

## Генетически модифицированные организмы и полученные из них продукты: реальные и потенциальные риски

Вл. В. Кузнецов, А. М. Куликов

*ВЛАДИМИР ВАСИЛЬЕВИЧ КУЗНЕЦОВ — доктор биологических наук, профессор, директор Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, заведующий лабораторией физиологических и молекулярных механизмов адаптации, председатель Технического комитета «Биологическая безопасность пищевых продуктов, кормов и товаров народного потребления и методы ее контроля» Агентства по техническому регулированию и метрологии. Область научных интересов: адаптация и выживание растений, регуляция экспрессии генома, биологическая безопасность.*

*АЛЕКСЕЙ МИХАЙЛОВИЧ КУЛИКОВ — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, заместитель заведующего лабораторией генетики. Область научных интересов: эволюционная и популяционная генетика, генетика количественных признаков.*

127276 Москва, Ботаническая ул., д. 35, Институт физиологии растений РАН, тел. (095)977-94-00, факс (095)977-80-18, E-mail vlkuzn@ippras.ru

### Общая оценка состояния геной инженерии

Научно-технический прогресс в жизни современного общества ознаменовался появлением новых научных и информационных технологий, которым часто приписывается исключительная роль в развитии постиндустриального, или информационного, общества. Это общество рассматривается как очередная ступень мировой цивилизации. Именно здесь, в точке пересечения ожиданий общества от науки и ее реальных возможностей, кроется серьезный конфликт. Бурное развитие технологий и быстрое внедрение в практику научных достижений зачастую не подкреплено достаточно обоснованными оценками медицинских, экологических и социальных последствий их применения, а экономические интересы международных компаний, корпоративных групп и отдельных физических лиц, стимулированные практическим использованием достижений науки, доминируют над принципами безопасности новых технологий и новых видов продукции. Тем не менее, учитывая высокие темпы роста научного знания и развития технологий, глобальное воздействие технологий на природу и общество, человечество вынуждено будет исходить в своих решениях из интересов будущих поколений, а не только из финансовых интересов тех или иных групп.

В данной статье дается научный анализ рисков, связанных с широким использованием генетически модифицированных (трансгенных) организмов (ГМО) и продуктов их переработки, все активнее вытесняющих традиционные продукты питания из рациона россиян.

Развитие гено-инженерных технологий является одним из крупнейших достижений молекулярной биологии и молекулярной генетики, которое открывает перед человечеством широкие перспективы. Эти технологии нашли постоянную «прописку» в фундаментальной науке, где трансгенные организмы используются в качестве модели или инструмента при решении широчайшего спектра общебиологических проблем. Технологии с использованием рекомбинантных ДНК могут в перспективе сыграть важную роль в развитии генотерапии наследственных заболеваний, создании

лекарственных препаратов нового поколения, производстве фармакологических и косметических средств и получении технического сырья. Особая роль может принадлежать генетически модифицированным микроорганизмам и изолированным клеткам или органам, например лекарственных растений, которые культивируются в замкнутых биотехнологических системах и являются суперпродуцентами метаболитов, обладающих ценными потребительскими свойствами. Как правило, в этом случае речь идет о произведенных с помощью геной инженерии химически чистых соединениях, использование которых, по сравнению с генетически модифицированными продуктами питания, не сопряжено с биологическими рисками, а их производство является экологически чистым.

Однако в настоящее время наиболее широкое применение геной инженерии нашла в сфере производства новых сортов сельскохозяйственных растений, обладающих признаками, отсутствующими у родительских форм. Быстрое и массовое производство таких сортов, легкость и кажущаяся научная предсказуемость приобретения ими заданных свойств, а также желание международных биотехнологических гигантов получить немедленную прибыль оттеснили на второй план вопросы безопасности ГМО и полученных из них продуктов.

По официальным данным за период 1996—2003 гг. площадь выращиваемых трансгенных культур увеличилась с 1,7 до 67,7 млн. га, а их общая рыночная стоимость в 2003 г. составила 4,5 млрд. долл. Наибольшие площади заняты под трансгенными растениями сои (41,4 млн. га, 61%), кукурузы (15,5 млн. га, 23%), хлопка (7,2 млн. га, 11%) и рапса (3,6 млн. га, 5%). Из них растения с генами устойчивости к гербицидам выращиваются на 73% площадей, растения, продуцирующие белки, устойчивые к инсектицидам (инсектицидные белки), прежде всего Bt-токсины, — на 18%. Из суммарной площади в 272 млн. га, занятых упомянутыми четырьмя культурами, 25% принадлежит их трансгенным формам [1]. Около 95% территорий, занятых генетически модифицированными сортами сельскохозяйственных культур, приходится на пять стран: США, Канаду, Бразилию, Аргентину и Китай.

Это означает, что далеко не все страны готовы отказаться от национальных сортов культурных растений в пользу генетически модифицированных. И этому есть ряд серьезных причин, одной из которых является все более громко звучащий вопрос о безопасности ГМО для человека и среды его обитания. На страницах научных журналов идет жесткая дискуссия о существовании реальных или потенциальных биологических рисков при коммерческом использовании ГМО, в первую очередь трансгенных растений [2—4].

Прежде чем перейти к рассмотрению возможных рисков при использовании ГМО, кратко остановимся на том, что такое трансгенное растение и какова технология его получения.

#### Как получают генетически модифицированные растения

Генетически модифицированные (трансгенные) организмы можно определить как организмы, генетический материал которых (ДНК) изменен способом, недостижимым при естественных путях внутривидовых скрещиваний. Для получения ГМО используется так называемая генная технология, или технология рекомбинантных молекул, или генная инженерия. Генная инженерия позволяет переносить отдельные гены из любого живого организма в любой другой живой организм в составе кольцевых молекул ДНК, или плазмид. Подобный путь передачи в природе генетической информации известен как «горизонтальный перенос генов». Это явление широко распространено в бактериальном мире, и доля генов, приобретенных путем такой «отдаленной гибридизации», в геномах изученных бактерий предположительно составляет около 15% у свободноживущих форм и 8—9% у паразитических [5]. На основании предварительных оценок частоту горизонтальных переносов у высших организмов или от них к бактериям интерпретировали как чрезвычайно низкую [6, 7]. Однако работы последних лет свидетельствуют о более значительной распространенности этого механизма [8, 9]. Во всяком случае явление горизонтального переноса — событие исключительное в жизни популяций растений и животных, сопровождающееся мощным геномным стрессом — мутагенезом и перестройками, приводящими к реорганизации всего генома [10].

В настоящее время растения трансформируют двумя основными методами: с помощью  $T_1$ -плазмиды, несущей встроенный в нее «целевой» ген, который доставляется в клетки растения с помощью почвенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens*, называемой иногда природным генным инженером, и методом биологической баллистики.

В природных условиях трансформация растений с помощью *A. tumefaciens* сопровождается образованием опухоли — корончатого галла вследствие встраивания небольшого фрагмента  $T_1$ -плазмиды (Т-ДНК) бактерии в генетический аппарат клеток растений. Генно-инженерные методы позволяют удалить часть Т-ДНК природной  $T_1$ -плазмиды, заменив ее «целевым» геном и технологически необходимыми элементами, что дает возможность предотвратить образование галла и одновременно придать растению желаемое свойство. Этим способом обычно трансформируют двудольные растения. В случае однодольных растений зачастую применяют второй метод. ДНК с «целевым» геном наносят на мельчайшие частички металла (например вольфра-

ма) и этими частицами, летящими с огромной скоростью, бомбардируют клетки. При этом некоторые фрагменты чужеродной ДНК интегрируются в клеточный геном. Регенерация растений из таких клеток приводит к получению генетически модифицированного растения.

Для трансформации животных используют яйцеклетки, в которые плазмиды, созданные на основе ретровирусов и мобильных элементов, вводят методом микроинъекций. Успех трансформации определяют только по потомству животного, полученного из такой яйцеклетки.

#### Фундаментальные основы существования биологических рисков при выращивании и использовании ГМО

Применение генно-инженерных технологий позволяет ускорить процесс создания нового сорта растений по сравнению с традиционной селекцией и получить прогнозируемый эффект по определенному признаку. Однако вместе с таким признаком организм приобретает целый набор новых качеств, предсказать которые заранее невозможно из-за несовершенства генно-инженерных технологий и слабой изученности механизмов регуляции экспрессии генома.

Ниже перечислены основные причины наличия рисков при выращивании и использовании генетически модифицированных организмов.

*Непредсказуемость места интеграции рекомбинантной ДНК в геном организма-донора и числа встроенных ее копий.* Это один из основных недостатков генно-инженерных технологий. В настоящее время исследователь не умеет «вставлять» чужеродный фрагмент ДНК в данное конкретное место генома хозяина. При этом он не может предсказать заранее, в каком месте генома произойдет вставка чужеродного фрагмента ДНК и сколько таких вставок появится. Тем более он не может предвидеть последствий подобной трансформации, ее реализации на уровне индивидуальных генов (регуляторных или структурных), метаболизма (прежде всего гормонального, или вторичного) и функций.

*Слабая изученность механизмов регуляции и функционирования генома высших растений.* Непредсказуемость интеграции трансгена в растительный геном во многом обусловлена как слабым пониманием молекулярных механизмов этого процесса, так и недостаточной изученностью структуры и регуляции самого генома.

*Плейотропный эффект встроенного гена.* Неопределенность изменений клеточного метаболизма в ответ на трансформацию, обусловленная несовершенством технологии получения трансгенных растений и слабой изученностью генома, значительно усиливается плейотропным эффектом встроенного гена. Этот эффект заключается в следующем. Случайно встроенный фрагмент ДНК из другого живого источника может непредсказуемо изменить интенсивность экспрессии соседних генов и даже вызвать эпигенетическое, т.е. вызванное конформационными или модификационными изменениями участка ДНК, молчание индивидуальных генов (сайленсинг), что делает вероятным модификацию клеточного метаболизма, направление изменений которого заранее предвидеть невозможно. Изменения активности экспрессии одного гена может

отразиться на работе многих, тем более что как сами гены, так и кодируемые ими белки связаны в организме сетью регуляторных взаимодействий. Появление нового, не предусмотренного эволюцией для данного биологического вида, элемента в ансамбле белков может привести к нарушению передачи сигналов в различных регуляторных и метаболических цепях, что вызывает непредсказуемое изменение признаков, характерных для данного вида.

*Нарушение стабильности генома и изменение его функционирования вследствие трансформации* прямо связаны с описанным выше плейотропным действием гена, а также с явлением дедифференцировки клеток в условиях *in vitro* при получении трансгенного растения. Стресс-обусловленный мутагенез и геномная нестабильность хорошо известны, и в настоящий момент отрабатываются более щадящие методы трансформации растений, например трансформация незрелых зародышей, что приводит к достоверному снижению геномных модификаций у таких растений по сравнению с полученными из клеточных культур [11]. Широкомасштабные исследования стабильности экспрессии генома стали возможны благодаря разработанной методике анализа экспрессионных данных с помощью микрочипов, но эти исследования пока проводятся на модельных объектах, таких, например, как арабидопсис (класс двудольных, растение, удобное для изучения растительного генома) [12].

