

УДК 632.954

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОИЗВОДСТВА ТРАНСГЕННЫХ *Bt*-РАСТЕНИЙ* ECOLOGICAL ASPECTS OF TRANSGENIC *Bt*-PLANTS PRODUCTION

М.С. Соколов, компания «Лаб-БиоМед», Варшавское шоссе, 19 А, Москва, Москва, e-mail: sokolov@microbio.ru

А.И. Марченко, НИЦ токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов ФМБА, ул. Ленина, 102а, г. Серпухов, Московская обл., 142253, e-mail: ai_marchenko@mail.ru

M.S. Sokolov, Lab-BioMed Company, Varschavskoye Schosse, 19 A, Moscow, 117105, e-mail: sokolov@microbio.ru

A.I. Marchenko, Research Center for Toxicology and Hygienic Regulations of Biopreparation of FMBA, Lenin Str., 102a, Serpukhov, Moscow region, 142253, e-mail: ai_marchenko@mail.ru

Сформулированы обязательные критерии экологической оценки производства генно-инженерно-модифицированных инсектицидных растений (*Bt*-ГМР). Их потенциальный фактор вредности (*Cry1Ab*-белок) оценен по хроническому действию на нецелевую биоту (линейных мышей CD-1, медоносную пчелу *Apis mellifera* L., земляных червей *Eisenia fetida*, гидробионтов *Daphnia magna*), на процессы дыхания и нитрификации почвы. Констатировано, что выращивание *Bt*-ГМР в экологическом отношении более безопасно, чем защита агроценоза от вредителей с помощью инсектицидов.

Ключевые слова: экологическая безопасность, генно-модифицированная инсектицидная кукуруза, *Bt*-ГМР, *Cry1Ab*-белок, экологическая оценка, линейные мыши CD-1, *Eisenia fetida*, *Daphnia magna*, *Apis mellifera*, дыхание почвы, нитрификация.

Criteria for ecological assessment of insecticidal genetically-modified plants (*Bt*-GMP) production are stated. Potential impact of *Bt*-GMP (*Cry1Ab*-protein) is assessed by their chronic toxic effect on non-target biota (CD-1 mice, honey bee *Apis mellifera* L., earthworms *Eisenia fetida*, hydrobionts *Daphnia magna*), and on processes of soil respiration and nitrification. It is noted that production of *Bt*-GMP is ecologically more safe than application of insecticides for protection of agrocenosis against pests.

Key words: ecological assessment, insecticidal genetically-modified plants (*Bt*-GMP), *Cry1Ab*-protein, CD-1 mice, *Apis mellifera*, *Eisenia fetida*, *Daphnia magna*, soil respiration, nitrification.

Мировое производство генно-инженерно-модифицированных растений (ГМР)

Современный ассортимент ГМР насчитывает свыше 50 видов, уже прошедших полевые испытания, а всего известно более 120 видов трансгенных растений. Их посевы в 2010 г. в 25 странах мира достигли 143 млн га, за 16-летний период суммарная мировая площадь посевов ГМР превысила 1 млрд га! В 2007 г. мир отметил 30-летие эры трансгеноза растений и 100-летие открытия свойств энтомотоксинов (*Cry*-белков) различных патогенов *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) — доноров *cry*-генов для инсектицидных *Bt*-ГМР. В 2007 г. в мире допущено к производству 168 линий ГМР (из них 106 — в США и 29 — в ЕС). В РФ зарегистрированы и разрешены только для потребления (как пищевые и кормовые продукты) 8 линий кукурузы, 4 — картофеля, 3 — сои, по 1 — риса и сахарной свеклы [1].

Биобезопасность трансгенного сорта и генно-инженерной деятельности

Требование биобезопасности трансгенного сорта означает наличие у его разработчика свидетельства о генетическом соответствии реальной конструкции ГМ-сорта заявленной; экспериментального подтверждения пищевой и кормовой безвредности трансгенника; доказательства экологической безопасности трансгенника; свидетельства о включении ГМ-сорта (по итогам сортоиспытания) в Государственный реестр селекционных достижений [2].

В отличие от биобезопасности ГМ-сорта (т.е. доказательств безвредности его продукции для здоровья человека и домашних животных), биобезопасность генно-инженерной деятельности — более широкое понятие. Ее определяют как «...систему мероприятий, направленных на предотвращение или снижение до безопасного уровня неблагоприятных воздействий ГМР на здоровье человека и окружающую среду при осуществлении генно-инженерной деятельности» [3]. Реализация подобной системы предполагает наличие в стране таких обязательных составляющих, как законодательная база, регулирующая генно-инженерную деятельность («законы»); система контроля за соблюдением законодательства в сфере генно-инженерной деятельности («контроль»); система профессиональной оценки рисков и мотивированного принятия решений («эксперты»); механизм взаимодей-

ствия с общественностью относительно принятия взаимоприемлемых решений, обеспечивающих их исполнение («общественность»).

