

**Assessment of Gene Flow from Genetically Modified
Anthracnose-Resistant Chili Pepper (*Capsicum annum L.*)
to a Conventional Crop**

Disusun Oleh :

Arya Widura Ritonga : A253100041



**PROGRAM STUDI
PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
DEPARTEMEN AGRONOMI DAN HORTIKULTURA
SEKOLAH PASCA SARJANA IPB
2011**

Assessment of Gene Flow from Genetically Modified Anthracnose-Resistant Chili Pepper (*Capsicum annuum* L.) to a Conventional Crop

Abstrak

Selama dua tahun ini (tahun 2006 dan tahun 2007), telah dilakukan pengkajian terhadap gene flow dari tanaman cabai transgenik (yang mengandung gen PepEST (pepper esterase)) ke tanaman cabai non-transgenik yaitu galur “WT15” sebagai kontrol, varietas “Manidda” dan “Cheongpung Myeongwol (CM)” yang merupakan varietas komersial. Benih yang didapatkan dari tanaman – tanaman tersebut kemudian diseleksi dengan menggunakan higromisin. Pengecekan terhadap keberadaan transgene dilakukan dengan melakukan PCR terhadap kecambah – kecambah yang resisten terhadap higromisin. Pada percobaan tahun 2006, didapatkan 8 hibrida dari 7071 benih WT15 dan 12 hibrida dari 6854 benih hibrid Manidda. Pada percobaan tahun 2007, dihasilkan 33 hibrida dari 3456 benih WT15 dan 50 hibrida dari 3457 benih CM. Frekuensi gene flow tertinggi dihasilkan dari percobaan 2007 yaitu sebesar 6,19%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa isolasi jarak akan dapat mencegah terjadinya gene flow dari tanaman transgenik ke tanaman non-transgenik.

Kata kunci: *Capsicum annuum*, Chilli pepper, Gene flow, Genetical modified crop

PENDAHULUAN

Antraknosa dapat disebabkan oleh beberapa spesies *Colletotrichum*, yaitu *C. gloeosporioides*, *C. capsici*, dan *C. coccodes*. Antraknosa dianggap sebagai salah satu penyakit yang paling merusak tanaman cabai (*Capsicum annuum* L.). Antraknosa dapat menurunkan produksi buah cabai tahunan sebesar 13% di Korea (Yoon et al., 2004).

Eksresi esterase gen yang diisolasi dari tanaman cabai berperan dalam antraknosa resisten pada buah cabai (Kim et al. 2001; Ko et al. 2005). Kim et al., (2006) mendapatkan tanaman cabai yang resisten terhadap antraknosa dengan cara mengintroduksi dan melakukan over – expressing PepEST gen.

Walaupun tanaman transgenik masih belum dilegalkan di Korea, namun kajian gene flow ini diharapkan akan dapat menjadi salah satu pondasi bagi perkembangan tanaman transgenik dikemudian hari. Semakin maraknya penelitian tanaman transgenik, menyebabkan kajian ini menjadi penting terkait pembuatan guidelines untuk pengujian lapang dan pengkajian kerusakan lingkungan tanaman transgenik sebelum suatu tanaman transgenik tersebut dikomersialkan.

Meksiko dan bagian utara dari Amerika tengah merupakan pusat keragaman genetik dari tanaman cabai (Heiser and Smith 1953; Pickersgill 1997; Perry et al. 2007). *Capsicum annuum* merupakan satu – satunya spesies *Capsicum* yang dibudidayakan di Korea. Cabai merupakan tanaman menyerbuk sendiri sebagian (OECD 2006), namun seringkali terjadi penyerbukan silang alami yang tinggi diantara tanaman cabai (Campodonico 1983; Tanksley 1984). Analisis gene flow yang dilakukan oleh Kim et al., (2009) melaporkan bahwa terdapat frekuensi penyerbukan silang alami yang tinggi yaitu sebesar 17,89% dari tanaman cabai transgenik yang mengekspresikan coat protein gene (berasal dari Chucumber mosaic virus) ke tanaman cabai konvensional pada jarak pertanaman yang dekat. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi frekuensi gene flow dari tanaman cabai transgenik “antraknosa resisten” ke tanaman non-transgenik.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tanaman

Pada percobaan ini digunakan bahan tanam tanaman cabai antraknosa resisten (GM), galur WT512 sebagai kontrol, dan dua varietas hibrida komersial “Manidda dan “Cheongpung Myeongwol (CM)”. Tanaman cabai antraknosa resisten (GM) dihasilkan dari transformasi dengan media *Agrobacterium tumefaciens* (Kim et al., 2006). Tanaman GM memiliki konstak yang terdiri dari PepEST (CaMV) 35S promotor, nos terminator, dan *hpt* gene untuk seleksi higromisin.