*Нарушение стабильности встроенного в геном чужеродного фрагмента ДНК* может проявляться как в транзистентной (временной) экспрессии внедренных генов, так и в изменении числа их копий и положения в геноме. Например, для двух родственных линий из одной гомозиготной популяции трансгенного ячменя установлена разная активность промоторного комплекса, связанная с разной степенью его метилирования [13]. Так как обе линии являются производными одного трансформационного события, очевидно, что эпигенетические факторы (такие, как метилирование ДНК и гистонов) могут существенно изменять первоначально оцененную активность трансгенных конструкций. Анализ генома трансгенного риса показал существенную изменчивость числа встроенных копий (от одной до четырех) фрагментов ДНК в растениях из одной линии, а также значительную нестабильность самой конструкции [14]. Нестабильность вставки была выявлена и для сортов трансгенной сои [15].

*Наличие во встраиваемом фрагменте ДНК (генетической конструкции) «технологического мусора»*, включающего, например, неполные и дефектные копии плазмид, «незаконные» инсерции (встраивание в геном конструкций или их участков, не предусмотренных применяемой методикой) вспомогательных плазмид, 35S-промотор и бактериальные терминаторы, гены устойчивости к антибиотикам.

*Аллергические и токсические эффекты трансгенного белка*, не выявляемые используемыми оценочными тестами (несовершенство применяемых процедур тестирования испытуемых белков мы подробно рассмотрим в конце следующего раздела).

Все перечисленные выше, а также ряд других ограничений современных методов получения ГМО являются источниками серьезных реальных и потенциальных биологических рисков, которые нельзя не принимать во внимание.

Рассмотрим научные аргументы, позволяющие считать ГМО и полученные из них продукты опасными или потенциально опасными для человека и среды его обитания до тех пор, пока не будет доказано обратное. Обсуждение данного вопроса значительно облегчается недавним выходом в отечественной печати ряда обзорных работ на данную тему [16—22].

Все нежелательные риски, ожидаемые при возделывании и потреблении генетически модифицированных культур, можно условно разбить на пищевые, экологические и агротехнические.

#### **Пищевые риски от употребления ГМО и полученных из них продуктов**

Возможные негативные влияния на организм человека и животных, связанные с употреблением ГМО, можно разбить на пять основных групп: (1) непосредственное действие токсичных и аллергенных трансгенных белков ГМО на человека и других теплокровных; (2) риски, опосредованные плейотропным действием трансгенов и кодируемых ими белков на «работу» генома и метаболизм растений; (3) риски, опосредованные накоплением гербицидов и их метаболитов в устойчивых сортах и видах сельскохозяйственных растений; (4) риски горизонтального переноса трансгенных конструкций, в том числе генов устойчивости к антибиотикам, в геном симбионтных для человека и животных бактерий; (5) риски производства биологически активных веществ с помощью ГМО.

#### **Действие токсичных и аллергенных трансгенных белков ГМО на человека и других теплокровных**

Как правило, токсичным или аллергенным действием обладают трансгенные белки, обеспечивающие устойчивость растений-реципиентов к поражению различными видами насекомых, грибковыми и бактериальными заболеваниями.

К этой группе относятся белки, поражающими факторами которых являются: ферментативная активность к компонентам клеточной стенки целевых организмов (например, хитиназы для насекомых и грибов), вызывающая разрушение клеток и гибель целевых организмов; лектиновая активность (лектины и арселины), приводящая к связыванию белка с определенными рецепторами и мембранными гликопротеинами, а также к слипанию клеток желудочно-кишечного тракта и нарушению работы пищеварительных ферментов насекомых-вредителей; ингибирование функционирования рибосомальных белков (RIPs-белки), что ведет к нарушению синтеза новых клеточных полипептидов; ингибирование функций пищеварительных ферментов протеаз и амилаз целевых организмов; формирование сквозных каналов в клеточной мембране (Ступротоксины *Bacillus thuringiensis*) и лизис атакованных данными полипептидами клеток; проникновение фрагментов исходного белка через стенки кишечника и связывание с ганглиозидами клеточных мембран (растительные протоксины: уреазы и канатоксины), что приводит к экзцитозу клеток различных типов, разрушению кровяных пластинок и в конечном итоге к гибели целевого организма.

К настоящему времени накоплено достаточно много данных о значительной токсичности или аллергенности представителей большинства указанных классов белков, проявляемой при их введении перорально.

Пищеварительные ферменты, мембранные белки и белки, определяющие межклеточные взаимодействия у эукариот, имеют значительное количество сходных доменов и могут обладать общими свойствами, в том числе и способностью к связыванию вышеупомянутыми белками. Так, при повышении активности соевых уреаз наблюдается снижение индекса перевариваемости корма бройлерными цыплятами, даже несмотря на снижение активности трипсина ингибитора [23]. Сходным действием на пищеварительные ферменты насекомых, животных и человека обладают растительные ингибиторы протеаз [24–27]. Ряд растительных ингибиторов альфа-амилазы образует комплексы с ферментами слюнных и поджелудочной желез и достигает максимальной активности при температуре от 35 °С до 50 °С [28, 29]. Некоторые ингибиторы альфа-амилазы хорошо известны как сильные аллергены, например, тетрамерный ингибитор амилазы пшеницы [30].

RIPs-белки, или ингибиторы рибосомальных белков, имеют узкую видовую специфичность к различным рибосомальным белкам. Они удаляют консервативный аденин из 28S-рРНК, что препятствует сборке рибосом и приводит к гибели клеток. К этой группе белков относится рицин, один из сильнейших ядов, и циннамомин, формирующий устойчивость трансгенных растений к насекомым [31]. Поскольку инактивация рибосом происходит в данном случае необратимо, то даже слабая аффинность RIPs к рибосомальным белкам млекопитающих будет приводить к кумулятивному эффекту.

О формировании иммунного ответа на некоторые трансгенные лектины (природные белки, специфично связывающие углеводы) широко известно в связи с сенсационными результатами опытов доктора А. Пуштаи (Исследовательский институт Рауэнт, Великобритания) [32–34]. Высокие пищевые риски при использовании лектинов были подтверждены и в других исследованиях. Так, лектин нарцисса, обладающий ярко выраженными свойствами инсектицида, является мутагеном, причем наиболее сильное мутагенное действие установлено на культурах лимфоцитов человеческих эмбрионов [35]. Проводимые работы с трансгенными инсектицидными лектинами бразильского ореха *Bertholletia excelsa* были прекращены в связи с их высокой аллергенностью [36, 37].

Показано также, что, например, трансгенная соя, устойчивая к гербициду раундапу (глифосат), может вызывать аллергию у людей. Сильными аллергенами оказались плоды трансгенного растения папайи, устойчивого к одному из вирусных заболеваний. Трансгенная кукуруза сорта StarLink, синтезирующая Vt-токсин (Cry9C), разрешена к использованию лишь в качестве кормовой культуры [38] по причине ее высокой аллергенности. В результате неконтролируемого перепылления данный признак был передан растениям пищевых сортов. Известен случай, когда урожай гибридных растений был использован для получения пищевых продуктов, это вызвало громкий скандал, который разгорелся в 2000–2001 гг. Есть многочисленные данные, что аллергенами являются Cry-белки, гены которых переносят в растения для защиты от листогрызущих насекомых, например от колорадского жука [39, 40].

Популярны трансгенные конструкции на основе ферментов группы хитиназ, которыми трансформированы различные сорта риса [41–43], картофеля

[44, 45], пшеницы [46] и других культур. В то же время хорошо известны так называемые латексные или банановые аллергии, главным аллергеном в которых выступают хитиназы авокадо, бананов и каштана [47, 48]. Показана высокая аллергенность хитиназ I и 5-го классов [49].

Таким образом, характеристикам трансгенных белков, обладающих инсектицидной активностью, необходимо уделять особо пристальное внимание, поскольку примерно половина патогенез-зависимых белков растений (PR-proteins) являются аллергенами [51]. Увеличение их содержания в устойчивых к заболеваниям трансгенных сортах растений сопряжено с прямым риском повышения аллергенности продуктов питания, изготовленных на основе этих сортов.

Интересные данные были получены при проведении сравнительного анализа частоты заболеваний, связанных с качеством продуктов питания в США и Скандинавских странах. Население этих стран имеет высокий уровень жизни, качественно близкую продуктовую корзину, сопоставимые медицинские услуги. Оказалось, что за несколько последних лет в США в 3–5 раз частота пищевых заболеваний была выше, чем в странах Скандинавии. Единственное существенное отличие в качестве питания — активное употребление в пищу населением США генетически модифицированных продуктов и их практическое отсутствие в рационе скандинавских народов. В России до появления импортных генетически модифицированных продуктов, по данным отечественных аллергологов, уровень аллергических заболеваний был в 5–7 раз ниже, чем в США. За последние годы эта разница практически нивелировалась. Представленные косвенные данные позволяют предполагать, что повышение уровня аллергических заболеваний, связанных с пищей, обусловлено увеличением в пищевом рационе доли генетически модифицированных продуктов.

Серьезную опасность представляют детские аллергические заболевания — экссудативный диатез и нейродермит, имеющие особый статус в аллергологии. Иммунная система человека окончательно формируется только к 12–14 годам, а кишечная флора, адаптированная к «взрослой» пище — к 3-м годам. Слизистая оболочка пищеварительного тракта ребенка обладает повышенной проницаемостью как для питательных веществ, так и для патогенов. Детский организм остро реагирует на «чужие» белки, к которым он не адаптирован, отсюда — особенно высокая чувствительность к аллергенам. Основываясь на многочисленных наблюдениях, фармакологи рекомендовали полностью исключить ГМО из состава детского питания [52]. С 2004 года практически во всех странах Евросоюза использование ГМО в продуктах детского питания, предназначенного для детей до 4-х лет, запрещено.

Особую угрозу для здоровья человека представляют потенциальные негативные эффекты генетически модифицированных продуктов при их длительном и неконтролируемом употреблении. В настоящее время известны лишь некоторые данные по влиянию длительного употребления таких продуктов питания, например трансгенного картофеля, на организм животных. Так, доктором А. Пуштаи было экспериментально продемонстрировано, что длительное скормливание животным трансгенного картофеля вызывает у них

серьезные изменения внутренних органов, в частности слизистой оболочки кишечника, частичную атрофию печени и изменение тимуса. Эти данные были опубликованы после проведения экспериментов и подтверждения заявленных результатов старшим патологом Абердинского университета С.В. Ивеном [32]. Результаты, полученные Ивеном, вызвали бурную дискуссию и сомнения, однако позднее они были подтверждены на культурах клеток крови человека и колоректальной карциномы [53, 54].

