя, ячмінь тощо) [35]. З них комерціалізовано лише невелику кількість. Станом на 2010 р. в США промислово вирощуються ГМ папайя, стійка до вірусу кільцевої плямистості папайї, різновид кабачка (*squash*) *Cucurbita pepo* зі стійкістю до вірусу мозаїки огірка, вірусу мозаїки кавуна та вірусу жовтої мозаїки цуккіні; в США також зареєстрована трансгенна слива зі стійкістю до вірусу шарки сливи (сорт HoneySweet). В Китаї комерціалізованими ГМ культурами є солодкий перець та томати зі стійкістю до вірусу мозаїки огірка [13, 14].

**Стійкість до грибних і бактеріальних патогенів.** На відміну від трансгенних рослин, стійких до гербіцидів та комах, які вже понад 10 років широко вирощуються в світі, створення трансгенних рослин з підвищеною стійкістю до грибних і бактеріальних патогенів поки що не має значних успіхів. Головними обмеженнями є в основному досягнення за рахунок трансгенозу лише низьких рівнів стійкості або високого рівня стійкості тільки до одного специфічного патогена чи навіть

штаму. Саме тому станом на 2011 р. відсутні комерціалізовані ГМ рослини зі стійкістю до грибних і бактеріальних патогенів [13, 14]. Основними стратегіями підвищення стійкості до хвороб у трансгенних рослин в залежності від природи патогена (біотроф чи некротроф) є експресія R-генів (генів стійкості), експресія генів білків, пов'язаних з патогенезом (PR-білків), антимікробних пептидів та відповідних біосинтетичних ферментів для синтезу метаболітів з прямими антимікробними властивостями, нейтралізація факторів вірулентності патогена, інтерференція РНК і модифікація захисних сигнальних шляхів [36, 37]. Стійкість рослин, що забезпечується R-генами, широко використовується в традиційній селекції. Ці гени надають стійкість до певних рас патогена. Більшість R-генів кодують нуклеотид-зв'язуючі, багаті лейциновими повторами (NB-LRR) білки, які можуть прямо розпізнавати продукти відповідних Avr-генів патогена і запускати різні захисні механізми. Методи генної інженерії дозволяють переносити R-гени з неспоріднених видів, які часто виявляються функціональними у нових рослинах-господарях. Наприклад, R-ген *Rxo1* з кукурудзи, успішно перенесений в геном рису, надавав стійкість до бактеріального патогена рису *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* [38]. З дикої картоплі *Solanum bulbocastanum* в культурну картоплю *S. tuberosum* перенесено R-ген *Rps-blb2*, який надає нерасоспецифічну стійкість до збудника фітофторозу *Phytophthora infestans* [39].

Слід зазначити, що R-гени забезпечують стійкість тільки до біотрофних патогенів. На відміну від біотрофів факторами патогенності некротрофних організмів є токсини і гідролітичні ферменти, які необхідні для зараження рослини. Тому для створення стійких трансгенних рослин в геном рослини вводять ген, що пригнічує активність певних ферментів патогена або нейтралізує метаболіти, необхідні для зараження. Експресія гена білка-інгібітора полігалактуронази в трансгенних рослинах приводить до значного зниження рівня прояву симптомів, викликаних патогенами *Botrytis cinerea* і *Bipolaris sorokiniana*, у яких полігалактуроназа є важливим факто-

