

УДК 633.18.03

UDC 633.18.03

**К ВОПРОСУ О ВОЗДЕЛЫВАНИИ СОРТОВ
РИСА, УСТОЙЧИВЫХ К ГЕРБИЦИДАМ. ОБ-
ЗОР**

**CULTIVATION OF HERBICIDES RESISTANT
RICE VARIETES. REVIEW**

Зеленская Ольга Всеволодовна
к.б.н., доцент
*Кубанский государственный аграрный
университет, Краснодар, Россия*

Zelenskaya Olga Vsevolodovna
Cand.Sci.Biol., associate professor
Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

В обзоре представлены результаты исследований по проблеме переноса генов от устойчивых к гербицидам сортов риса к сорному краснозерному рису. Обсуждается экологический риск от внедрения трансгенных сортов

The results of investigation of gene flow from herbicides resistant cultivated rice to weedy red rice are represented in the review. Ecological risk of introduction transgenic rice varieties is discussed

Ключевые слова: СОРНЫЙ КРАСНОЗЕРНЫЙ
РИС, ПЕРЕНОС ГЕНОВ, ПЕРЕКРЕСТНОЕ ОПЫ-
ЛЕНИЕ, ТРАНСГЕНЕЗ, ГЕРБИЦИДЫ

Keywords: WEEDY RED RICE, GENE FLOW,
CROSS - POLLINATION, TRANSGENESIS,
HERBICIDES

История исследований по созданию растений, обладающих полезными свойствами, с использованием биотехнологий насчитывает всего несколько десятков лет. В 1983 году были опубликованы первые научные работы по получению трансгенных растений табака, в которые методами генной инженерии введены чужеродные селективные маркеры устойчивости к неблагоприятным факторам среды.

Впервые полевые испытания генетически модифицированных растений были проведены в 1986 г. В 1999 году в США были выданы первые разрешения на коммерциализацию трансгенных сортов растений и продуктов их урожая. К 2000 году во всем мире под трансгенные сельскохозяйственные культуры было отведено уже 44,2 млн. га посевных площадей [2].

Возделывание трансгенных сортов культурных растений, с одной стороны, гарантирует стабильный урожай и несет несомненную выгоду, с другой – сопряжено с экологическим риском. Кроме того, в обществе существует мнение, что трансгенные растения могут оказаться опасными для человека и окружающей среды. В настоящее время интеграция чужеродного генетического материала в растительный геном не может рассматриваться как прогнозируемый процесс.

Среди культур, по которым выполняются исследования по трансгенезу, особое место занимает рис. И это не случайно, поскольку рис принадлежит к числу основных возделываемых сельскохозяйственных культур. Он выращивается в 112 странах мира на площади более 145 млн. га. Систематики выделяют 20 видов рода *Oryza* L. Большинство из них – дикорастущие, имеют окрашенный перикарп зерна. В культуру введены два белозерных вида: *Oryza sativa* L. – выращивают все рисосеющие страны и *Oryza glaberrima* St. – возделывают только в Африке [1]. В основном используются две технологии посева риса: рассадная культура (в большинстве азиатских стран) и прямой высев семян в почву (в США, России, на юге Европы).

В странах, использующих прямой высев семян в почву, особого внимания заслуживает так называемый «сорный краснозерный рис». Он принадлежит к тому же виду, что и культурный (*Oryza sativa* L.), но имеет окрашенный перикарп зерна, как и дикий рис. Одинаковая генетическая основа белозерного и краснозерного риса исключает возможность применения селективных гербицидов для борьбы с ним.