Подобные же данные по влиянию трансгенного картофеля на организм животных получил академик В.А. Тутельян, директор Института питания РАМН, по мнению которого «существует определенный риск для здоровья человека при употреблении в пищу продуктов, полученных путем генной инженерии. В каждом конкретном случае однозначно предсказать конечный результат не представляется возможным» [55]. В.А. Тутельян экспериментально продемонстрировал негативное влияние на крыс трансгенного картофеля, устойчивого к колорадскому жуку. Животным скармливали вареный картофель, нормальный или генетически модифицированный (сорт Рассет Бербанк Ньюлиф, компании «Монсанто»), в течение 1 и 6 месяцев. Включение в рацион крыс трансгенного картофеля на протяжении 6 месяцев «приводило к статистически достоверному снижению концентрации гемоглобина и среднего содержания гемоглобина в одном эритроците» [55]. Изменения печени у крыс наблюдались в три раза чаще, чем у животных, которым скармливали контрольный картофель, измененные гепатоциты обнаруживались во всех долях печени. Одновременно отмечались признаки жировой дистрофии, статистически достоверное увеличение абсолютной массы почек, чаще встречались макроскопические изменения органов, которые авторы исследования отнесли к разряду интеркутентных заболеваний [55].

***Риски, опосредованные плейотропным действием трансгенов и кодируемых ими белков на «работу» генома и метаболизм растений***

Пищевые риски могут быть связаны с последствиями плейотропных эффектов, вызываемых как самими трансгенными белками, так и встроенными конструкциями. Именно плейотропным эффектом можно объяснить усиление активности уреаз в трансгенном сорте сои, устойчивом к гербициду раундапу [56].

При проведении работ по созданию стресс-устойчивых трансгенных растений зачастую используют ген ключевого фермента синтеза полиаминов — аргининдекарбоксилазы [57]. Результатом суперэкспрессии этого фермента у трансгенных растений табака и риса является повышенное содержание токсичного амина агматина, а также полиаминов путресцина, спермидина и спермина [58, 59]. Агматин и его производные являются биологически активными веществами, способными взаимодействовать с адренэргическими, имидазолиновыми и глутаматными рецепторами, выступая для организма человека в роли как нейромедиаторов, так и активаторов митозов (размножение клеток) и стимуляторов опухолеобразования [60, 61]. Эти вещества, будучи небелковой природы, легко усваиваются организмом. Надо сказать, что адекватность используемых в настоящее время тестов для проверки подобных рисков крайне сомнительна.

Сорта томатов, модифицированные генами изопентенилтрансферазы, имеют повышенное содержание растительных гормонов — цитокининов (группы гормонов растений пуриновой природы, регулирующих деление и дифференцировку клеток и другие физиологические процессы) и обладают большей продуктивностью [62, 63]. Сложнейшая сигнальная сеть, регулируемая цитокининами в организме растения и затрагивающая как метаболизм, так и разнообразные тканевые и ростовые процессы, изучена далеко не достаточно [64], так что предсказать эффекты от такого рода изменений гормонального статуса пока не представляется возможным [65]. В то же время известно сильнейшее влияние этих гормонов на клетки человека и других млекопитающих [66, 67] за счет модуляции Ras — опосредованных клеточных сигнальных каскадов [68], ацетилхолинэстеразной активности [69], активности пуринорецепторов [70]. И пока допустимые, безопасные концентрации фитогормонов в растительных продуктах не будут установлены, вероятность существования пищевых рисков от употребления трансгенных продуктов остается весьма высокой.

Близкими к описываемым негативным пищевым эффектам являются риски, обусловленные приобретением ГМО вследствие самого процесса трансформации, способности синтезировать токсичные для человека метаболиты или же потерей способности генетически модифицированного организма синтезировать важные для человека биологически активные соединения. Классическим примером подобного типа негативных эффектов (хотя, надо сказать, имеется и иная трактовка рассматриваемого случая) служит приобретение генетически модифицированной бактерией — суперпродуцентом триптофана, используемого в качестве пищевой добавки, — способности синтезировать в следовых количествах близкое по структуре триптофану (но уже токсичное!) соединение 1,1'-этиленбис(триптофан). Первыми жертвами этого генетически модифицированного организма и заложниками американской системы оценки биобезопасности стали граждане США. Регулярное употребление ими пищевой добавки, содержащей данное токсичное соединение, приводило к очень тяжелому заболеванию, называемому синдромом эозинофилии-миалгии, которое характеризуется изнурительными мышечными болями, спазмами дыхательных путей и может даже привести к смерти [71].

Пример другого типа касается гибели в ноябре 2003 г. в Израиле трех грудных детей, находившихся на искусственном вскармливании препаратами детского питания Numana Milchunion Remedia, и серьезного повреждения головного мозга еще у 17 детей. Проведенные тесты показали, что производимый немецкой компанией на основе генетически модифицированной сои заменитель молока содержит по крайней мере в 10 раз меньше, чем было заявлено в рекламе, витамина В<sub>1</sub>, жизненно необходимого для нормального развития центральной нервной системы в раннем детском возрасте. Можно полагать, что используемая для получения соевого молока трансгенная соя Remedia Super Soya 1 утратила способность синтезировать витамин В<sub>1</sub> уже в процессе трансформации из-за нарушения экспрессии генов, контролирующих синтез данного витамина, в результате мутации или их сайленсинга. Контролировать появление такого рода

сбоев метаболизма практически невозможно из-за несовершенства генно-инженерных технологий и недостаточного понимания механизмов функционирования генома.

**Риски, опосредованные накоплением гербицидов и их метаболитов в устойчивых к гербицидам сортах и видах сельскохозяйственных растений**

Возделывание сортов сельскохозяйственных растений, устойчивых к действию пестицидов, дает заметный экономический эффект — ручная или машинная прополка заменяется быстрой обработкой полей пестицидами, приводящей к гибели сорняков, но не выращиваемых трансгенных сортов. Для придания растению повышенной устойчивости к такому распространённому гербициду как глифосат, используют конструкции на основе одного из двух генов: EPSPS (5-енолпирувилшикимат-3-фосфат-синтаза) и GOX (глифосат-оксидоредуктаза). Сами по себе эти белки не являются ни аллергенами, ни токсинами.

Для оценки безопасности пищевого применения таких сортов необходимо знать, какова способность этих растений к накоплению ядовитых для человека и животных химикатов, а также предстоит выяснить, не происходит ли аккумуляция других ядовитых метаболитов или аллергенов в результате плейотропных эффектов трансгенных конструкций. Следует иметь в виду, что практически все пестициды токсичны для человека. Глифосат, например, является канцерогеном, вызывая лимфому [72, 73]. Имеются данные, что при обработке глифосатом устойчивых к нему сортов сахарной свеклы растения накапливают токсичные метаболиты глифосата [74]. Более того, показана способность репродуктивных тканей хлопчатника, устойчивого к глифосату, аккумулялировать этот гербицид до чрезвычайно высоких (смертельных) концентраций — от 0,14 до 0,48 мг/кг сухого вещества [75]. Для сравнения отметим, что допустимые дозы остаточного глифосата и его токсичных метаболитов в пищевых продуктах в США составляют 0,02 мг/кг сухого вещества, т.е. в 7–24 раз ниже.

Другим широко распространённым гербицидом является атразин. Устойчивость культурных растений к его действию обеспечивается встраиванием в геном гена цитохрома CYP1A1, представителя класса цитохромов P-450 [76, 77]. Вместе с тем известно множество работ, посвящённых канцерогенным, иммунотоксичным и эмбриотоксичным свойствам цитохрома P-450 [см., например, 78, 79].

К вышесказанному о потенциальной опасности трансгенных сортов культур, устойчивых к гербицидам, следует добавить, что, как правило, информация о наличии остаточных количеств гербицидов в этих растениях производителями не предоставляется, хотя пищевой риск от аккумуляции этих токсичных химикатов в подобном сырье огромен.

**Риски горизонтального переноса трансгенных конструкций, в том числе генов устойчивости к антибиотикам, в геном симбионтных для человека и животных бактерий**

Вероятность встраивания трансгенной конструкции из растения в геном млекопитающих и человека ничтожно мала. Клетки высших эукариот имеют не-

сколько изолирующих барьеров, эффективно препятствующих горизонтальному переносу генов. Даже в случае такого переноса клетка, как правило, не размножается, находясь в терминальной стадии дифференцировки. Перенос конструкции в половые клетки вообще невероятен, и это очевидно, если учесть, что гемато-тестикулярный барьер не проницаем для крупных молекул. Но не следует забывать, что человек имеет эндосимбионтов, в частности, кишечную бактериальную флору (*Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. bifidus*, *L. bulgaricus* и *L. caucasicus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium* и др.). Известно, что бактерии способны к трансформации, причем трансформации подвержены как кольцевые, так и линейные формы ДНК с инвертированными повторами [80]. Фрагменты трансгенной ДНК идентифицированы в содержимом кишечника, крови и молоке коров и свиней, питающихся ГМО [81, 82].

В настоящее время в трансгенных конструкциях в качестве маркерных последовательностей используются, как правило, гены устойчивости к антибиотикам, которые позволяют производить отбор генетически модифицированных клеток и растений [83, 84]. При трансформации ими симбионтных или патогенных для человека и животных бактерий трансгенные конструкции могут «включиться» в состав бактериального генома, что приведет к формированию устойчивости к антибиотикам или самих симбионтных бактерий, или патогенной микрофлоры. Результатом использования такого антибиотика при заболелании будет быстрый отбор устойчивых к нему бактерий, вследствие чего антибиотик либо начнет перерабатываться непосредственно в кишечнике, не достигая целевых патогенных бактерий, либо не будет оказывать влияния на резистентные к нему патогены. Основные бактериосимбионты живут в толстой кишке, и риск метаболизма антибиотиков бактериями кишечной флоры касается, в основном, плохо всасывающихся антибиотиков, например неомицина и канамицина.

Трансгенные конструкции, несущие в качестве маркерного признака устойчивость к таким препаратам, ранее широко использовались биотехнологическими компаниями. В то же время было установлено, что перенос устойчивости к антибиотикам осуществляется и от патогенных бактерий *Acinetobacter baumannii* к *E.coli* и *Proteus mirabilis* [85]. Действительно, эффективная бактериальная система переноса генов устойчивости к антибиотикам представлена IncQ-подобными плазмидами, передающимися между *E.coli*, *Acinetobacter sp.* и другими штаммами бактерий [86]. Вероятность формирования рекомбинантных плазмид, несущих гены устойчивости из конструкций к антибиотикам, практически не изучена.

