

© Е. В. Михайлова<sup>1</sup>,  
Б. Р. Кулуев<sup>1,2</sup>,  
Р. М. Хазиахметов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Башкирский Государственный  
Университет, Уфа;

<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики  
Уфимского научного центра РАН,  
Уфа

Недостаточная изученность влияния на экосистемы генетически модифицированных растений препятствует их широкому распространению. В статье рассмотрены вероятности распространения трансгенов в окружающей среде при возделывании трансгенного рапса. Проблема особенно актуальна для этой культуры, так как сорные дикорастущие родственники рапса, размножающиеся перекрестным опылением, встречаются повсеместно. Особую сложность при оценке возможности распространения трансгенов в природе вызывают колебания в частоте скрещивания с родственными растениями в зависимости от привнесенных генов, линии трансгенного растения и особенностей дикой популяции, а также несовершенство современных методов молекулярной диагностики. В регионах, где планируется выращивание ГМ-культур, рекомендуется заблаговременно проводить исследования переопыления, а также процессов наследования, экспрессии и фенотипических проявлений трансгенов в гибридах как с дикорастущими, так и с культурными растениями, а затем на основе полученных данных разрабатывать конкретные меры и рекомендации по предотвращению попадания трансгенов в окружающую среду. Отечественные сорта, протестированные в местных экосистемах, могли бы стать экологически безопасными.

✿ **Ключевые слова:** *Brassica napus*; рапс; генетически модифицированные растения; ГМ-сорта; переопыление.

Поступила в редакцию 11.02.2015  
Принята к публикации 20.04.2015

## ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ГИБРИДИЗАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОГО РАПСА С РОДСТВЕННЫМИ НЕТРАНСГЕННЫМИ РАСТЕНИЯМИ

### ВВЕДЕНИЕ

В связи с расширением площадей, занятых генетически модифицированными (ГМ) культурами, всё большую актуальность приобретает вопрос их безопасности для экосистем. К 2014 году трансгенные растения выращивались в 28 странах уже на 1,8 миллиардах га, а стоимость рынка ГМ-семян составила 15,6 миллиардов долларов США (James, 2014). Не возникает сомнений в том, что с каждым годом эти цифры будут расти. Однако количество стран, возделывающих ГМ-растения, в период с 2011 по 2013 год сократилось с 29 до 27 (James, 2013). Таким образом, рынок трансгенных растений увеличивается в основном благодаря странам-лидерам по их производству: США, Бразилии, Аргентине, Индии и Канаде, на которые приходится 90 % площадей, занятых под ГМ-культуры.

Одной из причин, обуславливающих отказ многих стран от ГМ-культур, являются возможные пищевые, агротехнические и экологические риски (Куликов, 2005), связанные с их возделыванием и использованием. В центре внимания общественности находятся, прежде всего, пищевые риски, несмотря на то, что о негативном влиянии на организм человека продуктов, полученных из ГМ-источников, не сообщалось. Однако в связи с принятием Постановления Правительства РФ № 839 «О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов, предназначенных для выпуска в окружающую среду, а также продукции, полученной с применением таких организмов или содержащей такие организмы», в России на первый план выходят агротехнические и экологические риски, ранее отсутствовавшие в связи с запретом на возделывание ГМ-культур. Следует отметить, что в связи с проведением политики импортозамещения, предпочтительным является создание и использование отечественных трансгенных сортов с учётом нужд российского сельского хозяйства.

Агротехнические риски в целом связаны с возможной неэффективностью использования ГМ-сортов либо с потерей эффективности со временем, что также актуально и для традиционной селекции. Существует множество видов сорных растений и насекомых-вредителей, развивших устойчивость к современным методам борьбы, например, капустная моль *Plutella xylostella* (Tabashnik et al, 2003) приобрела устойчивость к инсектицидам на основе Bt-токсина. После начала коммерческого возделывания ГМ-растений было отмечено появление устойчивого к Bt-сортам кукурузного жука *Diabrotica virgifera* (Gassmann, 2014), а также устойчивого к глифосату сорного растения *Amaranthus palmeri* (Culpepper, 2008). В последнее время появилась тенденция создания растений с множественными вставками трансгенов, в том числе, для предотвращения формирования резистентности у вредителей (например, сортов, вырабатывающих несколько Сгу-белков или сортов, устойчивых к нескольким гербицидам, а также одновременно к гербицидам и насекомым-вредителям) (Que et al., 2010). В 2014 году такие растения занимали 28 % от общих площадей, используемых под ГМ-культуры (James, 2014).

Существуют также и сорта, имеющие повышенную устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды (ISAAA's GM Approval Database). Их общая доля пока незначительна, однако именно такие ГМ-растения,

вероятно, получат распространение в долгосрочной перспективе. Особая необходимость в таких сортах существует в зонах рискованного земледелия, где лимитирующим фактором являются суровые климатические условия, причем это характерно для большей части территории России. Однако в отличие от искусственного отбора, который часто способствует снижению адаптивности сельскохозяйственных растений, генная инженерия способна снять ограничения, лимитирующие распространение ГМ-растений и соответствующих трансгенов как в естественных, так и в агроэкосистемах (Gepts, Para, 2010). Биотехнологами было получено и доведено до полевых испытаний огромное количество различных генетически модифицированных растений, характеризующихся уникальными хозяйственно ценными признаками, например, устойчивые к засухе, холоду, засолению сорта кукурузы и сои, устойчивый к переувлажнению рис, устойчивый к высоким температурам хлопчатник (Warwick et al., 2009). После их выхода на рынок наибольшую актуальность приобретут экологические риски возделывания ГМ-культур, заключающиеся в возможном влиянии трансгенных растений на экосистемы, в том числе и на биоразнообразие. При этом наиболее актуальной проблемой является риск переноса трансгенов к другим растениям в результате переопыления, поскольку межвидовая гибридизация является не только инструментом селекции, но и силой, способной вызвать эволюционные изменения в экосистемах (Zou et al., 2011). Последствия переопыления трансгенных растений с нетрансгенными родственниками, как дикорастущими, так и культурными, являются предметом интенсивного изучения, и в литературе имеется большое количество данных по этому направлению исследований, тогда как в России такие работы из-за запрета на возделывание ГМ-растений пока не проводились. Среди возможных последствий переопыления с трансгенными растениями называют, в первую очередь, увеличение инвазивного и сорного потенциала гибридов (Ellstrand, 2001; Lu, Snow, 2005; Rieseberg et al., 2007), а также исчезновение и ассимиляцию диких видов (Wolf, Rieseberg, 2001). Хотя на сегодняшний день большинство трансгенных растений не имеют серьёзных конкурентных преимуществ вне агроэкосистем, в будущем же, после появления на рынке устойчивых к неблагоприятным условиям окружающей среды сортов, вероятность наступления таких последствий увеличится.

Таким образом, для получения преимуществ, которые могут дать сельскому хозяйству ГМ-сорта, необходимо со всей серьёзностью отнестись к сопутствующим рискам, которые несёт всё увеличивающееся многообразие трансгенных растений. Необходимо продолжать исследования в этой области, в том числе, с учётом особенностей новых сортов, ещё не поступивших в продажу. В связи с возможным скорым началом возделывания

ГМ-растений в России, особенно пристального внимания заслуживает проблема переноса трансгенов к диким и культурным родственным растениям.

Как известно, из ГМ-культур наиболее распространены в мире трансгенные соя, хлопок, кукуруза и рапс (James, 2014). Из этих растений наибольшим уровнем риска переопыления с дикими родственниками обладает рапс (*Brassica napus*), о чём свидетельствует значительный объём данных о внутри- и межвидовой гибридизации внутри семейства крестоцветных (Fitz John, 2007). К тому же, именно эта культура наилучшим образом приспособлена к суровым климатическим условиям России. Следует отметить, что рапс играет важную роль в оптимизации структуры агроценозов и агроэкосистем как сидеральная и промежуточная культура, способная к ускоренному накоплению органического вещества. Возделывание рапса позволяет повысить полноту использования климатических ресурсов и восстановить баланс органического вещества почв в севообороте (Зыбалов, 2002; Зыбалов, Миркин, 2002). Таким образом, ГМ-рапс является наиболее подходящим объектом для обсуждения проблемы гибридизации ГМ-культур с нетрансгенными родственными растениями.

В данном обзоре рассматриваются исследования вероятности переопыления рапса с культурными и дикорастущими родственными растениями в зависимости от их вида и места произрастания, а также возможность закрепления новых признаков в ряду поколений. Анализируются проблемы, возникающие при исследовании переноса трансгенов в результате переопыления, предлагаются возможные пути их решения.

#### *Рапс и его дикие родственники*

Рапс — одна из наиболее перспективных сельскохозяйственных культур, производство которой в нашей стране неуклонно растёт. Благодаря холодостойкости он пригоден для выращивания в условиях Поволжья и Сибири. В России рапс возделывается в основном в Татарстане, Башкортостане, в Омской, Тюменской, Иркутской областях и на Алтае. Получаемое сырьё востребовано как в РФ, так и за рубежом, причем наблюдается тенденция к росту спроса. Производство рапса, безусловно, будет активно наращиваться и дальше как в нашей стране, так и за рубежом, в связи с усугубляющимися энергетическими и продовольственными проблемами.

Рапс используется в пищевых и технических целях. Это не только масличное и кормовое растение и распространённый сидерат, но также сырьё для производства олеиновой и стеариновой кислот, глицерина и биотоплива. Рапс является перспективным видом для очистки почв от загрязнения тяжёлыми металлами.

На территории РФ работают заводы по производству рапсового масла (ООО «Либойл», ОАО «Астон», ООО «Лабинский МЭЗ», ОАО «Казанский МЭЗ», ООО «МЭЗ Юг Руси» и др.), которые экспортируют свою продукцию на мировые рынки.

На данный момент лишь 7 из 32 одобренных к коммерческому возделыванию за рубежом сортов рапса имеют улучшенные пищевые свойства (повышенное содержание жиров, а также способность связывать фосфор), тогда как 25 сортов отличаются устойчивостью к гербицидам (ISAAA's GM Approval Database), причем последние для России представляют меньший интерес, так как правильное применение комплекса агротехнических приемов обычно позволяет эффективно бороться с сорняками на рапсовых полях. Гораздо более актуальна проблема повышения урожайности и устойчивости рапса к фитофагам, при этом наибольший урон урожаю наносят жуки семейства листоедов (*Chrysomelidae*).

Однако отметим, что проводятся полевые испытания сортов рапса, характеризующихся увеличенной всхожестью, фертильностью и урожайностью, изменённой скоростью роста и развития, устойчивостью к стрессовым факторам, бактериальным и грибковым заболеваниям, а также насекомым-вредителям (Warwick et al., 2009), которые уже в скором времени могут быть выведены на мировой рынок. В связи с этим, весьма актуальными представляются нам финансирование и проведение таких же работ по созданию отечественных ГМ-сортов рапса, причем с учетом местного климата и тех проблем, которые возникают при возделывании этой культуры на территории нашей страны.

Использованию ГМ-рапса, особенно новых его сортов, должна предшествовать оценка экологических рисков, что трудно сделать без учёта опыта стран, где эта трансгенная культура уже выращивается. Поскольку 30 % возделываемого рапса представлено трансгенными сортами, переопыление ГМ-рапса с дикими и культурными родственниками исследуется не только в лабораторных и полевых контролируемых экспериментах, но и в условиях коммерческого возделывания.

Актуальность изучения вопросов экологической безопасности при возделывании трансгенного рапса объясняется ещё и тем, что это единственное культивируемое в коммерческих масштабах ГМ-растение, имеющее дикорастущие родственные виды во всех регионах коммерческого культивирования (Warwick et al., 2003). Огромное разнообразие крестоцветных имеется и на территории России. Стюарт и др. (Stewart, 2003), относят рапс к группе умеренного риска наряду с подсолнечником, сахарной свеклой, пшеницей и люцерной. Способность этих растений переопыляться с дикими родственниками подтверждена многочисленными данными.

