РОЗДІЛ І. ГЕНЕТИКА, ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН ТА ПРИКЛАДНА БОТАНІКА

УДК 577.21 + 631.52

МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ТЕРМІНАТОРНИХ ТЕХНОЛОГІЙ. ІІ. ОЗНАКОСПЕЦИФІЧНІ ГЕНЕТИЧНІ ТЕХНОЛОГІЇ ОБМЕЖЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ. ЗАСТОСУВАННЯ ДЛЯ ОТРИМАННЯ ГІБРИДНИХ СОРТІВ

Котик Б.Є., Галкін О.Ю., Горчаков В.Ю.

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»
03056, Україна, Київ, просп. Перемоги, 37

alexfbt@mail.ua

Термінаторні технології (genetic use restriction technology, GURT), які використовують трансгенез з метою пригнічення фертильності на генетичному рівні, є цікавим інструментом у біотехнології рослин. В оглядовій статті розкрито молекулярно-генетичні основи технології, що обмежують використання на рівні ознаки (T-GURT). T-GURT можуть бути представлені трьома різними механізмами: по-перше, цільова корисна ознака фенотипово проявляється за певних умов (цільовий ген і відповідна ознака можуть бути інактивовані при застосуванні екзогенного індуктора, а для інактивації ознаки в другому поколінні рослин необхідно заздалегідь обробляти насіння індуктором; по-друге, цільова корисна ознака не проявляється у фенотипі за звичайних умов, а для активації цільового гена та, відповідно, фенотипового прояву ознаки необхідне використання екзогенних індукторів (при цьому необхідно щороку обробляти рослини індуктором); по-третє, система делеції трансгенів (до стратегій T-GURT можна віднести модифікацію системи, яка передбачає індуцибельний механізм регуляції видалення трансгенів). Можна зазначити наявність схожих рис та відмінностей між технологіями гібридних сортів та GURT. Технології створення гібридних сортів можна вважати одним з різновидів термінаторних технологій. Проте у випадку GURT втрати від висадки насіння (яке за визначенням є стерильним) будуть абсолютними, і використання насіння для селекції буде неможливим. У випадку використання насіння гібридів спостерігається зниження врожайності та погіршення господарських ознак, але його використання не призводить до абсолютної відсутності врожаю.

Ключові слова: термінаторні технології, трансгенез, біотехнологія рослин, гібридні сорти рослин.

Котик Б.Е., Галкин А.Ю., Горчаков В.Ю. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ТЕРМИНАТОРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ. II. ПРИЗНАКОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ. ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ГИБРИДНЫХ СОРТОВ / Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт», 03056, Украина, Киев, просп. Победы, 37

Терминаторные технологии (genetic use restriction technology, GURT), использующие трансгенез с целью подавления фертильности на генетическом уровне, является интересным инструментом в биотехнологии растений. В обзорной статье раскрыты молекулярно-генетические основы технологий, ограничивающих использование на уровне признака (T-GURT). T-GURT могут быть представлены тремя различными механизмами: во-первых, целевой полезный признак фенотипически проявляется при определенных условиях (целевой ген и соответствующий признак могут быть инактивированы при применении экзогенного индуктора, и для инактивации признака во втором поколении растений необходимо заранее обрабатывать семена индуктором); во-вторых, целевой полезный признак не проявляется в фенотипе в обычных условиях, а для активации целевого гена и, соответственно, фенотипического проявления признака необходимо использование экзогенных индукторов (при этом необходимо ежегодно обрабатывать растения индуктором), в-третьих, система делеции трансгенов (к стратегиям T-GURT можно отнести модификацию системы, предусматривающую индуцибельный механизм регуляции удаления трансгенов). Следует отметить наличие сходных черт и различий между технологиями гибридных

сортов и GURT. Технологии создания гибридных сортов можно считать одной из разновидностей терминаторних технологий. Однако в случае GURT потери от высадки семян (которые по определению являются стерильными) будут абсолютными, и использование семян для селекции будет невозможным. В случае использования семян гибридов наблюдается снижение урожайности и ухудшению хозяйственных признаков, но их использование не приводит к абсолютному отсутствию урожая.

Ключевые слова: терминаторные технологии, трансгенез, биотехнология растений, гибридные сорта растений.