Вызывает беспокойство и возможность рекомбинации между последовательностью 35S-промотора и близкими последовательностями геномов некоторых вирусов, в том числе вирусов человека. До сих пор не проведено детальных экспериментальных исследований этого вопроса [87]. В последние годы были получены результаты, подтверждающие возможность экспрессии генов, находящихся под 35S-промотором, в клетках самого разного происхождения, в том числе и человека [88]. В отношении экспрессии генов в клетках человека авторы делают вывод, что низкий уровень экспрессии генов, находящихся под этим промо-

тором, снижает риск отрицательного воздействия в случае переноса трансгенной конструкции в клетки млекопитающих. Однако методика проведения этих экспериментов, по которой производилась оценка экспрессии маркерного гена на невстроенной в экстрахромосомной конструкции (т. е. авторы вводили в клетки плазмиды, содержащие испытываемую конструкцию, и проводили оценку экспрессии репортерных генов с этих плазмид, не добиваясь их встраивания в геном), предполагает значительные возможности изменения активности экспрессии, а следовательно, и проявления потенциального эффекта, в том числе и негативного, после встраивания генов. При низком уровне экспрессии конструкций эффект не наблюдается, а при усилении экспрессии он, как правило, непредсказуем, если не проверен экспериментально. Указанные факты еще более усиливают риск непредсказуемых последствий горизонтального переноса трансгенных конструкций.

Критика метода отбора трансформированных культур по устойчивости к антибиотикам привела к тому, что Агентство ООН по стандартизации генетически модифицированных сортов растений не рекомендовало использование репортерных генов устойчивости к антибиотикам для получения новых сортов пищевых культур. Однако в большинстве случаев это требование биотехнологическими корпорациями игнорируется. Так, согласно сообщению М. Марли (Mr. Morley) в английском парламенте от 25 июня 2003 года, в Англии выращиваются сорта трансгенных растений, несущие гены устойчивости к канамицину, неомицину, ампициллину, амоксицину и гигромицину [89].

#### ***Риски производства биологически активных веществ с помощью ГМО («фармагеддон»)***

В настоящее время предпринимаются активные попытки создания трансгенных сортов растений, способных к интенсивному синтезу биологически активных веществ, в частности, вакцин, гормонов, факторов свертывания крови, промышленных ферментов, антител человека, контрацептивных белков и подавляющих иммунитет цитокинов (группа растворимых белков, синтезируемых кроветворными клетками костного мозга). В связи с этими экспериментами широкое распространение получил термин «фармагеддон» [90]. На полях Калифорнии, где выращиваются пищевые сорта риса, проводятся открытые полевые испытания по созданию трансгенного риса, несущего человеческие белки лактоферрин и лизоцим, используемые в фармакологии при энзимотерапии. Американская компания «Эпицит» сообщила о создании и испытаниях сорта кукурузы, вырабатывающего человеческие антитела на поверхностные белки спермы, с целью получения противозачаточных препаратов [91]. Переопыление такого сорта с пищевыми сортами может привести к серьезным региональным демографическим последствиям.

Неконтролируемое введение вакцин в состав пищевых продуктов также несет в себе колоссальные риски. В ходе эмбриогенеза формирующаяся иммунная система «учится» распознавать «свои» белки, не путая их в дальнейшем с «чужими». Белки, экспонируемые клеткам иммунной системы во время эмбриогенеза, запоминаются как «свои». Если белок вакцины в это время попадет в кровотоки эмбриона, то родив-

шийся ребенок не сможет вырабатывать иммунитет к данному заболеванию, всегда распознавая данную бактерию или вирус как «свой».

При сборе урожая любой пищевой культуры огромная масса растительных остатков — листья, стеблей и корней остается на полях. Вероятность прямого распространения в почвенных водах белков, входящих в состав растений, низка. Но значительно выше вероятность горизонтального переноса трансгенных конструкций в почвенные и другие бактерии. Кроме этого, существует еще один аспект рисков — это неконтролируемая вакцинация птиц и млекопитающих, обитающих в данной местности. Если трансгенные вакцины направлены против бактерий и вирусов, имеющих местных животных в качестве переносчиков (или бактерий, родственных болезнетворным бактериям человека), то такая вакцинация спровоцирует мощный отбор среди патогенов и формирование суперинфекций.

#### ***Анализ тестирования генетически модифицированных продуктов на безопасность***

В настоящее время все генетически модифицированные продукты должны проходить процедуру проверки на безопасность по следующим основным показателям: композиционная эквивалентность; оценка пищевых характеристик крахмала, липидов и белков (молекулярная масса новых белков, их устойчивость к перевариванию и переработке/термообработке, структурное сходство с известными аллергенами, долевое содержание в продукте, скрининг-тест на сыворотках, пепсинорезистентность на моделях животных), токсичность и канцерогенность.

По декларируемому охвату эти процедуры отвечают вполне представительному исследованию воздействия продукта на организм. И тем не менее в настоящее время остро стоит вопрос о рисках использования генно-инженерной продукции. Он вызван опасением, что «несанкционированное» вмешательство в геном растения в процессе трансформации может привести к непредсказуемым изменениям вторичного метаболизма и к синтезу следовых количеств минорных биологически активных соединений, обладающих токсическими или аллергенными эффектами. Так, масс-спектрометрический анализ трансгенного картофеля показал резкое изменение состава минорных фракций гликоалкалоидов, что может сопровождаться многократным синергетическим усилением их мембранолитической активности [92]. Обнаружить такие нецелевые изменения метаболизма, включая алкалоиды и фитогормоны небелковой природы, не просто, поскольку исследователь не знает точно, что проверять в огромном многообразии метаболитов и белков растительного или животного организма. Тем более при проверке на композиционную эквивалентность учитывается суммарный состав лишь мажорных фракций веществ разных классов, прежде всего, белков, жиров и углеводов.

Процедуры оценки фракции белков также не выдерживают серьезной критики. Методы сравнения размеров и структурных характеристик новых белков с известными аллергенами не могут дать достоверного ответа об аллергенной или токсической активности проверяемого белка. Тест на термическую устойчивость неэффективен, когда речь идет о потреблении трансгенной продукции в сыром виде или без темпе-

ратурной обработки, а также при воздействии на человека и животных растительной пыльцы, содержащей трансгенные белки.

Тесты на перевариваемость белка должны показать возможность его полного расщепления, что будет означать отсутствие опасности аллергенного воздействия. Вместе с тем эффективность переваривания белка, как *in vitro*, так и в модельных экспериментах на животных, зависит от множества факторов, в частности от доступности действию желудочного сока в составе растительной ткани и от соответствия испытуемого продукта индивидуальному и видовому пищевым статусам экспериментальной группы. Все это может в значительной степени маскировать действие белка и приводить к ошибочным выводам.

Несовершенны и методики оценки аллергических и токсических эффектов испытуемых белков. Длительность таких опытов разительно отличается от длительности аналогичных воздействий генетически модифицированных источников на человека, что не позволяет по результатам опытов делать достоверные выводы о безопасности соответствующей продукции. Методики, используемые для оценки острых воздействий испытуемых белков на человека и животных, могут давать ложно отрицательные результаты. Так, в ряде публикаций, посвященных оценке возможных воздействий на организм подопытных животных белка Сгу9С и родственного ему Сгу1Аb, сообщается об отсутствии патогенного действия данных белков в составе ГМО [93—95]. Однако существующие данные по аллергенности токсинов *B. thuringiensis* [96] побудили провести дополнительные исследования аллергенности Сгу-белков. Полученные данные свидетельствуют о выработке антител и, соответственно, о формировании аллергенной реакции на близкий к вышеупомянутому белок Сгу1Ас [97]. Опыты показали также ограниченность методов определения иммунных реакций [98], в частности теста ELISA, не способного оценивать аллергенность гликозилированных эпитопов белков (участков белка, обеспечивающих формирование иммунной реакции) [99]. Гликозилирование — особенность многих аллергенов пищи [100]. Известно, что Сгу-белки имеют потенциально гликозилируемые участки [101] и взаимодействуют с мембранными аминокептидазами, что свидетельствует о наличии у Сгу-белков гликозил-фосфатидилинозитольного участка молекулы, которым она крепится к клеточной мембране [102].

Ситуация значительно осложняется тем, что использование принципов, разработанных для оценки безопасности химических веществ и фармацевтических препаратов, недостаточно для исследования длительного воздействия трансгенных продуктов на человека. Как известно, традиционное тестирование трансгенного материала ограничивается лишь тестированием на белки, жиры, углеводы и некоторые вторичные метаболиты растений [103], что делает его крайне неэффективным с точки зрения оценки биобезопасности. Оценка отдаленных мутагенных и канцерогенных последствий при постоянном употреблении генетически модифицированных продуктов требует многолетних наблюдений с проведением детальных генетических и токсикологических обследований тестируемого организма на разных стадиях его развития [4, 104]. Понимание этих проблем все боль-

шим количеством специалистов в области медицины, биологии и пищевой промышленности выражается в предложениях по разработке новых методов оценки рисков и стратегий постмаркетинговых исследований биотехнологической продукции [87, 105, 106].

### Экологические риски

Ввиду малой изученности негативных воздействий генетически модифицированных организмов на живые системы экологические последствия коммерческого использования трансгенных растений на функционирование и стабильность природных видов и агробиотеносов остаются непредсказуемыми. Можно ожидать, что редкие природные виды, имеющие узкую приспособленность, исчезнут, появятся особые сорняки, невосприимчивые к гербицидам, резко сократится численность птиц и насекомых, обитающих вокруг «трансгенных» полей. Проблема регуляции экологических рисков стоит особенно остро. Все современные национальные и международные законодательства учитывают лишь фактически подтвержденное негативное действие новой технологии на природу, что в отношении ГМО означает необратимые изменения окружающей среды.

В настоящее время можно обсуждать следующие пять групп экологических рисков при коммерческом использовании ГМО: 1) неконтролируемый перенос трансгенных конструкций вследствие переопыления с дикорастущими родственными и предковыми видами, что приведет к снижению биоразнообразия дикорастущих предковых форм культурных растений и видов животных, формирование так называемых суперсорняков; 2) риски неконтролируемого горизонтального переноса трансгенных конструкций в почвенную микрофлору; 3) негативное влияние на биоразнообразие через поражение токсичными трансгенными белками нецелевых насекомых и почвенной микрофлоры и нарушение трофических цепей; 4) риски быстрого появления устойчивости к используемым трансгенным токсинам у насекомых-фитофагов, бактерий, грибов и других вредителей в результате отбора на признак устойчивости, высокоэффективного для этих организмов; 5) риски появления новых, более патогенных штаммов фитовирусов при взаимодействии фитовирусов с трансгенными конструкциями, проявляющими локальную нестабильность в геноме растения-хозяина и тем самым являющимися наиболее вероятной мишенью для рекомбинации с вирусной ДНК.