Сорный краснозерный рис обладает нежелательными для рисоводов агробиологическими признаками, такими как полегаемость, осыпаемость колосков, низкое качество зерна, восприимчивость к различным заболеваниям. С другой стороны, ряд признаков краснозерных форм, не присущих возделываемым сортам риса, дает им преимущества в конкурентной борьбе. Например, период покоя семян, более растянутые во времени сроки прорастания семян и цветения колосков, формирование большего числа продуктивных побегов, быстрые темпы роста и зачастую большая высота растений и выход их в верхний ярус. Неравномерное созревание колосков и их осыпаемость сразу после созревания создает и постоянно пополняет банк семян краснозерного риса в почве. Семена таких сорно-полевых растений риса по форме, размеру и часто по цвету цветковых чешуй обычно

не различимы с семенами культурного риса, что создает определенные трудности для избавления от них при ведении семеноводства возделываемых сортов. Поля, сильно засоренные краснозерным рисом, как правило, приходится выводить из севооборота для очистки чеков от сорняков агротехническими методами.

Кроме агротехнических приемов в производстве широко используют механическую и химическую прополку. Химический метод для борьбы с сорняками применяется на рисовых полях в том случае, если агротехническими приемами снизить засоренность посевов не удалось. Однако применение гербицидов в рисоводстве влечет за собой серьезные проблемы: загрязнение окружающей среды, нарушение экологического равновесия, появление устойчивых популяций сорных растений.

Так, например, интенсивное и регулярное использование пропанила на посевах риса в США привело к появлению устойчивых к этому гербициду биотипов куриного проса (*Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv.) [11]. Именно в США был разработан новый метод борьбы с сорной растительностью – создание сортов риса, устойчивых к гербицидам.

Суть метода заключалась в создании генетически модифицированных или мутантных растений риса, обладающих устойчивостью к гербицидам сплошного действия. Посевы таких сортов можно обрабатывать гербицидами в течение вегетации без ущерба для урожая риса, контролируя популяции сорных растений, в том числе и краснозерного риса. Внедрение этих сортов риса позволило бы бороться с наиболее вредоносными сорными видами, такими как представители рода *Echinochloa* Beauv., которые в результате постоянного селективного давления уже успели развить устойчивость к традиционно применяемым в рисоводстве гербицидам. Предполагалось, что устойчивые к гербицидам сорта риса можно будет высевать также на полях, сильно засоренных краснозерным рисом и выведенных за пределы рисового севооборота. Кроме того, такие сорта можно

выращивать как монокультуру. В целом применение трансгенных сортов, по мнению ученых, должно было бы снизить производственные расходы и позволить получать более высокие урожаи без увеличения площади посева риса. Внедрение их в производство планировалось на 2001 год [12].

Однако требовалась серьезная оценка экологического риска, связанного с коммерческим использованием трансгенных сортов однолетних культур, в том числе и риса. Такая оценка нашла отражение в обзорах, представленных учеными разных стран [10, 18]. В этих обзорах отмечена необходимость всестороннего изучения процесса трансгенеза и высказано предостережение для тех, кто внедряет трансгенные сорта.

Оказалось, что трансген может приводить к незапланированным изменениям метаболизма растительной клетки. Например, в полевых условиях устойчивая к гербициду глифосату трансгенная соя оказалась чувствительной к действию повышенной температуры из-за увеличения накопления лигнина, что привело к нарушению структуры клеточных стенок растений и к растрескиванию побегов [2].

Тем не менее, внедрение в производство трансгенных сортов сои, кукурузы и хлопка, устойчивых к гербицидам, признано успешным. Современные биотехнологии увеличивают общую эффективность использования хлопка на 300%, сои – на 45 и кукурузы – на 14% [3].

Основной причиной, ограничивающей внедрение устойчивых к гербицидам сортов риса, стала проблема горизонтального переноса генов между возделываемыми сортами риса и сорно-полевыми краснозерными формами. Как правило, и те, и другие принадлежат к одному и тому же виду *Oryza sativa* L., что говорит об их генетической совместимости. Несмотря на то, что рис является самоопылителем, при определенных климатических условиях в случае совместного произрастания и совпадения фенологических фаз при открытом цветении может произойти частичное перекрестное опыление растений риса.

