



УДК 581.6, 632, 631.8

Обзор

Современные биотехнологии в растениеводстве: достижения и тренды развития

Темралеева А. Д.^{1,*}

¹ Всероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ), Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН ФИЦ ПНЦБИ РАН;

* Ответственный за переписку: temraleeva.anna@gmail.com

Цитирование:

Темралеева А.Д.
Современные
биотехнологии
в растениеводстве:
достижения и тренды
развития. *Biologia et
Biotechnologia* 2024, 1, 1.
[https://doi.org/10.61847/pbc
ras.bbt.2024.1.1](https://doi.org/10.61847/pbc
ras.bbt.2024.1.1).

Получено: 12.08.2024

Принято: 16.10.2024

Опубликовано: 07.11.2024

Авторские права: © 2024

год от авторов.

Представлено для
публикации в открытом
доступе на условиях
открытой лицензии.

Реферат: Обзор посвящен основным современным технологиям растениеводства, направленным на получение высококачественных и экологически безопасных продуктов, а также на снижение потерь урожая и продуктивности, связанных с воздействием различных патогенов и вредителей. Обсуждаются преимущества и недостатки классической селекции, направленной на создание новых и улучшения существующих сортов растений преимущественно путем отбора и гибридизации, и генетическая модификация растений с конкретными примерами. Рассмотрены вопросы генетической паспортизации сельскохозяйственных культур, применения биоудобрений и биопестицидов, а также разработки эффективных тест-систем для диагностики их заболеваний.

Ключевые слова: агробиотехнологии; селекция; генномодифицированные растения; биоудобрения; биопестициды.

Введение

Рост численности мирового населения большинство экспертов считают неизбежным: по состоянию на май 2024 года население Земли составляет 8.108 миллиарда человек [1], по прогнозу к 2030 году население вырастет до 8.5 млрд человек и к 2050 — почти до 10 млрд [2]. Параллельно с ростом народонаселения происходит и повышение среднего уровня благосостояния, а вместе оба фактора являются мощными двигателями увеличения спроса на продукты питания, который сильно неоднороден. По данным ООН в то время как 30% населения Земли лишены доступа к достаточному питанию и около 9 млн человек ежегодно гибнет от голода, 30% всей еды в мире выбрасывается [3-4]. В тоже время, по существующим оценкам, при сохранении текущей интенсивности выбросов углерода в течение ближайших 25 лет произойдет глобальное снижение производительности сельского хозяйства [5], что грозит значимыми изменениями агроклиматических условий и санитарно-эпидемиологической ситуации, включая распространение эпифитотий на новые территории. Повлиять на подобные вызовы развитию и даже существованию человечества призван научно-технический прогресс и шестой технологический уклад, основу которого составляют нанотехнологии. На стыке биологии и нанотехнологии возникла новая область наук — нанобиотехнология, объектами которой являются нанообъекты биогенной природы: ДНК, РНК, антигены, антитела, ферменты и другие биологические макромолекулы. Разработки в области нанобиотехнологии находят практическое применение в медицине, пищевой промышленности, энергетике, охране окружающей среды и сельском хозяйстве. В настоящее время основной вызов для сельскохозяйственной биотехнологии заключается в снижении потерь урожая и продуктивности, связанные с воздействием различных патогенов и вредителей, и получение экологически безопасных продуктов [6]. Есть четыре основных способа решения этой проблемы:

1. Применение химических препаратов (удобрения, пестициды, лекарства, добавки), приводящее к загрязнению окружающей среды, а за счет биомагнификации может происходить повышение концентрации токсичных веществ на каждом трофическом уровне в сети питания.

2. Применение биологических средств защиты растений и животных.

3. Селекция, направленная на создание новых и улучшения существующих сортов растений преимущественно путем отбора и гибридизации. Это длительный процесс, который может занимать годы и десятилетия.

4. Генетическая модификация, которая является целенаправленным изменением генотипа организма, включающим трансгенез, цисгенез, субгенез и интрагенез.

Кроме того, с этой целью разработаны и активно внедряются технологии микрклонального размножения растений, бессубстратные технологии их культивирования (гидро- и аэропоника), сити-фермерство, использование в сельском хозяйстве беспилотных летательных средств для посева семян, внесения удобрений и средств защиты растений, а также дистанционного мониторинга состояния растений и почвы.

Не вызывает сомнения, что как сельскохозяйственная биотехнология в целом, так и ее отдельные направления в последние годы вызывают значительный интерес научного общества (Рисунок 1), который формируется под влиянием глобальных вызовов современности и стремлению человечества к устойчивому развитию.

Россия занимает лидирующую позицию в мире по площади земель сельскохозяйственного назначения и входит в первую пятерку стран по площади пашни и запасам природных ресурсов, таким образом, обладая уникальными природными условиями для обеспечения собственной продовольственной безопасности. Поэтому практические и теоретические направления развития сельскохозяйственной биотехнологии ориентированы на стабильное развитие агропромышленного комплекса (АПК), получение высококачественных, экологически чистых продуктов питания, переработку отходов сельскохозяйственного производства и восстановление плодородия почв. В растениеводстве – это выведение новых сортов растений с улучшенными пищевыми свойствами, устойчивых к неблагоприятным факторам среды (засухе, засоленности, загрязнению и др.); генетическая паспортизация; разработка биологических средств борьбы с сорняками, фитопатогенами и вредителями; производство биоудобрений; переработка отходов и побочных продуктов растениеводства.

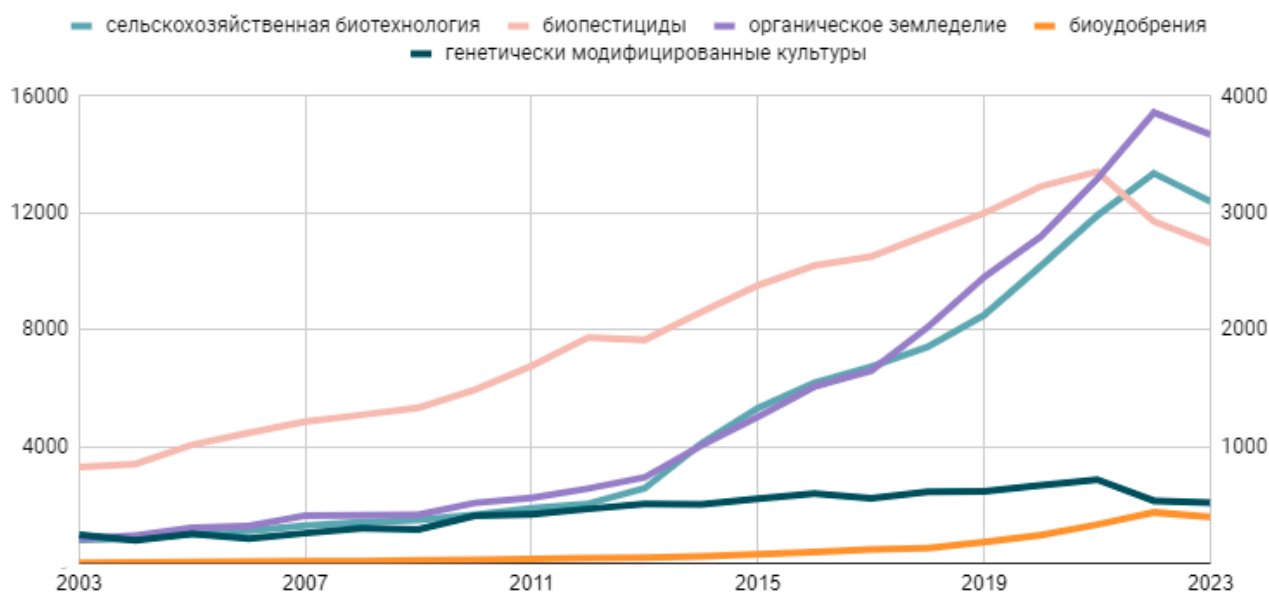


Рисунок 1. Количество опубликованных статей за период с 2003 по 2023 гг. по запросам ключевых слов «agricultural biotechnology» (левая вертикальная ось), «biopesticides», «biofertilizers», «genetically modified crops» и «organic agriculture» (правая вертикальная ось) по данным базы PubMed <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> (по состоянию на 8.05.2024 г.).

Генетико-селекционные технологии для повышения урожайности, качества, устойчивости и безопасности сельскохозяйственных культур

Селекция и геномное редактирование

С давних времен люди стремились улучшить качественные и количественные свойства используемых сельскохозяйственных культур. Для этого они последовательно отбирали лучшие плоды, самые крупные семена и зерна, постепенно изменяя растения в нужном направлении и осуществляя искусственный отбор. В основе такой фенотипической селекции лежала широкая изменчивость исходного материала и многократная сортировка форм в соответствии с визуальными и органолептическими предпочтениями человека. С открытием фундамента генетики — принципов передачи наследственных признаков от родительских организмов к их потомкам, известных как законы Менделя, появилась возможность сознательно и на научной основе управлять передачей целевых признаков. Стало понятно, что с помощью простого отбора невозможно получить принципиально новые свойства у выращиваемых растений, поэтому для получения новых сортов растений стали использовать скрещивание организмов с необходимыми признаками (гибридизацию). Несмотря на то, что селекция растений успешно применяется с самого начала человеческой цивилизации и по сей день, процесс создания новых сортов остается очень трудоемким и требует многих лет напряженной работы. Основными методами селекции в растениеводстве являются массовый и индивидуальный отбор, внутривидовая и отдаленная гибридная, инцухт (близкородственное скрещивание растений), полиплоидия и экспериментальный мутагенез с помощью радиации или химических веществ [7]. Для перекрестноопыляемых растений наиболее распространен массовый отбор особей с необходимыми свойствами. В результате получают новые сорта, которые не являются генетически однородными. Если необходимо получить генетически однородный сорт (чистую линию), то применяют индивидуальный отбор, при котором получают потомство от одной единственной особи с необходимыми признаками с помощью самоопыления. В самоопыляемых популяциях поддерживается определенный уровень генетической изменчивости. В селекции растений также широко применяется экспериментальная полиплоидия, т.е. кратное увеличение количества хромосом в эукариотической клетке. Полиплоиды отличаются быстрым