ром патогенності [37]. Секреція щавлевої кислоти відіграє важливу роль як фактор патогенності при зараженні грибом *Sclerotinia sclerotiorum*. Введення генів оксалатоксидази або оксалатдекарбоксилази (ферментів, які розщеплюють щавлеву кислоту) в трансгенні рослини салату, соняшника, сої, томатів і тютюну забезпечує принаймні часткову стійкість до *Sclerotinia sclerotiorum* [36, 37]. Найбільш поширеним підходом до створення трансгенних рослин зі стійкістю до грибних і бактеріальних хвороб є введення генів, що кодують антимікробні пептиди, PR-білки та білки, задіяні в синтезі антимікробних метаболітів. Серед генів, які переносили в трансгенні рослини, були гени, що кодують хітинази і  $\beta$ 1–3 глюканази (гідролітичні ферменти, що розщеплюють основні структурні компоненти клітинної стінки грибів – хітин і ламінарин), дефенсини і тіоніни (низкомолекулярні багаті на цистеїн білки), тауматин-подібні білки, які переважно забезпечують часткову стійкість до біотрофних та некротрофних патогенів. З метою синтезу підвищеної кількості флавоноїдів, що пов'язані зі стійкістю до патогенів, в рослини вводили ген фенілаланінамонійліази. Рослини тютюну з надекспресією цього ферменту характеризуються підвищеною стійкістю до *Cercospora nicotinae* та *Phytophthora parasitica* pv. *nicotinae*. Ще одним класом ферментів, надекспресія яких у трансгенних рослинах підвищує рівень стійкості, є пероксидази [37]. Проте, незважаючи на різноманіття стратегій, в більшості випадків трансгенні рослини проявляють лише часткову стійкість, що недостатньо для комерціалізації таких рослин. Перспективним напрямком є використання генів, що кодують рецептори PRR (pattern-recognition receptors), які розпізнають певні молекули патогенів (PAMP – pathogen associated molecular patterns) [40].

**Стійкість до нематод.** Як і у випадку зі стійкістю до грибних і бактеріальних хвороб, комерціалізовані ГМ рослини за ознакою стійкості до нематод станом на 2011 р. відсутні, хоча вченими розроблено різні стратегії і проводяться лабораторні дослідження та польові випробовування. Так, у плані розробок компаній Монсанто, Сингента та інших



передбачено створення ГМ сої зі стійкістю до цистоутворюючої нематої [41]. Для створення трансгенних рослин, стійких до нематод, розроблено ряд підходів. Одним з них є введення в рослини генів, що кодують інгібітори серинових протеаз та цистеїнових протеаз (цистатини). Серед інгібіторів серинових протеаз досліджуються спорамиї — запасні білки бульб батата *Ipomoea batatas* проти цистоутворюючої нематої *Heterodera schachtii* Schm. в трансгенних рослинах цукрового буряку [42], трипсиновий інгібітор з *Vigna unguiculata* СрТІ проти картопляної цистоутворюючої нематої *Globodera pallida* у ГМ рослинах картоплі та проти *H. glycines* [43]. Серед цистеїнових протеаз досліджено ориза-цистатин-1, що кодується геном *Oc-1* рису, та його модифікований варіант *Oc-1ΔD86* проти *G. pallida*, *H. schachtii*, *Meloidogyne incognita*, *Radopholus similis* [44]. Крім інгібіторів протеаз, також запропоновано використання пропептида цистеїнової протеази з нематої *H. glycines* у трансгенних рослинах сої [45]. Протеази синтезуються як неактивні проферменти, в яких протеолітична активність блокується коротким пептидом (пропептидом), який відщеплюється для активації фермента.

Для створення трансгенних рослин, стійких до нематод, також запропоновано використовувати гени токсинів з *B. thuringiensis*, що продукують кристалічні білки класів *Cry5* (*Cry5B*, *Cry14A*, *Cry21A*) і *Cry6* (*Cry6A*), які мають нематодоцидні властивості [46]. Цей підхід було використано для створення трансгенних рослин томату з експресією білка *Cry6A*, яка надає стійкість до галової нематої *M. incognita* [47]. Іншою стратегією, що в даний час активно розробляється, є використання явища інтерференції РНК для виключення генів фітонематодного паразитизму. Для цього в рослини вводять гени, що кодують шпилькову дволанцюгову РНК (длРНК), комплементарну до мРНК певного гена паразитизму. Це призводить до виключення (сайленсингу) цього гена, як тільки нематода починає житись на коренях рослини [48]. Експресія длРНК гена паразитизму 16D10, що кодує консервативний секреторний пептид галових нематод, який стимулює ріст коренів та діє як ліганд ймовірного фак-

тора транскрипції рослини, у трансгенних рослинах *Arabidopsis thaliana* виключала цей ген паразитизму та надавала стійкість до чотирьох видів галових нематод — *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* та *M. hapla* [49]. Дослідження з виключенням чотирьох генів паразитизму методом інтерференції РНК у цистоутворюючих нематод дозволили отримати трансгенні рослини *A. thaliana* лише з частковою стійкістю до *H. schachtii* [50]. Нещодавно нами ізольовано малі регуляторні РНК з антинематодною активністю [51].