Kotyk B.Ye., Galkin A.Yu., Gorchakov V.Yu. MOLECULAR BIOLOGICAL BASES OF TERMINATOR TECHNOLOGY. II. TRAIT-LEVEL GENETIC USE RESTRICTION TECHNOLOGIES. APPLICATION FOR HYBRID VARIETIES / National Technical University of Ukraine «Kyiv Polytechnic Institute», 03056, Ukraine, Kyiv, Peremohy av., 37

Terminator technology (genetic use restriction technology, GURT) is technology that uses transgenesis for the purpose of suppression of fertility at the genetic level (the ability to form seed varieties of crops or produce second generation offspring animals). The aim is to protect the seed producers or prevent unwanted leakage genes. There are two types of GURT.

Terminator technologies that restrict the use of at grades or variety-specific genetic use restriction technologies (V-GURT, variety-specific GURT) – genetic use restriction technologies, which will be triggered at a variety (with all its attributes) as a result of entering into the variety of plants these genetic changes that prevent the formation of more than two generations, and therefore limit the opportunity for farmers growing varieties need annual purchase of seeds.

Genetic technologies that restrict the use of signs at or trait-specific genetic use restriction technologies (T-GURT, trait-specific GURT) – an alternative form integrated into the genome of protection mechanism (genetic protection); genetic technologies that restrict the use of concrete (specific) signs. In this case only means of technology protected transgenic trait – added genetic engineers economically valuable feature – and it can be activated at the request of the farmer or final user.

It was developed several variants of T-GURT and V-GURT with certain differences at the genetic mechanisms. But all genetic constructions GURT have one basic scheme of construction, the same basic elements. They include: repressor gene that responds to external stimuli (subjected to external regulation); recombinase gene (gene-activating signs), the expression of which is blocked by repressor; target gene.

Regarding inductors (external inducing impacts), most of which are supposed to be chemical nature, they must meet the following requirements: inductor should be subject to biodegradation; inductor must be non-toxic to ecosystems; can be directly applied both in the field and in terms of facilities (industrial, laboratory) for seed treatment; high capacity for absorption surface plants or seeds; catalytic effect of inductor must be specific for a particular (target) genetic system; inductor high activity, inducible genetic system should be sensitive to low doses of inducer. Both types of technologies (V-GURT and T-GURT) can be applied to any species and have no restrictions on existing methods of genetic transformation.

T-GURT may be represented by three different mechanisms. First, the target useful feature phenotypically manifested under certain conditions (target gene and the corresponding feature can be inactivated in the application of exogenous inducer, and to inactivate features the second generation of plants must pre-process the seeds inducer. Secondly, the target of useful features not seen in the phenotype under normal conditions and for activation of target gene and, thus, the phenotypic manifestation of symptoms requires the use of exogenous inducers (the need to process plants every year inducer). Thirdly, the system deletion of transgenes (to T-GURT strategies include modification system, which provides inducible transgene removal mechanism of regulation).

It's possible to note the presence of similarities and differences between hybrid technology and GURT. Hybrid technology may be considered one of the varieties of terminator technology. However, in the GURT case loss of landing of seeds (which by definition sterile) will be absolute, and use seeds for breeding is not possible. In the case of hybrids seed decrease in yields and deteriorating economic signs, but its use does not lead to the absolute lack of yield.

Key words: terminator technology, transgenesis, plant biotechnology, biosafety, hybrid varieties of plants.

ВСТУП

Термінаторні технології (genetic use restriction technology, GURT) – технології, які використовують трансгенез для пригнічення фертильності на генетичному рівні, тобто здатності утворювати насіння сортами культурних рослин або давати нащадків іншим поколінням тварин [1, 2]. Метою є захист виробників насіння або запобігання небажаному витоку генів. Розрізняють два типи GURT: 1) термінаторні технології, що обмежують

використання на рівні сортів, або сортоспецифічні генетичні технології обмеження використання (V-GURT, variety-specific GURT) (молекулярно-біологічні основи їх функціонування описане нами раніше); 2) генетичні технології, що обмежують використання на рівні ознаки, або ознакоспецифічні генетичні технології обмеження використання (T-GURT, trait-specific GURT).

