

АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА МАРКИРОВАННЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ С ПЫЛЬЦОЙ ПРИ СОВМЕСТНОМ ВЫРАЩИВАНИИ С ОБЫЧНЫМИ СОРТАМИ

© 2020 г. Ю. С. Гусев¹, И. В. Волохина¹, Е. М. Моисеева¹, О. В. Гуторова¹, М. И. Чумаков¹. *

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, 410049 Россия

*e-mail: chumakovmi@gmail.com

Поступила в редакцию 18.11.2019 г.

После доработки 13.12.2019 г.

Принята к публикации 24.12.2019 г.

Впервые в России в условиях Нижне-Волжского региона проведены модельные полевые эксперименты по анализу распространения генетического материала маркированных линий кукурузы с пыльцой при совместном выращивании с немаркированными линиями в зависимости от факторов, влияющих на распространение пыльцы: расстояние от донора пыльцы, направление ветра, синхронность цветения донора и реципиента пыльцы, угла роста листьев от стебля у растения-реципиента пыльцы. Установлено, что максимальный процент скрещиваний зарегистрирован у реципиентной линии КМ на расстоянии 1–4 м от линии-донора. При увеличении расстояния до 10 м процент скрещиваний у реципиента пыльцы гибрида Радуга падал в пять раз (менее 0.9% порога присутствия ГМО-продуктов в пище (урожай), принятого в ЕС и России), а на расстоянии 40 м этот показатель уменьшался в 12.5 раз. У линии ГПЛ-1 с разницей в начале цветения в девять дней с донором пыльцы частота скрещиваний была в четыре раза меньше по сравнению с линией КМ с более близким периодом цветения с донором пыльцы (разница начала цветения один день). При одинаковых сроках цветения больший процент скрещиваний наблюдается у линии с меньшим углом роста листьев от стебля. На основании проведенных экспериментов можно рекомендовать использовать буферные зоны в 10 м и более для предотвращения неконтролируемого переноса генетического материала кукурузы в условиях Нижне-Волжского региона России.

Ключевые слова: кукуруза, поток генов, пыльца.

DOI: 10.31857/S0016675820090088

Кукуруза (*Zea mays* L.) — одна из наиболее распространенных сельскохозяйственных культур в мире, производство зерна которой за последние десять лет выросло почти в полтора раза [1], при этом почти одну треть урожая составила генетически-модифицированная (ГМ) кукуруза [2], которая занимает первое место по валовому сбору ГМ-зерна. В России за последние двадцать лет сбор зерна кукурузы вырос более чем в семь раз (www.gks.ru/free_doc/new_site/business/sx/val_1.xls), однако выращивание ГМ-растений в России было полностью запрещено с 1996 г. [3]. Новый федеральный закон РФ № 358 (от 03.07.2016) с 2018 г. впервые разрешает выращивание и тестирование ГМ-растений в научно-исследовательских целях, однако оценка возможных рисков неконтролируемого распространения генетического материала при выращивании ГМ-сортов кукурузы в России ранее не проводилась, и научно-обоснованные рекомендации для научно-исследовательских работ пока отсутствуют.

Анализ экспериментальных оценок рисков при выращивании ГМ-сортов растений, в частности кукурузы, для сохранения биоразнообразия свидетельствует о том, что рекомендованные безопасные изолирующие расстояния при совместном выращивании ГМ- и не-ГМ-сортов кукурузы весьма различаются в зависимости от страны и ее законодательных мер [3]. В частности расстояния между ГМ и не-ГМ кукурузой, рекомендуемые различными странами ЕС (при одинаковом пороге содержания ГМ в пище (0.9%)), значительно различаются и составляют от 25 до 600 м [4, 5].