Rancangan Percobaan

Percobaan ini dilakukan selama 2 tahun di lahan yang diisolasi di Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), Cheongwon-gun, Chungcheongbukdo, Republic of Korea (36°43'04" N, 127°26'07" E, pada ketinggian 37 m)

Total curah hujan pada tahun 2006 dan 2007 adalah 835,1 dan 1320,3 mm. (Table 1; Korea Meteorological Administration 2009). Suhu rata – rata adalah 15.4–26.9°C, sedangkan kelembabannya berkisar pada 56.8 – 80.4%. Kecepatan angin pada bulan Mei - Juli lebih cepat dibandingkan kecepatan angin pada bulan Agustus – Oktober.

Table 1 Monthly rainfall, mean air temperature, humidity, and wind speed during the 2006 and 2007 growing seasons, recorded at the Cheongju Weather Station, 8 km from the study area

Months	Rainfall (mm)		Air temperature (°C)		Humidity (%)		Wind speed (m/s)	
	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007
May	119.4	145.5	18.9	18.9	57.9	56.8	1.8	1.9
June	115.5	81.2	22.9	23.1	64.7	60.5	1.7	1.8
July	508.0	273.2	23.8	24.7	80.2	74.0	1.6	1.7
August	52.5	385.5	26.9	26.6	69.8	76.6	1.4	1.6
September	18.4	391.4	20.2	21.7	63.5	80.4	1.4	1.7
October	21.3	43.5	17.3	15.4	64.7	68.1	1.1	1.3

Pada bulan Mei 2006, dibuat petakan seluas 5 m x 5 m sebagai blok pusat yang diapit oleh blok lagi seluas 5 m x 20 m di kanan dan kiri blok pusat (Gambar 1). Setiap blok terdiri dari 4 baris yang ditutupi oleh plastik film berwarna hitam. Pada blok pusat ditanami oleh 40 tanaman transgenik (antraknosa resisten) dengan jarak tanam dalam baris sebesar 50 cm, sedangkan pada dua plot yang mengapit blok pusat ditanami 80 cabai Manidda pada baris a dan b dan 80 cabai WT512 pada baris c dan d dengan jarak tanam dalam baris sebesar 50 cm. Jarak tanaman terdekat dengan blok pusat adalah 0,5 m, sedangkan jarak terjauhnya adalah 20 m. Budidaya tanaman – tanaman tersebut dilakukan secara konvensional. Insektisida diberikan untuk mengendalikan aphids dan Oriental tobacco budworm dari bulan Juni sampai bulan Agustus.

Tanaman Sampel

Pada percobaan tahun 2006, dilakukan pemanenan buah yang sudah matang dari masing – masing galur sebanyak 10 buah per tanaman. Buah – buah yang sudah matang tersebut, kemudian di oven pada suhu 60°C selama 2 hari. Setelah itu, biji dipisahkan dari buahnya dan disimpan pada ruangan tertentu untuk dijadikan benih.

Pada percobaan tahun 2007, dilakukan pemanenan terhadap buah cabai yang sudah matang sebanyak 10 buah per tanaman. Pemanenan dilakukan secara acak pada setiap baris tanaman.

Seleksi Tanaman Hibrida

Higomisin assay dengan konsentrasi 30 mg L⁻¹ dilakukan untuk menyeleksi keberadaan tanaman hibrida transgenik. Benih – benih yang dianalisis adalah benih – benih yang dipanen pada bulan Agustus dan September pada tahun 2006 dan 2007. Dua kertas saring autoklaf ditempatkan pada petridish. Dari setiap sampel diambil 100 benih. Benih – benih tersebut kemudian disterilisasi dengan 5% larutan sodium hipoklorit selama 10 menit, kemudian dibilas sebanyak 5 kali dengan air destilasi selama 5 menit. Setelah itu, benih – benih tersebut dilapisi dengan kertas saring dan ditanam pada media ½ MS yang ditambahkan dengan larutan 30 mgL⁻¹ higromisin. Tanaman cabai transgenik dan WT512 digunakan sebagai tanaman kontrol.