T-GURT – це форма інтегрованого в геном механізму захисту (генетичного захисту); генетичні технології, що обмежують використання конкретних (специфічних) ознак. У цьому випадку засобами технології захищена тільки трансгенна ознака – додана генними інженерами господарсько-цінна ознака, – і вона може бути активована за бажанням фермера / кінцевого споживача [3, 4].

Усі генетичні конструкції GURT мають одну принципову схему будови, однакові основні елементи. Вони містять: ген-репресор, який реагує на зовнішні впливи (піддається зовнішній регуляції); ген рекомбінази (ген-активатор ознаки), експресія якого блокується репресором; цільовий ген. Індуктори (зовнішні індукуючі впливи), більшість яких, як передбачається, матимуть хімічну природу, повинні відповідати такими вимогам: індуктор підлягає біодеградації; індуктор має бути нетоксичним для екосистем і може бути безпосередньо застосований і в польових умовах, і в умовах приміщень (виробничих, лабораторних) для обробки насіння; висока здатність до абсорбції поверхнею рослин або насіння; каталітична дія індуктора повинна бути специфічною щодо конкретної (цільової) генетичної системи; висока активність індуктора: індуцибельна генетична система повинна бути чутливою до малих доз індуктора [1, 2].

Мета роботи – аналіз молекулярно-біологічних та молекулярно-генетичних механізмів функціонування ознакоспецифічних генетичних технології обмеження використання, а також ролі GURT у створенні гібридних сортів.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ T-GURT

Реалізація стратегії T-GURT забезпечується за допомогою трьох механізмів [5].

I. Цільова корисна ознака фенотипово проявляється за звичайних умов. Цільовий ген і відповідна ознака можуть бути інактивовані при застосуванні екзогенного індуктора. Для інактивації ознаки в другому поколінні рослин необхідно заздалегідь обробляти насіння індуктором.

II. Цільова корисна ознака не проявляється у фенотипі за звичайних умов. Для активації цільового гена та, відповідно, фенотипового прояву ознаки слід використовувати екзогенні індуктори, якими необхідно щороку обробляти рослини (цей механізм цілком протилежний до першого).

III. Система делеції трансгенів (до стратегій T-GURT можна віднести модифікацію системи, яка передбачає індуцибельний механізм регуляції видалення трансгенів).

Генетична конструкція, що забезпечує реалізацію механізму I типу, містить ген корисної ознаки, ген рекомбінази та ген-регулятор в одній касеті (рис. 1). Ген корисної ознаки є конститутивно активним за звичайних умов (відповідно, господарсько цінна ознака проявляється у фенотипі). Але зазначений ген фланкований сайтами ексцизії, за якими він може бути елімінований при активації гена рекомбінази. Експресія гена рекомбінази пригнічена за звичайних умов білком-репресором – продуктом гена-регулятора. При застосуванні хімічного індуктора інактивується експресія гена-регулятора (блокується безпосередньо ген, якщо його промотор чутливий до дії індуктора, або інактивується білок-репресор, продукт гена, якщо хімічний індуктор здатний взаємодіяти з молекулами цього білка). Як наслідок, ініціюється експресія гена рекомбінази. Фермент видаляє послідовність цільового гена, і корисна ознака елімінується у всіх наступних поколіннях. При цьому необхідно обробляти насіння хімічним індуктором перед продажем споживачу при

трансформації рослин такою конструкцією. Прояв ознаки буде спостерігатися лише в одному поколінні рослин, отриманих безпосередньо з обробленого насіння. Цей механізм не впливає на фертильність насіння, він лише визначає наявність або відсутність певної ознаки [6].