О появлении суперсорняков в результате развития устойчивости сорных растений к гербицидам говорят сообщения из Канады. Перекрестное опыление генетически модифицированного рапса зафиксировано на расстоянии около 5 км от опытного участка. В случае насекомопопыхаемых растений это расстояние увеличивается до 10—11 км. В результате перекрестного опыления трансгенных сортов рапса с дикорастущими родственными видами появились гибриды, устойчивые к гербициду Roundup Ready, которые реально превратились в суперсорняки [107, 108]. В Мексике и Гватемале — на родине кукурузы, а также в Китае и Индии в местах произрастания предковых форм современного риса за счет неконтролируемого переопыления дикорастущих видов с трансгенными растениями, выращиваемыми на экспериментальных полях, природные популяции предковых форм этих растений

и традиционные местные сорта уже «насыщены» трансгенами [109, 110]. Вполне естественно, что эти данные подвергались острой критике со стороны лабораторий, финансируемых крупными биотехнологическими корпорациями [111, 112]. На страницах журнала «Science» развернулась бурная дискуссия по данному вопросу, и прозвучал призыв к повторным и независимым экспертным оценкам биоразнообразия природных популяций. Специалисты из Национального института экологии (Мексика) и независимых научных групп в 2002—2003 гг. подтвердили значительное засорение аборигенных сортов кукурузы, по крайней мере в трети фермерских хозяйств девяти штатов Мексики [113]. Трудно сказать, как текущая инвазия (заражение) отразится на дикорастущих видах в будущем, но биоразнообразие традиционных сортов уже в настоящее время необратимо подорвано.

Сторонники широкого коммерческого использования ГМО обычно голословно утверждают, что в отсутствие отбора по новому признаку генетически модифицированный организм «растворится» в природной популяции и не нанесет ей никакого ущерба. Однако данные по трансгенным особям рыб семги (*Salmo salar*) и медаки (*Oryzias latipes*) опровергают эти рассуждения. Известно, что генетически модифицированная семга, выращиваемая на экспериментальных фермах в США, обладает уникальным свойством быстрого развития и достижения особо крупного размера, в несколько раз превышающего норму, за счет конститутивного синтеза гормона роста [114]. Самцы, обладающие наиболее крупными размерами, имеют значительное преимущество при размножении, и поэтому генотип, определяющий это преимущество, быстро насыщает популяцию. Потомство таких быстро растущих самцов в условиях, близких к природным, менее жизнеспособно, чем потомство самцов дикого типа. Проведены лабораторные эксперименты с внедрением аналогичной конструкции в искусственную популяцию медаки [115]. В ходе экспериментов были выявлены изменения компонент приспособленности у трансгенных особей, в том числе снижение выживаемости потомства и рост конкурентоспособности самцов. Применяв математическое моделирование, исследователям удалось показать эффективную интродукцию (самопроизвольный перенос) конструкции и последующее резкое сокращение популяции вплоть до ее вымирания всего за шесть поколений, даже при условии незначительного попадания в нее трансгенных особей (менее 0,1% от численности популяции). Если учесть ежегодные выбросы с промышленных ферм по производству лосося (до 100000 особей) в природную среду, становится очевидным, что такой риск абсолютно реальный, как для данного вида, так и для всей локальной экосистемы [114].

Аналогичная ситуация для растений в принципе возможна при условии селективного преимущества трансгенных сортов в диких условиях. Такие результаты уже получены для энтомоцидных сортов рапса и подсолнечника, умеющих «убивать» насекомых-вредителей и имеющих в их присутствии преимущество в жизнеспособности по сравнению с дикими формами [116, 117]. Другой возможный механизм интродукции трансгенной конструкции в природные популяции — перерождение в сорняк культурного растения, имеющего сходные характеристики с дикорасту-

щими предковыми формами, под действием плейотропных эффектов конструкции [118]. Работы по оценке этих рисков, в первую очередь у зерновых культур, имеющих такие характеристики, как отмечено в [119], отсутствуют.

Принципиальная возможность трансформации бактерий трансгенными конструкциями из растительных геномов была показана в экспериментах с почвенными бактериями. Первые результаты по оценке рисков горизонтального переноса трансгенных конструкций от растений к почвенным бактериям были опубликованы в 1994 г. [120, 121]. За истекший период полевые эксперименты не выявили достоверно подтвержденных случаев горизонтального переноса конструкций к бактериям, за исключением оценок тотальной ДНК, выделенной из почвы. Но с помощью этих экспериментов нельзя точно доказать инкорпорацию (включение) трансгенов в геном бактерии [122]. Анализируя результаты полевых испытаний, авторы [122] приводят ряд убедительных доказательств несовершенства применяемых методик: исследователям доступны только 10% бактериальной флоры и частота рекомбинационных событий может требовать не учитываемого исследователями дополнительного селекционного отбора трансформированных штаммов [122]. В экспериментальных условиях была продемонстрирована возможность переноса трансгенов от растений к бактериям [123, 124]. Показана также зависимость вероятности перемещения трансгенных конструкций от их гомологии бактериальному геному [125].

Широкое использование генетически модифицированных сортов сельскохозяйственных растений может привести к нарушению системы естественного биологического контроля над насекомыми-вредителями из-за отрицательного воздействия инсектицидных белков, продуцируемых трансгенными растениями, на нецелевые организмы, в том числе на хищных и паразитических насекомых. В обзорах, посвященных этой проблеме, отмечены факты негативного действия Bt-токсинов, продуцируемых трансгенными сортами культур, на насекомых, являющихся естественными врагами сельскохозяйственных вредителей, и на другие нецелевые организмы [119, 126]. Напротив, насекомые-фитофаги на протяжении миллионов лет адаптировались к кормовой базе — растениям, для которых наиболее эффективным инструментом борьбы были различные токсины. Поэтому в арсенале методов формирования устойчивости к токсинам насекомых-вредителей имеется значительный набор механизмов, обеспечивающих быстрое приобретение такой устойчивости, в том числе и к токсинам, в том числе и к продуцируемым трансгенными растениями. Американскими и китайскими исследователями показано, что применение Bt-токсина для получения устойчивых к насекомым растений привело к тому, что некоторые вредители (например, бабочка *Plutella xylostella*) развились в особые популяции, которые стали невосприимчивы к токсину [119, 127]. Существует опасность негативного влияния токсинов, кодируемых трансгенами, на жизнедеятельность почвенных насекомых и микроорганизмов, а также возможность модификации эпифитотических характеристик природных фитовирусов в результате генетической рекомбинации между трансгенами и генами природных вирусов, приводящей к образованию новых вирулентных штаммов.

Потенциальные экологические риски от использования генетически модифицированных растений, экспрессирующих Сгу-гены, в настоящее время не подвергаются сомнению. Даже специалисты компании «Монсанто» (США) не отрицают, что массовое внедрение Вt-сортов растений ускоряет появление насекомых, устойчивых к токсину. Близкую позицию по данному вопросу занимает и Агентство по охране окружающей среды США (ЕРА). По мнению сотрудников ЕРА, введение в культуру растений, синтезирующих белки Сгу-генов, может привести и к другим нежелательным последствиям, в частности, к изменению типа питания части вредителей и к их переходу на другие виды растений (цит. по [128]).

Актуальность обсуждаемой проблемы нашла понимание у многих международных организаций и национальных правительств. Так, в Великобритании была сформирована и действовала на протяжении трех лет (до 2003 г.) обширная научная программа FSE (Farm Scale Evaluation), в которую были вовлечены десятки лабораторий из многих национальных институтов и научных центров. Исследования финансировались правительством Шотландии, Английским департаментом продовольствия и сельского хозяйства (DEFRA) и Научным советом по биологии и биотехнологии (BBSRC). В ходе исследований была проведена оценка сельскохозяйственных угодий, занятых как генетически модифицированными, так и традиционными сортами, изучено биоразнообразие агроценозов и окружающих их биоценозов, проведены исследования, касающиеся пищевых рисков и рисков горизонтального переноса. (Результаты исследований публикуются на страницах «Философских трудов Лондонского Королевского общества» и обсуждаются в ежегодных изданиях «GM SCIENCE REVIEW».)

Получили подтверждение экологические риски использования гербицидо-устойчивых сортов растений, приводящие к достоверному изменению спектра и численности видов, а в ряде случаев — к снижению биоразнообразия био- и агроценозов, специфичного для каждого из изученных сортов [129—131]. Данные по влиянию Вt-сортов на биоценозы противоречивы. Работы, проведенные американскими и канадскими исследователями, не показали значительного влияния продуцируемого растением токсина на нецелевой организм или передачу токсина по трофическим цепям [132, 133]. Однако следует иметь в виду, что в этих исследованиях применялись модели действия токсина на единственный нецелевой организм или единственную пищевую цепь, что ставит под сомнение адекватность используемых исследователями моделей. В то же время получены подтверждения гибели нецелевых организмов под влиянием Вt-токсинов [119, 134, 135]. На сегодняшний день главный вывод, сделанный британским научным сообществом из проведенного исследования, заключается в необходимости строгой индивидуальной оценки каждой новой генетически модифицированной культуры по всем возможным рискам, связанным с ее коммерческим использованием.

#### Агротехнические риски

Агротехнические риски тесно связаны с экологическими. Возможный отбор сортов культур, устойчивых к насекомым-вредителям, потенциальное ухудшение качества почв — это те экологические риски, которые

прямо ведут к снижению декларируемой производительности самого сорта и могут влиять на общую производительность хозяйства.

Остановимся на некоторых из пяти основных агротехнических рисков: (1) риски непредсказуемых изменений нецелевых свойств и признаков модифицированных сортов, связанные с плейотропным действием введенного гена; (2) снижение сортового разнообразия сельскохозяйственных культур вследствие массового применения монокультур ГМО; (3) риски отсроченного изменения свойств через несколько поколений, связанные с адаптацией нового гена генома и с проявлением как новых плейотропных свойств, так и изменением уже декларированных; (4) неэффективность трансгенной устойчивости к вредителям через несколько лет массового использования данного сорта; (5) возможность использования терминальных технологий (см. ниже) для монополизации производства семенного материала.

Выше было описано явление плейотропного действия гена и его связь с пищевыми рисками. Сходная ситуация возникает и в отношении агротехнических рисков. Попытка защитить картофель от грызущих насекомых (например, колорадского жука) методами генетической инженерии приводит к тому, что защищенные трансгенные растения неожиданно становятся уязвимыми для других вредителей. Особенно опасно снижение устойчивости клубней трансгенного картофеля к фитопатогенам при его зимнем хранении. Информация, поступающая из некоторых российских научных организаций, свидетельствует о том, что клубни устойчивого к колорадскому жуку картофеля имеют пониженную устойчивость к фитофторозу. Иными словами, сокращение потерь урожая на 8—10%, которые дает защита трансгенного картофеля от колорадского жука с помощью Вt-токсина, с избытком перекрывается потерями от гниения генетически модифицированных клубней в процессе их хранения [2, 136]. Более того, по данным В.А. Тутельяна, содержание нитратов в трансгенном картофеле практически вдвое выше по сравнению с традиционным сортом, а содержание витамина С и бета-каротина, напротив, ниже [55].