ростом, крупными размерами и высокой урожайностью, успешными примерами этого метода являются триплоидные сахарная свекла и безсеменной арбуз, тетраплоидные клевер, гречиха, рожь, кукуруза и твердая пшеница, а также шестиплоидная мягкая пшеница. Получают полиплоиды с помощью искусственного мутагенеза, применяя химические вещества, например колхицин, которые разрушают веретено деления, в результате чего удвоившиеся хромосомы не расходятся и остаются в одном ядре. На базе фенотипической селекции были созданы два новых направления биотехнологии растений — клеточная и гаметно-зиготная селекция [8]. В **клеточной селекции** отбор линий и растений с ценными наследственными признаками происходит на уровне клеток, культивируемых *in vitro*. Неоспоримое достоинство такого подхода заключается в возможности работы с миллионами растительных клеток при проведении направленного отбора в чашках Петри с последующей регенерацией растений, что облегчает и ускоряет традиционный селекционный процесс в создании новых сортов растений. Основными инструментами являются технологии микрклонального размножения отдаленных гибридов, оплодотворения *in vitro*, культивирования семян и незрелых гибридных зародышей, соматической гибридизации и др. Основная цель **гаметно-зиготной селекции** — отбор искомым рекомбинантов на постмейотических этапах развития организма путем культивирования пыльников и микроспор.

Однако современное сельское хозяйство испытывает острую необходимость в оперативном получении новых сортов сельскохозяйственных культур, отличающихся устойчивостью к воздействию стрессовых биотических и абиотических факторов окружающей среды, высокой продуктивностью, продолжительными сроками хранения урожая и другими характеристиками. Многими необходимыми качествами обладают дикие предки культивируемых растений. Для того чтобы передать их целевые гены современным сортам, необходимо проведение межвидового скрещивания, которое технологически сложнее и даже не всегда возможно ввиду генетической несовместимости. Развитие генетической инженерии, которая сделала возможным перенос генов из одного организма в другой и дало начало развитию **геномной селекции**, став решением данной проблемы. Основными способами биотехнологического изменения генома растений, кроме физического или химического искусственного мутагенеза, являются трансгенез, цисгенез, интрагенез и субгенез [8]. **Трансгенез** — это введение чужеродного гена, называемого трансгеном, от неродственного организма. **Цисгенез** — это введение гена близкородственного вида, с которым потенциально возможен половой процесс в природе. Результат этого метода абсолютно аналогичен классической селекционной работе, но происходит существенно быстрее и исключается попадание в геном реципиента нежелательных сцепленных генов растения-донора [9]. **Интрагенез** — это введение гена того же организма, например улучшение свойств растения путем внедрения в его геном дополнительной копии собственного гена, чтобы добиться сверх-экспрессии, или его «выключения». При **субгенезе** генномодифицированные (ГМ) растения могут быть созданы с использованием нокада генов, который позволяет снизить экспрессию одного или нескольких генов при помощи изменения соответствующей последовательности нуклеотидов либо при помощи короткого олигонуклеотида, комплементарного соответствующей молекуле мРНК, или нокаута генов (инактивация/удаление гена).

Для получения генномодифицированных организмов (ГМО) используют такие биоинженерные технологии как генные пушки, электропорация, микроинъекции, агробактерии и более точные инструменты редактирования геномов. **Генная пушка** реализует технологию биобаллистики и сконструирована как пневматический пистолет, стреляющий частицами вольфрама, серебра или золота, покрытыми репортерными генами. Частицы проникают через клеточную стенку и мембраны органелл, ДНК отделяется от металла и встраивается в ДНК клеток-мишеней, например каллус. Этот метод успешно применялся для многих культур растений, особенно для однодольных, таких как пшеница или кукуруза, для которых трансформация с использованием *Agrobacterium tumefaciens* (= *Rhizobium radiobacter*) оказалась менее успешной. Кроме того, метод используется для доставки ДНК-вакцин. К основным недостаткам этого метода относится высокая доля поврежденных клеток-мишеней. Альтернативой являются методы **микроинъекции**, когда чужеродная ДНК напрямую вводится в клетки-мишени, и **электропорации**, когда чужеродная ДНК проникает в растительные клетки через миниатюрные поры, которые временно создаются электрическими импульсами [10].

Однако наиболее распространенный ранее метод трансформации сельскохозяйственных растений (трансфекции) был опосредован фитопатогенной бактерией *A. tumefaciens*, которая способна к горизонтальному переносу генов, приводящему к пролиферации модифицированных растительных клеток вблизи уровня почвы (коронковый галл). Генетическая информация, необходимая для роста опухоли, закодирована в мобильном кольцевом фрагменте ДНК – Тi-плазмиде [11]. Когда агробактерия заражает растение, она переносит участок Тi-плазмиды, известный как Т-ДНК, в случайный участок генома растения. Именно эта способность и используется в генетической инженерии с целью улучшения свойств растений. Сначала бактериальную Т-ДНК удаляют из бактериальной плазмиды, оставляя только два маленьких (25 пар оснований) краевых повтора. Гены, которые будут введены в растительную клетку клонируют в специальный вектор для трансформации растений, который состоит из участка Т-ДНК обезвреженной плазмиды и селективного маркера, например, гена устойчивости к антибиотику. Последний позволяет отобрать растения, в которых произошла трансфекция: те из них, кто включил в геном Т-ДНК и ген устойчивости вырастают на среде с антибиотиком, остальные погибают. Этот метод особенно хорошо работает для двудольных растений, таких как картофель, помидоры и табак, но менее успешен для однодольных. Главный недостаток агробактериальной трансформации — невозможность контролировать, в какое именно место растительной ДНК встроится новая конструкция. Для преодоления этой проблемы используются новейшие методы редактирования генома с помощью особых ферментативных систем – программируемых нуклеазных платформ или «молекулярных ножниц». Эти ферменты создают сайт-специфичные двухцепочечные разрывы в ДНК в определенном участке генома, которые репарируются в процессе рекомбинации, что позволяет получать направленные мутации. В настоящее время используются 4 типа эндонуклеаз: мегануклеазы, нуклеазы с цинковыми пальцами (zinc fingers), нуклеазы TALEN и система CRISPR-Cas [12].

Мегануклеазы — это наиболее специфические встречающиеся в природе рестрикционные ферменты, характеризующиеся большим сайтом узнавания от 12 до 40 п.н., который обычно встречается только один раз в геноме. Преимуществом мегануклеаз, помимо высокой точности, считают образование при разрезе высокорекомбиногенных 3'-ОН-выступающих концов. Кроме того, генетические рекомбинации, индуцированные мегануклеазами, ограничены их конечным доступным количеством. Несмотря на существование в природе сотен мегануклеаз в про- и эукариотических клетках и тот факт, что каждая из них способна переносить незначительные вариации в своем сайте узнавания, вероятность обнаружения мегануклеазы, способной разрезать данный ген в конкретном месте, достаточно низка. Исправляя малое природное разнообразие этих ферментов, биологи искусственно конструируют инженерные аналоги с гибридной или измененной специфичностью.

ZFN (Zink Finger Nucleases) или нуклеазы на основе белков с доменом «цинковые пальцы» — это искусственные рестрикционные ферменты, которые получают сшиванием двух разнородных доменов — ДНК-связывающего домена цинкового пальца, который распознает от 9 до 18 п.н., и нуклеазного, отвечающего за расщепление ДНК. Первый состоит из tandemных микродоменов, структуру которых стабилизируют ионы цинка. Эти «пальцы» широко распространены у эукариот и обеспечивают специфическое взаимодействие несущих их белков с ДНК и другими молекулами, чаще всего регулируя транскрипцию. Каждый из «пальцев» сшит с неспецифически режущим нуклеазным доменом рестриктазы FokI. Такие белки конструировать легче, чем мегануклеазы, но сложно подобрать «пальцы» для всех нужных комбинаций нуклеотидов и обеспечить правильное взаимное расположение двух ZFN. Кроме того, если домены цинковых пальцев недостаточно специфичны для своего сайта-мишени или они не нацелены на уникальный сайт в интересующем геноме, может произойти расщепление вне мишени. В этом случае образуется достаточное количество двухцепочечных разрывов, что угнетает механизм репарации и, как следствие, приводит к хромосомным перестройкам или гибели клеток.

TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nuclease) — это искусственные нуклеазы на основе эффекторов, подобных активаторам транскрипции, работающие в паре и состоящие из нуклеазного домена FokI и ДНК-связывающего домена TALE. Природные ДНК-связывающие домены TALE тоже участвуют в регуляции экспрессии генов, но только относятся к факторам вирулентности фитопатогенов из рода *Xanthomonas*. Они связываются с промоторами в растительных

клетках и меняют работу генов таким образом, чтобы подавить сопротивляемость инфекции. TALE состоят из тандемных повторов аминокислотных модулей, каждый из которых распознает 1 п.н. Эти эндонуклеазы легко конструируются, являются достаточно точными и менее цитотоксичны, чем ZFN.