В данной статье впервые в России в условиях Нижне-Волжского региона проведены модельные полевые эксперименты по оценке распространения генетического материала маркированной линии кукурузы с пыльцой при свободном опылении в зависимости от факторов, влияющих на распространение пыльцы: расстояния от донора до реципиента пыльцы, синхронности цветения

Таблица 1. Процент пурпурных зерен донора пыльцы в потомстве желтозерных реципиентных линий кукурузы при свободном опылении в полевом эксперименте

Название линий-реципиентов пыльцы	Расстояние и направление от донора пыльцы	Срок цветения линий-реципиентов пыльцы	Количество желтых и пурпурных зерен на один початок	Количество повторностей	Процент пурпурных зерен от общего числа зерен
КМ	1–4 м на восток	24.07–06.08	285 ± 89/44	12	15
ГПЛ-1	1–4 м на восток	16.07–26.07	151 ± 81/6	8	3.6
Радуга	1–4 м на север	23.07–01.08	533 ± 204/5	11	0.9
Радуга	10 м на восток	23.07–01.08	377 ± 184/1	9	0.2
Радуга	40 м на запад	23.07–01.08	506 ± 213/0.4	5	0.1

Примечание. Период цветения донора пыльцы: 25.07–05.08.

донора и реципиента пыльцы, направления ветра, угла листьев растения-реципиента пыльцы.

В экспериментах 2018 г. донором пыльцы послужил гибрид Пурпурный (любезно предоставлен Ю.В. Смолькиной, селекции Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского) с доминантным признаком окрашенных (пурпурных) зерен, посаженный прямоугольником размером 3 × 80 м, с плотностью посадки 5–10 растений/м². Участок с донором пыльцы был окружен участками с желтозерными реципиентными линиями: гибрид Радуга (160 м²) (селекции РосНИИСК “Россорго”), и линии КМ (60 м²), ГПЛ-1 (30 м²) (селекции СГУ). Початки отбирали в сентябре на каждом из исследуемых расстояний (1, 4, 10 и 40 м) от донора пыльцы в 5–12 повторностях (табл. 1). Период цветения линии-донора пыльцы кукурузы в условиях Нижнего Поволжья (сезон 2018 г.) длился с 25.07 по 05.08 и был представлен благоприятными для опыления дневными температурами воздуха 22–29°C и влажностью в дневные часы 38–58%. В утренние часы температура воздуха была 16–22°C при более высокой влажности 57–75%. Направление ветра в утренние и дневные часы было преимущественно северо-западным, скорость составляла 2.4–5.7 м/с. Оценка эффективности скрещивания проводилась путем подсчета количества пурпурно-окрашенных зерен среди желтых зерен на початках линий-реципиентов пыльцы. Всего было собрано и проанализировано 13873 зерен с початков трех линий-реципиентов кукурузы.

Считается, что для переноса пыльцы важны различные факторы: температура, влажность (дождь), физиология (жизнеспособность) пыльцы, количество пыльцы, ветер (скорость и направление), характер ландшафта, размеры, форма и ориентация реципиентного поля, синхронность цветения донора и реципиента пыльцы [6, 7].

После выхода из пыльников пыльца кукурузы жизнеспособна в течение 1–24 ч, в зависимости

от влажности и температуры [8, 9]. Если предположить, что пыльца донора в исследуемый нами период распространялась бы с минимальной наблюдаемой скоростью ветра 2.4 м/с, а максимальная жизнеспособность пыльцы была всего один час, то теоретически пыльца могла бы распространиться более чем на девять км. Однако пыльца кукурузы является крупной (средний диаметр 90 мкм) и тяжелой (0.25 мкг), имеет высокую скорость оседания и, поэтому в реальных условиях распространяется недалеко [4].

Из наших экспериментов, проведенных в жарких, сухих условиях Нижнего Поволжья следует, что максимальный процент пурпурных зерен у линий-реципиентов зарегистрирован на расстоянии 1–4 м от растений линии-донора (табл. 1). В зависимости от реципиентной линии и сочетания различных факторов процент обнаруженных пурпурных зерен на желто-зерных початках колебался от 0.1 до 15% (табл. 1).