Неожиданные проявления обнаруживаются не только у экспериментальных видов культур, но и у растений, уже получивших коммерческий статус. Так, было обнаружено, что у устойчивого к гербицидам вида сои, выведенного компанией «Монсанто», в жарких климатических условиях стручки самопроизвольно раскрываются, что приводит к потере 40% урожая. Известны также случаи, когда плоды трансгенных растений существенно теряли свои вкусовые качества. Накопление лигнина от полуторного до двукратного уровня относительно нормы было выявлено для десяти гибридных линий Вt-кукурузы, модифицированной геном токсина Сгу1Аb [137]. Это приводило к уменьшению интенсивности микробной биодegradации растительных остатков Вt-кукурузы в почве и существенно снижало общую метаболическую активность почвы. С накоплением лигнина существенно снижалась и пищевая ценность силосной массы, что также не декларируется производителем при продаже генетически модифицированных сортов кукурузы.

Серьезной агротехнической проблемой для сельскохозяйственного производства, использующего ге-

нетически модифицированные сорта растений, может стать эпигенетическое молчание трансгенов, реализуемое на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях. В первом случае происходит инактивация промоторов трансгенов таким образом, что ингибируется их транскрипция, а во втором случае транскрипция осуществляется, но синтезированная в ядре мРНК деградирует в цитоплазме. Интродуцированные гены могут становиться эпигенетически молчащими сразу, а также после короткого и даже длительного периода экспрессии. Во многом такое свойство трансгенов обусловлено как непредсказуемой интеграцией рекомбинантных молекул ДНК в растительный геном, так и неопределенным заранее их количеством [138].

Монопольное владение семенными и химическими корпорациями генетически модифицированными растениями и семенами, а также химикатами для сельского хозяйства, приводит фермера или даже в целом государство — покупателя трансгенных семян — к сверхзависимости от производителя посевного материала. К тому же по существующим положениям фирма продает семена на условиях, по которым покупатель не может оставлять часть своего урожая для посева на следующий год. В противном случае он нарушит патентное право и будет подвергнут судебному преследованию. Более того, согласно юридическому договору, который фермер должен подписать с компанией, последняя не несет никаких гарантийных обязательств, и вся ответственность за любые неблагоприятные последствия ложится на фермера. Эта ситуация усугубляется тем, что в настоящее время отсутствуют технологии для предотвращения загрязнения традиционных сортов трансгенами.

Особое неудобство и даже опасность для покупателя представляют так называемые терминаторные технологии, когда продаваемые биотехнологической фирмой семена дают лишь один урожай (одно поколение, F1). Попытка использовать часть урожая для посева на следующий год приводит к тому, что семена или не прорастают, или гибнут сразу после прорастания. Все это делает любого покупателя семян абсолютно зависимым от компаний, производящих семена генетически модифицированных растений и пестициды.

Следует также отметить, что начало коммерческого выращивания генетически модифицированных сортов растений может привести к фактической утрате государством, в частности Россией, статуса потенциального производителя экологически чистой (органической) продукции и ее поставщика на европейский рынок. По оценкам некоторых западных экспертов, объем рынка органической продукции в настоящее время составляет около 100 млрд. долларов в год. Существует очень большая вероятность того, что коммерческое выращивание генетически модифицированных сортов на территории России будет означать потерю этой возможности.

#### **Законодательное регулирование потоков ГМО и продуктов их переработки**

С самого начала развития генной инженерии ученые полностью осознавали потенциальную опасность и этические проблемы, связанные с этой отраслью биологии. В феврале 1975 г. группой исследователей, которая включала более 100 специалистов по молекулярной биологии, имеющих международное призна-

ние, было принято решение наложить мораторий на исследования в области генной инженерии, пока риск не будет точно оценен. Это был выдающийся пример ограничения научного прогресса, на котором настаивало не правительство, а само научное сообщество. В 1976 г. в США и Великобритании были сформированы специальные комитеты, призванные выработать меры безопасности, и только после их принятия исследования в области генной инженерии были возобновлены. Однако и по сей день бурные дебаты в данной области не утихают, а число сторонников ужесточения правил безопасности генно-инженерных технологий растет и в Европе, и в США.

В 1995 г. ЮНЕП (United Nations Environment Programme) приняла целый ряд руководящих принципов как основу для разработки странами нормативных актов или директив по обеспечению безопасности продуктов, получаемых по биотехнологиям. Руководящие принципы ЮНЕП нацеливают на создание национальной стратегии биобезопасности, которая позволит правительствам разработать национальные механизмы использования генно-инженерных технологий. На основании руководящих принципов должны составляться протоколы для определения рисков и возможностей минимизации неблагоприятных последствий использования ГМО для здоровья человека и окружающей среды. В руководящих принципах ЮНЕП говорится, что «оценка и управление рисками может частично базироваться на знании особенностей организма и опыте обращения с ним (т.е. на осведомленности), информации о его предполагаемом использовании и окружающей среде, в которой он будет функционировать». Было признано, что процесс оценки рисков может варьировать от краткого подтверждения безопасности до обширного исследования, в зависимости от степени осведомленности.

К настоящему времени принят ряд международных соглашений, регламентирующих правила поведения стран-членов мирового сообщества при решении различных проблем, связанных с использованием биотехнологий. Важнейшие из этих соглашений: CBD (Convention on Biological Diversity), Орхусская конвенция и Картахенский протокол по биобезопасности.

CBD — конвенция по биоразнообразию, представляющая собой рамочное соглашение, определяющее поведение государств и внешнеэкономических контрагентов (импортеров—экспортеров), была создана усилиями группы экспертов ЮНЕП и открыта для подписания на Конференции ООН по окружающей среде и устойчивому развитию в Рио-де-Жанейро 5 июля 1992 г., вступила в силу 29 декабря 1993 г.

Орхусская конвенция о доступе к информации, к участию общественности в принятии решений и об обращении к правосудию по вопросам, касающимся безопасности окружающей среды, подписана 38 странами 25 июня 1998 г. в г. Орхус (Дания) на 4-й Конференции министров окружающей среды европейских стран в рамках процесса «Окружающая среда для Европы». Цель этой Конвенции — содействовать защите права каждого человека нынешнего и будущих поколений жить в окружающей среде, благоприятной для его здоровья и благосостояния.

Важное значение для исключения негативных последствий при использовании ГМО имеет тот факт, что большинство стран мира, включая Россию, при-

няло на себя обязательства соблюдать принцип предосторожности (сформулирован в Декларации ООН по окружающей среде и устойчивому развитию в Рио-де-Жанейро, UN Doc. A/CONF.151/5/Rev.1, 1992), требующий от производителя предоставления доказательств безопасности ГМО и полученных из них продуктов еще до начала их коммерческого использования. Отсутствие подобных сведений позволяет считать ГМО и продукты их переработки опасными или потенциально опасными.

Ключевая роль в регламентировании трансграничных потоков ГМО в глобальном масштабе принадлежит Картахенскому протоколу по биобезопасности (2000 г.). В соответствии с этим документом государства имеют право декларировать свое желание или нежелание импортировать сельскохозяйственную продукцию, содержащую ГМО. Соответствующая декларация для сведения мировой общественности должна быть помещена во всеобщий банк данных по биологической безопасности (Biosafety Clearing House) — механизм, разработанный с целью ускорения обмена информацией и опытом в отношении ГМО. Кроме того, вся экспортируемая продукция, которая может содержать ГМО, должна маркироваться соответствующим образом.

В нашей стране также создана некоторая законодательная база в области регулирования генно-инженерной деятельности. В частности, разработаны и приняты Федеральные законы «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности» (от 05.06.1996, № 86-ФЗ), «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» (от 30.03.1999, № 52-ФЗ), «О качестве и безопасности пищевых продуктов» (от 02.01.2000, № 29-ФЗ), «О защите прав потребителей» (в редакции Федерального закона от 09.01.1996, № 2-ФЗ). Принят ряд постановлений Главного государственного санитарного врача РФ, в том числе Постановление от 08.11.2000 № 13 «О нанесении информации на потребительскую упаковку пищевых продуктов, полученных из ГМО».

Принципиальное значение для решения проблем биобезопасности ГМО имеет разработка и утверждение Президентом РФ (04.12.2003, № Пр-2194) «Основ государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности РФ до 2010 года и дальнейшую перспективу», где четко сформулированы задачи государства в данной области. В частности, в этом документе выказана необходимость «обеспечить безопасность продуктов питания и лекарственных средств, произведенных из генетически модифицированных организмов; безопасность экологической системы от проникновения чужеродных видов организмов; прогнозировать генетические аспекты биологической безопасности; создать системы государственного контроля за оборотом генетически измененных материалов».

В конце 2004 г. принята поправка к закону «О защите прав потребителей», требующая обязательного информирования потребителя «о наличии в продуктах питания компонентов, полученных с применением генно-инженерно-модифицированных организмов». Бюро Отделения биологических наук РАН (ОБН РАН) также считает «необходимым развитие в ОБН РАН исследований по вопросам биобезопасности трансгенных организмов и продуктов, полученных из

ГМО, а также по экологическим проблемам, связанным с ГМО» (Пост. Бюро ОБН РАН № 137 от 25 ноября 2003 г.).

Лишь один перечень этих документов убедительно свидетельствует об обеспокоенности мирового сообщества, правительств многих государств, в том числе и России, сложившейся ситуацией в области коммерческого использования трансгенных сортов сельскохозяйственных растений. Специфика и опасность широкомасштабного эксперимента по выпуску ГМО в окружающую среду заключается в том, что, по мнению участников Берлинской конференции (23 января 2005 г.), представлявших 28 стран Европы, «наука может ошибаться, однако ГМО невозможно будет вернуть в исходное положение при появлении негативных проблем». Осознавая это, Евросоюз объявил пятилетний мораторий на выращивание и использование ГМО, после чего разработал и принял законодательную базу, которая сводит к минимуму потенциальные риски при использовании ГМО и одновременно не препятствует развитию генно-инженерных технологий. В частности, согласно принятым директивам (2001/18/ЕС) вводится гармонизированная система отслеживания генетически модифицированных продуктов на всех стадиях допуска ГМО к рынку. Эти директивы внесут правовую ясность и будут способствовать эффективной работе внутреннего рынка.