Первые сведения о появлении в результате перекрестного опыления в полевых условиях гибридов белозерных сортов риса и сорных краснозерных форм относятся к 1938 г. [4]. По литературным данным тех лет перекрестное опыление культурных и сорных форм риса (*Oryza sativa* L.) зарегистрировано с частотами: 0,45% в США и Малайзии, 1% в Японии, 1,1 в Бирме (ныне Мьянма), 1,3-4 на острове Ява, 2,4 на Филиппинах, 4% в Бенгалии. Для дикого риса (другие виды рода *Oryza* L.), засоряющего посева риса в азиатских странах, частота перекрестного опыления с культурным рисом была более значительной - от 8% и выше. Результаты исследований показали, что способность к перекрестному опылению зависела от сорта, расстояния между растениями разных форм риса и условий года. Так, например, естественная гибридизация для сорта Lemont не превышала 1%, а для сорта Nortai составила 52%, т.е. каждое второе растение было гибридным. Возможно, такой результат объясняется синхронизацией фенологических фаз, особенно фазы цветения, растений краснозерного риса и сорта Nortai [20].

Частота переноса генов в результате ауткроссинга невелика и в полевых условиях оценивается по многим наблюдениям в пределах 0,01-0,2% как от сорного краснозерного риса к культурному, так и в обратном направлении [5, 15]. Тем не менее, этот процесс при внедрении в производство трансгенных сортов риса может привести к непредсказуемым экологическим последствиям. Перенос генов от устойчивых к гербицидам сортов риса к сорному и дикому краснозерному рису, по мнению ученых, может способствовать появлению устойчивых к гербицидам популяций сорных растений. К сожалению, большинство исследований переноса генов от культурного риса к сорному краснозерному было выполнено уже после внедрения в производство сортов риса, устойчивых к гербицидам [5,13,15, 16].

Для изучения трансгенеза необходимо учитывать не только морфобиологическое, но и генетическое разнообразие краснозерного риса. Основная гипотеза о происхождении сорного краснозерного риса в центре формообразования культуры в Южной и Юго-Восточной Азии – это гибридизация между культурным рисом (*Oryza sativa* L.) и диким рисом (*Oryza rufipogon* Griff.). Однако сорный рис часто обнаруживают и за пределами распространения *O. rufipogon*, что вызывает ряд вопросов о его происхождении и причинах быстрого распространения на рисовых полях во всем мире [9]. Следует отметить, что изначально сорный рис мог появиться и в результате гибридизации культурного риса (*Oryza sativa* L.) с другими видами азиатского дикого риса (*Oryza perrenis*, *O. nivara*, *O. longistaminata*), также имеющими сходный с ним геном [6]. Экспериментальные исследования по секвенированию ДНК различных образцов краснозерного риса, проведенные с использованием микросателлитных маркеров, подтвердили эту точку зрения [8, 19]. Как правило, используется SSR (Simple Sequence Repeats) – метод ПЦР с фланкирующими праймерами к короткому мини- или микросателлитному повтору. Он позволяет выявлять маркеры с кодоминантным наследованием и, соответственно, удобен для выявления гетерозигот по данному локусу [3]. Так, по сообщению D.R. Gealy (2009), 31 SSR-маркер использовали для анализа 180 образцов мировой коллекции рода *Oryza* L., а также 80 американских сортов и краснозерных образцов риса. 26 из 31 SSR маркерных локусов оказались высокоинформативными в отношении генетических различий между американскими сортами риса и сорными краснозерными формами [8].

Метод молекулярно-генетических маркеров был использован и для определения частоты переноса генов от генетически модифицированного культурного риса к сорному краснозерному (*Oryza sativa* L.) и дикому рису (*Oryza rufipogon* Griff.) в полевых условиях Китая и Кореи [5]. Частота дрейфа генов составила в данном эксперименте 0,011-0,046% для сорного

риса и 1,21-2,19% для дикого риса соответственно. В результате проведенных исследований авторы пришли к выводу, что перенос генов имеет место с достаточно высокой частотой, чтобы вызвать серьезные экологические последствия.