Методология экологической оценки и ее обязательные критерии

В процессе многолетних исследований мы решали двукратную задачу — обосновать методологию и выбрать минимум обязательных критериев экологической оценки производства *Bt*-ГМР, а также разработать экспериментальные и математические модели, имитирующие функционирование оцениваемых фитопатосистем.

Констатировано, что потенциальные экологические риски в наибольшей степени присущи производству перекрестно опыляемых *Bt*-культур [1]. Доля инсектицидных *Bt*-ГМР в общемировых посевах трансгенников (с учетом стекерных форм, т.е. растений с несколькими целевыми трансгенами) составляет около 40%. Упреждающая оценка факторов риска *Bt*-ГМР (т.е. продуцируемых ими *Cry*-белков и проч.) позволяет своевременно принимать адекватные меры по управлению ими, исключить или минимизировать сопутствующее негативное действие и последствие трансгенников. В частности, устойчивая к чешуекрылым вредителям *Bt*-кукуруза (занимающая второе место в мире среди инсектицидных ГМР) продуцирует за вегетацию 1—10 кг/га *Cry1Ab*-белка, что на 1,5—2 порядка выше, чем при двух-, трехкратном применении *Bt*-микробиопрепаратов. Растительный *Cry*-белок с опадом и корневыми экссудатами поступает в почву; пыльца *Bt*-кукурузы (потребляемая насекомыми), распространяясь анемохорно, загрязняет *Cry*-белком близлежащую территорию, включая открытые водоемы.

Применительно к *Bt*-ГМР мы выделили 4 наиболее значимых фактора риска:

- *Cry*-белки (энтомотоксины), действующие *in situ* и *ex situ* на нецелевую биоту;
- сукцессию видов фитофагов в агроценозе (взамен элиминированным);
- резистентность целевых видов фитофагов к *Cry*-белкам;
- вертикальный перенос *cry*-генов вследствие переопыления *Bt*-ГМР с изогенными (родительскими) сортами или с родственными дикоросами.

* Исследования выполнены при частичной поддержке МНТЦ (Проект №2877П)

К менее значимым факторам риска отнесены миграция и аккумуляция *Cry*-белков в компонентах агроландшафта, нарушение системы триотрофа агроценоза и снижение его биоразнообразия, плейотропный эффект. Отчасти здесь просматривается очевидная аналогия с экологическими последствиями для агроценоза сопутствующего действия пестицидов.

Действие *Vt*-растений на нецелевую биоту и ее функции

Обобщение данных мировых публикаций за последние 10 лет по действию *Vt*-растений на нецелевую биоту почвы свидетельствует о том, что негативному воздействию *Cry*-белков подвержены отчасти некоторые почвенные нематоды и микроорганизмы, в то время как беспозвоночная мезофауна индифферентна к их присутствию в среде (табл. 1).

Таблица 1. Эффект воздействия *Vt*-ГМР (*in situ*, *ex situ*) на различные виды почвенной биоты [1]

| Почвенная биота | Отрицательный* | Положительный* | Нейтральный* |
|--------------------------|----------------|----------------|--------------|
| Земляные черви | 0 | 0 | 6 |
| Мокрицы | 1 | 0 | 3 |
| Многоножки | 0 | 0 | 1 |
| Коллемболы, клещи | 1 | 0 | 8 |
| Нематоды | 4 | 1 | 7 |
| Микроорганизмы, протозоа | 6 | 3 | 13 |
| Всего | 12 | 4 | 38 |

* Число экспериментов

Подобно пестицидам, *Vt*-растения индуцируют в агроценозах сукцессию фитофагов. Так, *Vt*-кукуруза и *Vt*-хлопчатник (продуцирующие энтомотоксин *Cry1Ab*), обладая устойчивостью к чешуекрылым вредителям, сильнее повреждаются фитофагами с колюще-сосущим ротовым аппаратом — тлями и паутиными клещами. В результате посевы этих трансгеников становятся более привлекательными для фитофагов отряда *Homoptera* — равнокрылых хоботных [4].

Мы обобщили и сформулировали методологические и методические требования к процедуре экологической оценки производства *Vt*-ГМР и ее одиннадцати базовым критериям [1]. Для экологической оценки фитомассы *Vt*-ГМР предложили три блока тестов:

I. Токсикологическое тестирование, включающее оценку хронической токсичности, аллергенности, иммунотоксичности и мутагенности.

II. Экологическое тестирование, оценивающее действие *Vt*-ГМР на насекомых-опылителей, гидробионты, почвенную мезофауна, функции микробедеоценоза.