Таким чином, за перші 15 років промислового вирощування ГМ рослин значний прогрес отримано у створенні і комерціалізації трансгенних рослин (переважно сої, кукурудзи, бавовнику і ріпака), модифікованих за ознаками стійкості до комах та гербіцидів. Ці рослини називають трансгенними рослинами першого покоління. На черзі створення трансгенних рослин другого покоління, що поєднують дані ознаки з ознаками зміненої харчової якості та стійкості до кліматичних факторів. Серед перспективних нових ГМ продуктів очікується комерціалізація *Vt*-рису, стійкого до шкідників, «Золотого рису», в який введено два гени для синтезу бета-каротину (провітаміну А) в ендоспермі зерна, створення сортів засухостійкої кукурудзи та надзасухостійкої кукурудзи для країн Африки [1].

Поряд з розумінням значних переваг біотехнологічних рослин їхнє впровадження на відміну від інших сільськогосподарських технологій було пов'язане з великою кількістю застережень. Основні ризики від вирощування трансгенних рослин можна підрозділити на екологічні, харчові (безпека ГМ продукції для здоров'я людини) та соціальні [52, 53]. Екологічні ризики розподіляють на дві основні групи. Перша група — вплив трансгенних рослин, зокрема рослин, що експресують інсектицидні білки, на нецільові організми (нецільові фітофаги, запилювачі, ентомофаги, ґрунтові організми). Друга група — можливість трансгенів потрапляти в природні популяції диких родичів шляхом гібридизації. Це стосується оцінки ризиків від потрапляння трансгенних культур в несільськогосподарські середовища та їхнє розповсюдження в диких

Таблиця 3  
Місце і рік появи біотипів бур'янів, стійких до  
гліфосату [59]

Вид	Країна	Рік появи
<i>Amaranthus palmeri</i>	США	2005
<i>Amaranthus tuberculatus</i> (syn. <i>rudis</i> )	США	2005
<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	США	2004
<i>Ambrosia trifida</i>	США, Канада	2004 2008
<i>Chloris truncata</i>	Австралія	2010
<i>Conyza bonariensis</i>	Південна Африка	2003
	Іспанія	2004
	Бразилія, Ізраїль	2005
	Колумбія	2006
	США,	2007
	Австралія, Португалія	2010
<i>Conyza canadensis</i>	США	2000
	Бразилія	2005
	Китай, Іспанія	2006
	Чеська Республіка	2007
<i>Conyza sumatrensis</i>	Іспанія	2009
<i>Digitaria insularis</i>	Парагвай	2006
	Бразилія	2008
<i>Echinochloa colona</i>	Австралія	2007
	США	2008
	Аргентина	2009
<i>Eleusine indica</i>	Малайзія	1997
	Колумбія	2006
	США	2010
<i>Euphorbia heterophylla</i>	Бразилія	2006
<i>Kochia scoparia</i>	США	2007
<i>Lolium multiflorum</i>	Чилі	2001
	Бразилія	2003
	США	2004
	Іспанія	2006
	Аргентина	2007
<i>Lolium perenne</i>	Аргентина	2008
<i>Lolium rigidum</i>	Австралія	1996
	США	1998
	Південна Африка	2001
	Франція	2005
	Іспанія	2006
	Італія	2007
<i>Parthenium hysterophorus</i>	Колумбія	2003
<i>Plantago lanceolata</i>	Південна Африка	2003
<i>Poa annua</i>	США	2010
<i>Sorghum halepense</i>	Аргентина	2005
	США	2007
<i>Urochloa panicoides</i>	Австралія	2008

популяціях, особливо, якщо вони несуть трансгени, що забезпечують адаптивність, наприклад засухостійкість. До цього часу також дискутується можливість горизонтального перенесення генів від трансгенних рослин до вірусів або бактерій, хоча достовірних доказів такого явища так і не отримано.