Наиболее распространенным свойством ГМ-сортов является устойчивость к глифосату и глюфосинату, которая обеспечивается доминантными аллелями (Knispel, 2008). Совокупность этих факторов сделала посеvy устойчивого к гербицидам рапса модельными системами для изучения рисков и возможных экологических последствий переноса и закрепления трансгенов в свободнорастущих популяциях (Londo et al., 2011).

Рапс (*Brassica napus*) — один из наиболее распространённых видов рода *Brassica* семейства крестоцветных, представленного в том числе капустой (*Brassica oleracea*), репой (*Brassica rapa*), горчицей (*Brassica nigra*, *Brassica juncea*), среди которых есть не только повсеместно распространённые сельскохозяйственные культуры, но и сорные растения. Рапс является аллотетраплоидом *B. rapa* и *B. oleracea* и имеет в своём составе полный геном *B. rapa*, чем обусловлена высокая фертильность межвидовых гибридов (Snow, 1999). Несмотря на то, что первые эксперименты в Британии показывали, что переопыление рапса с *B. rapa* происходит редко и риском можно пренебречь, первое сообщение о переносе генов устойчивости к гербицидам к дикому растению касалось именно рапса, коммерчески возделываемого в Канаде (Warwick et al., 2003).

Перекрестное опыление рапса возможно и с другими видами рода *Brassica* (табл. 1), а также представителями других родов семейства крестоцветных. Например, изучалась вероятность переноса генов от рапса к *Raphanus raphanistrum*, *Sinapis arvensis*, *Hirschfeldia incana* и *Erucastrum gallicum* (табл. 2). Несмотря на редкость случаев переопыления с этими видами, их нельзя оставлять без внимания, поскольку гены рапса могут оставаться в потомках гибридов и после нескольких обратных скрещиваний, что было показано на примере с *R. raphanistrum* (Chevre et al., 1998; Gueritain et al., 2002; Chevre et al., 2007).

Для оценки склонности растений к интрогрессивной гибридизации был предложен метод вычисления индекса переноса трансгенов, который рассчитывается с учетом переноса пыльцы, распространения семян и встречаемости родственного вида на данной территории, а также многих других признаков, указывающих на высокую вероятность появления гибридов и закрепления трансгенов в популяции. При совпадении всех условий максимальное значение индекса может достигать 26 баллов. Индекс переноса трансгенов от рапса к диким популяциям, рассчитанный на территории Бельгии составил 11,5 для *B. rapa*, 6,7 для *H. incana* и *R. raphanistrum*, 5,1 для *B. juncea*, 4,5 у *D. tenuifolia* и *S. arvensis*. Для некоторых видов, таких как *S. alba*, индекс не был рассчитан по причине отсутствия данных об успешном скрещивании с рапсом. Полученные результаты позволяют путем наложения карт в ГИС выявлять участки, где существует возможность скрещивания, с целью проведения экологического мониторинга (Devos, 2009).

Хотя переопыление с дикими родственниками и влияние на природные экосистемы исследуется гораздо чаще (Crawley et al., 1993, 2001; Scott, Wilkinson, 1998; Warwick et al., 2003), внимание также уделяется и переносу генов культурным сортам растений (Chiang et al., 1977; Ellstrand, 2001; Beckie, 2003; Friesen, 2003), что требует даже более пристального изучения, особенно в случаях, когда ГМ-сорта имеют фармацевтическое или промышленное назначение.

Таблица 1

Способность к скрещиванию с рапсом различных популяций рода *Brassica* (отмечены случаи, когда дикое родственное растение служило донором (♂) и реципиентом (♀) пыльцы)

	<i>Brassica napus</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Brassica oleracea</i>	<i>Brassica juncea</i>	<i>Brassica nigra</i>
США	♀ 0,7 % семян	1. ♀ 25–31 % семян. 2. ♀ от 0 до 94 % семян и 0,7–16,9 % семян. 3. ♀ 2–20 % семян.	Нет данных	Нет данных	0
Канада	1. ♀ 0,04–1,4 % семян. 2. ♀ 6–81 % семян. 3. ♀ 2–0,25 % семян.	1. ♀ 7 и 13,6 %. 2. ♀ 2,5–42,5 % гибридов. 3. ♀ от 1,1 % до 17,5 % семян.	♀ 0,09 гибридов на 100 цветков ♂ 0,176 гибридов на 100 цветков	♀ 0,1 % семян	Нет данных
Великобритания	Нет данных	1. ♀ 0,4–1,5 % семян. 2. ♀ от 5 до 100 % семян. 3. ♀ 0,00021 % семян. 4. ♀ 0,28, 0 %, 1,28 и 0,56 % семян.	♀ 0,12 % семян	Нет данных	Нет данных
Дания	Нет данных	1. ♀ 93 %. 2. ♀ от 36 до 64 % семян.	Нет данных	1. ♀ 0,3–2,3 % семян, ♂ 1–1,3 % семян. 2. ♀ менее 3 % семян.	Нет данных
Китай	Нет данных	Нет данных	Нет данных	1. ♀ 1,252–2,328 % семян. 2. ♀ 0,109–0,951 % семян. 3. ♀ 0,24 % семян.	Нет данных
Япония	Нет данных	Нет данных	Нет данных	♀ 0,306–1,62 % семян	Нет данных
Турция	Нет данных	Нет данных	Нет данных	♀ 0,13 % семян	Нет данных
Новая Зеландия	Нет данных	Нет данных	Нет данных	♀ 2,1 % семян, ♂ 0,2 % семян	Нет данных

Таблица 2

Способность к скрещиванию с рапсом различных популяций других видов семейства *Brassicaceae* (отмечены случаи, когда дикое родственное растение служило донором (♂) и реципиентом (♀) пыльцы)

	<i>Raphanus raphanistrum</i>	<i>Hirschfeldia incana</i>	<i>Sinapis arvensis</i>	<i>Erucastrum gallicum</i>
США	0	Нет данных	Нет данных	Нет данных
Канада	1. ♀ 0. 2. ♂ 0,44 гибрида на 100 цветков.	Нет данных	♀ 0 (менее $2 \times 10^{-5}$ )	1. ♀ 0 (менее $2^{-5} \times 10^{-5}$ ). 2. ♂ 0,11 гибридов на 100 цветков.
Великобритания	Нет данных	Нет данных	1. ♀ 0,015 % семян, ♂ 0,0004–0,014 % семян. 2. ♀ 0,0001 % семян.	Нет данных
Франция	1. ♀ 3 гибрида на 100 растений, ♂ 37 гибридов на растение. 2. ♀ от 0,006 до 0,2 % семян. 3. ♀ от $10^{-7}$ до $3 \times 10^{-5}$ семян, ♂ от $2 \times 10^{-5}$ до $5 \times 10^{-4}$ семян.	1. ♀ 6 гибридов на 100 цветков, ♂ 2,3 гибрида на 100 цветков. 2. ♀ 1 гибрид на растение, ♂ 0,36–26 гибридов на растение. 3. ♀ 0,6 гибридов на растение.	1. ♀ 1 гибрид на 100 растений, ♂ 6 гибридов на 50000 растений. 2. ♀ 3,7 гибридов на 100 цветков, ♂ 0,18 гибридов на 100 цветков. 3. ♂ 0,18 гибридов на 100 цветков.	Нет данных
Австралия	♀ 0 семян, ♂ $< 4 \times 10^{-8}$ семян	Нет данных	Нет данных	Нет данных

В целом существуют данные о возможности перекрестного опыления рапса с 23 видами растений: *Brassica napus*, *B. juncea*, *B. oleracea*, *B. carinata*, *B. nigra*, *B. fruticulosa*, *B. maurorum*, *B. tournefortii*, *Hirschfeldia incana*, *Diploaxis erucoides*, *D. catholica*, *D. muralis*, *D. tenuifolia*, *Eruca sativa* (*E. vesicaria*), *Erucastrum gallicum*, *Orychophragmus violaceus*, *Raphanus sativus*, *R. rugosum*, *R. raphanistrum*, *Rorippa islandica*, *Sinapis alba*, *S. arvensis*, *S. pubescens* (Scheffler, Dale, 1994; Fitz John, 2007). Большая их часть встречается на территории России в дикорастущем виде, либо выращивается в культуре. Гипотетически же существует около 100 видов растений (Eastham, Sweet, 2002), способных образовывать гибриды с рапсом при искусственном перекрестном опылении, но по разным причинам этого в природе не происходит.

Значительная изменчивость существует внутри каждого вида, у разных видов же наблюдаются сходные формы (FitzJohn, 2007), что указывает на необходимость исследования различных популяций растений для получения объективных данных.

#### *Вероятность гибридизации ГМ-рапса с Brassica napus*

Наиболее вероятной выглядит возможность перекрестного опыления рапса с дикорастущими и культурными представителями того же вида. Свободноживущие популяции могут появляться в результате потери ГМ-семян при транспортировке и служить источником распространения трансгенов через пыльцу и семена. В Японии, где ГМ-растения не возделываются, были обнаружены устойчивые к гербицидам *B. napus*, произрастающие вблизи портов и на обочинах дорог. Предположительно, семена рассыпались при перевозке на грузовиках из портов к фабрикам по переработке (Saji et al., 2005). Позднее были обнаружены гербицидоустойчивые *B. rapa*, а также растения рапса, устойчивые к нескольким гербицидам одновременно, что свидетельствует о переносе генов в дикорастущих популяциях (Aono, 2011).

В США, где ГМ-рапс широко распространён, из 288 образцов дикорастущего рапса из придорожных популяций 41 % оказались устойчивы к глифосату, 39 % глюфосинату и 0,7 % к обоим гербицидам (Schaefer et al., 2011). В Канаде устойчивость к глифосату наблюдалась в 14 (88 %) исследованных придорожных популяциях, к глюфосинату в 13 (81 %) и к имидазолину в 5 (31 %). Устойчивость сразу к нескольким гербицидам одновременно была обнаружена в 10 (62 %) популяциях. Процент перекрестного опыления различался от 6 до 81 % (Knispel, 2008). Появление дикорастущего рапса, устойчивого к двум гербицидам, также отмечалось в Канаде и ранее (Hall, 2000).

В 14 образцах из партий семян собранной в Канаде нетрансгенной канолы контаминация устойчивостью к гербицидам превысила 0,25 %, а в трёх образцах — 2 %

(Friesen, 2003). Из 70 образцов семян от 14 свободно перекрестно опылявшихся чувствительных к гербицидам канадских сортов, в половине была обнаружена устойчивость к глифосату, в 59 % — к глюфосинату. Только в двух образцах не было ни одного трансгена. В полевом эксперименте по изучению скрещивания между двумя ГМ-сортами, устойчивыми к глифосату и глюфосинату соответственно, одновременную устойчивость к двум гербицидам показывали от 1,4 % проростков семян, собранных на общей границе между полями, до 0,04 % на расстоянии 400 м. На следующий год гибриды были обнаружены на расстоянии 800 м (Beckie, 2003). Переопыление с культурными сортами также может привести к неблагоприятным последствиям. Обнаружение ГМ-вставок в продукции органического сельского хозяйства неизбежно приведёт к убыткам для производителей. К тому же, ГМ-сорты являются интеллектуальной собственностью компаний-производителей, которые могут предъявить фермерам обвинения в незаконном использовании запатентованных семян, в то время как трансгены попали в их урожай в результате перекрестного опыления.