III. Экологическое моделирование и прогнозирование, характеризующее динамику и баланс *Vt*-токсина в системе «*Vt*-ГМР ↔ почва», прогноз условий и сроков проявления у целевых фитофагов резистентности к *Vt*-ГМР и масштабы распространения *Cry*-белка с пылью трансгеника. Очевидно, что предложенные подходы окажутся полезными и для экологической оценки производства нового поколения инсектицидных трансгеников, защищенных от вредителей различных отрядов *Vip*-белками (*vegetative insecticidal protein*) [5].

На мышах линии CD-1 исследовали хроническую токсичность корма (на основе фитомассы кукурузы) с инсектицидным *Cry1Ab*-белком, нарабатанным путем лабораторного культивирования штамма ВКПМ В-1226 *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* НЗазб. В течение 28 дней животным опытных групп скармливали *ad libitum* традиционный и альтернативный (содержащий *Cry1Ab*-белок в концентрации 10 мг/кг) корма. Затем в течение 14-суточного восстановительного периода животных кормили толь-

ко традиционным кормом (контрольные группы мышей получали *ad libitum* традиционный корм в течение всего эксперимента). По итогам клинических наблюдений за общим состоянием опытных животных, гематологического анализа периферической крови и биохимических анализов ее сыворотки, данных патоморфологических исследований не выявили достоверных изменений у тест-животных, хронически получавших *Cry1Ab*-белок с пищей.

Экспериментальная оценка действия *Cry1Ab*-белка на карпатскую медоносную пчелу показала, что скармливание пчелам энтомотоксина (10 мг/л в 50%-м сахарном сиропе) ни по одному из оцениваемых показателей не оказало негативного действия на рост, развитие и продуктивность медоносных пчелосемей (табл. 2).

Таблица 2. Действие *Cry1Ab*-токсина на *Apis mellifera* L. [6]

| Показатель | Контроль | Опыт |
|---|-----------|-----------|
| Продолжительность жизни рабочей пчелы, сут. | 18,±0,51 | 19,8±0,7 |
| Выход печатного расплода, шт. | 460±9,6 | 516±7,9 |
| Яйценоскость матки, шт. | 1535±51,5 | 1972±40,2 |
| Масса одной рабочей пчелы, мг | 92,8±2,6 | 95,8±1,43 |
| Нагрузка медового зобика рабочей пчелы в период главного медосбора, мг | 48,7±1,2 | 50,8±1,50 |
| Нагрузка медового зобика рабочей пчелы в период поддерживающего медосбора, мг | 40,5±1,02 | 42,0±1,52 |
| Летная активность рабочей пчелы (за 3 мин.), шт. | 271±14,5 | 276±14,1 |
| Выход товарного меда на одну пчелосемью, кг | 24,4±0,51 | 25,9±0,62 |
| Отстроено сотов на одну пчелосемью, шт. | 7,4±0,68 | 8,0±0,71 |
| Произведено воска на одну пчелосемью, кг | 0,89±0,08 | 0,96±0,08 |

По итогам 28-суточных наблюдений *Cry1Ab*-белок (0,1÷1000 мг/кг в смеси с фитомассой кукурузы) при добавлении в дерново-подзолистую почву не оказал ингибирующего действия на обитающих в ней земляных червей (*Eisenia fetida*). Присутствие *Cry1Ab*-белка в этой же почве не повлияло на интенсивность ее дыхания и процесс нитрификации. *Cry1Ab*-белок (0,1÷1000 мг/дм³) в смеси с пылью кукурузы в течение 48 ч экспонирования не оказывал негативного действия на гидробионтов — дафний (*Daphnia magna* Straus).

ГМР — инновационный элемент прогрессивной фитосанитарной технологии

Мировое производство *Vt*-ГМР — это широкомасштабная реализация стратегии самозащиты агроценоза от фитофагов. Мы рассматриваем их коммерческое выращивание как важнейший инновационный элемент прогрессивной фитосанитарной технологии, обеспечивающий землепользователю существенные экологические преимущества (снижение пестицидной нагрузки), а также определенные экономические выгоды.

Как свидетельствует международный опыт и результаты наших экспериментов (*ex situ*), выращивание *Vt*-ГМР в экологическом отношении вполне безопасно, хотя и связано с потенциальным экологическим риском прямого и косвенного негативного воздействия трансгеников на нецелевую биоту агроценоза, с необходимостью коррекции традиционных агротехнологий и проведения пострелизного мониторинга. Однако при защите посевов (и продуктов урожая) экологические последствия *Vt*-ГМР гораздо менее значимы, чем при регулярном применении инсектицидов.