Система CRISPR-Cas — это система адаптивного иммунитета бактерий и архей, в основе которой лежат короткие палиндромные повторы (CRISPR, clustered regularly interspaced short palindromic repeats), регулярно расположенные группами и разделенные уникальными последовательностями (спейсерами). Спейсеры заимствуются из чужеродных генетических элементов, с которыми сталкивалась клетка в прошлом. РНК, транскрибирующиеся с локусов CRISPR, совместно с ассоциированными белками Cas обеспечивают адаптивный иммунитет за счет комплементарного связывания РНК с нуклеиновыми кислотами чужеродных элементов и последующего обнаружения их белками Cas. Если фрагмент вируса «записан» в спейсере CRISPR РНК, Cas-белки разрезают чужеродную ДНК и разрушают. Методики CRISPR-Cas используются для направленного редактирования геномов разными научно-исследовательскими группами с 2013 года. И в 2020 году за достижения в этом перспективном направлении генной инженерии была присуждена Нобелевская премия по химии ученым Э. Шарпантье и Д. Дудне за разработку метода геномного редактирования. Более подробно о системах CRISPR/Cas для геномного редактирования растений описано в обзоре Михайловой с соавт. [13].

На рисунке 2 обобщены результаты генетико-селекционных технологий доместификации некоторых важнейших сельскохозяйственных культур (томата, картофеля, риса, кукурузы и пшеницы) путем искусственного отбора и далее их геномного редактирования с примерами конкретных ГМ-сортов [14].

Генномодифицированные культуры: примеры, преимущества и риски

Геномное редактирование является самым современным инструментом для селекции организмов с заданными свойствами. Экономическая ценность ГМ-продуктов для АПК является одним из их основных преимуществ. Например, по данным исследования PG Economics ГМ-культуры увеличили доходы фермеров во всем мире на 14 миллиардов долларов в 2010 году, причем более половины этой суммы приходится на сельское хозяйство в развивающихся странах [15]. Учитывая что 80% площадей сельскохозяйственных угодий в мире отводятся для производства корма животным, а большая часть ежегодно выращиваемых ГМ-культур используется именно на корм скоту и птице, то растущий спрос на мясо приводит к увеличению спроса на ГМ-кормовые культуры [16]. Мета-анализ агрономических и экономических показателей при использовании трех основных сельскохозяйственных ГМ-культур (сои, кукурузы и хлопка) почти за 20-летний период показал, что устойчивые к гербицидам культуры имеют более низкие производственные затраты, в то время как для культур, устойчивых к насекомым, сокращение использования пестицидов было нивелировано более высокими ценами на их семена, в результате чего общие производственные затраты остались приблизительно на том же уровне [17]. При применении ГМ-культур фермеры получили на 69% больше прибыли при увеличении урожайности на 9% для сортов, устойчивых к гербицидам, и на 25% для сортов, устойчивых к насекомым [17]. Еще одно исследование показало, что нокаут генов KRN2 в кукурузе и OsKRN2 в рисе с помощью технологии геномного редактирования CRISPR увеличил урожайность зерна на ~10% и ~8%, соответственно, без каких-либо выявленных негативных последствий [18].

Комбинация таких преимуществ использования ГМО в сельском хозяйстве как повышение урожайности, сокращение использования земельных ресурсов, снижение применения удобрений и пестицидов, уменьшение использования сельскохозяйственной техники создает не только экономический, но и экологический эффект, выраженный в снижении выбросов углерода, связанных с АПК. По оценкам, это сокращение составляет 7.5% от общего объема сельскохозяйственных выбросов в ЕС или 33 миллиона тонн CO₂ [19].

В настоящее время существует научный консенсус о том, что доступные на сегодняшний день продукты питания, полученные из ГМ-культур, не представляют большего риска для здоровья человека, чем обычные продукты питания, полученные традиционными способами [20-21]. Однако любой ГМ-продукт перед внедрением необходимо проверять в каждом конкретном случае [22].

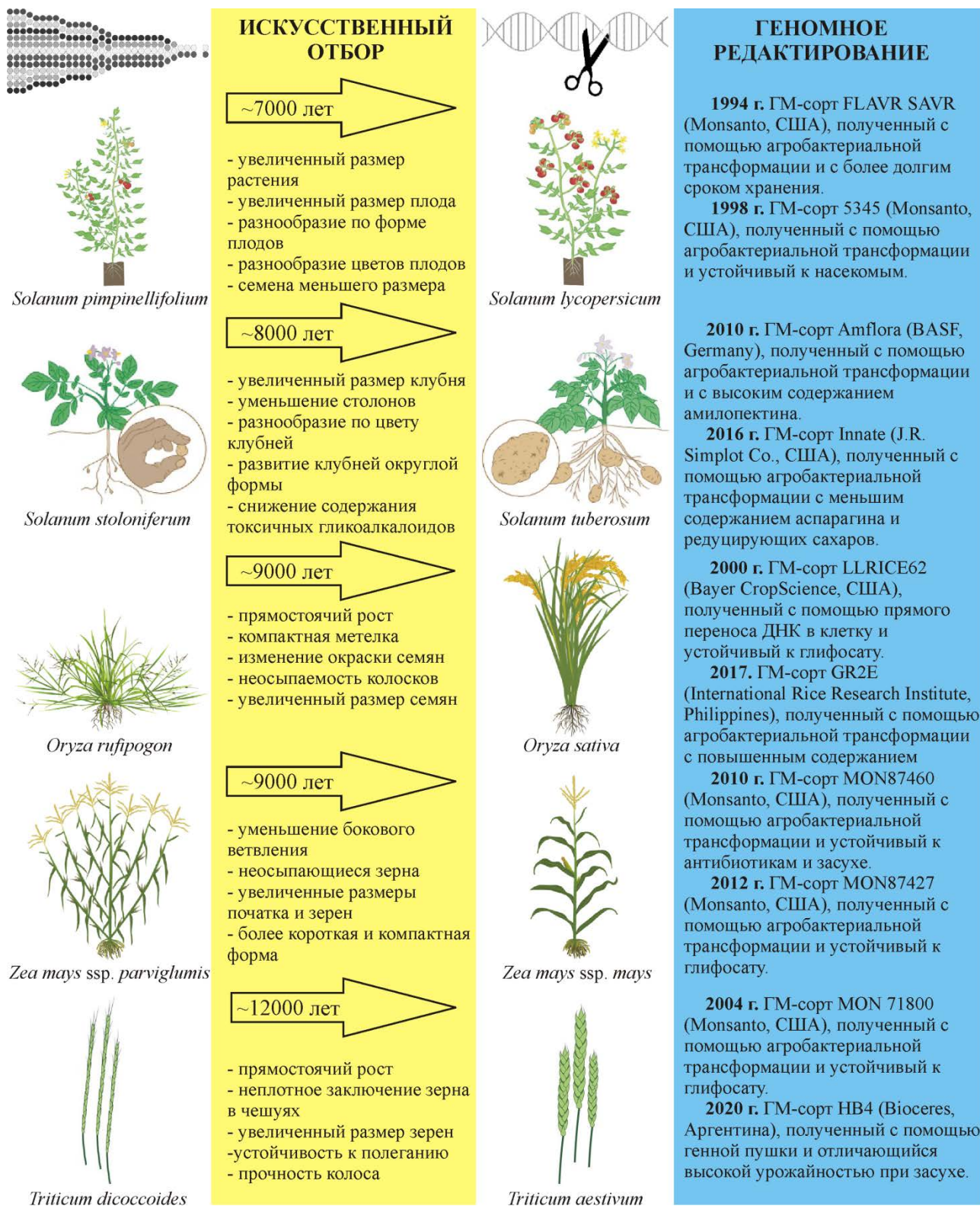


Рисунок 2. Характеристики томата, картофеля, риса, кукурузы и пшеницы, полученные путем искусственного отбора и геномного редактирования.

По всему миру проводятся генетические эксперименты, в результате которых получают улучшенные сорта сельскохозяйственных растений, а именно:

1. ГМ-растения с улучшенными пищевыми свойствами — биофортификация или биообогащение. Например, пшеница, рис, бобовые, батат, кукуруза и микрозелень, обогащенные цинком; рис, бобовые и овощи, обогащенные железом; сорго и маниок, обогащенные аминокислотами и протеинами; соя, обогащенная полиненасыщенными жирными кислотами [23]; батат, кукуруза и маниок, обогащенные каротиноидами; ГМ-«золотой рис» с увеличенным содержанием бета-каротина [24]; томаты с высоким содержанием ликопина [25]. Эти сельскохозяйственные культуры могут использоваться как напрямую человеком в пищу, так и в качестве кормов животным. Например, питательная ценность масличной и кормовой культуры рыжика посевного была увеличена за счет генетической модификации, позволяющей накапливать высокие уровни длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот омега-3 [26]. Кроме того, ведутся разработки улучшения вкусовых качеств ГМ-растений, например помидоры без семян [27]. Еще одним аспектом данного направления является безопасность сельскохозяйственных культур, т.е. генетическая модификация растений, которая приводит к снижению содержания природных токсинов в продукции. Например, ГМ-маниок, пищевое клубнеплодное тропическое растение, содержит меньше цианогенных гликозидов и повышенное содержание белка и других питательных веществ [28]. Еще одним примером может служить ГМ-картофель с более низким содержанием аминокислоты аспарагин, которая превращается в канцерогенный акриламид во время его жарки.

2. Растения с более долгим сроком хранения, улучшенным товарным видом или с другими требованиями к выращиванию. Например, были разработаны методы геномного редактирования томата для увеличения лежкости их плодов [29-30]. В коммерческих сортах яблок Arctic подавлена экспрессия гена, ответственного за синтез фермента полифенолоксидазы, благодаря которому плод темнеет на срезе [31]. Были предложены генетические модификации картофеля для его более привлекательного товарного вида при производстве чипсов [32]. Также существуют генетические модификации некоторых сельскохозяйственных культур, например томатов [33], для создания их более компактной формы с целью выращивания их в городских условиях (вертикальные фермы).