#### *Вероятность гибридизации ГМ-рапса с Brassica rapa*

В наибольшей степени изучено перекрестное опыление рапса с сорными представителями вида *B. rapa*. На данный момент уже неоднократно зафиксирован перенос трансгенов от ГМ-рапса к диким популяциям репы с образованием плодовых гибридов.

Значительное влияние на уровень гибридизации, вероятно, оказывает соотношение доноров и акцепторов пыльцы. Так, было показано, что до 93 % семян растений датской популяции *B. rapa*, произрастающих на полях с культивируемым рапсом, являются гибридными (Jorgensen et al., 1996), но в естественных популяциях, где растения получают больше пыльцы от представителей своего вида и обособлены от посевов рапса, гибридов образуется меньше.

Вероятность перекрестного опыления, вероятно, зависит также от используемого ГМ-сорта и изучаемой популяции. Так, в рамках одного исследования на территории США семь линий Вt-рапса в лабораторных и полевых условиях скрещивались с представителями двух географически изолированных популяций *B. rapa*. В полевом эксперименте исследовалась только калифорнийская популяция, гибридными оказались от 0,7 до 16,9 % семян *B. rapa*. В лаборатории растения из популяции штата Монтана успешно скрещивались с ГМ-рапсом сорта Westar 45 (33/35 семян оказались трансгенными), тогда как гибридов с сортом Oscar 96 получить не удалось. Результаты для калифорнийской популяции существенно отличались: гибридными оказались 1/7 полученных семян при перекрестном опылении с сортом Westar 45 и 5/9 семян с сортом Oscar 96. От Westar 58 не удалось получить трансгенных гибридов в теплице,

однако они были получены в полевом эксперименте. При обратном скрещивании гибридов с *B. rapa* трансген был утерян в первом же поколении в случаях с сортами Oscar 96, Oscar 52 и Westar 63, но сохранялся как минимум в двух поколениях в экспериментах с сортами Westar 45, Oscar 48 и Oscar 124. Белок Cry1Ac экспресировался в них на уровне родительских ГМ-растений (Halfhill, 2002).

При эксперименте в теплице из трех линий ГМ-рапса, имеющих устойчивость к гербицидам, насекомым, или оба признака сразу, наибольшая частота гибридизации наблюдалась для сорта, устойчивого к глифосату, в том числе и по сравнению с контролем. В среднем для всех линий при обработке гербицидом перенос трансгенов происходил в 2008 г. в 25 %, а в 2009 г. в 31 % случаев (Londo, 2011). Эти данные позволяют предположить, что, в условиях селективного давления, признак устойчивости к гербицидам может закрепиться в дикой популяции.

В полевом эксперименте с использованием популяций США и Канады исследовались 11 линий трансгенного рапса с генами *GFP* и *Vt*-токсина. При высоком соотношении рапса и *B. rapa* (600:1) частота скрещивания в полевых условиях в среднем составляла 10 %, причем у двух линий (GT5 и GFP2) частота превышала 20 %, а при меньшем соотношении растений (180:1) составляла в среднем 2 %. На частоту скрещивания влияло также место произрастания диких растений, например, в центре она составила 37,2 %, а по краям участка — 5,2 %. При скрещивании гибридов с *B. rapa* процент трансгенных растений составлял 50 %, когда гибриды выступали в качестве материнских растений, и 0,06–0,08 %, когда материнскими были растения *B. rapa* (Halfhill et al., 2004).

Гибриды были обнаружены во всех восьми исследованных популяциях, расположенных на границах фермерских полей рапса в Канаде (от 1,1 до 17,5 % семян) и в одной из трёх, расположенных на удалении до 10 м (1,1 %). Частота гибридизации снижалась в геометрической прогрессии по мере удаления от полей (Simard, 2006). В другом эксперименте с использованием устойчивого к глифосату трансгенного рапса гибридизация между *B. rapa* и *B. napus* была отмечена в полевых экспериментах на уровне 7 % и в диких популяциях на уровне 13,6 %. С 2002 года количество гибридов в естественных условиях снизилось с 85 на 200 растений до 5 на 200 растений в 2005 году. Большая часть гибридов имела устойчивость к глифосату, но сниженную фертильность пыльцы (55 %), однако они успешно могли быть опылены пыльцой других растений. В отсутствие обработки гербицидом, устойчивость к нему сохранялась в течение как минимум шести лет (Wagwick et al., 2003, 2008). Однако фертильность гибридов, вероятно, может изменяться относительно родительских растений в зависимости от условий среды. Так, продуктивность гибридов

с трансгенным рапсом сорта Westar, вырабатывающим *Vt*-токсин, в засушливый год была на том же уровне, что и у родительских растений, а во второй, более влажный год — снизилась. По урожайности и жизнеспособности гибриды были сравнимы с родительскими растениями (Millwood, 2011).

Возможность переопыления ГМ-рапса с дикими родственниками так же подробно изучалась для британской популяции *B. rapa*. На примере нетрансгенного рапса была вычислена вероятность скрещивания, которая составила 0,4 %–1,5 % в диких популяциях (Scott, Wilkinson, 1998). В теплице в результате искусственного переноса пыльцы трансгенной линии рапса сорта Westar к 27 растениями *B. rapa*, пыльники которых были предварительно удалены, уровень скрещивания колебался от 5 % (в двух случаях) до 100 % (в 9 случаях), причем трансгены передавались во всех случаях гибридизации. Таким образом, было показано, что к гибридизации склонны 36 % особей популяции. (Pallett et al., 2006) В полевых же испытаниях при этом было получено всего лишь два гибрида, устойчивых к глюфосинату, что составило 0,00021 % от исследованных семян *B. rapa* (Daniels et al., 2005).

Приспособляемость спонтанных гибридов с нетрансгенным рапсом в США была выше, чем в природных популяциях Великобритании, где урожай гибридов первого поколения составил 46,9 % от урожая *B. rapa*, а мужская фертильность была на уровне 16,9 %, причем гибриды также демонстрировали повышенный уровень самоопыления. На различных участках гибридными оказались 0,28, 0, 1,28 и 0,56 % семян. 26 полученных гибридов имели меньше семян в стручке, но большее количество стручков, чем у *B. rapa* (Allainguillaume, 2006).

В одном из экспериментов, проведенных в лабораторных условиях, шесть гибридов устойчивого к гербициду рапса сорта Drakkar (93B1104) и *B. rapa* из природной популяции Дании с таким же количеством хромосом, как и у последней, дважды повторно скрещивались с *B. rapa*. В третьем поколении у 457 проанализированных растений устойчивость к гербициду проявлялась в среднем у половины (от 36 до 64 % в зависимости от того, от какого из шести гибридов были получены семена). На фертильность гибридов трансген не повлиял. Различия были отмечены только в количестве плодов и семян (у трансгенного потомства двух из шести гибридов плодов было на 20 % меньше по сравнению с нетрансгенным). У одной из этих линий частота передачи трансгена была снижена на 36 % (Snow, 1999).

Также изучались экологические риски выращивания транспластомных растений рапса. На примере нетрансгенного рапса было исследовано 47 образовавшихся в природе гибридов и было показано, что вероятность переноса ГМ-вставок через пыльцу отсутствует, либо ничтожно мало, так как хлоропласты передаются по материнской линии. Однако интрогрессия трансгенов мо-

жет происходить в смешанных популяциях, если рапс будет выступать в качестве материнского растения (Scott, Wilkinson, 1999).

#### *Вероятность гибридизации ГМ-рапса с Brassica nigra*

Поскольку в естественных условиях не было зафиксировано возникновения гибридов между рапсом и горчицей чёрной, скрещивание между этими двумя видами изучается крайне редко. Так, в результате одного из немногих экспериментов, проведённого в теплице с использованием трансгенного рапса, имеющего устойчивость к гербицидам, насекомым или несущих два признака одновременно, было проанализировано 10798 семян *B. nigra* и ни одно из них не оказалось трансгенным (Londo, 2011).

Тем не менее известно несколько случаев получения гибридов *B. nigra* с нетрансгенным рапсом в лабораторных экспериментах, а также с другими видами, которые, в свою очередь, способны скрещиваться с рапсом (*B. rapa*, *B. juncea*). Также был зафиксирован случай спонтанного скрещивания *B. nigra* с *B. oleracea* в природных условиях (FitzJohn, 2007). Таким образом, в условиях высокой концентрации, родственные растения могут служить связующим звеном в переносе генов между рапсом и горчицей чёрной.

#### *Вероятность гибридизации ГМ-рапса с Brassica oleracea*

Переопыление трансгенного рапса с преимущественным самоопылителем *B. oleracea* практически не исследовано, несмотря на то, что эти два вида весьма близки между собой. Возможность появления гибридов капусты с нетрансгенным рапсом подтверждено рядом исследований. Из 842 образцов листьев *B. oleracea*, обнаруженных на расстоянии 1–25 м от границы полей в Великобритании, был достоверно определён один гибрид с нетрансгенным рапсом (Ford et al., 2006). В Канаде в результате 1095 опылений капусты пыльцой брюквы (*B. napus*) был получен один гибрид. Когда растения *B. napus* использовались в качестве материнских, было получено 18 гибридов на 10187 опылённых цветов (Chiang et al., 1977).

#### *Вероятность гибридизации ГМ-рапса с Brassica juncea*

У горчицы сарептской *B. juncea*, которая возделывается в Азии, Сибири, США и Канаде, а также встречается в диком и сорном виде, перекрестное опыление в среднем достигает 30%. Гибридизация с рапсом хорошо изучена и подтверждена многочисленными исследованиями популяций *B. juncea*, произрастающих в том числе на территории Канады (Bing et al., 1996), Турции (Liu et al., 2010), Новой Зеландии (Heenan et al., 2007).

При совместном культивировании с озимым Вt-рапсом, полученным из сорта Westar, гибридными оказались в среднем 0,24% семян *B. juncea* из дикорастущей китайской популяции (0,17% растений в тепличном эксперименте и 0,52% в полевом) (Shen et al., 2006). Позднее этим же коллективом учёных была исследована передача трансгенов в последующих поколениях. Гибриды, родительские растения, а также нетрансгенный рапс выращивались в условиях, имитирующих время после сборки урожая, когда могут появиться свободнорастущие экземпляры. Наибольшей выживаемостью отличалась дикорастущая *B. juncea*, гибриды же характеризовались средней выживаемостью и самой низкой репродуктивной способностью. В следующих поколениях показатели сравнивались. В третьем поколении из 115 потенциальных гибридов с 53 из 60 участков, 85 растений оказались гибридными (на 47 участках), девять растений с шести полей оказались полностью нетрансгенными (Di et al., 2009). В сходных исследованиях вероятность гибридизации была оценена в 1,252–2,328% (Pu et al., 2005; Zhao et al., 2005) и 0,109–0,951% (Huiming et al., 2007).

В условиях теплицы путём обратного скрещивания с *B. juncea* были успешно получены четыре поколения растений. При обработке гербицидом признак устойчивости к нему стабильно наследовался по Менделю во втором и третьем поколениях. Первое поколение устойчивых к гербициду растений, полученных при обратном скрещивании, производило меньше стручков, чем дикие *B. juncea*, но во втором и третьем поколениях различий не наблюдалось. В третьем и четвертом поколениях количество семян приблизилось к количеству, получаемому при самоопылении *B. juncea*, за исключением растений, унаследовавших устойчивость к гербицидам, которые производили меньшее количество семян. По всхожести семян различий не наблюдалось. Наличие фертильных трансгенных сорных растений уже в третьем поколении говорит о высокой вероятности распространения трансгенов в диких популяциях *B. juncea*. Было отмечено, что перенос признака устойчивости к глифосату более вероятен, чем признака устойчивости к глюфосинату. Также более вероятен перенос генов в случае последующего скрещивания гибридов с *B. juncea* в качестве материнского растения, так как в этом случае образуется большее количество семян (Song et al., 2010).