Надо сказать, что Россия сделала лишь первые робкие шаги по пути соблюдения принципа предосторожности. Следующим шагом, очевидно, должно стать введение энергичных мер по значительному повышению эффективности принятых законов и гармонизации отечественного законодательства в данной области с законодательством Евросоюза, без чего невозможен выход российских производителей на европейский рынок.

Таким образом, есть основания говорить о существовании реальных или потенциальных пищевых, экологических и агротехнических рисков при коммерческом выращивании и использовании ГМО и полученных из них продуктов питания. Эти риски являются следствием, прежде всего, несовершенства существующих генно-инженерных технологий и недостаточно глубокого знания структуры, а также механизмов регуляции и функционирования генома растений. Снижение или исключение указанных рисков при выращивании трансгенных растений предполагает значительное совершенствование технологии получения ГМО, создание трансгенных растений нового поколения, не содержащих регуляторных вирусных промоторов, генов устойчивости к антибиотикам и других технологических элементов, всестороннее изучение биологии генетически модифицированных растений и фундаментальных основ регуляции экспрессии генома.

Успешному развитию генно-инженерных технологий в сельскохозяйственном производстве России будет способствовать также создание независимой от производителя, эффективно работающей государственной системы контроля за наличием ГМО и продуктов их переработки, а также обязательное маркирование всех продуктов, содержащих трансгенные источники, соблюдение международных правовых норм по регулированию трансграничного потока ГМО, совершенствование национального законодательства и

его гармонизация с законодательством Евросоюза. Аксиомой является положение о том, что доказательства биобезопасности генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов должны опережать их коммерческое использование.

ЛИТЕРАТУРА

1. James C. ISAAA Briefs, 2003, № 30, p. 53–59.
2. Соколов М.С., Марченко А.И. С.-х. биология, 2002, № 5, с. 3–23.
3. Giovannetti M. Rev. Biol., 2003, v. 96, № 2, p. 207–223.
4. Millstone E., Brunner E., Mayer S. Nature, 1999, v. 410, p. 525–526.
5. Koonin E.V., Makarova K.S., Arvind L. Ann. Rev. Microbiol., 2001, v. 55, p. 709–742.
6. Froman B.E., Tait R.C., Gottlieb L.D. Mol. Gen. Genet., 1989, v. 217, № 1, p. 126–131.
7. Doolittle R.F., Feng D.F., Anderson K.L. e. a. J. Mol. Evol., 1990, v. 31, № 5, p. 383–388.
8. Scholl E.H., Thorne J.L., McCarter J.P. e. a. Genome Biol., 2003, v. 4, № 6, p. 39.
9. de Almeida L.M., Carareto C.M. Mol. Phylogenet. Evol., 2005, v. 35, № 3, p. 583–594.
10. Лзин Г.Т., Макарова К.В., Великодворская В.В. и др. Молекуляр. биология, 2001, т. 35, № 5, с. 805–815.
11. Labra M., Vannini C., Grassi F. e. a. Theor. and Appl. Genet., 2004, v. 109, № 7, p. 1512–1518.
12. Ouakfaoui E.S., Miki B. Plant J., 2005, v. 41, № 6, p. 791–800.
13. Meng L., Bregitzer P., Zhang S. e. a. Plant Mol. Biol., 2003, v. 53, № 3, p. 327–340.
14. Yang L., Ding J., Zhang C. e. a. Plant Cell Rep., 2005, v. 23, № 10–11, p. 759–763.
15. Windels P., Taverniers I., Depicker A. e. a. Eur. Food Res. Technol., 2001, v. 231, p. 107–112.
16. Жученко А.А. С.-х. биология, 2003, № 1, с. 3–33.
17. Кузнецов В.В., Куликов А.М., Митрохин И.А. и др. Экоинформ, 2004, № 10, с. 1–64.
18. Куликов А.М. Физиология растений, 2005, т. 52, с. 115–128.
19. Монастырский О.А. Экоинформ, 2004, № 4, с. 1–64.
20. Семенюк Е.Г. Агрехимия, 2001, № 1, с. 80–93.
21. Семенюк Е.Г. Там же, 2001, т. 10, с. 85–96.
22. Кузнецов В.В. Вестн. ДВО РАН, 2005, т. 121, № 3, с. 40–54.
23. Navarro G.H., Lopez C.C., Garcia E. e. a. FE/SBM, 2001, 107 – 2001-E in [http://www.asa-europe.org/online/Navarro\\_ExFFSBM.pdf](http://www.asa-europe.org/online/Navarro_ExFFSBM.pdf)
24. Reseland J.E., Holm H., Jacobsen M.B. e. a. J. Nutr., 1996, v. 126, № 3, p. 634–642.
25. Holm H., Jorgensen A., Hanssen L.E. Ibid., 1991, v. 121, № 4, p. 532–538.
26. Tan-Wilson A.L., Wilson K.A. Adv. Exp. Med. Biol., 1986, v. 199, p. 391–411.
27. Struthers B.J., MacDonald J.R. J. Nutr., 1983, v. 113, № 4, p. 800–804.
28. Yoshikawa H., Kotaru M., Tanaka C. e. a. J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo), 1999, v. 45, № 6, p. 797–802.
29. Suehiro I., Otsuki M., Yamasaki T. e. a. Clin. chim. acta, 1981, v. 117, № 2, p. 145–152.
30. Kusaba-Nakayama M., Ki M., Kawada E. e. a. Biosci. Biotechnol. Biochem., 2001, v. 65, № 11, p. 2448–2455.
31. He W.J., Liu W.Y. Int. J. Biochem. Cell Biol., 2003, v. 35, № 7, p. 1021–1027.
32. Ewen S.W., Pusztai A. Lancet, 1999, v. 354, № 9187, p. 1353.
33. Pusztai A., Bardocz G.G., Alonso R. e. a. J. Nutr., 1999, v. 129, № 8, p. 1597–1603.
34. Ewen S.W., Pusztai A. Lancet, 1999, v. 354, № 9179, p. 684.
35. Summers C., Forrest J., Norval M. e. a. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 2002, v. 33, № 1, p. 47–49.
36. Lehrer S.B. In: Agricultural Biotechnology and the Poor. Consultative Group on International Agricultural Research. Eds. G.J. Persley, M.M. Lantin. Washington DC, USA, 2000, p. 149–155.
37. Nordlee J.A., Taylor S.L., Townsend J.A. e. a. N. Engl. J. Med., 1996, v. 334, № 11, p. 666–692.
38. Bacillus thuringiensis subspecies tolworthi Cry9c protein and the genetic material necessary for its production in corn; exemption from the requirement of a tolerance. U.S. Environmental Protection Agency. U.S. Fed. Reg., 1998, v. 63, p. 28258–28261.
39. Bernstein J.A., Bernstein I.L., Bucchini L. e. a. Environ. Health Perspect., 2003, v. 111, p. 1114–1121.
40. Bernstein I.L., Bernstein J.L., Miller M. e. a. Ibid., 1999, v. 107, p. 575–582.
41. Itoh Y., Takahashi K., Takizawa H. e. a. Biosci. Biotechnol. Biochem., 2003, v. 67, № 4, p. 847–855.
42. Datta K., Baisakh N., Thet K.M. e. a. Theor. Appl. Genet., 2002, v. 106, № 1, p. 1–8.
43. Kim J.K., Jang I.C., Wu R. e. a. Transgenic Res., 2003, v. 12, № 4, p. 475–484.
44. Esposito F., Fogliano V., Cardi T. e. a. J. Agr. and Food Chem., 2002, v. 50, № 6, p. 1553–1561.
45. Wu G., Shortt B.J., Lawrence E.B. e. a. Plant Physiol., 1997, v. 115, № 2, p. 427–435.
46. Anand A., Zhou T., Trick H.N. e. a. J. Exp. Bot., 2003, v. 54, № 384, p. 1101–1111.
47. Palacios S.A. Allergol. Immunopathol. (Madrid), 2001, v. 29, № 5, p. 212–221.
48. Sussman G.L., Beezhold D.H., Kurup V.P. J. Allergy and Clin. Immunol., 2002, v. 110, № 2, p. S33–S39.
49. Breieneder H., Ebner C. Ibid., 2000, v. 106, № 1, Pt. 1, p. 27–36.
50. Down P.F., Herms D.A., Berhof M.A. e. a. Plant Peroxidase newsletter, 2000, Is. 14, p. 93–101.
51. Hoffmann-Sommergruber K. Biochem. Soc. Trans., 2002, v. 30, Pt. 6, p. 930–935.
52. Cantani A., Micera M. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci., 2001, v. 5, № 1, p. 25–29.
53. Fenton B., Stanley K., Fenton S. e. a. Lancet, 1999, v. 354, p. 1354–1355.
54. Gabor F., Stangl M., Wirth M. J. Control Release, 1998, v. 55, p. 131–142.
55. Медико-биологические исследования трансгенного картофеля, устойчивого к колорадскому жуку (по соглашению с фирмой «Монсанто»). Отчет Института питания РАМН. М.: Институт питания РАМН, 1998, 63 с.
56. Kawata M. Inspection of the Safety Assessment of Genetically Modified, the Roundup Tolerant Soybean: Monsanto's Dangerous Logic as seen in the Application Document submitted to Japan, 2001. By Masaharu Kawata, Assistant Professor, School of Science, Nagoya University, Japan, 2001. In [http://www.biotech-info.net/safety\\_inspection2.html](http://www.biotech-info.net/safety_inspection2.html)
57. Burtin D, Michael A.J. Biochem. J., 1997, v. 325, Pt. 2, p. 331–337.
58. Bassie L, Noury M, Lepri O. e. a. Transgenic. Res., 2000, v. 9, № 1, p. 33–42.
59. Цырлин В.А., Кузьменко Н.В., Плюсс М.Г. Вестн. аритмологии, 2001, т. 21, с. 92–97.
60. Nicoletti R., Venza J., Ceci G. e. a. Brit. J. Ophthalmol., 2003, v. 87, № 8, p. 1038–1042.
61. Fraser P.D., Romer S, Shipton C.A. e. a. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002, v. 99, № 2, p. 1092–1097.
62. Bartoszewski G., Malepszy S., Smigocki A.C. e. a. TEKTRAN, Agricultural Research Service, 1998. In <http://www.nal.usda.gov/ttic/tektran/data/000009/46/0000094647.html>
63. Haberer G., Kieber J.J. Plant Physiol., 2002, v. 128, № 2, p. 354–362.
64. Redig P., Schmulling T., Van Onckelen H. Ibid., 1996, v. 112, № 1, p. 141–148.
65. Mookerjee B.K., Ballard J., Bentzel C.J. e. a. J. Reticuloendothel Soc., 1979, v. 25, № 3, p. 299–314.
66. Vermeulen K., Strnad M., Krystof V. e. a. Leukemia, 2002, v. 16, № 3, p. 299–305.
67. Vesely D.L., Hudson J.L., Pipkin J.L.Jr. e. a. Endocrinology, 1985, v. 116, № 5, p. 1887–1892.
68. Heo H.J., Hong S.C., Cho H.Y. e. a. Mol. Cells., 2002, v. 13, № 1, p. 113–117.
69. Froidi G., Gallo U., Ragazzi E. e. a. Planta Med., 1999, v. 65, № 3, p. 245–249.