Вивченню впливу вирощування ГМ рослин на біорізноманіття присвячено багато праць. Слід зазначити, що результати, отримані в лабораторних умовах, часто відрізняються від результатів польових досліджень [54]. Взагалі результати аналізу різноманітних досліджень свідчать про те, що використання трансгенних рослин, які експресують спеціалізовані токсини, має значно менший вплив на нецільові організми, ніж використання пестицидів в традиційних сільськогосподарських технологіях, дія яких переважно невибіркова [28, 52, 54]. Найважливішим фактором ризику потрапляння трансгенів в дикі популяції є наявність в місцевості, де вирощуються ГМ культури, диких родичів, з якими може схрещуватись трансгенна культура. При наявності диких родичів величина ризику залежить від селективного значення трансгена – чи зросте його частота в дикій популяції. Але значення такого ризику можна оцінити за розробленими методиками [55], які і зараз продовжують нами удосконалюватись.

Можливість передачі трансгенів через пилок до нетрансгенних сортів чи гібридів однієї і тієї ж культури можна умовно розглядати як певного роду агрономічні ризики. Для уникнення перезапилення трансгенним пилом для ГМ культур розробляються ізоляційні відстані між полями з трансгенною та нетрансгенною культурою, які можуть відрізнитись у різних країнах в залежності від законодавства, що регулює вирощування ГМ рослин [56]. Іншим надзвичайно важливим агрономічним ризиком при вирощуванні ГМ культур є формування резистентності у комах-шкідників та стійкості до гербіцидів у бур'янів. Як згадувалось в розділі «Стійкість до комах», для попередження виникнення стійкості у комах до інсектицидних білків обов'язковими є буферні посіви нетрансгенної культури поряд із полем з трансгенною культурою, розмір

яких також регламентується законодавством. Ще одним заходом може бути введення двох різних генів стійкості до комах в трансгенну рослину.

Окремо слід зупинитись на надзвичайно актуальній проблемі стійкості бур'янів до гербіцидів. Механізмом формування такої стійкості можуть бути мутації та природний добір в результаті селективного тиску при тривалому використанні гербіциду. Іншим механізмом може бути передача гена стійкості до гербіциду в споріднені види через гібридизацію. Як вже згадувалось, трансгенні рослини, що несуть стійкість до гербіцидів, займають значну частку світових площ ГМ посівів (63 % в 2010 р.), серед яких домінують рослини зі стійкістю до гліфосату. Тривале використання гліфосату в традиційному сільському господарстві та при вирощуванні трансгенних культур, стійких до нього, привело до формування біотипів зі стійкістю до гліфосату у великій кількості видів бур'янів [57, 58]. Першими видами, у яких з'явилась стійкість до гліфосату (ще до впровадження гліфосат-стійких трансгенних культур), були пажитниця жорстка *Lolium rigidum* Gaudin в Австралії (1996 р.) та елевзіна індійська *Eleusine indica* (L.) Gaertn. в Малайзії (1997 р.) [59]. Станом на 2011 р. список гліфосат-стійких бур'янів у світі налічує 21 вид, з них в США – 13 видів, в тому числі два види щиріці, два види амброзії, три види райграсу, сорго алепське (табл. 3) [59]. Слід відзначити значну чисельність видів бур'янів, стійких до гліфосату, в таких країнах з великими площами під ГМ культурами, як Аргентина та Бразилія, що може знизити ефективність вирощування трансгенних культур зі стійкістю до цього гербіциду. Зараз пропонуються ГМ продукти, які одночасно несуть гени стійкості до двох гербіцидів різних класів (наприклад, вже згадувана кукурудза Smartstax зі стійкістю до гліфосату та глюфосінату амонію). Проте це передбачає використання вже двох гербіцидів, що підвищує пестицидне навантаження і, відповідно, вартість обробок.