В полевом эксперименте с устойчивым к гербициду рапсом сорта Dgakka количество гибридных семян, производимых датской популяцией *B. juncea*, зависело от соотношения количества растений рапса и горчицы сарептской на поле. В каждом случае было исследовано по 100 проростков из семян каждого из 10 материнских растений. При соотношении горчицы к рапсу как 1:3, процент гибридных проростков из семян *B. juncea* составил 2,3%, при соотношении 1:10–1,1% и при соотношении 1:15–0,3%. Когда материнским растением являлся рапс, процент гибридных проростков составил

1, 1, 1, 1 и 1,3 % соответственно. Различные генетические маркеры рапса передавались при скрещивании гибридов с *B. juncea* с разной частотой (Jorgensen et al., 1996).

В полевом эксперименте на территории Японии в первый год гибридов горчицы с рапсом обнаружено не было, во второй год, благодаря смещению периодов цветения по сравнению с первым годом, образовались устойчивые к гербициду гибриды: 36 (1,62 %) в смешанных посевах и 15 (0,306 %) в соседствующих. На расстоянии более 20 м гибридов обнаружить не удалось (Tsuda et al., 2012).

#### *Вероятность гибридизации ГМ-рапса с *Raphanus raphanistrum**

Из диких родственников рапса, не относящихся к роду *Brassica*, дикая редька наиболее подробно исследована на предмет перекрестного опыления с ним. Гибриды между *B. napus* и *R. raphanistrum* были впервые получены в одном из ранних исследований, согласно результатам которого редька из французской популяции, располагавшаяся внутри участка с устойчивым к гербициду ГМ-рапсом, давала три гибрида на 100 растений. Рапс с мужской стерильностью, располагавшийся внутри участка с редькой, давал до 37 гибридов на растение. Плодовитость гибридов последующих поколений составила 0,4 и 2 % от показателя дикой редьки. В полевом эксперименте было получено два гибрида в случае, когда концентрация дикой редьки на поле была низкой (590 растений на гектар) и ни одного, когда концентрация была высокой. Это объясняется тем, что изолированное растение получает очень мало пыльцы от представителей своего вида. Таким образом, чем удачнее будет борьба с сорняками, тем выше шанс формирования гибридов. В таких условиях их количество может составлять от 0,006 до 0,2 % (Dargency et al., 1998).

Гибридизация дикой редьки с ГМ-рапсом, устойчивым к гербицидам, была отмечена в двух других полевых экспериментах. В первом эксперименте из 32821 проростков семян *R. raphanistrum* из популяций Канады, Франции, Италии, России и Австрии, гибридным оказался только один (вероятность переноса трансгена составила  $3 \times 10^{-5}$ ). Это гибридное растение унаследовало устойчивость к гербициду, морфологически было схоже с дикой редькой, но имело перегородку в стручке, что свойственно *B. napus*. Жизнеспособность пыльцы составляла 0,12 %, самоопыления не происходило. В лабораторном эксперименте, а также при анализе дикой редьки вблизи фермерских полей, гибриды обнаружить не удалось (Wagwick et al., 2003).

В следующем эксперименте из 189084 проростков семян редьки, произрастающей во Франции, был обнаружен только один устойчивый к гербицидам гибрид, росший на краю поля с ГМ-рапсом. Частота гибридизации могла составлять от  $10^{-7}$  до  $3 \times 10^{-5}$ . С рапсом в роли материнского растения скрещивание происходило чаще.

Гибридными оказались все мелкие семена с диаметром менее 1,6 мм. На основе анализа 73847 проростков рапса, вероятность скрещивания была оценена на уровне от  $2 \times 10^{-5}$  до  $5 \times 10^{-4}$ . Чаще всего переопыление происходило при наличии рядом групп дикой редьки (Chevre, 2000). Позже из семян устойчивого к гербицидам рапса с мужской стерильностью удалось получить более 500 межродовых гибридов. Геномная структура гибридов (от 24 до 80), а также доля гибридов, устойчивых к гербицидам (43,3–52,7 %), различались в зависимости от линии ГМ-растения. Их женская фертильность была очень низкой — от 1,14 до 3,76 семян на растение при норме в несколько тысяч семян. Было получено 5 поколений гибридов, обладающих устойчивостью к гербицидам. В пятом поколении расщепление происходило также по Менделю. При обратном скрещивании количество хромосом уменьшалось по-разному в зависимости от линии родительского трансгенного растения (Chevre, 2007).

В полевом эксперименте, проведенном на территории США с использованием 10 различных линий трансгенного рапса, содержащих *GFP* и *Vt*-трансгены, гибридных семян местной популяции *R. raphanistrum* обнаружено не было (Halfhill, 2004). В полевом опыте на территории Австралии на примере нетрансгенных растений рапса из 25000 семян дикой редьки также не было обнаружено ни одного трансгенного. При использовании же рапса в качестве материнского растения было получено два гибрида (вероятность составила менее  $4 \times 10^{-8}$ ) (Rieger et al., 2001).

Гибриды были получены и в лабораторных экспериментах, так, при исследовании канадской популяции было получено два гибрида с рапсом в качестве материнского растения (0,44 гибрида на 100 опыленных цветов) (Lefol et al., 1997).

#### *Вероятность гибридизации ГМ-рапса с *Hirschfeldia incana**

Во Франции исследовалось искусственное и спонтанное переопыление местной популяции гиришфельдии серой с двумя сортами ГМ-рапса, один из которых был устойчив к гербициду, второй же обладал мужской стерильностью. Опыты проводились как в лабораторных, так и в полевых условиях. В лаборатории при искусственном опылении *H. incana* пыльцой устойчивого к гербициду рапса было получено шесть гибридов на 100 цветков, при использовании рапса в качестве материнского растения — 2,3 гибрида на 100 цветков. В полевом же эксперименте в результате спонтанного опыления *H. incana* пыльцой рапса был получен один гибрид на одно растение (830 гибридов на гектар). При этом устойчивость к гербициду наследовалась, но фертильность гибридов была низкой и после обратного скрещивания с *H. incana* было получено в среднем 0,5 семян с растения. От 168 гибридов было получено 32 семени, из которых удалось по-

лучить пять проростков. В результате спонтанного перекрестного опыления в теплице на одно растение рапса с мужской стерильностью приходилось от 1,5 гибридов при равном соотношении рапса и *H. incana* и до 26 гибридов в случае преобладания *H. incana*. В полевом эксперименте при равном соотношении донора и реципиента пыльцы образовывалось 0,36 гибридов на одно растение рапса (Lefol et al., 1996a).

За три года полевых экспериментов во Франции средний уровень спонтанной гибридизации с устойчивым к гербициду рапсом составил в среднем 0,6 гибридов на одно материнское растение местной популяции *H. incana*. После обратного скрещивания гибридов с *H. incana* через пять поколений трансген утрачивался (Dargency, Fleury, 2000). Таким образом, была показана возможность скрещивания рапса с гирифельдией серой, которая могла выступать как в качестве донора, так и реципиента пыльцы.

#### *Вероятность гибридизации ГМ-рапса с Sinapis arvensis*

Теоретическая возможность перекрестного опыления трансгенного рапса с горчицей полевой упоминается во многих источниках, однако исследователи не добились заметных успехов в получении гибридов.

В полевом исследовании был обнаружен один гибрид рапса и *S. arvensis* из естественной популяции Великобритании, оказавшийся трансгенным и устойчивым к гербициду, вероятность скрещивания была оценена в 0,0001 % (Daniels, 2005). В лабораторных условиях при искусственном опылении 10 209 растений *S. arvensis* пыльцой устойчивого к гербицидам ГМ-рапса Westar, гибридизации не произошло. Однако в результате 1127 опылений горчицы полевой пыльцой нетрансгенных сортов рапса, удалось получить один гибрид с сортом Strathclyde, имеющий 28 хромосом и морфологические признаки обоих родителей. При такой частоте переопыления, гибридные трансгенные семена могут составлять 0,015 % урожая *S. arvensis*. Однако полученный гибрид не производил пыльцу и семена. Также пыльца *S. arvensis* была искусственно перенесена на 5400 цветков каждого из шести сортов нетрансгенного рапса и 4280 цветков ГМ-рапса Westar 10. Семена были плохого качества и удалось получить лишь два растения, оказавшихся триплоидными гибридами (с ГМ-линией Westar и нетрансгенным сортом Falcon). У обоих гибридов было снижено количество пыльцы и семян (гибрид с ГМ-рапсом дал одно семя). При такой частоте переопыления гибридные трансгенные семена могут составлять 0,014 % урожая Westar 10 и 0,0004 % урожая сорта Falcon. К скрещиванию с *S. arvensis* не оказался способен ни один гибрид, а скрещивания с рапсом проходили менее успешно, чем в контрольных группах. В теплице и в полевых условиях при этом спонтанного переопыления не происходило (Moyes et al., 2002).

Одно гибридное семя на 100 растений *S. arvensis* французского происхождения удалось получить только при искусственном опылении в лаборатории и последующем культивировании семян. В полевом же эксперименте не удалось обнаружить гибридов с устойчивым к гербициду рапсом среди 2,9 миллионов семян *S. arvensis*. Из 50 000 растений рапса с мужской стерильностью было получено шесть гибридных семян. Вероятность такого скрещивания видов в природе была оценена в  $10^{-10}$  (Lefol et al., 1996b). В другом эксперименте при искусственном опылении *S. arvensis* и последующем культивировании семян удалось получить 3,7 семян на 100 цветков. В полевом же эксперименте, когда материнским растением являлся рапс с мужской стерильностью, было получено 0,18 гибридов на 100 опыленных цветков (Chevre et al., 1994).

При анализе 42828 ростков из 79 канадских популяций, обнаружить гибриды не удалось, таким образом, вероятность скрещивания составила менее  $2 \times 10^{-5}$  (Warwick, 2003).

#### *Вероятность гибридизации ГМ-рапса с Erucastrum gallicum*

При анализе 22000 проростков (Warwick, 2003) и 3,8 миллионов семян (Lefol et al., 1996b) *E. gallicum* из канадских популяций не удалось обнаружить ни одного гибрида с рапсом, однако в лабораторных условиях искусственно удалось получить слабый (медленно развивающийся), но фертильный гибрид с рапсом в качестве материнского растения (0,11 на 100 опыленных цветков), давший также фертильное потомство при скрещивании с *E. gallicum*. Был также получен гибрид между *B. rapa* и *E. gallicum*, отличавшийся высокой фертильностью и жизненной силой. Так как вид *B. rapa* беспрепятственно образует плодовые гибриды с рапсом, он может служить промежуточным звеном в переносе генов к *E. gallicum* (Lefol et al., 1997). Таким образом, возможность потока генов от трансгенной *B. napus* к *E. gallicum* крайне низка (менее  $5 \times 10^{-5}$ ), однако исключать ее полностью нельзя (Warwick, 2003).

### **ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ, ИМЕЮЩИЕСЯ В ОБЛАСТИ ИССЛЕДОВАНИИ ПЕРЕОПЫЛЕНИЯ РАСТЕНИЙ**

Исходя из вышеперечисленных данных следует, что вероятность образования гибридов с рапсом варьирует в зависимости от региона, сорта ГМ-рапса, популяции дикорастущих родственных растений, а также погодных условий в пределах одной и той же страны, причём разные трансгены могут передаваться с неодинаковой частотой. Имеет значение также способ постановки эксперимента. Значительная часть исследований переопыления рапса, особенно касающихся гибридизации с другими родами семейства крестоцветных, проводилась в лаборатор-

ных условиях, а также теплицах, что повышает чистоту эксперимента, но не позволяет применять полученные данные для агроэкосистем, для которых вероятность перекрестного опыления чаще всего снижается, но может отличаться и в большую сторону (Halfhill, 2002, Shen et al., 2006). Исследования проводились в основном на территории США, Канады, Франции и Великобритании, тогда как ГМ-растения выращиваются в 28 странах (James, 2014), поэтому продолжение и расширение этих исследований представляет большой интерес.