Атрибутами широкомасштабного производства *Vt*-ГМР, исключая фитосанитарную дестабилизацию агроэкосистем, являются перманентный пострелизный экологический мониторинг посевов трансгеников; выращивание *Vt*-ГМР в условиях севооборота, исключющее сукцессию экономически значимых фитофагов; реализация системы

специальных антирезистентных мероприятий («высокие дозы: убежища» и др.); прогнозирование сроков возникновения у целевых фитофагов устойчивости к *Vt*-токсину.

Полагаем, что в составе профильных НИУ РАН, РАМН и РАСХН уже давно назрела необходимость организовать общероссийскую информационную базу данных по оценке биобезопасности генно-инженерной деятельности в целях регулярного, научно обоснованного и непредвзятого информирования ученых и заинтересованной общественности относительно ранее неизвестных событий и фактов, связанных с производством и оборотом ГМР; представления независимым экспертам и представителям общественности беспрепятственного доступа к информации, касающейся экологических последствий выращивания перспективных форм ГМ-растений. Силами экспертов НИУ трех академий (лучше в рамках целевого госзаказа) актуально разработать пакет проектов законодательных актов, гармонизированных с международными правовыми нормами в области государственного регулирования производства, оборота и пострелизного мониторинга *Vt*-ГМР. Наконец, необходимо дополнить действующий Федеральный закон от 19.07.1997 № 109-ФЗ (ред. от 04.10.2010) «О безопасном обращении с пестицидами и агрохимикатами» разделами, обязывающими регистранта трансгеника предъявлять доказательства экологической безопасности *Vt*-ГМР; проводить обязательный экологический постмаркетинговый мониторинг производственных посевов *Vt*-ГМР. В целом, очевидно, что окончательная разработка и научное обоснование гармонизированной стратегии и тактики создания, государственного регулирования и производства всех видов ГМР — первостепенная

задача ученых и экспертов РАН, РАМН и РАСХН, а также аграрных, медицинских и биологических вузов.

Заключение

Таким образом, анализ ситуации, связанной с проблемой государственного регулирования производства ГМР в России, свидетельствует о том, что благодаря многолетней работе НИУ РАН, РАСХН, РАМН и других ведомств, эксперты располагают научно обоснованными методами выявления и оценки факторов экологической опасности производства *Vt*-ГМР, конкретными требованиями к их испытаниям и пострелизному мониторингу, методами идентификации в продукции чужеродных *Cry*-белков и ДНК. В свою очередь, ответственные руководители и администраторы Минсельхоза России, Россельхознадзора, Роспотребнадзора, других заинтересованных ведомств в самое ближайшее время должны ответить на неотложные вопросы:

1. Какие ГМР, в каком объеме и для кого производить?
2. Какие агротехнологии при производстве ГМР применять, чтобы обеспечить выполнение необходимых требований экологической безопасности?

Очевидно, что реализация экологической оценки *Vt*-ГМР (как неотъемлемая часть системы их государственного регулирования, гармонизированная с требованиями авторитетных международных организаций) будет способствовать их рациональному внедрению в АПК, зеленое строительство и лесное хозяйство страны. Это, в конечном счете, улучшит и экономические показатели этих отраслей, и социально-экологическую ситуацию в сельской местности! 

Литература

1. Соколов М.С., А.И. Марченко, Р.В. Боровик, Г.А. Жариков, А.Б. Медвинский, М.М. Гоник, А.В. Русаков, Ю.Я. Спиридонов, В.В. Вельков, Bai-Lian Li. Методологические аспекты экологической оценки производства генно-инженерно-модифицированных инсектицидных растений // *Агрохимия*. 2009. №№ 11, 12. — С. 63—90, 52—72.
2. Генетически модифицированные источники пищи: оценка безопасности и контроль / Под ред. В.А. Тутельяна. М.: Изд-во РАМН. 2007. — 444 с.
3. Кузнецов В.В., Цыдендамбаев В.Д. Биологическая безопасность генетически модифицированных организмов (экспертиза продуктов питания на биобезопасность). Учебное пособие. М.: Изд-во Российский университет дружбы народов. 2008. — 252 с.
4. Викторов А.Г. *Vt*-растения и биологическая активность почв // *Агрохимия*. 2007. №2. — С. 83—88.
5. Викторов А.Г. Эволюция устойчивости насекомых к *Vt*-токсинам и стратегия биотехнологических корпораций по разработке новых поколений инсектицидных растений / В кн.: III Всероссийский симпозиум «Физиология трансгенного растения и фундаментальные основы безопасности» (18—21 октября 2010 г.). М.: ОБН РАН. 2010. — С. 28.
6. Маннапов А.Г., Марченко А.И., Соколов М.С., Курамшина И.Э. Оценка действия *Vt*-ГМР на нецелевую биоту / В кн.: III Всероссийский симпозиум «Физиология трансгенного растения и фундаментальные основы безопасности» (18—21 октября 2010 г.). М.: ОБН РАН. 2010. — С. 61.