До соціальних ризиків вирощування біотехнологічних рослин можна віднести високу вартість насіння ГМ культур [60], обмеженість сортового набору ГМ рослин, за-

лежність від іноземних компаній (небезпека втрати власної селекції). Наприклад, у 2006 р. насінням трансгенної сої, кукурудзи, бавовнику і ріпака компанії Монсанто засівалось понад 90 % світових площ під ГМ культурами [61]. Слід зазначити, що хоча кількість комерційних ГМ культур невелика (соя, кукурудза, ріпак, бавовник та в меншій мірі цукровий буряк, папайя), у світі створено та випробовується величезна кількість ГМ сортів овочевих, фруктових, ягідних, декоративних культур, модифікованих за 206 ознаками [62]. Проте, за невеликими винятками, це не приводить до їхнього комерційного впровадження. Серед причин цього – висока вартість отримання дозволу на впровадження (15 млн доларів за кожен нову ГМ рослину), значно менший ринок для таких культур, суспільне несприйняття ГМ овочів і фруктів в деяких регіонах, що робить їхнє вирощування фінансово ризикованим [62].

Отже ГМ рослини, як і будь-яка інша технологія, мають свої переваги і недоліки. Проте успішне вирощування ряду важливих ГМ культур у багатьох регіонах світу впродовж 15 років свідчить скоріше про їхні переваги та можливості та про їхній потенціал у вирішенні найважливішої проблем виживання людства – забезпечення продуктами харчування [1]. Ознаки, пов'язані із забезпеченням захисту культурних рослин від шкідників, хвороб, бур'янів, залишатимуться основними ознаками, за якими будуть створюватись трансгенні рослини, в комбінації з іншими господарчо-важливими ознаками, такими як адаптивність, харчова якість, урожайність.

*N. O. Kozub, L. A. Pilipenko,  
I. O. Sozinov, Ya. B. Blume, O. O. Sozinov*

#### GENETICALLY MODIFIED PLANTS AND THE PROBLEMS OF PLANT PROTECTION: PROGRESS AND ESTIMATION OF POTENTIAL RISKS

The review deals with advances and prospects in development of transgenic plants. At present virtually all commercial GM crops are those created for solving plant protection problems – they carry transgenes conferring resistance to herbicides, pests, viruses. Approaches employed for development of commercial GM crops with herbicide, pest and virus resistance, as well as strategies and prospects of development of commercial

GM plants with resistance to fungal and bacterial diseases and nematodes, are considered. Ecological (including agronomical) and social risks associated with commercial growing of transgenic plants are briefly discussed.

Н.А. Козуб, Л.А. Пилипенко,  
І.А. Созінов, Я.Б. Блюм, А.А. Созінов

#### ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ РАСТЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ: ДОСТИЖЕНИЯ И ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ РИСКОВ

Проанализированы достижения и перспективы в создании трансгенных растений. В настоящее время практически все коммерчески выращиваемые ГМ растения созданы с целью решения проблем защиты растений — они несут трансгены, обеспечивающие устойчивость к гербицидам, вредителям, вирусам. Рассмотрены подходы, использованные для создания коммерческих ГМ растений с устойчивостью к гербицидам, насекомым, вирусам, а также стратегические подходы и перспективы создания коммерческих ГМ растений с устойчивостью к грибным и бактериальным патогенам и нематодам. Отмечены экологические (в том числе агрономического характера) и социальные риски, связанные с коммерческим выращиванием трансгенных растений.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРИ

1. James C. ISAAA Brief 42-2010: Executive Summary. Global Status of Commercialized Biotech // 2010, [isaaa.org/resources/publications/briefs/42/executivesummary/default.asp](http://isaaa.org/resources/publications/briefs/42/executivesummary/default.asp)
2. Brookes G., Barfoot P. Global impact of biotech crops : Environmental effects 1996–2009 // GM Crops. — 2011. — 2, № 1. — P. 34–49.
3. Сиволап Ю.М., Рудий Р.Б., Созінов О.О. Перспективи застосування в Україні досягнень молекулярної біотехнології та геноміки для нової «зеленої революції» // Вісн. НАН України. — 2006. — № 3. — С. 21–31.
4. Коваль Г.М., Блюм Я.Б. Питання біобезпеки при впровадженні генетично модифікованих організмів в Україні // Довкілля і ресурси: наукові проблеми : Пр. Ін-ту кліт. біології та генет. інженерії. — Київ, 2001. — С. 194–216.
5. Blume Ya.B. Key issues for Ukrainian acceptance of genetically modified plants and comparison with other Central and Eastern European countries // The Biosafety of Genetically Modified Organisms : Proc. 6th Intl. Symp. (July 8–13, 2000, Saskatoon, Canada). — Saskatoon : Univ. Extension Press, 2000. — P. 15–20.
6. Sorochinsky B.V., Blume Ya.B. Scientific knowledge as a tool to change the altitude of public perception of GMO. GMO-phobia or GMO-bacchanaly in Ukraine? // Biotechnol. and Biotechnol. Eq. — 2008. — 22, № 2. — P. 641–643.
7. Медведєва М.О., Блюм Я.Б. Правове регулювання біотехнологічної діяльності в Україні // Актуальні проблеми державного управління : Зб. наук. пр. — 2004. — 3, № 22. — С. 87–96.
8. De Block M., Herrera-Estrella L., Van Montagu M., Schell J., Zambryski P. Expression of foreign genes in regenerated plants and their progeny // EMBO J. — 1984. — 3. — P. 1681–1689.
9. Horsch R.B., Fraley R.T., Rogers S.G., Sanders P.R., Lloyd A., Hoffmann N. Inheritance of functional foreign genes in plants // Science. — 1984. — 223. — P. 496–498.
10. Zambrysky P.C. Chronicles from the Agrobacterium-plant cell DNA transfer story // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. — 1992. — 43. — P. 465–490.
11. Глук Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. — М.: Мир, 2002. — 589 с.
12. Husaini A.M., Abdin M.Z., Parray G.A., Sanghera G.S., Murtaza I., Alam T., Srivastava D.K., Farooqi H., Khan H.N. Vehicles and ways for efficient nuclear transformation in plants // GM Crops. — 2010. — 1, № 5. — P. 276–287.
13. CERA. GM Crop Database // 2010, [cera-gmc.org/index.php?action=gmc\\_crop\\_database](http://cera-gmc.org/index.php?action=gmc_crop_database)
14. ISAAA. ISAAA's GM Approval Database // 2011, [isaaa.org/gmapprovaldatabase/](http://isaaa.org/gmapprovaldatabase/).
15. Que Q., Chilton M.-D.M., de Fontes C.M., He C., Nuccio M., Zhu T., Wu Y., Chen J.S., Shi L. Trait stacking in transgenic crops // GM Crops. — 2010. — 1, № 4. — P. 220–229.
16. Penna S., Ganapathi T.R. Engineering the plant genome. Prospects of selection systems using non-antibiotic marker genes // GM Crops. — 2010. — 1, № 3. — P. 128–136.
17. Yemets A.I., Baird W.V., Blume Ya.B. Modified tubulin genes as selectable markers for plant transformation // The Plant Cytoskeleton : Key Tool for Agro-Biotechnology / Eds Ya.B. Blume, W.V. Baird, A.I. Yemets, D. Breviaro. — Dordrecht : Springer, 2008. — P. 435–454.
18. Yemets A.I., Radchuk V.V., Bayer O., Bayer G.Ya., Pakhomov A., Baird V.W., Blume Ya.B. The development of transformation vectors based upon a modified plant  $\alpha$ -tubulin gene as the selectable marker // Cell Biol. Int. — 2008. — 32, № 5. — P. 566–570.
19. GMO Compass // 2010, [gmo-com-pass.org/eng/agri\\_biotechnology/gmo\\_planting/257.global\\_gm\\_planting\\_2009.html](http://gmo-com-pass.org/eng/agri_biotechnology/gmo_planting/257.global_gm_planting_2009.html)
20. Green J.M. Evolution of glyphosate-resistant crop technology // Weed Sci. — 2009. — 57. — P. 108–117.