В большинстве исследований объектами выступали сорта ГМ-рапса, обладающие устойчивостью к гербицидам, а также насекомым-вредителям, так как эти два признака на данный момент чаще всего встречаются у коммерчески возделываемых сортов. При отсутствии селективного давления эти признаки, скорее всего, не закрепятся в дикорастущих популяциях даже при высокой степени гибридизации. Однако в будущем доля сортов с признаками, способными давать растениям эволюционные преимущества, будет увеличиваться, что так же говорит о необходимости дальнейшего и своевременного изучения наследования и экспрессии трансгенов в гибридах таких сортов ГМ-рапса с культурными и дикими родственниками.

Одним из существенных недостатков проводимых в этой области исследований является отсутствие подробной характеристики использованных в эксперименте нетрансгенных растений, в том числе их фотографий, данных о периоде цветения, количестве цветков, стручков, семян и т.д., что позволило бы легко сравнить результаты различных исследований, представленные как в виде доли гибридов на сто семян, так и на сто цветков, и сто растений. Также стало бы возможным прогнозирование результатов на основе сходства исследуемой популяции с ранее описанной.

Существует также проблема молекулярной диагностики. На данный момент для выявления трансгенов во всём мире используется ПЦР-анализ, имеющий свои недостатки, в частности, сосредоточенность тест-систем на поиске 35S-промотора, до сих пор считающегося универсальным детектором ГМО, тогда как этого нельзя будет сказать о новых сортах растений, содержащих другие промоторы, которые скоро попадут на рынок. Половина одобренных для коммерческого возделывания сортов ГМ-рапса созданы уже без использования этого промотора. Помимо этого существует возможность контаминации исследуемых образцов ДНК и, как следствие, получение ложноположительных результатов, а также получения ложноотрицательных результатов вследствие неправильного обращения с материалом. Эти проблемы могут быть преодолены при анализе пробы на присутствие нескольких генов одновременно, который может быть наиболее эффективно реализован при помощи технологии ДНК-чипов.

При мониторинге переноса трансгенов от рапса в природные популяции особого внимания, вероятно, заслуживают виды *B. rapa* и *B. juncea*, продемонстрировавшие наивысшие показатели вероятности гибридизации и жизнеспособности гибридов. К этим видам относятся как культурные сорта растений, так и сорняки, широко распространенные на территории России. Нуждаются в исследовании также и виды, скрещивание которых с рапсом возможно, но малоизучено. В таких случаях использование ГМ-растений могло бы существенно упростить эксперименты по перекрестному опылению, поскольку такие признаки, как устойчивость к гербицидам, позволяют легко проводить селективный отбор гибридных проростков.

Важно продолжать проводить эти исследования также и потому, что наследование и экспрессия трансгенов довольно часто отличаются от ожидаемых. При наличии возможности возникновения у гибридов конкурентных преимуществ даже очень малую вероятность скрещивания следует принимать во внимание.

Также необходимо иметь в виду, что крестоцветные производят большое количество семян, поэтому даже, несмотря на малую вероятность перекрестного опыления для некоторых видов, количество гибридных семян может оказаться весьма велико. Например, у *S. arvensis* созревает до 20000 семян, так что при доле в 0,0001 % для популяции из Великобритании (табл. 2), после перекрестного опыления может образовываться около 2 гибридных семян на сто растений, что согласуется с результатами изучения французских популяций. Тем не менее, учитывая нежизнеспособность, либо бесплодность большинства гибридов рапса с представителями других родов, такое скрещивание, вероятно, не представляет опасности. С другой стороны, трансгены могут попасть к дикому родственнику опосредованно, через виды (например, *B. rapa*), с которыми оба растения могут скрещиваться более свободно, нежели между собой.

Использование гена мужской стерильности *bar* для предотвращения перекрестного опыления не очень эффективно, поскольку трансгенное растение сможет быть реципиентом пыльцы и давать семена. Стоит отметить, что доля гибридных семян была даже выше, когда рапс выступал в качестве материнского растения. Учитывая большие потери при уборке урожая семян (теряется несколько тысяч семян на 1 м<sup>2</sup>, при этом всхожесть может сохраняться до 10 лет (Gruber et al., 2012) и неприхотливость рапса, использование сортов с мужской стерильностью желательнее дополнять технологиями, позволяющими минимизировать потерю семян как при уборке урожая, так и при его транспортировке.

Так же неоднозначен и вопрос о предельных расстояниях, на которые может распространяться пыльца. Хотя средняя дальность её распространения при помощи ветра и при участии насекомых известна для различных видов культурных растений, ряд факторов, в том числе

антропогенный, могут существенно расширить границы, в пределах которых возможно переопыление. Ранее было показано, что частота гибридизации с нетрансгенным рапсом снижалась от 0,7 % на расстоянии 0 м до 0,02 % на расстоянии 30 м, а 80 % скрещиваний происходило в пределах 10 м (Staniland et al., 2000), однако позже появились основания полагать, что пыльца перемещается на большие расстояния. Вероятно, значительная часть пыльцы распространяется в пределах 200 м, но обнаруживается также на расстояниях 800 м и более в незначительных количествах (Beckie, 2003). Перекрестное опыление было обнаружено даже на расстоянии 3 км (Rieger et al., 2002) и 4 км (Husken, Dietz-Pfeilstetter, 2007), что говорит о невозможности чётко определить пределы распространения пыльцы.

Пыльца рапса распространяется как при механическом контакте между цветками, так и при помощи ветра и насекомых, в том числе пчёл, и остаётся жизнеспособной от 24 часов до одной недели. Поскольку существуют данные о превалирующей роли в опылении рапса как насекомых (Wilkinson et al., 2003), так и ветра (Hoyle, 2007), принимать во внимание следует оба фактора.

#### **ВОЗМОЖНОСТИ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ГИБРИДАЦИИ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ С НЕТРАНСГЕННЫМИ РОДСТВЕННИКАМИ**

Хотя при создании ГМ-сортов и проводятся исследования на предмет возможности самопроизвольного переноса трансгенов в другие растения, некорректно было бы экстраполировать полученные результаты на всё многообразие существующих популяций родственных растений. Получение исчерпывающей информации возможно только при сотрудничестве всех стран, в том числе и тех, где коммерческое возделывание ГМ-культур пока не планируется. Учитывая имеющиеся данные, необходимо выработать способы выявления трансгенных гибридов, расчёта вероятности и предупреждения их появления.

Различными исследователями, в частности, Devos и др. (2004) предлагалось для решения этой проблемы обеспечить изолированное производство ГМ-семян, использование только лицензированных сортов, изоляцию полей с рапсом, своевременный сбор урожая и удаление свободноживущих представителей вида вблизи полей с ГМ-культурами. Однако такие предложения носят рекомендательный характер и, к тому же, их выполнение практически не поддаётся контролю, особенно в государствах с обширной территорией, таких, как Россия.

Более эффективным решением стало бы изучение различных популяций дикорастущих родственников трансгенных растений, их распространения, сорного потенциала и способности к скрещиванию как с ГМ-сортами, так и с другими родственными растениями. Это дало бы возможность ранжирования регионов по степени эколо-

гической безопасности возделывания ГМ-рапса и выявления тех из них, где требуется усиленный контроль за использованием трансгенных растений. В то же время в России, вероятно, можно было бы выделить обширные территории с низким уровнем риска переопыления, пригодные для выращивания ГМ-рапса.

Особый интерес представляет также как более высокая (Londo, 2011), так и более низкая (Moyes, 2002) способность ГМ-сортов опылять родственные растения, чем у нетрансгенных сортов. Создание ГМ-растений на основе именно тех нетрансгенных сортов, которые менее всего склонны к переопылению, позволила бы создавать более безопасные ГМ-сорты.

Также необходима стандартизация критериев экологической безопасности и показателей для сравнения, что позволило бы рассчитывать данные по каждому эксперименту в доле гибридов как от урожая семян, так и от количества цветков, либо растений. Необходимо также предоставлять такие характеристики как количество опылённых цветков, образующих коробочки с семенами, доля взошедших семян, выживаемость проростков, количество коробочек, либо стручков с семенами у гибридных растений и др.

Изоляция является одним из наиболее эффективных из предлагаемых способов снижения рисков. Имеет смысл установить особые требования для сбора и перевозки семян ГМ-растений, чтобы снизить вероятность их попадания за пределы агроэкосистем. Также желателен отказ от возделывания трансгенных растений на определённом расстоянии от полей с родственными традиционными сортами, учитывая кормовое либо пищевое значение посевов, а также различные сертификаты качества. Так, следует воздержаться от возделывания ГМ-рапса на расстоянии до 200 м (усреднённая граница распространения пыльцы) от полей с другими капустными и увеличить это расстояние до 4 км (максимальная удалённость распространения пыльцы), если речь идёт о продуктах, полностью исключающих возможность наличия в них трансгенов, например, об органическом сельском хозяйстве, территориях особо охраняемых природных территорий, либо о ГМ-сортах, не предназначенных для употребления в пищу человеком.

Требуется также создание одновременно как более точных, так и более дешёвых методов поиска ГМ-вставок. Вместо ПЦР-диагностики мог бы найти применение анализ экспрессии селективных, маркерных и целевых генов (устойчивости к антибиотикам, гербицидам и т. д.) в живых растениях, что, однако, требует наличия информации о сорте растения, с которым могло произойти переопыление. Если такой информации нет, предварительный анализ небольшого количества образцов тотальной ДНК на присутствие наиболее часто встречающихся трансгенов, промоторов и сайтов полиаденилирования при помощи ДНК-чипов позволил бы её получить.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая темпы роста площадей посевов ГМ-сортов, можно предположить, что уже через несколько лет они станут выращиваться и в России. Некоторые из таких культур, в частности, рапс, являются источником экологических рисков, которые, тем не менее, могут быть предотвращены при помощи комплекса мероприятий. Отечественные сорта, протестированные в местных экосистемах, могли бы стать экологически безопасными.