Особенный интерес проблема горизонтального переноса генов вызывает у ученых США, где с 2002 г. активно внедряются коммерческие сорта риса, устойчивые к гербицидам. Основная группа таких сортов, устойчивых к гербициду imazethаруг (IMI), коммерческое название Newpath, получила название Clearfield (CL) – «Чистое поле». Сорта этой группы не являются генетически модифицированными, а получены методом мутагенеза с последующим отбором. К 2005 г. эти сорта занимали уже 27% площади посева риса в штате Арканзас на юге США. Именно там, в 2004 г., был зарегистрирован первый случай перекрестного опыления сорта группы CL и краснозерного риса. Частота переноса генов составила 0,012% [7].

Кроме того, в США внедрены в производство трансгенные сорта риса, обладающие геном устойчивости к гербициду глюфосинату (gluphosinate). Для этих сортов также были зарегистрированы случаи перекрестного опыления с экотипами краснозерного риса с образованием устойчивых к гербициду краснозерных гибридов [20].

Основной задачей исследователей стало изучение условий, от которых зависит частота переноса генов, и разработка метода идентификации гибридных растений краснозерного риса.

В результате исследований, проведенных в США в 2005-2007 гг., оказалось, что степень случайного скрещивания CL-сортов риса и краснозерных биотипов в полевых условиях зависит от сорта, биотипа, времени посева семян и сроков цветения, а также от температуры, влажности воздуха и других абиотических факторов.

Частота перекрестного опыления сорта CL 161 с различными биотипами краснозерного риса составила 0,03 - 0,25% [14], а сорта CL XL8 –

0 - 1,26%. Что же касается сроков посева семян риса, то при апрельском посеве частота спонтанных скрещиваний была выше, чем при посеве в начале и середине мая [16]. В целом перекрестное опыление было отмечено на 43-67% полей с устойчивыми к гербицидам CL-сортами, засоренными разными краснозерными биотипами риса [20].

У большинства биотипов краснозерного риса отмечался более продолжительный период цветения – от 4 до 17 дней, тогда как CL-сорты цвели в течение недели. Достоверной корреляции между синхронностью цветения и степенью перекрестного опыления отмечено не было.

Абиотические факторы среды по-разному влияли на способность к естественному перекрестному опылению растений риса. Так, минимальная температура воздуха в вечернее время была благоприятной для скрещивания сорта CL 161 с краснозерным рисом. А наибольшее влияние на этот процесс для сорта CL XL8 оказал другой фактор - влажность воздуха: при влажности менее 54% ауткроссинг был минимальным и составил 0,12%, а при влажности воздуха свыше 54% в утренние и дневные часы его величина возрастала до 0,38% [16].

Согласно выводам, сделанным Shivrain V.R. и сотр. (2008), большинство биотипов краснозерного риса оказались генетически совместимы с возделываемым в США IMI-устойчивым сортом риса CL 161. Гибридизация, проведенная вручную, растений сорта и краснозерного риса, имитирующая самоопыление, была успешной. Частота образования гибридных зерновок составила 49-94% [14]. Оценка гибридов первого поколения выявила их более высокую продуктивность и конкурентоспособность по отношению к родительским формам. У них наглядно проявлялся гетерозис по ряду признаков. Растения F₁ были на 40-50% выше (138-150 см) по сравнению с родительскими формами (110 см). Они цвели на 1-5 дней позднее и производили на 20-50% больше семян. Все гибридные растения имели окрашенный перикарп зерна и были устойчивы к гербициду imaze-

thаруг, как и сорт CL 161 [15]. Интересно отметить, что и при спонтанном перекрестном опылении в полевых условиях, и при гибридизации вручную в первом поколении были получены одинаковые по фенотипическим признакам растения.