3. Культуры, устойчивые к засухе, засолению, загрязнению и другим неблагоприятным стрессовым факторам. Примерами успешной разработки таких культур может стать создание устойчивой к засолению культуры арахиса, генномодифицированной за счет введения посредством агробактериальной трансформации гена ионного транспортера AtNHX1, который связывает избыток ионов натрия в большую внутриклеточную вакуоль [34]. Другой пример связан с биоинженерными исследованиями устойчивости растений к засухе, которая достигается путем модификации генов, ответственных за метаболизм красуловой кислоты или САМ-фотосинтез [35]. Этот механизм возник как адаптация к засушливым условиям у многих растений-ксерофитов и к недостатку воды — у тропических эпифитов. Особенно эти работы актуальны для таких требовательных к содержанию воды сельскохозяйственных культур как рис, пшеница, соевые бобы. У солеустойчивых культур было выявлено несколько механизмов толерантности к засолению.

4. Культуры со множественной устойчивостью к фитопатогенам и вредителям. Один из популярных путей создания устойчивых к насекомым ГМ-растений заключается в использовании энтомопатогенной бактерии *Bacillus thuringiensis* (Bt) в качестве источника генов эндотоксинов [36]. Внедрение Bt культур в США в период с 1996 по 2005 год сократило общий объем использования инсектицидов почти на 20% [37]. Были созданы устойчивые к вирусам ГМ-сорта папайи, картофеля, кукурузы, кабачков и тыквы.

5. ГМ-растения, устойчивые к пестицидам. Разработка культур, устойчивых к таким гербицидам как глифосат [38-39] и дикамба [40] значительно повысила эффективность сельского хозяйства во всем мире.

6. Высокоурожайные ГМ-культуры с управляемым фотосинтезом. Модификация некоторых генов, участвующих в фотозащитных механизмах, увеличила урожайность табака на 15% [41]. При этом растения отличались от контрольных более высоким ростом, крупными листьями и массивной корневой системой. Еще одно улучшение процесса фотосинтеза касается фотодыхания у С3-растений, которые фиксируют углекислый газ напрямую из воздуха, а не после высвобождения из

малата как у С4- и САМ-растений. Встраивая путь С4 в С3-растения, урожайность зерновых культур, например риса, может увеличиться до 50% [42-43].

7. Культуры, выращиваемые для производства фармацевтических препаратов и кормов для нужд промышленной биотехнологии (вакцины, антитела, биодобавки для улучшения качества кормов, аминокислоты, кормовой белок, ферменты, витамины, пробиотики, ветеринарные биопрепараты), для пищевой биотехнологии (крахмалы и глюкозно-фруктовые сиропы, ферменты и микроорганизмы для молочных, масложировых, мясоперерабатывающих производств, органические кислоты – лимонная, молочная, уксусная и другие, продукты глубокой переработки пищевого сырья, биопластик), для получения биотоплива из отходов в биоэнергетической промышленности.

8. ГМ-растения, улучшающие экологическую ситуацию в мире. Например, применение в сельском хозяйстве генетически модифицированных растений с улучшенными возможностями биосеквестрации углерода. Примером последнего случая служит инициатива Harnessing Plants Initiative (HPI) Института биологических исследований Солка (США) по созданию ГМ-растений с увеличенной корневой массой, глубиной проникновения корней и большим содержанием труднорастворимого биополимера суберина, входящего в состав клеточных стенок, которые будут связывать атмосферный углерод (<https://www.salk.edu/harnessing-plants-initiative/>).

Генетическая паспортизация сельскохозяйственных культур

Генетическая паспортизация сельскохозяйственных культур подразумевает создание официальных документов о его таксономической принадлежности, ближайшем родстве и характерных отличиях, устойчиво передающихся из поколения в поколение [44]. Для сохранения разнообразия сортов сельскохозяйственных культур рекомендуется развивать подходы к их документированию в соответствии с Международным кодексом номенклатуры культурных растений [45]. В соответствии с Кодексом, номенклатурный стандарт сорта, представленный гербарным образцом, закрепляет его название и помогает избежать их дублирования. Согласно установленной процедуре, автор сорта или представитель учреждения, где сорт был выведен, передает в научный гербарий растительный материал с соответствующей документацией для оформления и сохранения номенклатурных стандартов [45]. Для генотипирования сортов растений используются различные ДНК-маркеры, т. е. полиморфные признаки, выявляемые методами молекулярной биологии на уровне нуклеотидной последовательности ДНК для определенного гена или для любого другого участка хромосомы при сравнении генотипов различных особей, популяций, сортов, подвидов, видов. Для идентификации и оценки генетических ресурсов культурных растений используют следующие технологии [46]:

- ДНК-маркеры на основе зондов. Например, метод изучения полиморфизма длин рестриционных фрагментов **RFLP** (Restriction Fragment Length Polymorphism) с использованием блот-гибридизации. Этот метод включает в себя выделение ДНК из целевого объекта, разрезание ДНК с помощью эндонуклеаз рестрикции, электрофоретическое разделение образовавшихся фрагментов (рестриктов) и гибридизацию специфических ДНК-зондов с полученными рестриктами. Комбинации рестриктаз и ДНК-зондов дают высокоспецифичные полиморфные спектры фрагментов ДНК. Анализ эффективен при картировании генома, маркировании генов селекционно ценных признаков.

- ПЦР-маркеры, основанные на анализе полиморфизма с помощью ПЦР. Например, **RAPD** (Random Amplified Polymorphic DNA) — ПЦР с использованием единичного короткого праймера с произвольной нуклеотидной последовательностью; **ISSR** (Inter Simple Sequence Repeats) — специализированный вариант метода RAPD, в котором праймер состоит из микросателлитной последовательности; **AFLP** (Amplified Fragment Length Polymorphism) — метод, совмещающий RFLP и ПЦР; **SSR** (Simple Sequence Repeats) — ПЦР с флангирующими праймерами к короткому мини- или микросателлитному повтору; **IRAP** (Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism) — анализ полиморфных участков ДНК, амплифицированных между ретротранспозонами; однонуклеотидный полиморфизм **SNP** (Single Nucleotide Polymorphism) — анализ отличий последовательности ДНК размером в один нуклеотид в геноме или его фрагменте у представителей одного вида или между гомологичными участками гомологичных хромосом. Для детекции SNPs используют гибридизационные методы, например детекция с помощью ДНК-чипов; ферментативные методы

(RFLP, TaqMan-пробы, капиллярный электрофорез); методы, основанные на физических свойствах ДНК, например, масс-спектрометрия, электрофорез по градиенту температур TGGЕ (Temperature Gradient Gel Electrophoresis), высокоэффективная жидкостная хроматография в денатурирующих условиях; секвенирование ДНК, включая современные методы высокопроизводительного секвенирования для картирования SNPs на протяжении всего генома. Последний метод является наиболее перспективным благодаря высокой точности, воспроизводимости и автоматизации процесса.

Биоудобрения для сельскохозяйственных культур: биостимуляторы и полифункциональные продукты

Использование современных агробиотехнологий позволяет заметно увеличить показатели эффективности работы АПК и минимизировать экологический ущерб от производства агропродукции. По оценкам межведомственной рабочей группы по контролю над внедрением биотехнологий при Правительстве РФ, общий экономический эффект от применения биопрепаратов в растениеводстве и животноводстве России может составить более 100 млрд руб. в год при затратах в размере 10,5 млрд рублей [47].

Новым направлением в сельскохозяйственной биотехнологии является разработка и использование биопрепаратов на основе живых организмов и(или) их метаболитов, стимулирующих метаболизм растений и индуцирующих их защитные реакции, например регуляторы роста растений. Многоуровневая система индуцированного фитоиммунитета с большим количеством соединений, участвующих на разных этапах его проявления, обеспечивает возможность изучения большого набора веществ, которые могут быть применены для управления защитными реакциями растений, усилении устойчивости к фитопатогенам. Например, биопрепарат Бион активизирует салициловый путь с сигнальной молекулой салициловой кислотой; биостимулятор Новосил состоит из тритерпеновых кислот, выделенных из древесной зелени сибирской пихты; циркон Р — из гидроксикоричных кислот; Эпин — из брассиностероидов, Иммуноцитифит — на основе арахидоновой кислоты, Рибав-Экстра — L-аланин + L-глутаминовая кислота и др. В целом, биопрепараты, индуцирующие защитные реакции, как правило, уступают по биологической эффективности химическим препаратам и требуют определенных условий использования (особенно температурных). В то же время при низком и среднем уровнях распространения и опасности фитопатогенов они практически не уступают химическим пестицидам по экономической эффективности и превосходят их по безопасности [48].