Таким образом, важны как фундаментальные исследования различных популяций диких родственников на предмет способности скрещиваться с ГМ-сортами, так и прикладная задача по разработке тест-систем для высокоточного поиска ГМ-вставок. В России такие исследования имеют особенную актуальность, так как мерам по предотвращению экологических рисков возделывания ГМ-культур до сих пор уделяется недостаточно внимания, тогда как разработка конкретных мер и рекомендаций для фермеров, а также системы контроля за их выполнением, позволила бы возделывать трансгенные растения без угрозы для окружающей среды.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Зыбалов В. С. (2002) Рапс как адаптивная кормовая культура на Южном Урале. Кормопроизводство. № 3: С. 19–21.
2. Зыбалов В. С., Миркин Б. М. (2002) Управление функцией агроценозов. Роль промежуточных посевов и поликультур. Сельскохозяйственная биология. № 1 С. 3–10.
3. Куликов А. М. (2005) Генетически-модифицированные организмы и риски их использования. Физиология растений. Т. 52. № 1: С. 115–128.
4. Allainguillaume J., Alexander M., Bullock J. M. et al. (2006) Fitness of hybrids between rapeseed (*Brassica napus*) and wild *Brassica rapa* in natural habitats. Molecular Ecology. V. 15 (4): P. 1175–1184.
5. Aono M., Wakiyama S., Nagatsu M. et al. (2011) Seeds of a possible natural hybrid between herbicide-resistant *Brassica napus* and *Brassica rapa* detected on a riverbank in Japan. GM crops. V. 2 (3): P. 201–210.
6. Beckie H. J., Warwick S. I., Nair H., Seguin-Swartz G. (2003) Gene flow in commercial fields of herbicide-resistant canola (*Brassica napus*). Ecological applications. V. 13 (5): P. 1276–1294.
7. Bing D. J., Downey R. K., Rakow G. F. W. (1996) Hybridizations among *Brassica napus*, *B. rapa* and *B. juncea* and their two weedy relatives *B. nigra* and *Sinapis arvensis* under open pollination conditions in the field. Plant Breeding. V. 115 (6): P. 470–473.
8. Chevre A. M., Eber F., Baranger A. et al. (1994) Interspecific gene flow as a component of risk assessment for transgenic Brassicas. ISHS Brassica Symposium-IX Crucifer Genetics Workshop 407: P. 169–180.
9. Chevre A. M., Eber F., Darmency H. et al. (2000) Assessment of interspecific hybridization between transgenic oilseed rape and wild radish under normal agronomic conditions. Theoretical and Applied Genetics. V. 100 (8): P. 1233–1239.
10. Chevre A. M., Adamczyk K., Eber F. et al. (2007) Modelling gene flow between oilseed rape and wild radish. I. Evolution of chromosome structure. Theoretical and Applied Genetics. V. 114 (2): P. 209–221.
11. Chiang M. S., Chiang B. Y., Grant W. F. (1977) Transfer of resistance to race 2 of *Plasmiodiophora Brassicae* from *Brassica napus* to cabbage (*B. oleracea* var. *Capitata*). Interspecific hybridization between *B. napus* and *B. oleracea* var. *Capitata*. Euphytica. V. 26(2): P. 319–336.
12. Culpepper A. S., Whitaker J. R., MacRae A. W., York A. C. (2008) Distribution of glyphosate-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) in Georgia and North Carolina during 2005 and 2006. J. Cotton Sci. V. 12: P. 306–310.
13. Crawley M. J., Hails R. S., Rees M. et al. (1993) Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats. Nature. V. 363 (6430): P. 620–623.
14. Crawley M. J., Brown S. L., Hails R. et al. (2001) Transgenic crops in natural habitats. Nature. V. 409 (6821): P. 682–683.
15. Daniels R., Boffey C., Mogg R. et al. (2005) The potential for dispersal of herbicide tolerance genes from genetically-modified, herbicide tolerant oilseed rape crops to wild relatives. Final report to DEFRA, contract reference EPG. V. 20 (5): P. 245–252.
16. Darmency H., Lefol E., Fleury A. (1998) Spontaneous hybridizations between oilseed rape and wild radish. Molecular Ecology. V. 7 (11): P. 1467–1473.
17. Darmency H., Fleury A. (2000) Mating system in *Hirschfeldia incana* and hybridization to oilseed rape. Weed Research (Oxford). V. 40 (2): P. 231–238.
18. Devos Y., Reheul D., Schrijver A. D. et al. (2004) Management of herbicide-tolerant oilseed rape in Europe: a case study on minimizing vertical gene flow. Environmental biosafety research. V. 3 (03): P. 135–148.
19. Devos Y., De Schrijver A., Reheul D. (2009) Quantifying the introgressive hybridisation propensity between transgenic oilseed rape and its wild/weedy relatives. Environmental monitoring and assessment. V. 149(1–4): P. 303–322.
20. Di K., Stewart C. N., Wei W. et al. (2009) Fitness and maternal effects in hybrids formed between transgenic oilseed rape (*Brassica napus* L.) and wild brown mustard (*B. juncea* (L.) Czern et Coss.) in the field. Pest management science. V. 65 (7): P. 753–760.
21. Eastham K., Sweet J. (2002) Genetically modified organisms (GMOs): The significance of gene flow

- through pollen transfer. Copenhagen, Denmark: European Environment Agency. P.1–74.
22. Ellstrand N.C. (2001) When transgenes wander, should we worry? *Plant Physiology*. V. 125 (4): P. 1543–1545.
  23. FitzJohn R.G., Armstrong T.T., Newstrom-Lloyd L.E. et al. (2007) Hybridisation within Brassica and allied genera: evaluation of potential for transgene escape. *Euphytica*. V. 158 (1–2): P. 209–230.
  24. Ford C.S., Allainguillaume J., Grilli-Chantler P. et al. (2006) Spontaneous gene flow from rapeseed (*Brassica napus*) to wild *Brassica oleracea*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. V. 273(1605): P. 3111–3115.
  25. Friesen L.F., Nelson A.G., Van Acker R.C. (2003) Evidence of contamination of pedigreed canola seedlots in Western Canada with genetically engineered herbicide resistance traits. *Agronomy Journal*. V.95(5): P. 1342–1347.
  26. Gassmann A.J., Petzold-Maxwell J.L., Clifton E.H. et al. (2014) Field-evolved resistance by western corn rootworm to multiple *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. V. 111 (14): P. 5141–5146.
  27. Gepts P., Papa R. (2010) Possible effects of (trans) gene flow from crops on the genetic diversity from landraces and wild relatives. *Environmental biosafety research*. V. 2 (2): P. 89.
  28. Gruber S., Hüsken A., Dietz-Pfeilstetter A. et al. (2012) Biological Confinement Strategies for Seed- and Pollen-Mediated Gene Flow of GM Canola (*Brassica napus* L.). *AgBioForum*. V. 15 (1): P. 44–53.
  29. Gueritaine G., Sester M., Eber F. et al. (2002) Fitness of backcross six of hybrids between transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) and wild radish (*Raphanus raphanistrum*). *Molecular Ecology*. V. 11: P. 1419–1426.
  30. Halfhill M., Raymer P., Stewart C. Jr. (2002) Bt-transgenic oilseed rape hybridization with its weedy relative, *Brassica rapa*. *Environmental Biosafety Research*. V. 1(1): P. 19–28.
  31. Halfhill M.D., Zhu B., Warwick S.I. et al. (2004) Hybridization and backcrossing between transgenic oilseed rape and two related weed species under field conditions. *Environmental Biosafety Research*. V. 3 (02): P. 73–81.
  32. Hall L., Topinka K., Huffman J. et al. (2000) Pollen flow between herbicide-resistant *Brassica napus* is the cause of multiple-resistant *B. napus* volunteers. *Weed Science*. V. 48 (6): P. 688–694.
  33. Heenan P.B., Dawson M.I., Fitzjohn R.G., Stewart A.V. (2007) Experimental hybridisation of *Brassica* species in New Zealand. *New Zealand Journal of Botany*. V. 45 (1): P. 53–66.
  34. Hoyle M., Hayter K., Cresswell J.E. (2007) Effect of pollinator abundance on self-fertilization and gene flow: application to GM canola. *Ecological Applications*. V. 17 (7): P. 2123–2135.
  35. Huiming P.U., Cunkou Q.I., Jiefu Z.H. A.N.G. et al. (2007) Studies on gene flow from GM herbicide-tolerant rapeseed (*B. napus*) to other species of crucifers. *Proceedings of the 12th International Rapeseed Congress*. P. 79–81.
  36. Husken A., Dietz-Pfeilstetter A. (2007) Pollen-mediated intraspecific gene flow from herbicide resistant oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Transgenic Research*. V. 16 (5): P. 557–569.
  37. ISAAA's GM Approval Database. Updated 26.01.2015. URL: <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/>.
  38. James Clive. (2013) Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2013 // ISAAA Brief. ISAAA: Ithaca, NY. N 46.
  39. James Clive. (2014) Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2014 // ISAAA Brief. ISAAA: Ithaca, NY. N 49.
  40. Jorgensen R.B., Andersen B., Landbo L., Mikkelsen T.R. (1996) Spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy relatives. *Acta Horticulturae*. V. 407: P. 193–200.
  41. Knispel A.L., McLachlan S.M., Van Acker R.C., Friesen L.F. (2008) Gene flow and multiple herbicide resistance in escaped canola populations. *Weed Science*. V. 56 (1): P. 72–80.
  42. Lefol E., Fleury A., Darmency H. (1996) Gene dispersal from transgenic crops. *Sexual plant reproduction*. V. 9 (4): P.189–196 (a).
  43. Lefol E., Danielou V., Darmency H. (1996) Predicting hybridization between transgenic oilseed rape and wild mustard. *Field Crops Research*. V. 45 (1): P. 153–161 (b).
  44. Lefol E., Seguin-Swartz G., Downey R.K. (1997) Sexual hybridisation in crosses of cultivated *Brassica* species with the crucifers *Erucastrum gallicum* and *Raphanus raphanistrum*: potential for gene introgression. *Euphytica*. V. 95 (2): P. 127–139.
  45. Liu Y.B., Wei W., Ma K.P., Darmency, H. (2010) Backcrosses to *Brassica napus* of hybrids between *B. juncea* and *B. napus* as a source of herbicide-resistant volunteer-like feral populations. *Plant Science*. V. 179 (5): P. 459–465.
  46. Londo J.P., Bollman M.A., Sagers C.L. et al. (2011) Glyphosate drift but not herbivory alters the rate of transgene flow from single and stacked trait transgenic canola (*Brassica napus*) to nontransgenic *B. napus* and *B. rapa*. *New Phytologist*. V. 191 (3): P. 840–849.
  47. Lu B.R., Snow A.A. (2005) Gene flow from genetically modified rice and its environmental consequences. *BioScience*. V. 55 (8): P. 669–678.
  48. Millwood, R.J. (2011) Consequences of gene flow and transgene introgression in hybrids between transgenic