Анализ второго поколения гибридной популяции выявил расщепление по многим признакам. Около 50% растений сохранили устойчивость к гербициду, тогда как 25% обладали промежуточной степенью устойчивости. Соотношение фенотипов, следовательно, было 1:2:1. По всей вероятности, устойчивость к гербициду наследуется по принципу неполного доминирования [13]. Расщепление в F_2 отмечалось также по признаку «высота растений» (5% были ниже 80 см, 25% имели высоту сорта CL 161, остальные - более высокорослые, чем родители). Сильно варьировали сроки цветения и созревания гибридных растений (от очень ранних до очень поздних). Некоторые растения обладали характеристиками обоих родителей: проявляя устойчивость к гербициду, они при этом отличались периодом покоя семян и высокой степенью осыпаемости зерновок. Такие растения могут со временем образовать конкурентоспособную с возделываемыми сортами стабильную популяцию, сильно засоряющую рисовые поля [20].

Аналогичные эксперименты проводили и китайские ученые [17]. Для более полного изучения репродуктивной совместимости сорного краснозерного риса и двух линий трансгенного риса, устойчивого к гербицидам, Song X. и сотр. (2009) провели принудительное контрольное опыление в лабораторных условиях. В качестве материнского растения использовали сорный краснозерный рис. Завязываемость семян в этом случае составила 8-76%, причем повторное опыление значительно ее увеличивало. Уровень завязываемости семян зависел от генотипа. Некоторые образцы краснозерного риса оказались не совместимы с одной из линий трансгенного риса. Наблюдалась задержка двойного оплодотворения и остановка развития

эмбрионов. Анализ гибридов первого поколения выявил устойчивость всех растений F_1 к гербициду глюфосинату [17].

Изучение второго поколения от скрещивания трансгенного и сорного краснозерного риса выявило широкое варьирование сроков наступления фенологических фаз и характерных для сорняков признаков осыпаемости колосков и периода покоя семян. Основным же признаком, способствующим повышению жизнеспособности гибридного сорного краснозерного риса, считают устойчивость к гербициду глюфосинату [20].

Таким образом, перспектива в использовании устойчивых к гербицидам сортов риса как важного элемента борьбы с сорняками стимулирует развитие научных исследований по переносу генов в естественных условиях. В связи с тем, что эффективный горизонтальный перенос генов от устойчивых к гербицидам сортов к краснозерному рису происходит, как правило, на расстоянии между растениями до 6 м, рекомендуется размещать семенные посевы на дистанции не менее 10 м от коммерческих сортов [7]. Необходимо также регулярно проводить мониторинг состояния посевов риса для быстрой и своевременной идентификации устойчивых к гербицидам гибридных краснозерных форм.

Обсуждая вопрос о внедрении в производство сортов риса, устойчивых к гербицидам, следует отметить, что семена этих сортов поступают в продажу совместно с соответствующим гербицидом. Рекомендуемые химические обработки, безусловно, оказывают негативное воздействие на окружающую среду, но на качество крупы риса не влияют. При шлифовке рисовой крупы отбивается зародыш, в котором накапливались все чужеродные химические вещества, попадавшие на растения риса в период выращивания [1].

Несомненно, что в связи с обострением продовольственной проблемы в мире производство трансгенных сортов будет возрастать, особенно в развивающихся странах, так как является экономически выгодным. Но не