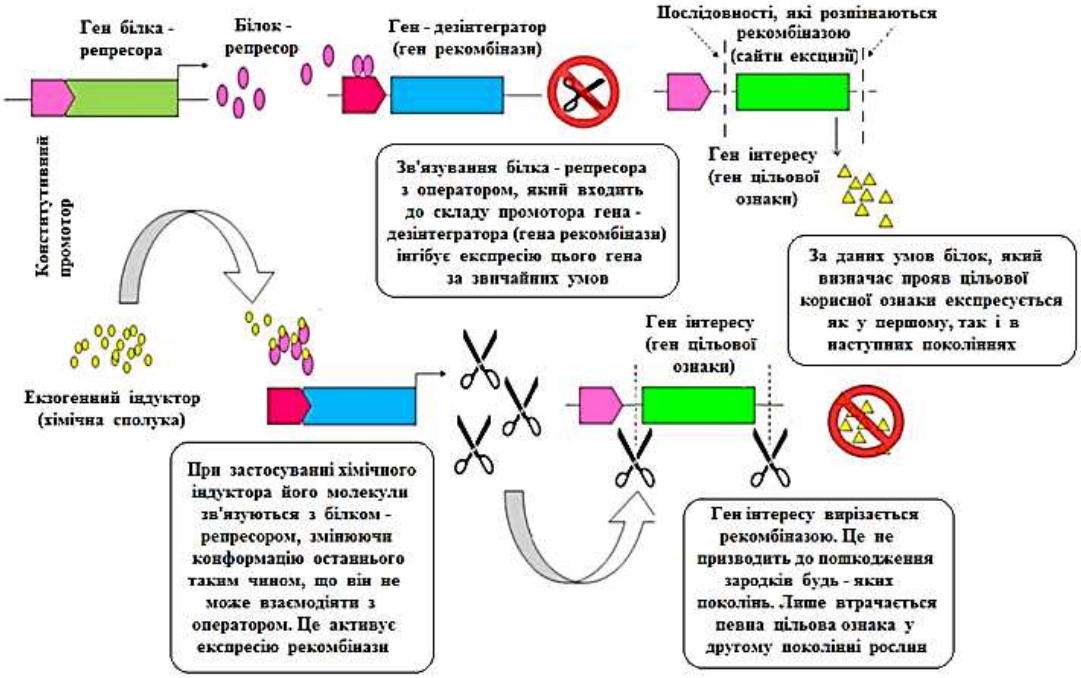

Рис. 1. Функціонування одного з можливих механізмів T-GURT I типу [6, 7]

Механізм II типу відрізняється тим, що ген, який кодує корисну цільову ознаку, «мовчить» (не експресується). Але він може бути активований при дії хімічного індуктора, що потребує від фермерів щорічної обробки рослин або насіння відповідними хімічними речовинами (рис. 2). У наступних фертильних поколіннях ген успадковується в неактивному стані, тому фермер повинен щороку купувати хімічну речовину – індуктор для обробки рослин (або насіння), якщо він зацікавлений у прояві ознаки [8].