Semua petridish tersebut kemudian diinkubasi dalam growth chamber (28°C, 70% relative humidity, and 16-h photoperiod) selama 2 minggu, setelah itu dilakukan perhitungan terhadap jumlah total benih yang sudah berkecambah. Kotiledon dan hipokotilnya diambil dari benih yang resisten terhadap higromisin, kemudian dihancurkan dengan PlantSaver™ FTA cards (Whatman, USA) untuk dianalisis DNA nya, lalu disimpan di dalam RT.

PCR dilakukan dengan menggunakan FTA cards. PCR tersebut menggunakan desain forward primer Hygro – 546F (GTG TCG TCC ATC ACA GTT T) dan reverse primer Hygro – 3R (GAA AAA GCC TGA ACT CAC C) untuk mengamplifikasi hpt gene. Sementara itu, untuk mengamplifikasi actin gen digunakan desain forward primer (TGG ACT CTG GTG ATG GTG TC) dan reverse primer (CCT CCA ATC CAA ACA CTG TA). Volume akhir yang digunakan untuk PCR sebanyak 0.5 µL yang mengandung 2 disk dari FTA cards, 0.5 µL of a 10 mM dNTP mixture, 0.5 µL of Taq

DNA polymerase, 5 μ L of 10 \times Taq buffer, and 2 μ L of 10 pmol pada setiap primer. Suhu awal untuk denaturasi adalah 95°C selama 5 menit, kemudian digunakan 38 siklus dengan suhu denaturasi 94°C selama 1 menit, suhu annealing 55°C selama 30 detik, dan ekstension pada suhu 72°C selama 1 menit, yang diikuti dengan final ekstension pada suhu 72°C selama 5 menit.

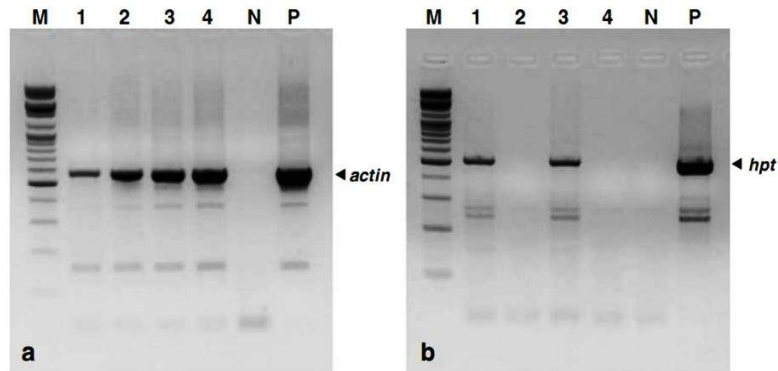
PCR yang digunakan untuk tanaman sampel dari percobaan tahun 2007 adalah duplex PCR. Desain forward primer Hygro – 546F (GTG TCG TCC ATC ACA GTT T) dan reverse primer Hygro – 3R (GAA AAA GCC TGA ACT CAC C) digunakan untuk mengamplifikasi hpt gene, sedangkan untuk mengamplifikasi lipocalin digunakan desain forward primer 850U (GGT GAA CCT TGG AAC GAA TG) dan reverse primer 1184L (GAG CAG TCT AAT GCA CAA AGC). Lipocalin sebagai kontrol internal PCR positif. Primer – primer tersebut di sintesis oleh Bioneer (Daejeon, Korea). Volume dupleks PCR yang digunakan sebanyak 50 μ L yang mengandung 2 disk dari FTA card 0.5 μ L of a 10 mM dNTP mixture, 0.3 μ L of Taq DNA polymerase, 2.5 μ L of 10 \times Taq buffer, and 2 μ L of 10 pmol of each primer. Suhu awal untuk denaturasi adalah 95°C selama 5 menit, kemudian digunakan 38 siklus dengan suhu denaturasi 94°C selama 1 menit, suhu annealing 55°C selama 30 detik, dan ekstension pada suhu 72°C selama 1 menit, yang diikuti dengan final ekstension pada suhu 72°C selama 5 menit.