Одной из разновидностью биоудобрений являются биопрепараты, содержащие бактерии, способствующие росту растений (Plant Growth-Promoting Bacteria, PGPB). При нанесении их на семена, поверхность растений или почву они колонизируют ризосферу и способствуют росту за счет увеличения поступления и доступности основных питательных веществ для растения-хозяина [49]. PGPB фиксируют молекулярный азот, растворяют недоступный фосфор и стимулируют рост растений за счет синтеза специфических веществ, например фитогормонов, витаминов, сидерофоров, аминокислот, ферментов, полиаминов, свободных летучих жирных кислот, биоцидных соединений, ингибирующих развитие фитопатогенов и вредителей. Инокулянты таких азотфиксаторов как *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum* и гетероцидных цианобактерий применяют для злаковых, бобовых, овощных культур [50-52], и они оказываются эффективнее азотных удобрений, около половины которых не поглощается сельскохозяйственными культурами, а выбрасывается в окружающую среду [53]. Другие представители PGPB, так называемые фосфат-солюбилизующие бактерии, например *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas putida* и многие цианобактерии [54], способны растворять нерастворимый фосфат из органических и неорганических источников фосфата, включая и вносимые фосфорные удобрения. Уровень поглощения последних растением не достигает и 20%, а значительная часть их часть теряется в результате эрозии и выщелачивания [55], загрязняя грунтовые воды и вызывая эвтрофикацию поверхностных вод [56]. Широкий спектр микроорганизмов продуцирует внеклеточные полимерные вещества (Extracellular Polymeric Substances, EPS) — высокогидратированные полимеры, состоящие в основном из полисахаридов, белков и ДНК. EPS имеют основополагающее значение для микробной жизни и обеспечивают идеальную среду для химических реакций, адсорбции питательных веществ и защиты от стрессов

окружающей среды таких как засоление и засуха. Микробные EPS могут усиливать агрегацию почвенных частиц и приносят пользу растениям, поддерживая влажность окружающей среды и адсорбируя питательные вещества [57]. Таким образом, преимущества бактерий, способствующих росту растений, сводятся к следующим их возможностям:

- переводить необходимые биофильные элементы из недоступных или труднодоступных форм в доступные для усвоения растениями, например азот, фосфор, калий, железо, цинк и др. Показано, что инокуляция RGPB способна заменить до 30% химических азотных и фосфорных удобрений, увеличивая урожайность сельскохозяйственных культур на 20-30% [58].
- синтезировать напрямую рост-стимулирующие вещества (фитогормоны, аминокислоты, витамины и пр.);
- продуцировать EPS, от которых зависит агрегация почвенных частиц, влагоудерживающая способность почв и адсорбция питательных веществ;
- контролировать численность фитопатогенов и вредителей за счет биоцидной активности;
- улучшать состояние почвы благодаря способности к детоксикации ксенобиотиков, например, разложение остатков химических пестицидов.

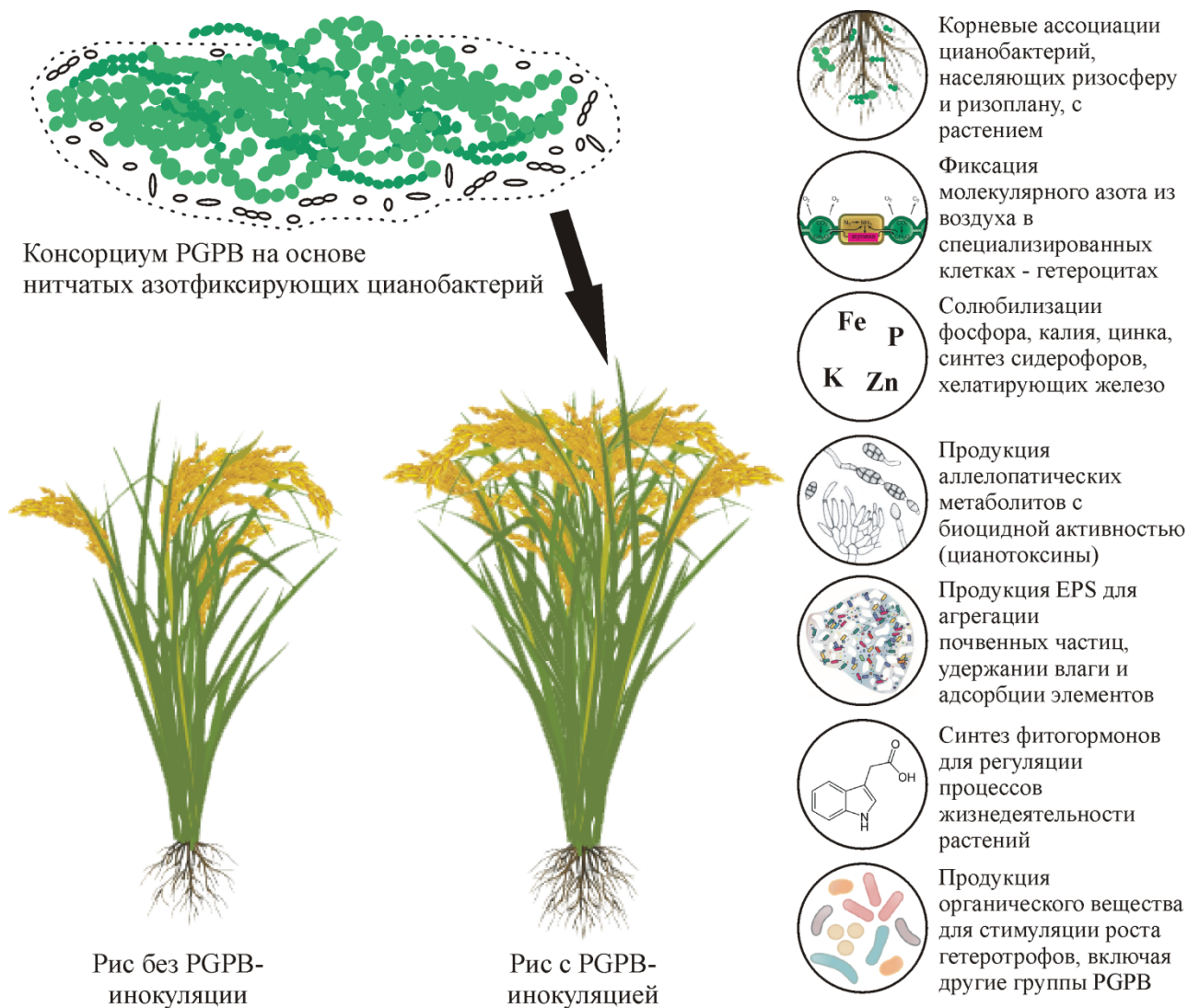


Рисунок 3. Механизмы стимулирования роста риса с помощью инокуляции полифункционального препарата на основе цианобактерий.

На рисунке 3 представлена концептуальная схема влияния RGPB на рост растения на примере риса и цианобактерий [50]. Предполагается, что в будущем для ускоренной коммерциализации и повышенной востребованности аграрным сектором будут способствовать новые подходы к разработке полифункциональных биопрепаратов, составов с более длительным сроком хранения (микроинкапсулирование), поиску и(или) созданию эффективных штаммов с помощью методов генной инженерии [59].

Биологические средства защиты растений

Согласно оценкам ФАО до 40% продовольственных культур в мире ежегодно теряется из-за вредителей и болезней растений. Из порядка 70 тыс. видов известных вредных организмов серьезную опасность представляют только 10%, и для их подавления ежегодно используют более 2.5 млн т химических пестицидов [48]. Химическая и биологическая защита растений не противопоставляются и не взаимоисключаются в интегрированной системе защиты растений, а взаимодействуют для решения задачи повышения продуктивности агроэкосистем, безопасности агропродукции и снижения негативного влияния на окружающую среду.

Биологическая система защиты и питания растений сегодня предоставляет научно обоснованные решения, не уступающие по эффективности химической, а в некоторых аспектах ее превосходит. Биопестициды — это вещества, используемые для уничтожения вредителей и возбудителей болезней растений, а также различных паразитов и сорняков, получаемые в основном с помощью микроорганизмов. В России согласно ГОСТ Р 56694-2015 «Возобновляемые источники сырья. Сельскохозяйственные ресурсы. Термины и определения» это биологические средства защиты растений, которые используют для борьбы с вредителями культурных растений, представляющие собой живые объекты или естественные биологически высокоактивные химические соединения, синтезируемые живыми организмами. Их можно разделить на три категории [60]:

1. Биопрепараты на основе микроорганизмов (бактерий, грибов, вирусов и простейших) и продуктов их жизнедеятельности.

2. Биопрепараты из растений, растительных экстрактов (хвои, роз, барбариса, женьшеня и др.) и прочих природных субстратов, включая ГМО. Например, хитозан вызывает повышение системной устойчивости растения, что позволяет защититься от болезней, патогенов и вредителей [61]. Чесночное масло обладает инсектицидными свойствами [62].

3. Феромоны — препараты на основе природных соединений, не оказывающих токсического действия на вредные организмы, а влияющих только на их поведение. Эту категорию обычно применяют в виде приманок и ловушек для вредных насекомых.

Основными движущими силами рынка биопестицидов в мире являются развитие органического земледелия и устанавливаемые на государственном уровне более жесткие экологические требования к агропродукции.

К преимуществам использования биопестицидов можно отнести следующее:

1. полный или частичный отказ от использования химических средств защиты растений, сокращение общей пестицидной нагрузки на агроэкосистемы и, как следствие, улучшение состояния и плодородия почв;

2. безопасность и высокая скорость биоразложения;

3. снижение риска появления резистентности у фитопатогенов и вредителей;

4. селективность действия в отношении широкого спектра вредных насекомых и фитопатогенов;

5. применение в любую фазу вегетации и короткий период ожидания для сбора урожая после обработки;

6. использование в интегрированных системах защиты сельскохозяйственных культур;

7. высокая рентабельность за счет более низкой цены препарата, его пролонгированного действия и высокой эффективности при правильном применении;

8. возможность переориентации ряда хозяйств на производство органической продукции.

Недостатки заключаются в профилактическом характере действия, когда биопестициды должны применяться до того, как болезнь сельскохозяйственных культур масштабно

распространится в поле и до того, как популяции насекомых-вредителей станут слишком многочисленными.