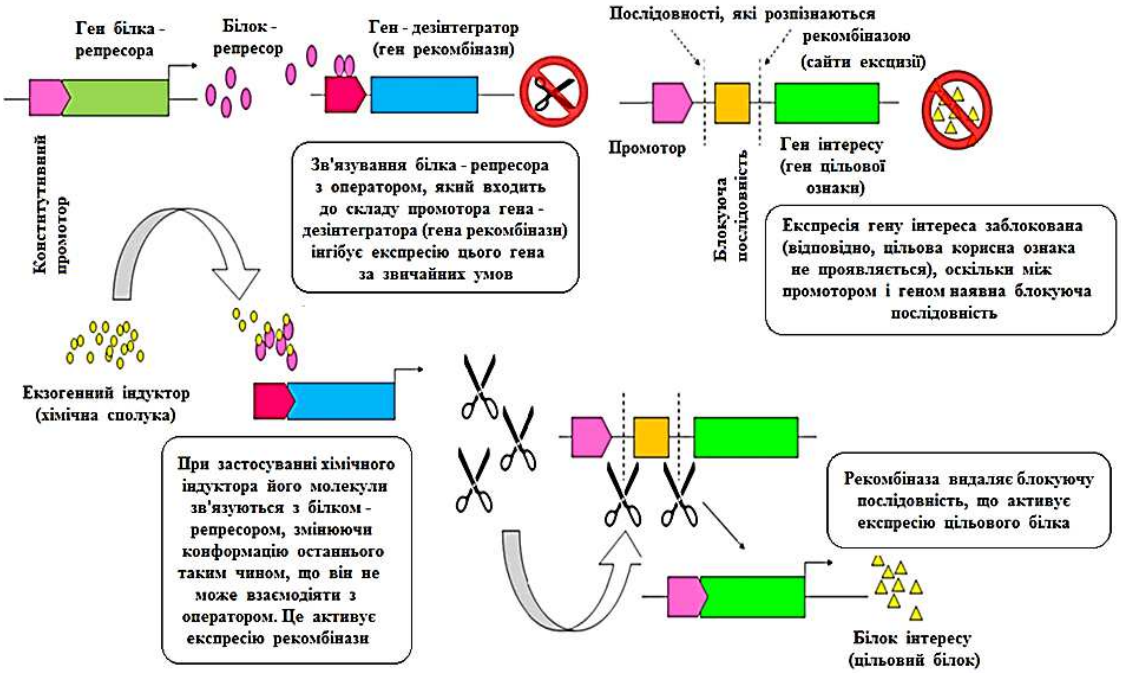

Рис. 2. Функціонування одного з можливих механізмів T-GURT II типу [6-9]

Застосування цього механізму обмежувалось умовою, що ген інтересу може бути активований фермером (шляхом обприскування посівів індуктором) лише у випадку несприятливих обставин, дії стресових факторів (наприклад, хвороба рослин, спричинена шкідниками, фітопатогенами), тобто у випадку крайньої необхідності. Мета подібної вибіркової стратегії – запобігти зростанню резистентності до пестицидів у популяціях культурних та/або дикорослих рослин, в той час як система гнучких (і своєчасних) заходів дозволить сільгоспвиробникам заощадити на покупці хімічних речовин [6]. На нашу думку, подібні доводи були зумовлені спробою виправдати необхідність застосування GURT та зняття мораторію на ці технології.

Вищезазначені механізми T-GURTs передбачають використання індуцибельних промоторів для активації або інактивації трансгенів. Індукуючими факторами впливу залежно від типу промотора можуть виступати: білки, які гомологічні рецепторам і здатні взаємодіяти з певними лігандами, тепловий шок, хімічні індуктори (молекули стероїдів: дексаметазон, естрадіол; антибіотики: бензотіадіазол, тетрациклін), білки патогенезу, метали (мідь), низькомолекулярні органічні сполуки (етанол), пестициди (гербіциди, інсектициди, зокрема, метоксифенозид) тощо [9].

Система делеції трансгенів – перспективна, хоча не випробувана в польових умовах, технологія обмеження використання трансгенних ознак, розроблена для видалення усіх функціональних трансгенів з пилку, насіння, плодів та інших їстівних частин генетично модифікованих культур, коли наявність трансгенів здатна спричинити певні проблеми. Цей механізм заснований на використанні двох сайт-специфічних рекомбінаційних систем з метою видалення «непотрібної» ДНК після сайт-специфічної інтеграції або елімінації усіх трансгенів з певних органів-мішеней рослин для запобігання витоку трансгенів у довкілля [9, 10].

Функціонування системи делеції трансгенів забезпечується завдяки поєднанню та взаємодії двох рекомбінаційних систем (рис. 3): *Cre/lox* – система з бактеріофагу *P1*, *FLP/FRT* – система з *Saccharomyces cerevisiae*. Трансгени, гени рекомбіназ *FLP* та *Cre* під контролем тканинноспецифічних або стадієспецифічних промоторів (працюють на певній стадії розвитку, обмежена експресія) вбудовані між двома злитними послідовностями розпізнавання *lox-FRT* (розпізнаються рекомбіназами). Було помічено, що два прямі повтори злитних послідовностей *lox-FRT* посилюють ефективність функціонування рекомбіназ *Cre* та *FLP*. Біосинтез рекомбіназ призводить до видалення усіх функціональних трансгенів між двома *lox-FRT* сайтами, включаючи і гени рекомбіназ. Використання промоторів, специфічних для тканин пилку або тканин насіння (промотор *PAB5* з рослини *Arabidopsis*), забезпечує експресію рекомбіназ *FLP* і *Cre* та ексцизію трансгенів виключно в клітинах цих тканин. Передбачається, що делетовані послідовності будуть еліміновані неспецифічними клітинними нуклеазами [9, 10]. Утворення нетрансгенного пилку та насіння генетично модифікованими рослинами може усунути або, принаймні, суттєво знизити ризики поширення трансгенів у довкіллі. З іншого боку, фермери будуть змушені щорічно купувати насіння, якщо для них буде важливим підтримання фенотипового прояву трансгенної господарсько цінної ознаки (наприклад, стійкості до комах-шкідників або гербіцидів). Подібна технологія є кроком уперед порівняно з раніше описаними термінаторними технологіями, оскільки вона усуває одну з важливих проблем біобезпеки – поширення трансгенів у довкіллі [6].