- Brassica napus* and its weedy wild relative *Brassica rapa*. Master's Thesis, University of Tennessee.
49. Moyes C. L., Lilley J. M., Casais C. A. et al. (2002) Barriers to gene flow from oilseed rape (*Brassica napus*) into populations of *Sinapis arvensis*. *Molecular Ecology*. V. 11 (1): P. 103–112.
  50. Pallett D. W., Huang L., Cooper J. I., Wang H. (2006) Within population variation in hybridisation and transgene transfer between wild *Brassica rapa* and *Brassica napus* in the UK. *Annals of applied biology*. V. 148 (2): P. 147–155.
  51. Pu H. M., Qi C. K., Zhang J. F. et al. (2005) Studies on the gene flow from herbicide-tolerant GM rapeseed to its close relative crops. *Acta Ecologica Sinica*. V. 25: P. 581–588.
  52. Que Q., Chilton M. D. M., de Fontes C. M. et al. (2010) Trait stacking in transgenic crops: Challenges and opportunities. *GM Crops*. V. 1 (4): P. 220–229.
  53. Rieger M. A., Potter T. D., Preston C., Powles S. B. (2001) Hybridization between *Brassica napus* L and *Raphanus raphanistrum* L under agronomic field conditions. *Theor Appl Genet*. V. 103: P. 555–560.
  54. Rieger M. A., Lamond M., Preston C. et al. (2002) Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial canola fields. *Science (Washington)*. V. 296: P. 2386–2388.
  55. Rieseberg L. H., Kim S. C., Randell R. A. et al. (2007) Hybridization and the colonization of novel habitats by annual sunflowers. *Genetica*. 2007. V. 129 (2): P. 149–165.
  56. Saji H., Nakajima N., Aono M. (2005) Monitoring the escape of transgenic oilseed rape around Japanese ports and roadsides. *Environment Biosafety Research*. V. 4 (4): P. 217–222.
  57. Schafer M. G., Ross A. A., Londo J. P. et al. (2011) The Establishment of Genetically Engineered Canola Populations in the U. S. *PLoS ONE*. V. 6 (10): e25736. doi:10.1371/journal.pone.0025736.
  58. Scheffler J. A., Dale P. J. (1994) Opportunities for gene transfer from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) to related species. *Transgenic research*. V. 3 (5): P. 263–278.
  59. Scott S. E., Wilkinson M. J. (1998) Transgene risk is low. *Nature*. V. 393: P. 320.
  60. Scott S. E., Wilkinson M. J. (1999) Low probability of chloroplast movement from oilseed rape (*Brassica napus*) into wild *Brassica rapa*. *Nature biotechnology*. V. 17 (4): P. 390–392.
  61. Shen B. C., Stewart C. N., Zhang M. Q. et al. (2006) Correlated expression of gfp and Bt cry1Ac gene facilitates quantification of transgenic hybridization between Brassicas. *Plant Biology*. V. 8 (5): P. 723–730.
  62. Simard M. J., Legere A., Warwick S. I. (2006) Transgenic *Brassica napus* fields and *Brassica rapa* weeds in Quebec: sympatry and weed-crop *in situ* hybridization. *Botany*. V. 84 (12): P. 1842–1851.
  63. Song X., Wang Z., Zuo J. et al. (2010) Potential gene flow of two herbicide-tolerant transgenes from oilseed rape to wild *B. juncea* var. *gracilis*. *Theoretical and applied genetics*. V. 120 (8): P. 1501–1510.
  64. Staniland B. K., McVetty P. B., Friesen L. F. et al. (2000) Effectiveness of border areas in confining the spread of transgenic *Brassica napus* pollen. *Canadian journal of plant science*. V. 80 (3): P. 521–526.
  65. Stewart C. N., Halfhill M. D., Warwick S. I. (2003) Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. *Nature Reviews Genetics*. V. 4 (10): P. 806–817.
  66. Tabashnik B. E., Carriere Y., Dennehy T. J. et al. (2003) Insect resistance to transgenic Bt crops: lessons from the laboratory and field. *Journal of economic entomology*. V. 96 (4): P. 1031–1038.
  67. Tsuda M., Okuzaki A., Kaneko Y., Tabei Y. (2012) Relationship between hybridization frequency of *Brassica juncea* × *B. napus* and distance from pollen source (*B. napus*) to recipient (*B. juncea*) under field conditions in Japan. *Breeding science*. V. 62 (3): P. 274.
  68. Warwick S. I., Simard M. J., Legere A. et al. (2003) Hybridization between transgenic *Brassica napus* L and its wild relatives: *B. rapa* L, *Raphanus raphanistrum* L, *Sinapis arvensis* L and *Erucastrum gallicum* (Willd) O. E. Schulz. *Theor Appl Genet*. V. 107: P. 528–539.
  69. Warwick S. I., Legere A., Simard M. J., James T. (2008) Do escaped transgenes persist in nature? The case of an herbicide resistance transgene in a weedy *Brassica rapa* population. *Molecular Ecology*. V. 7 (5): P. 1387–1395.
  70. Warwick S. I., Beckie H. J., Hall L. M. (2009) Gene flow, invasiveness, and ecological impact of genetically modified crops. *Annals of the New York Academy of Sciences*. V. 1168 (1): P. 72–99.
  71. Wilkinson M. J., Elliott L. J., Allainguillaume J. et al. (2003) Hybridization between *Brassica napus* and *B. rapa* on a national scale in the United Kingdom. *Science*. V. 302 (5644): P. 457–459.
  72. Wolf D. E., Takebayashi N., Rieseberg L. H. (2001) Predicting the risk of extinction through hybridization. *Conservation Biology*. V. 15 (4): P. 1039–1053.
  73. Zhao X. X., Lu W. P., Qi C. K. et al. (2005) Assessment on alien herbicide-resistant gene flow among crucifers by sexual compatibility. *Chinese Science Bulletin*. V. 50 (15): P. 1605–1612.
  74. Zou J., Fu D., Gong H. et al. (2011) De novo genetic variation associated with retrotransposon activation, genomic rearrangements and trait variation in a recombinant inbred line population of *Brassica napus* derived from interspecific hybridization with *Brassica rapa*. *The Plant Journal*. V. 68 (2): P. 212–224.

**ASSESSMENT OF HYBRIDIZATION PROPENSITY  
BETWEEN GENETICALLY MODIFIED OILSEED RAPE  
AND NONTRANSGENIC RELATIVES**

*Mikhaylova E. V., Kuluev B. R., Khaziakhmetov R. M.*

✿ **SUMMARY:** The lack of knowledge about the impact on ecosystems restricts the expansion of genetically modified plants. We review the potential gene flow into the environment due to the cultivation of transgenic oilseed rape. The problem is immediate for this crop on the ground of the widespread of its allogamous weedy relatives. The main difficulty in risk assessment is caused by fluctuation in hybridization frequencies depending on the transgenes used, crop's line and population features and also the imperfection of current methods of molecular diagnostics. For minimization of such risks, preliminary investigation of cross-pollination, inheritance, expression and phenotypical effects of transgenes in hybrids with both wild and domestic relatives is recommended in all regions where GM-crops are going to be grown. On the basis of this data, specific measures and recommendations to prevent gene flow can be developed. Domestic GM-crop lines, properly tested in local ecosystems, can be grown without any environmental threat.

✿ **KEY WORDS:** *Brassica napus*; canola; oilseed rape; genetically modified plants; GM crops; cross-pollination.

✿ **REFERENCES (TRANSLITERATED)**

- Zybalov V.S. (2002) Raps kak adaptivnaya kormovaya kul'tura na Yuzhnom Urale. [Rape as an adaptive crop in South Urals]. *Kormoproizvodstvo*. V. 3: P. 19–21.
- Zybalov V.S., Mirkin B.M. (2002) Upravlenie funktsiy agrotsenozov. Rol' promezhutochnykh posevov i polikul'tur. [Agrocoenosis function management. The role of intercrops and polyculture]. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya*. V. 1: P. 3–10.
- Kulikov A.M. (2005) Geneticheski-modifitsirovannye organizmy i riski ikh ispol'zovaniya [Genetically Modified Organisms and Risks of Their Introduction]. *Plant Physiology*. V. 52: P. 115–128.
- Allainguillaume J., Alexander M., Bullock J.M. et al. (2006) Fitness of hybrids between rapeseed (*Brassica napus*) and wild *Brassica rapa* in natural habitats. *Molecular Ecology*. V. 15 (4): P. 1175–1184.
- Aono M., Wakiyama S., Nagatsu M. et al. (2011) Seeds of a possible natural hybrid between herbicide-resistant *Brassica napus* and *Brassica rapa* detected on a riverbank in Japan. *GM crops*. V. 2 (3): P. 201–210.
- Beckie H.J., Warwick S.I., Nair H., Seguin-Swartz G. (2003) Gene flow in commercial fields of herbicide-resistant canola (*Brassica napus*). *Ecological applications*. V. 13 (5): P. 1276–1294.
- Bing D.J., Downey R.K., Rakow G.F.W. (1996) Hybridizations among *Brassica napus*, *B. rapa* and *B. juncea* and their two weedy relatives *B. nigra* and *Sinapis arvensis* under open pollination conditions in the field. *Plant Breeding*. V. 115 (6): P. 470–473.
- Chevre A.M., Eber F., Baranger A. et al. (1994) Interspecific gene flow as a component of risk assessment for transgenic Brassicas. *ISHS Brassica Symposium-IX Crucifer Genetics Workshop* 407: P. 169–180.
- Chevre A.M., Eber F., Darmency H. et al. (2000) Assessment of interspecific hybridization between transgenic oilseed rape and wild radish under normal agronomic conditions. *Theoretical and Applied Genetics*. V. 100 (8): P. 1233–1239.
- Chevre A.M., Adamczyk K., Eber F. et al. (2007) Modelling gene flow between oilseed rape and wild radish. I. Evolution of chromosome structure. *Theoretical and Applied Genetics*. V. 114 (2): P. 209–221.
- Chiang M.S., Chiang B.Y., Grant W.F. (1977) Transfer of resistance to race 2 of *Plasmodiophora Brassicae* from *Brassica napus* to cabbage (*B. oleracea* var. *Capitata*). Interspecific hybridization between *B. napus* and *B. oleracea* var. *Capitata*. *Euphytica*. V. 26(2): P. 319–336.
- Culpepper A.S., Whitaker J.R., MacRae A.W., York A.C. (2008) Distribution of glyphosate-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) in Georgia and North Carolina during 2005 and 2006. *J. Cotton Sci.* V. 12: P. 306–310.
- Crawley M.J., Hails R.S., Rees M. et al. (1993) Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats. *Nature*. V. 363 (6430): P. 620–623.
- Crawley M.J., Brown S.L., Hails R. et al. (2001) Transgenic crops in natural habitats. *Nature*. V. 409 (6821): P. 682–683.
- Daniels R., Boffey C., Mogg R. et al. (2005) The potential for dispersal of herbicide tolerance genes from genetically-modified, herbicide tolerant oilseed rape crops to wild relatives. Final report to DEFRA, contract reference EPG. V. 20 (5): P. 245–252.
- Darmency H., Lefol E., Fleury A. (1998) Spontaneous hybridizations between oilseed rape and wild radish. *Molecular Ecology*. V. 7 (11): P. 1467–1473.
- Darmency H., Fleury A. (2000) Mating system in *Hirschfeldia incana* and hybridization to oilseed rape. *Weed Research (Oxford)*. V. 40 (2): P. 231–238.
- Devos Y., Reheul D., Schrijver A.D. et al. (2004) Management of herbicide-tolerant oilseed rape in Europe: a case study on minimizing vertical gene flow. *Environmental biosafety research*. V. 3 (03): P. 135–148.
- Devos Y., De Schrijver A., Reheul D. (2009) Quantifying the introgressive hybridisation propensity between transgenic oilseed rape and its wild/weedy relatives. *Environmental monitoring and assessment*. V. 149(1–4): P. 303–322.
- Di K., Stewart C.N., Wei W. et al. (2009) Fitness and maternal effects in hybrids formed between transgenic oilseed rape (*Brassica napus* L.) and wild brown mus-