В России рынок биопестицидов находится на начальном этапе развития. Так, в настоящее время в России только 9% посевной площади зерновых и 4% сахарной свеклы обрабатываются биопестицидами [63]. По данным Союза органического земледелия в реальную практику биологическая система защиты растений внедрена на 2% сельхозугодий РФ [64]. Тем не менее, сегмент биопестицидов за последние 5 лет увеличился в 2 раза [65], а до 2030 года прогнозируется его ежегодный рост на 5-10%. Наиболее популярна предпосевная обработка семян и посевного материала биопестицидами, которая позволяет не только уничтожить инфекции семян, но и обезопасить проростки от почвенной патогенной микрофлоры, что позволяет увеличить всхожесть и качество посадок. В таблице приведены данные по некоторым отечественным биопрепаратам с биоцидной активностью, представленным на рынке. При регистрации биопестицидов учитывают токсичность, патогенность, инфекционность, экотоксикологию, разложение биопестицида в природной среде и другие показатели.

Таблица. Примеры российских биопестицидов [66]

Действующий агент	Фитопатогены/вредители	Коммерческое название биопрепарата
СрGV вирус гранулеза яблонной плодоярки	Насекомые	Карповирусин, Мадекс Твин
Бактерии <i>Bacillus subtilis</i>	Грибы	Алирин-Б, Гамаир, Фитолек
Бактерии <i>Bacillus thuringiensis</i>	Чешуекрылые насекомые, паутинный клещ и личинки колорадского жука	Лепидоцид, Бикол, Битоксибациллин, Инсетим
Бактерии <i>Proteus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Flavobacterium</i>	Нематоды семейства Steinernematidae	Немабакт, Энтонем-Ф
Бактерии <i>Salmonella enteritidis</i> , var. <i>Issatschenko</i>	Грызуны	Бактороденцид
Бактерии <i>Streptomyces avermitilis</i>	Галовые нематоды, насекомые	Акарин, Фитоверм
Грибы <i>Arthrobotrys oligospora</i>	Нематоды	Нематофагин-Микопро
Грибы <i>Beauveria bassiana</i>	Насекомые	Биослип БВ
Грибы <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> и <i>Metarhizium anisopliae</i> subsp. <i>atis</i>	Насекомые	Пециломицин, Кордицепс-Микопро почвенный
Грибы <i>Trichoderma</i>	Грибы	Триходерма Вериде, Трихоцин, Трихофлор

Еще одним препятствием для ускоренного производства биопестицидов является недостаточное количество научных исследований о токсин-продуцирующих возможностях разных групп микроорганизмов для создания новых биопестицидов и биологических контролирующих агентов. Другими сдерживающими факторами развития рынка биопестицидов являются недостаточная осведомленность и понимание их пользы агрономами, производителями, консультантами по выращиванию культур. Кроме того, аграрные предприятия в большинстве своем существуют в условиях низкой рентабельности и их многолетний опыт применения химических средств защиты растений соответствует коммерческими интересами, ориентированным на увеличение выхода продукции растениеводства с единицы посевной площади, ее сохранности и устойчивости к транспортировке. Вопросы безопасности и экологичности при этом часто отходят

на второй план. В России отмечается слабый уровень культуры земледелия в целом и осведомленности о современных тенденциях аграрной практики. Органическое земледелие, получившее широкое распространение в Европе, только начинает развиваться в нашей стране. Тем не менее, невысокий уровень использования биопестицидов в России не отражает их важную социально-экономическую роль в обществе. Биологическая защита растений остается недооцененной в ситуациях, когда химические средства являются неэффективными, недоступными или запрещенными. Примерами могут служить территории выращивания продукции для детского и диетического питания, территории с особым природоохранным статусом, например, рекреационные, курортные, лесопарковые, водоохранные зоны и заповедники, а также зоны с уже неблагоприятной экологической обстановкой, загрязненные тяжелыми металлами, органическими веществами и радионуклидами.

Тест-системы для диагностики заболеваний сельскохозяйственных культур

Успешное развитие растениеводства неразрывно связано с обеспечением эффективной защиты сельскохозяйственных культур от фитопатогенов — патогенных организмов, вызывающих инфекционные болезни растений.

Основными фитопатогенами являются:

1. вирусы и виroidы, вызывающие вирус табачной мозаики, вирус кустистой карликовости малины, виroid веретеновидности клубня картофеля и др.;
2. бактерии, включая фитоплазмы, вызывающие корончатый галл, столбур пасленовых, паршу, бактериальный ожог плодовых культур и др.;
3. грибы и грибоподобные организмы, вызывающие фитофтороз, антракноз, мучнистую росу, альтернариоз, головню, пузырчатую ржавчину и др.;

Кроме того, заболевания растений могут иметь неинфекционную природу и быть связаны с абиотическими факторами среды, например с экстремальными режимами температуры, влажности и освещенности, дефицитом или избытком биоэлементов и др.

Фитопатогены характеризуются такими свойствами как:

- патогенность, т.е. способность вызывать заболевание;
- агрессивность, т.е. способность к интенсивному размножению внутри инфицированного растения;
- вирулентность, т.е. способность инфекционного агента вызывать заболевание или гибель организма.

Фитопатогены могут распространяться с помощью вредителей-переносчиков, например трипсы и вирус бронзовости томата, белокрылка и вирус желтой курчавости листьев томата, тли и вирус мозаики огурца и др. [67].

Ежегодные потери урожая, вызванные инфекционными заболеваниями составляют не менее 10-16% [68], а при возникновении эпифитотий потери достигают 80% [69]. Несомненно эффективность борьбы с инфекциями растений многократно выше на первых стадиях их развития, поэтому своевременная, быстрая и точная диагностика заболевания является важной задачей сельскохозяйственной фитопатологии. Идентификация возбудителей заболеваний также проводится при сертификации семян и посадочных растений, фитосанитарном мониторинге посевов, селекции и карантинной проверке импортируемого семенного материала. Существует несколько основных способов идентификации фитопатогенов:

1. Морфологическая диагностика, т.е. идентификация по внешним признакам заболевания (симптомам), например, задержка роста, изменение окраски, формы и размеров различных органов, поражения некротического типа. Визуальный осмотр — наиболее простой и традиционный способ, но и наименее надежный: симптомы бывают универсальные и не всегда быстро проявляются после инфицирования.

2. Тестирование на растениях-индикаторах — специальных индикаторных видах, которые дают четкую и типичную реакцию на заражение конкретным возбудителем, например марь степная, дурман, лебеда садовая и др.

3. Метод включений, основанный на выявлении с помощью световой или электронной

микроскопии характерных внутриклеточных вирусных включений аморфной и кристаллической формы.

4. Иммуноферментный анализ (ИФА) состоит из двух основных этапов: иммунной и ферментативной реакций. Иммунная реакция заключается в специфическом связывании характерного для данного патогена антигена с диагностическим антителом. Выявление образовавшегося комплекса проводят с использованием фермента в качестве метки для регистрации сигнала (ферментативная реакция). Одним из наиболее распространенных вариантов ИФА является ELISA-тест (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA). Основанные на ИФА методы широко применяются для обнаружения вирусов, но значительно реже — для идентификации грибов и бактерий, что связано со сложностью получения антител с необходимой специфичностью. Для оперативного выявления болезней растений разработаны иммунострипы — тест-полоски для экспресс-диагностики в полевых условиях, например ImmunoStrip® Tests (Agdia, США).

5. Молекулярно-генетическая диагностика заключается в накоплении большого количества копий целевой ДНК патогена в культивируемом состоянии или из образца пораженного растения. Среди разновидностей различают прямую полимеразную цепную реакцию (ПЦР), ПЦР с обратной транскрипцией (для РНК-вирусов), вложенную ПЦР и ПЦР с регистрацией в режиме реального времени (для количественного определения целевой ДНК), изотермическую амплификацию (LAMP), ДНК-микрочипы с возможностью идентифицировать целый спектр патогенов, цифровую ПЦР и технологии высокопроизводительного секвенирования (NGS). Достоинствами этой группы методов является специфичность, чувствительность и надежность определения фитосанитарного состояния сельскохозяйственных растений. В настоящее время разработан спектр коммерческих диагностических наборов отечественных компаний «Синтол», «Генбит», «ДНК-технология» и др.

Эффективная защита сельскохозяйственных культур от фитопатогенов и их переносчиков должна включать в себя не только раннюю и эффективную диагностику заболевания, но и комбинацию биологических, агротехнических, химических, физических и других приемов, направленных на профилактику комплекса болезней, например, пространственную изоляцию культивируемых растений от источников инфекции, использование для посадки здорового семенного материала, уничтожение сорняков-резервуаров инфекций, соблюдение оптимальных сроков, норм посева и густоты посадок, применение химических и биологических средств в борьбе с фитопатогенами и переносчиками заболеваний, а также использование устойчивых сортов. Такая система управления фитосанитарным состоянием агроэкосистем называется интегрированная защита растений и предназначена для обеспечения их фитосанитарного благополучия [70].

Заключение

Изменение климата, истощаемость природных ресурсов, рост народонаселения, деградация земель оказывают дополнительное давление на снабжение сельскохозяйственным продовольствием. В настоящее время активно обсуждается взаимосвязь между микробиомами почвы, растений, животных и человека в рамках концепции «единого здоровья» — «healthy roots - healthy plants - healthy people» [71]. Почвы являются краеугольным камнем здоровья и служат источником и резервуаром патогенов, и полезных микроорганизмов, и общего микробного разнообразия. По данным ФАО ООН производство 95% продуктов питания напрямую или косвенно связано с почвой [72], в то время как треть почв во всем мире деградировала из-за эрозии, засоления, подкисления, загрязнения и других негативных процессов [73]. Соблюдая баланс между использованием природоподобных технологий и новейших достижений биоинженерии, включающий частичный отказ от химических пестицидов и удобрений в пользу биопрепаратов, стимулирующих рост растений и ингибирующих вредителей и фитопатогенов; разработку генномодифицированных сортов растений и пород животных при условии их высокой продуктивности, безопасности и устойчивости; создание тест-систем с целью диагностики заболеваний сельскохозяйственных растений и животных, а также препаратов для их лечения и профилактики, мы вносим вклад в необходимое удовлетворение текущих потребностей человека при сохранении окружающей среды и рациональном использовании ресурсов без ущерба для будущих поколений.