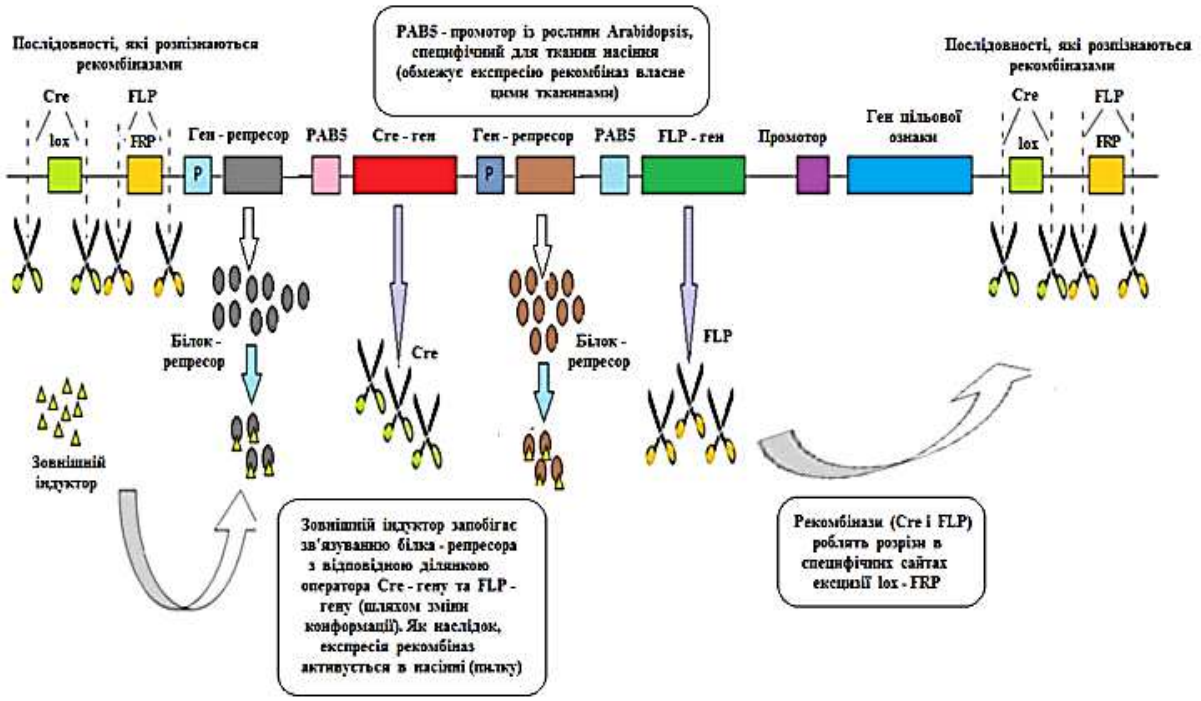

Рис. 3. Функціонування одного з можливих механізмів системи делеції трансгенів [7, 11, 12]

PAB5-FLP-система залишається інтактною в рослинах, які розмножуються вегетативно, оскільки промотор *PAB5* є специфічним для тканин пилку та насіння. Була запропонована конструкція, що дає можливість регулювати делецію *PAB5-FLP*-системи в рослинах зі статевим розмноженням, які утворюють насіння. Вона представлена касетою РНК-інтерференції м-РНК – *FLP* під контролем індуцибельного промотора (як хімічний індуктор був запропонований етанол). Касета РНК-інтерференції вводиться до геному одночасно з системою делеції трансгенів (цільові трансгени та гени рекомбіназ *Cre* і *FLP*, обмежені сайтами *lox-FRT*). За звичайних умов експресія *FLP*-рекомбінази призводить до делеції усіх функціональних трансгенів. Але застосування хімічного індуктора (наприклад, етанола) активує касету РНК-інтерференції. Утворені м-РНК – зворотні транскрипти гена *FLP* – взаємодіють з продуктами останнього та блокують синтез *FLP*-рекомбіназ. У результаті функціонування касети інтерференції перешкоджає делеції трансгенів у пилку та насінні. Отже, трансгени будуть експресуватися в тканинах пилку і насіння за умови їх обробки відповідним індуктором. Якщо необхідно підтримувати прояв ознаки в поколіннях, то фермери повинні будуть застосовувати хімічні речовини-індуктори щорічно. Якщо потреба в цьому відсутня, трансгени елімінуються у всіх подальших поколіннях. Зазначене удосконалення дало можливість віднести систему делеції трансгенів до категорії T-GURT [11, 12].