- tard (*B. juncea* (L.) Czern et Coss.) in the field. Pest management science. V. 65 (7): P. 753–760.
21. Eastham K., Sweet J. (2002) Genetically modified organisms (GMOs): The significance of gene flow through pollen transfer. Copenhagen, Denmark: European Environment Agency. P.1–74.
  22. Ellstrand N.C. (2001) When transgenes wander, should we worry? *Plant Physiology*. V. 125 (4): P. 1543–1545.
  23. FitzJohn R.G., Armstrong T.T., Newstrom-Lloyd L.E. et al. (2007) Hybridisation within Brassica and allied genera: evaluation of potential for transgene escape. *Euphytica*. V. 158 (1–2): P. 209–230.
  24. Ford C.S., Allainguillaume J., Grilli-Chantler P. et al. (2006) Spontaneous gene flow from rapeseed (*Brassica napus*) to wild *Brassica oleracea*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. V. 273(1605): P. 3111–3115.
  25. Friesen L.F., Nelson A.G., Van Acker R.C. (2003) Evidence of contamination of pedigree canola seedlots in Western Canada with genetically engineered herbicide resistance traits. *Agronomy Journal*. V. 95(5): P. 1342–1347.
  26. Gassmann A.J., Petzold-Maxwell J.L., Clifton E.H. et al. (2014) Field-evolved resistance by western corn rootworm to multiple *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. V. 111 (14): P. 5141–5146.
  27. Gepts P., Papa R. (2010) Possible effects of (trans) gene flow from crops on the genetic diversity from landraces and wild relatives. *Environmental biosafety research*. V. 2 (2): P. 89.
  28. Gruber S., Hüsken A., Dietz-Pfeilstetter A. et al. (2012) Biological Confinement Strategies for Seed- and Pollen-Mediated Gene Flow of GM Canola (*Brassica napus* L.). *AgBioForum*. V. 15 (1): P. 44–53.
  29. Gueritain G., Sester M., Eber F. et al. (2002) Fitness of backcross six of hybrids between transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) and wild radish (*Raphanus raphanistrum*). *Molecular Ecology*. V. 11: P. 1419–1426.
  30. Halfhill M., Raymer P., Stewart C. Jr. (2002) Bt-transgenic oilseed rape hybridization with its weedy relative, *Brassica rapa*. *Environmental Biosafety Research*. V. 1(1): P. 19–28.
  31. Halfhill M.D., Zhu B., Warwick S.I. et al. (2004) Hybridization and backcrossing between transgenic oilseed rape and two related weed species under field conditions. *Environmental Biosafety Research*. V. 3 (02): P. 73–81.
  32. Hall L., Topinka K., Huffman J. et al. (2000) Pollen flow between herbicide-resistant *Brassica napus* is the cause of multiple-resistant *B. napus* volunteers. *Weed Science*. V. 48 (6): P. 688–694.
  33. Heenan P.B., Dawson M.I., Fitzjohn R.G., Stewart A.V. (2007) Experimental hybridisation of *Brassica* species in New Zealand. *New Zealand Journal of Botany*. V. 45 (1): P. 53–66.
  34. Hoyle M., Hayter K., Cresswell J.E. (2007) Effect of pollinator abundance on self-fertilization and gene flow: application to GM canola. *Ecological Applications*. V. 17 (7): P. 2123–2135.
  35. Huiming P.U., Cunkou Q.I., Jiefu Z.H.A.N.G. et al. (2007) Studies on gene flow from GM herbicide-tolerant rapeseed (*B. napus*) to other species of crucifers. *Proceedings of the 12th International Rapeseed Congress*. P. 79–81.
  36. Husken A., Dietz-Pfeilstetter A. (2007) Pollen-mediated intraspecific gene flow from herbicide resistant oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Transgenic Research*. V. 16 (5): P. 557–569.
  37. ISAAA's GM Approval Database. Updated 26.01.2015. URL: <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/>.
  38. James Clive. (2013) Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2013 // ISAAA Brief. ISAAA: Ithaca, NY. N 46.
  39. James Clive. (2014) Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2014 // ISAAA Brief. ISAAA: Ithaca, NY. N 49.
  40. Jorgensen R.B., Andersen B., Landbo L., Mikkelsen T.R. (1996) Spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy relatives. *Acta Horticulturae*. V. 407: P. 193–200.
  41. Knispel A.L., McLachlan S.M., Van Acker R.C., Friesen L.F. (2008) Gene flow and multiple herbicide resistance in escaped canola populations. *Weed Science*. V. 56 (1): P. 72–80.
  42. Lefol E., Fleury A., Darmency H. (1996) Gene dispersal from transgenic crops. *Sexual plant reproduction*. V. 9 (4): P.189–196 (a).
  43. Lefol E., Danielou V., Darmency H. (1996) Predicting hybridization between transgenic oilseed rape and wild mustard. *Field Crops Research*. V. 45 (1): P. 153–161 (b).
  44. Lefol E., Seguin-Swartz G., Downey R.K. (1997) Sexual hybridisation in crosses of cultivated *Brassica* species with the crucifers *Erucastrum gallicum* and *Raphanus raphanistrum*: potential for gene introgression. *Euphytica*. V. 95 (2): P. 127–139.
  45. Liu Y.B., Wei W., Ma K.P., Darmency, H. (2010) Backcrosses to *Brassica napus* of hybrids between *B. juncea* and *B. napus* as a source of herbicide-resistant volunteer-like feral populations. *Plant Science*. V. 179 (5): P. 459–465.
  46. Londo J.P., Bollman M.A., Sagers C.L. et al. (2011) Glyphosate drift but not herbivory alters the rate of transgene flow from single and stacked trait transgenic canola (*Brassica napus*) to nontransgenic *B. napus* and *B. rapa*. *New Phytologist*. V. 191 (3): P. 840–849.

47. Lu B. R., Snow A. A. (2005) Gene flow from genetically modified rice and its environmental consequences. *Bio-Science*. V. 55 (8): P. 669–678.
48. Millwood, R. J. (2011) Consequences of gene flow and transgene introgression in hybrids between transgenic *Brassica napus* and its weedy wild relative *Brassica rapa*. Master's Thesis, University of Tennessee.
49. Moyes C. L., Lilley J. M., Casais C. A. et al. (2002) Barriers to gene flow from oilseed rape (*Brassica napus*) into populations of *Sinapis arvensis*. *Molecular Ecology*. V. 11 (1): P. 103–112.
50. Pallett D. W., Huang L., Cooper J. I., Wang H. (2006) Within population variation in hybridisation and transgene transfer between wild *Brassica rapa* and *Brassica napus* in the UK. *Annals of applied biology*. V. 148 (2): P. 147–155.
51. Pu H. M., Qi C. K., Zhang J. F. et al. (2005) Studies on the gene flow from herbicide-tolerant GM rapeseed to its close relative crops. *Acta Ecologica Sinica*. V. 25: P. 581–588.
52. Que Q., Chilton M. D. M., de Fontes C. M. et al. (2010) Trait stacking in transgenic crops: Challenges and opportunities. *GM Crops*. V. 1 (4): P. 220–229.
53. Rieger M. A., Potter T. D., Preston C., Powles S. B. (2001) Hybridization between *Brassica napus* L and *Raphanus raphanistrum* L under agronomic field conditions. *Theor Appl Genet*. V. 103: P. 555–560.
54. Rieger M. A., Lamond M., Preston C. et al. (2002) Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial canola fields. *Science (Washington)*. V. 296: P. 2386–2388.
55. Rieseberg L. H., Kim S. C., Randell R. A. et al. (2007) Hybridization and the colonization of novel habitats by annual sunflowers. *Genetica*. 2007. V. 129 (2): P. 149–165.
56. Saji H., Nakajima N., Aono M. (2005) Monitoring the escape of transgenic oilseed rape around Japanese ports and roadsides. *Environment Biosafety Research*. V. 4 (4): P. 217–222.
57. Schafer M. G., Ross A. A., Londo J. P. et al. (2011) The Establishment of Genetically Engineered Canola Populations in the U. S. *PLoS ONE*. V. 6 (10): e25736. doi:10.1371/journal.pone.0025736.
58. Scheffler J. A., Dale P. J. (1994) Opportunities for gene transfer from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) to related species. *Transgenic research*. V. 3 (5): P. 263–278.
59. Scott S. E., Wilkinson M. J. (1998) Transgene risk is low. *Nature*. V. 393: P. 320.
60. Scott S. E., Wilkinson M. J. (1999) Low probability of chloroplast movement from oilseed rape (*Brassica napus*) into wild *Brassica rapa*. *Nature biotechnology*. V. 17 (4): P. 390–392.
61. Shen B. C., Stewart C. N., Zhang M. Q. et al. (2006) Correlated expression of gfp and Bt cry1Ac gene facilitates quantification of transgenic hybridization between Brassicas. *Plant Biology*. V. 8 (5): P. 723–730.
62. Simard M. J., Legere A., Warwick S. I. (2006) Transgenic *Brassica napus* fields and *Brassica rapa* weeds in Quebec: sympatry and weed-crop *in situ* hybridization. *Botany*. V. 84 (12): P. 1842–1851.
63. Song X., Wang Z., Zuo J. et al. (2010) Potential gene flow of two herbicide-tolerant transgenes from oilseed rape to wild *B. juncea* var. *gracilis*. *Theoretical and applied genetics*. V. 120 (8): P. 1501–1510.
64. Staniland B. K., McVetty P. B., Friesen L. F. et al. (2000) Effectiveness of border areas in confining the spread of transgenic *Brassica napus* pollen. *Canadian journal of plant science*. V. 80 (3): P. 521–526.
65. Stewart C. N., Halfhill M. D., Warwick S. I. (2003) Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. *Nature Reviews Genetics*. V. 4 (10): P. 806–817.
66. Tabashnik B. E., Carriere Y., Dennehy T. J. et al. (2003) Insect resistance to transgenic Bt crops: lessons from the laboratory and field. *Journal of economic entomology*. V. 96 (4): P. 1031–1038.
67. Tsuda M., Okuzaki A., Kaneko Y., Tabei Y. (2012) Relationship between hybridization frequency of *Brassica juncea* × *B. napus* and distance from pollen source (*B. napus*) to recipient (*B. juncea*) under field conditions in Japan. *Breeding science*. V. 62 (3): P. 274.
68. Warwick S. I., Simard M. J., Legere A. et al. (2003) Hybridization between transgenic *Brassica napus* L and its wild relatives: *B. rapa* L, *Raphanus raphanistrum* L, *Sinapis arvensis* L and *Erucastrum gallicum* (Willd) O. E. Schulz. *Theor Appl Genet*. V. 107: P. 528–539.
69. Warwick S. I., Legere A., Simard M. J., James T. (2008) Do escaped transgenes persist in nature? The case of an herbicide resistance transgene in a weedy *Brassica rapa* population. *Molecular Ecology*. V. 7 (5): P. 1387–1395.
70. Warwick S. I., Beckie H. J., Hall L. M. (2009) Gene flow, invasiveness, and ecological impact of genetically modified crops. *Annals of the New York Academy of Sciences*. V. 1168 (1): P. 72–99.
71. Wilkinson M. J., Elliott L. J., Allainguillaume J. et al. (2003) Hybridization between *Brassica napus* and *B. rapa* on a national scale in the United Kingdom. *Science*. V. 302 (5644): P. 457–459.
72. Wolf D. E., Takebayashi N., Rieseberg L. H. (2001) Predicting the risk of extinction through hybridization. *Conservation Biology*. V. 15 (4): P. 1039–1053.
73. Zhao X. X., Lu W. P., Qi C. K. et al. (2005) Assessment on alien herbicide-resistant gene flow among crucifers by sexual compatibility. *Chinese Science Bulletin*. V. 50 (15): P. 1605–1612.

74. Zou J., Fu D., Gong H. et al. (2011) De novo genetic variation associated with retrotransposon activation, genomic rearrangements and trait variation in a recombinant inbred line population of *Brassica napus* derived from interspecific hybridization with *Brassica rapa*. The Plant Journal. V. 68 (2): P. 212–224.

---

✿ Информация об авторах

**Михайлова Елена Владимировна** — аспирант, ассистент, кафедра экологии биологического факультета. Башкирский Государственный Университет. 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, д. 32.  
E-mail: mikhele@list.ru.

**Кулуев Булат Разяпович** — старший научный сотрудник, лаборатория молекулярной биологии и нанобиотехнологии. Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН. 450054, Уфа, проспект Октября, д. 71. E-mail: Kuluev@bk.ru.

**Хазиахметов Рашит Мухаметович** — д. б. н., профессор, кафедра экологии биологического факультета. Башкирский Государственный Университет. 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, д. 32.  
E-mail: eco3110@rambler.ru.

**Mikhaylova Elena Vladimirovna** — Postgraduate, assistant, faculty of biology, ecology department. Bashkir State University. 450076, Ufa, Zaki Validi St., 32, Russia. E-mail: mikhele@list.ru.

**Kuluev Bulat Razyapovich** — Senior Researcher, laboratory of molecular biology and nanobiotechnology. Institute of Biochemistry and genetics, Ufa Sci. Center of RAS. 450054, Prospekt Oktyabrya, 71, Russia. E-mail: Kuluev@bk.ru.

**Khaziakhmetov Rashit Mukhametovich** — Doctor of biological sciences, professor, faculty of biology, ecology department. Bashkir State University. 450076, Ufa, Zaki Validi St., 32, Russia.  
E-mail: eco3110@rambler.ru.