70. *Hardell L., Eriksson M.* *CANCER*, 1999, v. 85, № 6, p. 1353.
71. *Glick B.R., Pasternak J.J.* *Molecular Biotechnology. Principles and Applications of Recombinant DNA*. Washington, D.C.: ASM PRESS, 1998, 589 p.
72. *De Roos A.J., Zahm S.H., Cantor K.P. e. a.* *Occup. Environ. Med.*, 2003, v. 60, 11- doi:10.1136/oem.60.9.e11.
73. *De Roos A.J., Blair A., Rusiecki J.A. e. a.* *Environ. Health Perspect.*, 2005, v. 113, № 1, p. 49–54.
74. *Muller B.P., Zumdick A., Schuphan I. e. a.* *Pest Manag. Sci.*, 2001, v. 57, № 1, p. 46–56.
75. *Pline W.A., Price A.J., Wilcut J.W. e. a.* *Weed Science*, 2001, v. 49, p. 460–467.
76. *Yamada T., Ishige T., Shiota N. e. a.* *Theor. Appl. Genet.*, 2002, v. 105, № 4, p. 515–520.
77. *Bode M., Stobe P., Thiede B. e. a.* *Pest Manag. Sci.*, 2004, v. 60, № 1, p. 49–58.
78. *Birnbaum L.S., Fenton S.E.* *Environ. Health. Perspect.*, 2003, v. 111, № 4, p. 389–394.
79. *Cooper R.L., Goldman J.M., Stoker T.E.* *Toxicol Ind. Health.*, 1999, v. 15, № 1–2, p. 26–36.
80. *Lin C.T., Lin W.H., Lyu Y.L. e. a.* *Nucl. Acids Res.*, 2001, v. 29, № 17, p. 3529–3538.
81. *Phipps R.H., Deaville E.R., Maddison B.C.* *J. Dairy Sci.*, 2003, v. 86, № 12, p. 4070–4078.
82. *Chowdhury E.H., Mikami O., Nakajima Y. e. a.* *Vet. Hum. Toxicol.*, 2003, v. 45, № 2, p. 95–96.
83. *Felsot A.* *Agrichemical and Environmental News*, 2000, Is.173, <http://www.aenews.wsu.edu/Sept00AENews/Sept00AENews.htm#anchor5301120>
84. *Khan M.S., Maliga P.* *Nat. Biotechnol.*, 1999, v. 17, № 9, p. 910–915.
85. *Blahova J., Kralikova K., Krcmery V.Sr. e. a.* *J. Chemother.*, 2001, v. 13, № 2, p. 143–147.
86. *Smalla K., Heuer H., Gotz A. e. a.* *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, v. 66, № 11, p. 4854–4862.
87. *Kuiper H.A., Kleter G.A.* *Trends Food Sci. and Technol.*, 2003, v. 14, p. 277–293
88. *Vlasak J., Smahel M., Pavlik A. e. a.* *J. Biotechnol.*, 2003, v. 103, № 3, p. 197–202.
89. *The United Kingdom Parliament. The Commons Hansard Written Answers text for Wednesday 25 June 2003; 2003, v. 407, p. 416, <http://www.parliament.the-stationery-office.co.uk/pa/cm200203/cmhansrd/vo030625/index/30625-x.htm>*
90. *Ho M.W.* *Pharmageddon. Science in Society*, 2003, v. 17, p. 23–24.
91. *McKie R.* *Guardian Anlimited*, 2001, September 9, (<http://www.guardian.co.uk/gmdebate/Story/0,2763,549002,00.html>).
92. *Stobiecki M., Matysiak-Kata I., Franski R. e. a.* *Phytochemistry*, 2003, v. 62, № 6, p. 959–969.
93. *Okunuki H., Teshima R., Shigeta T. e. a.* *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 2002, v. 43, № 2, p. 68–73.
94. *Teshima R., Watanabe T., Okunuki H. e. a.* *Ibid.*, 2002, v. 43, № 5, p. 273–279.
95. *Phipps R.H., Deaville E.R., Maddison B.C.* *J. Dairy Sci.*, 2003, v. 86, № 12, p. 4070–4078.
96. *Bernstein I.L., Bernstein J.A., Miller M. e. a.* *Environ. Health. Perspect.*, 1999, v. 107, № 7, p. 575–582.
97. *Vazquez-Padron R.I., Moreno-Fierros L., Neri-Bazan L. e. a.* *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2000, v. 33, № 2, p. 147–155.
98. *Bernstein J.A., Bernstein I.L., Bucchini L. e. a.* *Environ. Health. Perspect.*, 2003, v. 111, № 8, p. 1114–1121.
99. *Raybourne R.B., Williams K.M., Vogt R. e. a.* *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2003, v. 132, № 4, p. 322–328.
100. *Andersson K., Lidholm J.* *Ibid.*, 2003, v. 130, № 2, p. 87–107.
101. *Oltean D.I., Pullikuth A.K., Lee H.K. e. a.* *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, v. 65, № 11, p. 4760–4766.
102. *Rajagopal R., Agrawal N., Selvapandiyam A. e. a.* *Biochem. J.*, 2003, v. 370, Pt 3, p. 971–978.
103. *Kessler D.A., Taylor M.R., Maryanski J.H.* *Science*, 1992, v. 256, p. 1747–1749.
104. *Franck-Oberspach S.L., Keller B.* *Plant Breeding*, 1997, v. 116, p. 1–17.
105. *Dale P.J.* *Genome Res.*, 1999, v. 9, № 12, p. 1159–1162.
106. *Halford N.G., Shewry P.R.* *Brit. Med. Bull.*, 2000, v. 56, № 1, p. 62–73.
107. *Beckie H.J., Hall L.M., Warwick S.I.* In: *Proc. Brit. Crop Protection Conf.—Weeds*, Brighton, UK. 12–15 Nov. 2001. *Brit. Crop Protection Council*, Farnham, Surrey, UK, p. 135.
108. *Friesen L.F., Nelson A.G., Van Acker R.C.* *Agron. J.*, 2003, v. 95, p. 1342–1347.
109. *Quist D., Chapela I.H.* *Nature*, 2001, v. 414, № 6863, p. 541.
110. *Gepts P., Papa R.* *Environ. Biosafety Res.*, 2003, v. 2, № 2, p. 89–103.
111. *Kaplinsky N., Braun D., Lisch D. e. a.* *Nature*, 2002, v. 416, № 6881, p. 601–602.
112. *Metz M., Futterer J.* *Ibid.*, 2002, v. 416, № 6881, p. 600–601.
113. *ETC Group.* *Maize Rage in Mexico: GM maize contamination in Mexico — 2 years later.* 10 October 2003. [www.etcgroup.org](http://www.etcgroup.org).
114. *Doyle D., Kelso T.* *Bulletin of Marine Science*, 2004, v. 74, № 3, p. 509–528.
115. *Muir W.M., Howard R.D.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, v. 96, № 24, p. 13853–13856.
116. *Ramachandran S., Buntin D., All J.N. e. a.* *Agron J.*, 2000, v. 92, p. 368–374.
117. *Stewart A.N., All J.N., Raymer P.L. e. a.* *Mol. Ecol.*, 1997, v. 6, p. 773–779.
118. *Williamson M., Perrings J., Fitter A.* *Trends Ecol. Evol.*, 1990, v. 5, p. 417–419.
119. *Dale P.J., Clarke B., Fontes E.M.G.* *Nature Biotechnology*, 2002, v. 20, p. 567–574.
120. *Smalla K., Gebhard F., van Elsas J. D. e. a.* In: *Proc. of the 3rd Int. Symp. on The Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms*, 1994, The University of California Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, Calif, p. 157–168.
121. *Becker J., Siegert H., Logemann J., Schell J.* *Begleitende Sicherheitsforschung zur Freisetzung genetisch veränderter Petunien*, 1994. *Bundesministerium für Forschung und Technologie*, Bonn, Germany. S. 563–578.
122. *Nielsen K.M., Bones A.M., Smalla K. e. a.* *Аграрная Россия, научно-производственный журнал*, 2005, № 1, с. 28–44.
123. *Nielsen K.M., Bones A.M., van Elsas J.D.* *Appl. Environ. Microbiol.*, 1997, v. 63, № 10, p. 3972–3977.
124. *Gebhard F., Smalla K.* *Ibid.*, 1998, v. 64, № 4, p. 1550–1554.
125. *Tepfer D., Garcia-Gonzales R., Mansouri H. e. a.* *Transgenic Res.*, 2003, v. 12, № 4, p. 425–437.
126. *Groot A.T., Dicke M.* *Plant J.*, 2002, v. 31, № 4, p. 387–406.
127. *Tabashnik B.E., Carriere Y., Dennehy T.J. e. a.* *J. Econ. Entomol.*, 2003, v. 96, № 4, p. 1031–1038.
128. *Кауцян В.* *Пестициды и трансгенные растения как международная агроэкологическая проблема.* Москва, 1998, 167 с.
129. *Roy D.B., Bohan D.A., Haughton A.J. e. a.* *Phil. Trans. Roy. Soc. London B*, 2003, v. 358, № 1439, p. 1879–1898.
130. *Hawes C., Haughton A.J., Osborne J.L. e. a.* *Ibid.*, 2003, v. 358, № 1439, p. 1899–1913.
131. *Haughton A.J., Champion G.T., Hawes C. e. a.* *Ibid.*, 2003, v. 358, № 1439, p. 1863–1877.
132. *Schuler T.H., Denholm I., Clark S.J. e. a.* *J. Insect. Physiol.*, 2004, v. 50, № 5, p. 435–443.
133. *Sears M.K., Hellmich R.L., Stanley-Horn D.E. e. a.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, v. 98, № 21, p. 11937–11942.
134. *Marroquin L.D., Elyassnia D., Griffiths J.S. e. a.* *Genetics*, 2000, v. 155, № 4, p. 1693–1699.
135. *Scriber J.M.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, v. 98, № 22, p. 12328–12330.
136. *Kuiper H.A., Kleter G.A., Noteborn H.P. e. a.* *Plant J.*, 2001, v. 27, № 6, p. 503–528.
137. *Saxena D., Stotzky G.* *Am. J. Bot.*, 2001, v. 88, № 9, p. 1704–1706.
138. *Тищенко Е.Н., Моргунов В.В.* *Физиол. и биохимия культ. раст.*, 2004, т. 36, с. 279–290.