ЗАСТОСУВАННЯ GURT ДЛЯ ОТРИМАННЯ ГІБРИДНИХ СОРТІВ

Гібридні технології (технології отримання гібридних сортів) мають певні переваги, які роблять їх корисними в селекції рослин та виробництві продуктів харчування. До них можна віднести: підвищену продуктивність, відносну легкість селекціонування бажаних ознак, «вбудовану» систему захисту від розмноження гібридного сорту. Функціонування останньої засноване на тому, що гібриди першого покоління характеризуються підвищеними життєздатністю, продуктивністю, стійкістю тощо (гібридною силою, або гетерозисом). Але в другому та наступних поколіннях потомків гібридів життєва сила зменшується, спостерігається розщеплення за генотипом, і, відповідно, фенотипом з набуттям окремих батьківських ознак. Тому для фермерів, які вирощують гібридні сорти,

немає сенсу зберігати насіння гібридів першого покоління для посадки в наступні роки. Вони змушені купувати нові партії насіння щорічно, якщо зацікавлені в отриманні переваг від культивування певного гібридного сорту. Проте, на відміну від GURT-модифікованого насіння, фермери можуть використовувати насіння гібридів (так звані генетичні ресурси) для проведення власних селекційних програм, оскільки насіння є життєздатним і фертильним [5-15].

Наявність генетично детермінованих механізмів захисту від тривалого використання гібридних сортів слугувало потужним стимулом розвитку приватної індустрії насінництва. Були створені гібридні сорти таких важливих сільськогосподарських культур, як кукурудза, сорго, рис, велика кількість овочевих культур [16].

Можна зазначити наявність схожих рис та відмінностей між технологіями гібридних сортів та GURT. Спільною для обох технологій є форма захисту інтелектуальної власності – прав на створені сорти, яка передбачає неможливість використання насіння фермерами для наступних посадок. У цьому сенсі технології створення гібридних сортів можна вважати одним з різновидів термінаторних технологій. Проте у випадку GURT ця властивість набуває крайньої форми: втрати від висадки насіння (яке за визначенням є стерильним) будуть абсолютними, і використання насіння для селекції буде неможливим. У випадку використання насіння гібридів спостерігається зниження врожайності та погіршення господарських ознак, але його використання не призводить до абсолютної відсутності врожаю, як у першому випадку [17, 18].

УЗАГАЛЬНЕННЯ

В огляді літератури було розглянуто молекулярно-біологічні основи термінаторних технологій (GURT), які базуються на ознакоспецифічних генетичних механізмах обмеження використання (T-GURT). Було встановлено, що T-GURT можуть бути представлені трьома різними механізмами. Перший реалізується у випадку, коли цільова корисна ознака фенотипово проявляється за певних умов; цільовий ген і відповідна ознака можуть бути інактивовані при застосуванні екзогенного індуктора, і для інактивації ознаки в другому поколінні рослин необхідно заздалегідь обробляти насіння індуктором. Другий механізм передбачає, що цільова корисна ознака не проявляється у фенотипі за звичайних умов, а для активації цільового гена та, відповідно, фенотипового прояву ознаки необхідне використання екзогенних індукторів (при цьому необхідно щороку обробляти рослини індуктором). Третій принциповий підхід являє собою систему делеції трансгенів (передбачає індуцибельний механізм регуляції видалення трансгенів). Технології створення гібридних сортів слід розглядати як різновид термінаторних технологій із механізмом «часткового обмеження», адже у випадку використання насіння гібридів спостерігається зниження врожайності та погіршення господарських ознак, але його використання не призводить до абсолютної відсутності врожаю. Подальші дослідження можуть бути спрямовані на обговорення та аналіз термінаторних технологій з позицій біоетики, національної та біологічної безпеки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Sang Y. Gene use restriction technologies for transgenic plant bioconfinement / Y. Sang, R.J. Millwood, C.N. Stewart // Plant Biotechnol. J. – 2013. – Vol. 11. – P. 649-658.
2. Hills M.J. Genetic use restriction technologies (GURTs): strategies to impede transgene movement / M.J. Hills, L. Hall, P.G. Arnison, A.G. Good // Trends in Plant Science. – 2007. – Vol. 12(4). – P. 177-183.
3. The implications of the new technology for the control of plant gene expression for the conservation and sustainable use of biological diversity: report of the Subsidiary Body on