21. Behrens M.R., Mutlu N., Chakraborty S., Dumitru R., Jiang W.Z., LaValle B.J., Herman P.L., Clemente T.E., Weeks D.P. Dicamba resistance: enlarging and preserving biotechnology-based weed management strategies // Science. – 2007. – **316**. – P. 1185–1188.
22. Prabakaran S.R., Rupesh K.R., Nimal S.J., Sudha Rani S., Jayachandran S. Advances in pest control: the role of *Bacillus thuringiensis* // Indian J. Biotechnol. – 2003. – **2**. – P. 302–321.
23. Crickmore N., Zeigler D.R., Feitelson J., Schnepf E., Van Rie J., Lereclus D., Baum J., Dean D.H. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 1998. – **62**. – P. 807–813.
24. Lenin K., Udayasuriyan V., Kannaiyan S. Diversity in cry genes of *Bacillus thuringiensis* // NBA Scientific Bulletin Number 10, National Biodiversity Authority, Chennai, TamilNadu, India. – 2007. – 56 p.
25. De Maagd R.A., Bosch D., Stiekema W. *Bacillus thuringiensis* toxin-mediated insect resistance in plants // Trends Plant Sci. – 1999. – **4**, № 1. – P. 9–13.
26. Astwood J.D., Fuchs R.L., Lavrik P.B. Food biotechnology and genetic engineering // Food Allergy: Adverse Reactions to Food and Food Additives. – Boston: Blackwell Sci. Publ., 1996. – P. 65–92.
27. Burkness E.C., Diveli G., Patton T., Morey A.C., Hutchison W.D. Novel Vip3A *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize approaches high-dose efficacy against *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) under field conditions: Implications for resistance management // GM Crops. – 2010. – **1**, № 5. – P. 337–343.
28. O'Callaghan M., Glare T.R., Burgess E.P.J., Malone L.A. Effects of plants genetically modified for insect resistance on nontarget organisms // Annu. Rev. Entomol. – 2005. – **50**. – P. 271–292.
29. Degenhardt J., Hiltbold I., Köllner T.G., Frey M., Gierl A., Gershenzon J., Hibbard B.E., Ellersieck M.R., Turlings T.C. Restoring a maize root signal that attracts insect-killing nematodes to control a major pest // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2009. – **106**, № 32. – P. 13213–13218.
30. epa.gov/oppbppd1/biopesticides/regtools/biotech-reg-prod.htm#crops
31. epa.gov/oppbppd1/biopesticides/pips/smartstax-factsheet.pdf
32. Powell-Abel P., Nelson R.S., De B., Hoffman N., Rogers S.G., Fraley R.T., Beachy R.N. Delay of disease development in transgenic plants that express the Tobacco mosaic virus coat protein gene // Science. – 1986. – **232**. – P. 738–743.
33. Lindbo J.A., Dougherty W.G. Plant pathology and RNAi: a brief history // Annu. Rev. Phytopathol. – 2005. – **43**. – P. 191–204.
34. Ali N., Datta S.K., Datta K. RNA interference in designing transgenic plants // GM Crops. – 2010. – **1**, № 4. – P. 207–213.
35. Fuchs M., Gonsalves D. Safety of virus-resistant transgenic plants two decades after their introduction: lessons from realistic field risk assessment studies // Annu. Rev. Phytopathol. – 2007. – **45**. – P. 173–202.
36. Collinge D.B., Lund O.S., Thordal-Christensen H. What are prospects of genetically engineered, disease resistant plants // Eur. J. Plant Pathol. – 2008. – **121**. – P. 217–231.
37. Wally O., Punja Z.K. Genetic engineering for increasing fungal and bacterial resistance in crop plants // GM Crops. – 2010. – **1**, № 4. – P. 199–206.
38. Zhao B.Y., Lin X., Poland J., Trick H., Leach J., Hulbert S.H. A maize resistance gene functions against bacterial streak disease in rice // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2005. – **102**. – P. 15383–15388.
39. Van der Vossen E.A.G., Gros J., Sikkema A., Muskens M., Wouters D., Wolters P., Pereira A., Allefs S. The Rpi-blb2 gene from *Solanum bulbocastanum* is an Mi-1 gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato // Plant J. – 2005. – **44**. – P. 208–222.
40. Zipfel C., Robatzek S. Pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity: veni, vidi...? // Plant Physiol. – 2010. – **154**, № 2. – P. 551–554.
41. Dunwell J.M. Crop biotechnology: prospects and opportunities // J. Agricult. Sci. – 2011. – **149**, Suppl. 1. – P. 17–27.
42. Cai D., Thurau T., Tian Y., Lange T., Yeh K.-W., Jung C. Sporamin-mediated resistance to beet cyst nematodes (*Heterodera schachtii* Schm.) is dependent on trypsin inhibitory activity in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) hairy roots // Plant Mol. Biol. – 2003. – **51**. – P. 839–849.
43. Atkinson H., Urwin P.E., McPherson M.J. Engineering plants for nematode resistance // Annu. Rev. Phytopathol. – 2003. – **41**. – P. 615–639.
44. Atkinson H.J., Grimwood S., Johnston K., Green J. Prototype demonstration of transgenic resistance to the nematode *Radopholus similis* conferred on banana by a cystatin // Transgenic Res. – 2004. – **13**, № 2. – P. 135–142.
45. Marra B.M., Souza D.S.L., Aguiar J.N. et al. Protective effects of a cysteine proteinase propeptide expressed in transgenic soybean roots // Peptides. – 2009. – **30**. – P. 825–831.
46. Wei J.-Z., Hale K., Carta L., Platzer E., Wong C., Fang S.C., Aroian R.V. *Bacillus thuringiensis* crystal proteins that target nematodes // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2003. – **10**, № 5. – P. 2760–2765.
47. Li X.-Q., Wei J.-Z., Tan A., Aroian R.V. Resistance top root-knot nematode in tomato roots expressing