Финансирование

Работа выполнена в рамках реализации госзадания Министерства образования и науки РФ.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. World Population Clock: 8.1 Billion People. 2024. Worldometers. Доступен по ссылке: <https://www.worldometers.info/world-population> (дата посещения: 07.05.2024).
2. United Nations. Department of Economic and Social Affairs. *World Population Prospects* (New York, 2022).
3. Треть продуктов питания в мире выбрасывается. В ООН запустили глобальную кампанию по борьбе с потерей продовольствия. Доступен по ссылке: <https://news.un.org/ru/story/2019/10/1364302> (дата посещения: 07.05.2024).
4. In world of wealth, 9 million people die every year from hunger, WFP Chief tells Food System Summit. Доступен по ссылке: <https://www.wfp.org/news/world-wealth-9-million-people-die-every-year-hunger-wfp-chief-tells-food-system-summit> (дата посещения: 07.05.2024).
5. АПК будущего. Взгляд на сельское хозяйство сквозь призму анализа больших данных. Доступен по ссылке: <https://www.agroinvestor.ru/analytics/article/31304-apk-budushchego> (дата посещения: 07.05.2024).
6. Maхmen A. Crop pests: under attack. *Nature*, **501**, 15–17 (2013). DOI: 10.1038/501S15a
7. Инге-Вечтомов С.Г. *Генетика с основами селекции* (Н-Л, СПб, 2015).
8. Косолапов В.М., Козлов Н.Н. и Клименко И.А. Геномная селекция: этапы развития. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*, **1**, 8–12 (2018).
9. Telem R.S., Wani S.H., Singh N.B., Nandini R., Sadhukhan R., Bhattacharya S. and Mandal N. Cisgenics - a sustainable approach for crop improvement. *Curr. Genomics*, **14**(7), 468–476 (2013). DOI: 10.2174/13892029113146660013
10. Maghari V.M. and Ardekani A.M. Genetically modified foods and social concerns. *Avicenna J Med Biotechnol.*, **3**(3), 109–117 (2011).
11. Шевелуха В.С. и др. *Сельскохозяйственная биотехнология* (Высшая школа, М., 2003).
12. Esvelt K.M. and Wang H.Y. Genome-scale engineering for systems and synthetic biology. *Molecular Systems Biology*, **9**, 641 (2013). DOI: 10.1038/msb.2012.66
13. Михайлова Е.В., Хуснутдинов Э.А., Чемерис А.В. и Кулуев Б.Р. Доступный арсенал систем CRISPR/Cas для геномного редактирования растений. *Физиология растений*, **69**(1), 38–53 (2022). DOI: 10.31857/S0015330322010134
14. Luo G., Najafi J., Correia P.M.P., Trinh M.D.L., Chapman E.A., Østerberg J.T., Thomsen H.C., Pedas P.R., Larson S., Gao C., Poland J., Knudsen S., DeHaan L. and Palmgren M. Accelerated domestication of new crops: yield is key. *Plant Cell Physiol.*, **63**(11), 1624–1640 (2022). DOI: 10.1093/pcp/pcac065
15. Brookes G. and Barfoot P. *GM crops: global socio-economic and environmental impacts 1996-2014*. (PG Economics Ltd., Dorchester, 2016). DOI: 10.1080/21645698.2022.2118497
16. Tilling T., Neeta L., Vikuolie M. and Rajib D. Genetically modified (GM) crops lifeline for livestock review. *Agricultural Reviews*, **31**(4), 279–285 (2010).
17. Klümper W. and Qaim M. A meta-analysis of the impacts of genetically modified crops. *PLOS ONE*, **9**(11), e111629 (2014). DOI 10.1371/journal.pone.0111629
18. Chen W., Chen L., Zhang X., Yang N., Guo J., Wang M., Ji S., Zhao X., Yin P., Cai L., Xu J., Zhang L., Han Y., Xiao Y., Xu G., Wang Y., Wang S., Wu S., Yang F., Jackson D., Cheng J., Chen S., Sun C., Qin F., Tian F., Fernie A.R., Li J., Yan J. and Yang X. Convergent selection of a WD40 protein that enhances grain yield in maize and rice. *Science*, **375**(6587), eabg7985 (2022). DOI: 10.1126/science.abg7985

19. Kovak E., Blaustein-Rejto D. and Qaim M. Genetically modified crops support climate change mitigation. *Trends in Plant Science*, **27**(7), 627–629 (2022). DOI: 10.1016/j.tplants.2022.01.004
20. Andersson H.C., Arpaia S., Bartsch D., Casacuberta J., Davies H., du Jardin P., Flachowsky G., Herman L., Jones H., Kärenlampi S., Kiss J., Kleter G., Kuiper H., Messéan A., Nielsen K.M., Perry J., Pötting A., Sweet J., Tebbe C., Johannes von Wright A. and Wal J.-M. Scientific opinion addressing the safety assessment of plants developed through cisgenesis and intragenesis. *EFSA Journal*, **10**, 2561 (2012). DOI: 10.2903/j.efsa.2012.2561
21. Nicolìa A., Manzo A., Veronesi F. and Rosellini D. An overview of the last 10 years of genetically engineered crop safety research. *Critical Reviews in Biotechnology*, **34**(1), 77–88 (2014). DOI: 10.3109/07388551.2013.823595
22. Haslberger A.G. Codex guidelines for GM foods include the analysis of unintended effects. *Nature Biotechnology*, **21**(7), 739–741 (2003). DOI:10.1038/nbt0703-739
23. Clemente T.E. and Cahoon E.B. Soybean Oil: Genetic Approaches for Modification of Functionality and Total Content. *Plant Physiology*, **151**(3), 1030–1040 (2009). DOI: 10.1104/pp.109.146282
24. Nayar A. Grants aim to fight malnutrition. *Nature*, (2011). DOI: 10.1038/news.2011.233
25. Li X., Wang Y., Chen S., Tian H., Fu D., Zhu B., Luo Y. and Zhu H. Lycopene is enriched in tomato fruit by CRISPR/Cas9-mediated multiplex genome editing. *Front. Plant Sci.*, **9**, 559 (2018). DOI: 10.3389/fpls.2018.00559
26. Ruiz-Lopez N., Haslam R.P., Napier J.A. and Sayanova O. Successful high-level accumulation of fish oil omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in a transgenic oilseed crop. *The Plant Journal*, **77**(2), 198–208 (2014). DOI:10.1111/tpj.12378
27. Ueta R., Abe C., Watanabe T., Sugano S.S., Ishihara R., Ezura H., Osakabe Y. and Osakabe K. Rapid breeding of parthenocarpic tomato plants using CRISPR/Cas9. *Sci Rep*, **7**, 507 (2017). DOI: 10.1038/s41598-017-00501-4
28. Sayre R., Beeching J.R., Cahoon E.B., Egesi C., Fauquet C., Fellman J., Fregene M., Gruissem W., Mallowa S., Manary M., Maziya-Dixon B., Mbanaso A., Schachtman D.P., Siritunga D., Taylor N., Vanderschuren H. and Zhang P. The BioCassava plus program: biofortification of cassava for sub-Saharan Africa. *Annual Review of Plant Biology*, **62**, 251–272 (2011). DOI:10.1146/annurev-arplant-042110-103751
29. Meli V., Ghosh S., Prabha T., Chakraborty N., Chakraborty S. and Datta A. Enhancement of fruit shelf life by suppressing N-glycan processing enzymes. *PNAS*, **107**(6), 2413–2418 (2010). DOI: 10.1073/pnas.0909329107
30. Кузьмина Ю.В. Методы редактирования генома для увеличения лежкости плодов томата. *Биотехнология и селекция растений*, **3**(1), 31–39 (2020). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-1-06
31. Waltz E. Nonbrowning GM apple cleared for market. *Nature biotechnology*, **33**(4), 326–327 (2015). DOI: 10.1038/nbt0415-326c
32. Halterman D., Guenther J., Collinge S., Butler N. and Douches D. Biotech Potatoes in the 21st Century: 20 Years Since the First Biotech Potato. *Am. J. Potato Res.*, **93**, 1–20 (2016). DOI: 10.1007/s12230-015-9485-1
33. Kwon C.T., Heo J., Lemmon Z.H., Capua Y., Hutton S.F., Van Eck J., Park S.J. and Lippman Z.B. Rapid customization of Solanaceae fruit crops for urban agriculture. *Nat. Biotechnol.*, **38**, 182–188 (2020). DOI: 10.1038/s41587-019-0361-2
34. Banjara M., Zhu L., Shen G., Payton P. and Zhang H. Expression of an Arabidopsis sodium/proton antiporter gene (AtNHX1) in peanut to improve salt tolerance. *Plant Biotechnol. Rep.*, **6**, 59–67 (2012). DOI: 10.1007/s11816-011-0200-5
35. Liang C. Genetically Modified Crops with Drought Tolerance: Achievements, Challenges, and Perspectives. In *Drought Stress Tolerance in Plants*, Eds by M. Hossain, S. Wani, S. Bhattacharjee, D. Burritt, L.S. Tran (Springer, Cham, 2016). pp. 531–547. DOI: 10.1007/978-3-319-32423-4_19
36. Vaecck M., Reynaerts A., Höfte H., Jansens S., De Beuckeleer M., Dean C., Zabeau M., Van Montagu M. and Leemans J. Transgenic plants protected from insect attack. *Nature*, **328**, 33–37 (1987). DOI: 10.1038/328033a0
37. Naranjo S. *The Present and Future Role of Insect-Resistant Genetically Modified Cotton in IPMF*