Scientific, Technical and Technological Advice of the Convention on Biological Diversity. – Montreal, 1999. – 58 p.

4. International Seed Federation. Genetic Use Restriction Technologies. – Bangalore: 2003. – [Електроний ресурс]. – Режим доступу: http://www.worldseed.org/isf/biotechnology.html
5. Potential impacts of genetic use restriction technologies (GURTs) on agricultural biodiversity and agricultural production systems / B. Visser, D. Eaton, N. Louwaars, I. van der Meer, J. Beekwilder, F. van Tongeren // Background Study Paper (FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture). – 2001. – № 15. – P. 1-40.
6. The impact of "terminator" technology / B. Visser, I. Meer, N. Louwaars, J. Beekwilder, D. Eaton // Biotechnol. Development Monitor. – 2001. – Vol. 48. – P. 9-12.
7. Lombardo L. Genetic use restriction technologies: A review / L. Lombardo // Plant Biotechnology Journal. – 2014. – Vol. 12. – P. 995-1005.
8. Shi G. Intellectual property rights, genetic use restriction technologies (GURTs), and strategic behavior. Selected paper prepared for presentation at the American Agricultural Economics Association: annual Meeting / G. Shi. – California : Long Beach, 2006. – 31 p.
9. Borghi L. Inducible gene expression systems for plants / L. Borghi / In Plant developmental biology: methods and protocols. – Totowa, NJ: Humana Press, 2010. – P. 65-75.
10. Srivastava V. Marker-free site-specific gene integration in plants / V. Srivastava, D.W. Ow // Trends Biotechnol. – 2004. – Vol. 22(12). – P. 627-629.
11. Keenan R.J. Nontransgenic crops from transgenic plants / R.J. Keenan, W.P. Stemmer // Nat. Biotechnol. – 2002. – Vol. 20(3). – P. 215-216.
12. Li Y. Gene deletor: a new tool to address gene flow and food safety concerns over transgenic crop plants / Y. Li // Front. Biol. – 2012. – Vol. 7(6). – P. 557-565.
13. Consequences of hybridization and heterozygosity on plant vigor and phenotypic stability / E. Fridman // Plant Science. – 2015. – Vol. 232. – P. 35-40.
14. Laserna M.P. Genetic diversity among plants of non-transgenic and transgenic versions of a single cross maize hybrid / M.P. Laserna, C.G. Lopez, M. Aulicino, G.A. Maddonni // Field Crops Research. – 2015. – Vol. 176. – P. 56-60.
15. Kumar N. Biotechnological approaches for the genetic improvement of *Jatropha curcas* L. : A biodiesel plant / N. Kumar, A.S. Singh, S. Kumari, M.P. Reddy // Industrial Crops and Products. – 2015. – Vol. 76. – P. 817-828.
16. Economic and policy aspects of 'terminator' technology / D. Eaton, F. van Tongeren, N. Louwaars, B. Visser, I. van der Meer // Biotechnol. Develop. Monitor. – 2002. – Vol. 49. – P. 19-22.
17. Gupta P.K. The terminator technology for seed production and protection: why and how? / P.K. Gupta // Current Science. – 1998. – Vol. 75. – P. 1319-1323.
18. Goeschl T. The development impact of genetic use restriction technologies: a forecast based on the hybrid crop experience / T. Goeschl, T. Swanson // Environment and Development Economics. – 2003. – Vol. 8(1). – P. 149-165.