Максимальный процент пурпурных зерен был зарегистрирован у линии КМ (табл. 1), в то время как у линии ГПЛ-1 на этом же расстоянии и при том же направлении ветра количество скрещиваний было в четыре раза меньше, чем у линии КМ. У линий КМ и ГПЛ-1 отбор проб был осуществлен на одинаковом расстоянии (1–4 м) в восточном направлении от линии-донора (северо-восточное преимущественное направление ветра в период пересекающихся дней цветения донора и реципиентов пыльцы). Однако у линии ГПЛ-1 возможность для переопыления была только два дня, в период 24–25.07, в то время как у линии КМ этот период был в четыре раза длиннее (25.07–1.08), что вероятно послужило одной из причин достоверного ($p \leq 0.05$) увеличения количества скрещиваний (табл. 1). При этом интересно отметить, что у реципиента Радуга с периодом цветения полностью совмещенным (совпадающим) с периодом цветения донора пыльцы на расстоянии 1–4 м, но в противоположном направлении ветра процент скрещиваний был в 4–

16 раз меньше, чем у линий-реципиентов на расстоянии 1–4 м по направлению ветра (табл. 1). Интересно отметить, что эффективность скрещивания у реципиента Радуги, измеренная в направлении с юга на север (против преимущественного (северо-восточного) направления ветра в период цветения донора и реципиентов пыльцы), дает наименьший (в 4–16 раз) процент скрещиваний по сравнению с ГПЛ-1 и КМ соответственно (табл. 1). Такая тенденция отмечалась ранее другими исследователями, когда частоты перекрестного опыления были одинаковыми на расстоянии 28 м по ветру и на расстоянии 10 м против ветра [10].

При увеличении расстояния с 1–4 до 10 м от линии-донора процент пурпурных зерен среди желтых зерен у гибрида Радуга падал в пять раз, а на расстоянии 40 м от линии-донора процент скрещиваний упал достоверно ($p \leq 0.05$) в 12.5 раз.

Синхронизация рассеивания пыльцы и выбрасывания рылец пестичных нитей имеет решающее значение для определения эффективности опыления [4, 11]. Чем лучше синхронность между цветением донора пыльцы и выпуском рылец пестичных нитей растением-реципиентом, тем выше вероятность перекрестного опыления [4]. В условиях нашего эксперимента у линии с большими различиями в сроках цветения (линия ГПЛ-1, разница в начале цветения девять дней) имела в четыре раза меньше скрещиваний по сравнению с линией КМ с более близким (разница начала цветения один день) периодом цветения с донором пыльцы (табл. 1). Реципиент Радуга имеет сходный период цветения с линией-донором, однако процент пурпурных зерен на початках Радуги на расстоянии 1–4 м был в 16 раз ниже, чем у КМ (табл. 1). То есть помимо известных и исследованных ранее факторов (сроки цветения, направление и скорость ветра) имеется еще какой-то, ранее не учитываемый. Мы предполагаем, что этим фактором может быть угол роста листьев от стебля. У линии КМ угол роста листьев от стебля более острый, чем у всех остальных линий-реципиентов. При более остром угле листьев в их пазухах, где экспонированы появляющиеся пестичные нити, накапливается больше пыльцы, в том числе донорной.

Таким образом, впервые в условиях Нижне-Волжского региона России приведены модельные полевые эксперименты по оценке частоты свободного скрещивания у кукурузы в зависимости от расстояния между донором и реципиентом пыльцы, синхронности цветения донора и реципиента пыльцы, угла роста листьев от стебля у реципиента пыльцы. Установлено, что уже на расстоянии десять метров и более от линии-донора пыльцы процент скрещиваний не превышает принятый в России порог в 0.9% присутствия ГМ-продуктов в пище (урожай). На основании проведенных экспериментов