следует забывать, что как излишняя химизация, так и трансгенное биоизменение агроэкосистем приводят к глубоким экологическим изменениям, дестабилизируют генофонды сельскохозяйственных и диких видов, способствуют появлению новых суперсорняков, требующих обработок все более токсичными гербицидами. Рациональное использование пестицидов, разработка комплексных программ управления сорной растительностью, внедрение методов биологической защиты растений может снизить негативное воздействие новых технологий возделывания риса на окружающую среду.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зеленский Г.Л. Почему крупа риса является диетическим и лечебным продуктом. Краснодар: КГАУ, 2010. 27 с.
2. Сынзыныс Б.И., Тянтова Е.Н., Мелехова О.П. Экологический риск: Учебное пособие для вузов. М.: Логос, 2005. 168 с.
3. Харченко П.Н., Глазко В.И. ДНК-технологии в развитии агробиологии. М.: «Воскресенье», 2006. 480 с.
4. Beachell H.M., Adair C.R., Jodon N.E., Davis L.L., Jones J.W. Extent of natural crossing in rice//J. Am. Soc. Agron., 1938. 30. P. 743-753.
5. Chen L.J., Lu D.S., Song Z.P., Suh H.S., Lu B.R. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives//Ann. Bot. 2004. 93(1). P. 67-73.
6. Ferrero A. Weedy rice. Biological features and control//FAO plant production and protection paper. Roma, 2003. 120, add. 1. P. 89-107.
7. Gealy D.R. Gene movement between rice (*Oryza sativa*) and weedy rice (*Oryza sativa*) a temperate rice perspective//J. Gressel. USA: CRC Press. 2005. P. 323-354.
8. Gealy D.R., Agrama H.A., Eizenga G.C. Exploring genetic and spatial structure of U.S. weedy red rice (*Oryza sativa*) in relation to rice relatives worldwide//Weed Science 2009. Vol. 57, is. 6. P. 627-643.
9. Londo J. P., Schaal B.A. Origins and population genetics of weedy red rice in the USA//Molecular Ecology. 2007. Vol. 16, is. 21. P. 4523-4535.
10. Lu B.R., Yang C. Gene flow from genetically modified rice to its wild relatives: Assessing potential ecological consequences//Biotechnol. Adv. 2009. 27(6). P. 1083-1091.
11. Malik M.S., Burgos N.R., Talbert R.E. Confirmation and control of propanil-resistant Barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) in rice//Weed Technology. 2010. Vol. 24, is. 3. P.226-233.
12. Olofsdotter M., Valverde B.E., Madsen K.H. Herbicide resistant rice (*Oryza sativa* L.): Global implications for weedy rice and weed management//Annals of Applied Biology. 2000. Vol. 137, is. 3. P. 279-295.
13. Shivrain V.R., Burgos N.R., Moldenhauer K.A.K., Mcnew R.W., Baldwin T.L. Characterization of spontaneous crosses between Clearfield rice (*Oryza sativa*) and red rice (*Oryza sativa*)//Weed Technology. 2006. Vol. 20, is. 3. P. 576-584.

14. Shivrain V.R., Burgos N.R., Gealy D.R., Moldenhauer K.A.K., Baquireza C.J. Maximum outcrossing rate and genetic compatibility between red rice (*Oryza sativa*) biotypes and ClearfieldTM rice//Weed Science. 2008. Vol. 56, is. 6. P. 807-813.

15. Shivrain V.R., Burgos N.R., Gealy D.R., Sales M.A., Smith K.L. Gene flow from weedy red rice (*Oryza sativa* L.) to cultivated rice and fitness of hybrids//Pest Management Science. 2009. 65 (10). P. 1124-1129.

16. Shivrain V.R., Burgos N.R., Sales M.A., Mauromoustakos A., Gealy D.R., Smith K.L., Black H.L., Jia M. Factors affecting on outcrossing rate between ClearfieldTM rice and red rice (*Oryza sativa*)//Weed Science. 2009. Vol. 57, is. 4. P. 394-403.

17. Song X., Liu L., Wang Z., Qiang S., Potential gene flow from transgenic rice (*Oryza sativa* L.) to different weedy rice (*Oryza sativa* f. *spontanea*) accessions based on reproductive compatibility//Pest Management Science. 2009. 65 (8). P. 862-869.

18. Stewart C.N. Jr., Halfhill M.D., Warwick Sl. Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives//Nat. Rev. Genet. 2003. 4 (10). P. 806-817.

19. Vaughan L.K., Ottis B.V., Prazak-Havey A.M., Bormans C.A., Sneller C., Chandler J.M., Park W.D. Is all red rice found in commercial rice really *Oryza sativa*?//Weed Science. 2001. Vol. 49, is. 4. P. 468-476.

20. Weedy rices – origin biology, ecology and control//J.C. Delouche, N.R. Burgos, D.R. Gealy et al.//FAO plant production and protection paper. Roma, 2007. 188. 150 p.