- (USDA. gov. United States department of agriculture, 2008). DOI: 10.1007/978-1-4020-8373-0_6
38. Heck G.R., Armstrong C.L., Astwood J.D., Behr C.F., Bookout J.T., Brown S.M., Cavato T.A., DeBoer D.L., Deng M.Y., George C., Hillyard J.R., Hironaka C.M., Howe A.R., Jakse E.H., Ledesma B.E., Lee T.C., Lirette R.P., Mangano M.L., Mutz J.N., Qi Y., Rodriguez R.E., Sidhu S.R., Silvanovich A., Stoecker M.A., Yingling R.A., You J. Development and Characterization of a CP4 EPSPS-Based, Glyphosate-Tolerant Corn Event. *Crop Sci.*, **45**(1), 329–339 (2005). DOI:10.2135/cropsci2005.0329
 39. Funke T., Han H., Healy-Fried M.L., Fischer M., Schönbrunn E. Molecular basis for the herbicide resistance of Roundup Ready crops. *PNAS*, **103**(35), 13010-13015 (2006). DOI: 10.1073/pnas.0603638103
 40. Widespread crop damage from dicamba herbicide fuels controversy. Доступен по ссылке: <https://cen.acs.org/articles/95/i33/Widespread-crop-damage-dicamba-herbicide.html> (дата посещения: 07.05.2024).
 41. Kromdijk J., Głowacka K., Leonelli L., Gabilly S.T., Iwai M., Niyogi K.K. and Long S.P. Improving photosynthesis and crop productivity by accelerating recovery from photoprotection. *Science*, **354**(6314), 857–861 (2016). DOI:10.1126/science.aai887
 42. Evans J.R. Improving photosynthesis. *Plant Physiology*, **162**(4), 1780–1793 (2013). DOI: 10.1104/pp.113.219006
 43. Karki S., Rizal G. and Quick W.P. Improvement of photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) by inserting the C4 pathway. *Rice*, **6**(1), 28 (2013). DOI: 10.1186/1939-8433-6-28
 44. Косолапов В.М., Козлов Н.Н., Клименко И.А. и Золотарев В.Н. Генетическая паспортизация селекционных достижений кормовых культур. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*, **5**, 40–46 (2020). DOI: 10.30850/vrsn/2020/5/40-46
 45. Brickell C.D., Alexander C., Cubey J.J., David J.C., Hoffman M.H.A., Leslie A.C., Malécot V. and Xiaobai J. *International code of nomenclature for cultivated plants* (Scripta Horticulturae, Leuven, 2016).
 46. Сухарева А.С. и Кулуев Б.Р. ДНК-маркеры для генетического анализа сортов культурных растений. *Биомика*, **10**(1), 69-84 (2018).
 47. Распоряжение Правительства РФ от 04.07.2023 N 1788-р «Об утверждении Стратегии развития производства органической продукции в Российской Федерации до 2030 года». Доступен по ссылке: <https://soz.bio/strategiyu-razvitiya-organicheskogo-pr/> (дата посещения: 07.05.2024).
 48. Захаренко В.А. Биопестициды и средства защиты растений с небιοцидной активностью в интегрированном управлении фитосанитарным состоянием зерновых агроэкосистем. *Агрoхимия*, **6**, 64-76 (2015).
 49. Kevin V.J. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, **255**(2), 571–586 (2003). DOI:10.1023/A:1026037216893
 50. Alvarez A.L., Weyers S.L., Goemann H.M., Peyton B.M. and Gardner R.D. Microalgae, soil and plants: A critical review of microalgae as renewable resources for agriculture. *Algal Res.*, **54**, 102200 (2021). DOI:10.1016/j.algal.2021.102200
 51. Song X., Bo Y., Feng Y., Tan Y., Zhou C., Yan X., Ruan R., Xu Q. and Cheng P. Potential applications for multifunctional microalgae in soil improvement. *Front. Environ. Sci.*, **10** (2022) DOI: 10.3389/fenvs.2022.1035332
 52. Solomon W., Mutum L., Janda T. and Molnár Z. Potential benefit of microalgae and their interaction with bacteria to sustainable crop production. *Plant Growth Regul.*, **101**, 53–65 (2023). DOI: 10.1007/s10725-023-01019-8
 53. Bouwman A.F., Beusen A.H.W. and Billen G. Human alteration of the global nitrogen and phosphorus soil balances for the period 1970–2050. *Glob. Biogeochem. Cycles*, **23**, (2009). DOI: 10.1029/2009GB003576
 54. Rawat P., Das S., Shankhdhar D. and Shankhdhar S.C. Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **21**, (2021). DOI: 10.1007/s42729-020-00342-7
 55. Elser J.J. Phosphorus: a limiting nutrient for humanity? *Curr Opin Biotechnol.*, **23**(6), 833–838 (2012). DOI: 10.1016/j.copbio.2012.03.001

-
56. Alori E.T., Glick B.R., Babalola O.O. Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. *Front Microbiol.*, **8**, 971 (2017). DOI: 10.3389/fmicb.2017.00971
 57. Costa O.Y.A., Raaijmakers J.M. and Kuramae E.E. Microbial Extracellular Polymeric Substances: Ecological Function and Impact on Soil Aggregation. *Front Microbiol.* **9**, 1636 (2018). DOI: 10.3389/fmicb.2018.01636
 58. Ghumare V., Rana M., Gavka O. and Khachi B. Bio-fertilizers-increasing soil fertility and crop productivity. *J. Indust. Pollution Control.*, **30**(2), 196–201 (2014).
 59. Aloo B.N., Tripathi V., Makumba B.A. and Mbega E.R. Plant growth-promoting rhizobacterial biofertilizers for crop production: The past, present, and future. *Front. Plant Sci.*, **13**, 1002448 (2022). DOI: 10.3389/fpls.2022.1002448
 60. Хамидулина Х.Х., Рабикова Д.Н. Зеленые пестициды (преимущества и проблемы внедрения). *Токсикологический вестник*, **3**, 53–56 (2020). DOI: 10.36946/0869-7922-2020-3-53-56
 61. Benhamou N., Lafontaine P.J. and Nicole M. Induction of Systemic Resistance to Fusarium Crown and Root Rot in Tomato Plants by Seed Treatment with Chitosan. *Phytopathology. American Phytopathological Society*, **84**(12), 1432–1444 (2012). DOI: 10.1094/Phyto-84-1432
 62. Plata-Rueda A., Martínez L., Santos M., Fernandes F.L., Wilcken C.F., Soares M.A., Serrão J.E. and Zanuncio J.C. Insecticidal activity of garlic essential oil and their constituents against the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae). *Sci Rep.*, **7**, 46406 (2017). DOI: 10.1038/srep46406
 63. Биозащита захватывает умы и территории. Доступен по ссылке: <https://www.agroxxi.ru/gazeta-zaschita-rastenii/zrast/biozaschita-zahvatyvaet-umy-i-territorii.html> (дата посещения: 07.05.2024).
 64. Уровень внедрения агrobiотехнологий в России лишь 2%. Доступен по ссылке: <https://www.agroxxi.ru/zhurnal-agromir-xxi/stati-rastenievodstvo/uroven-vnedrenija-agrobiotekhnologii-v-rossii-lish-2.html> (дата посещения: 07.05.2024).
 65. Сколково: через пять лет Россия выйдет на международные рынки с собственными агrobiотехнологиями. Доступен по ссылке: <https://old.sk.ru/news/b/press/archive/2017/02/09/skolkovo-cherez-pyat-let-rossiya-vyydet-na-mezhdunarodnye-rynki-s-sobstvennymi-agrobiotekhnologiyami.aspx> (дата посещения: 07.05.2024).
 66. Перечень средств производства для применения в системе органического и биологизированного земледелия на основе ГОСТ 33080-2016 и международных стандартов органического сельского хозяйства. Доступен по ссылке: <https://soz.bio/perechen-biopreparatov-i-bioudobren-2/> (дата посещения: 07.05.2024).
 67. Богоутдинов Д.З., Фоминых Т.С., Кастальева Т.Б., Гирсова Н.В., Павловская Н.Е., Гагарина И.Н., Мишуров Н.П., Неменуцкая Л.А. и Пискунова Н.А. *Методы диагностики возбудителей заболеваний овощных культур: анализ. обзор* (ФГБНУ «Росинформагротех», М., 2020).
 68. Chakraborty S. и Newton A.C. Climate change, plant diseases and food security: an overview. *Plant Pathology*, **60**, 2–14 (2011). DOI: 10.1111/j.1365-3059.2010.02411.x
 69. Bebbler D.P., Holmes T., Smith D. and Gurr S.J. Economic and physical determinants of the global distributions of crop pests and pathogens. *New Phytologist*, **202**(3), 901-910 (2014). DOI: doi.org/10.1111/nph.12722
 70. *ГОСТ 21507-2013. Защита растений. Термины и определения.* (Стандартинформ, М., 2014)
 71. Vanerjee S. and van der Heijden M.G.A. Soil microbiomes and one health. *Nat. Rev. Microbiol.*, **21**, 6–20 (2023). DOI: 10.1038/s41579-022-00779-w
 72. Здоровые почвы – основа для производства здоровых пищевых продуктов. Доступен по ссылке: <https://openknowledge.fao.org/items/b56b85d3-9082-4512-8906-c31f2ff3f391> (дата посещения: 07.05.2024).
 73. Утрата питательных веществ в почвах снижает качество фруктов и овощей. Доступен по ссылке: <https://news.un.org/ru/story/2022/12/1435497> (дата посещения: 07.05.2024).