- a nematicidal *Bacillus thuringiensis* crystal protein // Plant Biotechnol. J. – 2007. – 5, № 4. – P. 455–464.
48. Davis E.L., Hussay R.S., Mitchum M.G., Baum T.J. Parasitism proteins in nematode-plant interactions // Curr. Opin. Plant Biol. – 2008. – 11. – P. 360–366.
49. Huang G., Allen R., Davis E.L., Baum T.J., Hussey R.S. Engineering broad root-knot resistance in transgenic plants by RNAi silencing of a conserved and essential root-knot nematode parasitism gene // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2006. – 103. – P. 14302–14306.
50. Sindhu A.S., Maier T.R., Mitchum M.G., Hussey R.S., Davis E.L., Baum T.J. Effective and specific in planta RNAi in cyst nematodes: expression interference of four parasitism genes reduces parasitic success // J. Exp. Bot. – 2009. – 60, № 1. – P. 315–324.
51. Циганкова В.А., Андрусевич Я.В., Блюм Я.Б. Виділення малих регуляторних РНК з клітин рослин з антинематодною активністю // Доп. НАН України. – 2011. – № 9. – С. 159–164.
52. Pilson D., Prendeville H.R. Ecological effects of transgenic crops and the escape of transgenes into wild populations // Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. – 2004. – 35. – P. 149–174.
53. Shelton A.M., Zhao J.-Z., Roush R.T. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants // Annu. Rev. Entomol. – 2002. – 47. – P. 845–881.
54. Carpenter J.E. Impacts of GM crops on biodiversity // GM Crops. – 2011. – 2, № 1. – P. 1–17.
55. Новожилів О.В., Блюм Я.Б. Критерії оцінки екологічного ризику вертикального переносу генів при використанні трансгенних рослин // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть / Під ред. В.В. Моргуна. – К.: Логос, 2001. – Т. 1. – С. 501–519.
56. Devos Y., Demont M., Dillen K., Reheul D., Kaiser M., Sanvido O. Coexistence of genetically modified (GM) and non-GM crops in the European Union. A review // 2008, .agronomy-journal.org or http://dx.doi.org/10.1051/agro:2008051
57. Johnson W.G., Davis V.M., Kruger G.R., Weller S.C. Influence of glyphosate-resistant cropping systems on weed species shifts and glyphosate-resistant weed populations // Eur. J. Agron. – 2009. – 31. – P. 162–172.
58. Knezevic S.Z. Herbicide tolerant crops: 10 years later // Maydica. – 2007. – 52. – P. 245–250.
59. Heap I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds // Online. Internet. June 29, 2011. – Available: weedscience.com
60. Hubbard K. Out of Hand: 2009. Farmers Face the Consequences of a Consolidated Seed Industry // 2009, farmertofarmercam-paign.com/Out%20of%20Hand.FullReport.pdf
61. Hendrickson M., Heffernan W. Concentration of Agricultural markets // 2007, foodcircles.missouri.edu/07contable.pdf
62. Miller J.K., Bradford K.J. The regulatory bottleneck for biotech specialty crops // Nature Biotechnol. – 2010. – 28. – P. 1012–1014.

Надійшла 01.12.11