можно рекомендовать использовать буферные зоны не менее десяти метров для предотвращения неконтролируемого переноса генетического материала ГМ-кукурузы для условий Нижне-Волжского региона России.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта № 18-29-14048мк Российского фонда фундаментальных исследований и Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2018–2020 гг. (№ гос. регистрации АААА-А17-117102740101-5).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. United States Department of Agriculture. World Agricultural Production. Current Report. Circular Series WAP 7-19. 2019. <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>.
2. ISAAA. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2016 // ISAAA Brief № 52. N.Y.: ISAAA, Ithaca, 2016.
3. Чумаков М.И., Гусев Ю.С., Богатырева Н.В., Соколов А.Ю. Оценка рисков распространения генетически модифицированной кукурузы с пыльцой при выращивании с нетрансформированными сортами (обзор) // С.-х. биол. 2019. Т. 54. № 3. С. 426–445. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2019.3.426rus>
4. Devos Y., Reheul D., De Schrijver A. The co-existence between transgenic and non-transgenic maize in the European Union: A focus on pollen flow and cross-fertilization // *Envir. Bios. Res.* 2005. V. 4. P. 71–87. <https://doi.org/10.1051/ebr:2005013>
5. Riesgo L., Areal F.J., Sanvido O., Rodriguez-Cerezo E. Distances needed to limit cross-fertilization between GM and conventional maize in Europe // *Nature Biotech.* 2010. V. 28. P. 780–782. <https://doi.org/10.1038/nbt0810-780>
6. Chamecki M., Gleicher S.C., Dufault N.S., Isard S.A. Diurnal variation in settling velocity of pollen released from maize and consequences for atmospheric dispersion and cross-pollination // *Agr. Forest Meteor.* 2011. V. 151. P. 1055–1065. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2011.03.009>
7. Marceau A., Gustafson D.I., Brants I.O. et al. Updated empirical model of genetically modified maize grain production practices to achieve European Union labeling thresholds // *Crop Sci.* 2013. V. 53. P. 1712–1721. doi 10.2135/cropsci.2012.04.0224
8. Luna S., Figueroa J., Baltazar B. et al. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control // *Crop Science.* 2001. V. 41. P. 1551–1557. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.4151551x>

9. Angevin F., Klein E., Choimet C. et al. Modélisation des effets des systèmes de culture et du climat sur les pollinisations croisées chez le maïs. Isolement des collectes et maîtrise des disséminations au champ // Rapport du groupe 3 du programme de recherche: pertinence économique et faisabilité d'une filière sans utilisation d'OGM, INRAFNSEA / Eds. Meynard J.-M., Le Bail M. Thiverval-Grignon, France, 2001. P. 21–36.
10. Ma B.L., Subedi K.D., Reid L.M. Extent of cross-fertilization in maize by pollen from neighboring transgenic hybrids // Crop Sci. 2004. V. 44. P. 1273–1282. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.1273>
11. Westgate M., Lizaso J., Batchelor W. Quantitative relationship between pollen-shed density and grain yield in maize // Crop Sci. 2003. V. 43. P. 934–942. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.9340>

Evaluation of Pollen-Mediated Gene Flow from Purple-Colored Maize Line during Co-Cultivation with Yellow-Grain Maize Lines

Yu. S. Gusev^a, I. V. Volokhina^a, E. M. Moiseeva^a, O. V. Gutorova^a, and M. I. Chumakov^{a,*}

^a*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, 410049 Russia*

**e-mail: chumakovmi@gmail.com*

In this paper, we consider the pollen-mediated gene flow of purple-colored maize line during co-cultivation with yellow-grain pollen-reipients maize lines. We analyze the factors influencing for pollen dispersion: wind (speed and direction), distance, the synchrony of the pollen donor and receptor flowering. It was established that the maximum percentage of crosses in maize lines with the same flowering dates was recorded at the distance of 1–4 m from the donor plant. The percentage of crosses decreased 5 times with an increase in the distance to 10 m. At a distance of 40 m from the donor plant, the percentage of hybrid grains among the freely pollinated grains of the plant – recipient fell 12.5 times. At close distances (1–4 m), hybrid grains on the cobs of the recipient lines were observed 4 times longer in the line with earlier flowering periods or in the line with the same flowering times, but with a sharper angle of leaves. According to our experimental data, at a distance of 10 m from the maize of a pollen donor, the guaranteed does not exceed the Russian threshold of 0.9% of the presence of GMO products in food (yield). The analysis of experiments on maize spreading with pollen in Volga region of Russia provides evidence-based recommendations for safe co-cultivation of non-GM and GM varieties and maize lines at the distance 10 m.

Keywords: maize, gene flow, pollen.