PCR dilakukan terhadap 60 bibit cabai yang rentan terhadap higromisin untuk mengetahui keberadaan pita negatif. Namun, karena tidak ditemukan pita negatif maka dilakukan screening terhadap keseluruhan percobaan. Frekuensi gene flow dihitung sebagai persentase transgene yang terdeteksi per jumlah biji yang dikedambahkan.

HASIL DAN DISKUSI

Pada percobaan tahun 2006 didapatkan 13925 benih cabai. Setelah dilakukan higromisin assay dan PCR dihasilkan 20 tanaman hibrida transgenik antara tanaman transgenik dan tanaman non-transgenik (Gambar 3).

Fig. 3 Representative agarose gel electrophoresis patterns of PCR products from DNA of hygromycin-resistant hybrids obtained from 2006 field trial. **a** Amplification of *actin*; **b** amplification of *hpt*. *M* 100-bp DNA ladder; *lane 1* hybrid of GM/non-GM ("WT512"); *lane 2* "WT512"; *lane 3* hybrid of GM/non-GM ("Manidda"); *lane 4* "Manidda"; *N* negative control (no DNA); *P* positive control (GM chili pepper)



Frekuensi gene flow dari tanaman cabai antraknosa resisten ke tanaman kontrol non-transgenik pada tahun 2006 sangat rendah. Hanya dihasilkan 8 hibrida transgenik dari 7071 benih WT512. Frekuensi hibrida transgenik tertinggi dihasilkan dari jarak pertanaman 0.5 m – 5 m disebelah barat blok tanaman transgenik dengan frekuensi tertinggi dihasilkan pada jarak pertanaman 0.5 m. Frekuensi hibrida transgenik dari Manidda juga sangat rendah, yaitu 12 hibrida dari 6854 benih yang dihasilkan. Hibrida – hibrida tersebut dihasilkan hanya sampai jarak pertanaman 18 m disebelah barat dan jarak pertanaman 7 m di sebelah timur dari blok tanaman transgenik tanaman. Persentase hibrida transgenik tertinggi dihasilkan oleh tanaman pada jarak 2.5 m sebelah timur blok anaman transgenik (Tabel 2).

Table 2 Gene flow from GM chili pepper to non-GM control ("WT512") and a commercial hybrid cultivar ("Manidda") at increasing distances in 2006

Distance from GM chili pepper plot (m)	"WT512"		"Manidda"		Pooled data
	East	West	East	West	
0.5	2/56 (3.57)	2/88 (2.27)	1/98 (1.02)	0/86	5/328 (1.52)
1.0	0/70	1/94 (1.06)	ND	0/89	1/253 (0.40)
1.5	1/98 (1.02)	0/97	1/98 (1.02)	2/87 (2.30)	4/380 (1.05)
2.0	0/90	0/95	0/90	0/96	0/371
2.5	0/90	0/91	0/91	3/95 (3.16)	3/367 (0.82)
3.0	0/94	0/96	0/96	1/100 (1.00)	1/386 (0.26)
3.5	0/96	ND	0/87	0/92	0/255
4.0	0/51	1/90 (1.11)	0/87	1/97 (1.03)	2/325 (0.62)
4.5	0/98	ND	0/92	0/91	0/281
5.0	1/96 (1.04)	0/96	0/94	1/89 (1.12)	2/373 (0.53)
5.5	0/92	0/99	0/92	0/95	0/378
6.0	0/98	0/97	ND	0/100	0/255
6.5	0/89	0/77	0/89	0/95	0/330
7.0	0/78	0/98	0/86	1/98 (1.02)	1/360 (0.28)
7.5	0/83	0/91	0/94	0/93	0/371
8.0	0/97	0/90	0/90	0/94	0/371
8.5	0/84	0/96	0/91	0/93	0/364
9.0	0/98	0/71	0/94	0/100	0/363
9.5	0/94	0/84	0/91	0/94	0/363
10.0	0/99	0/82	0/78	0/99	0/358
10.5	0/95	0/96	0/91	0/90	0/372
11.0	0/95	0/89	0/93	0/93	0/330
11.5	0/96	0/90	0/87	0/96	0/369
12.0	0/81	0/97	0/93	0/99	0/370
12.5	0/96	0/84	ND	0/89	0/269
13.0	0/91	0/83	0/99	0/95	0/368
13.5	0/88	0/95	0/93	0/85	0/361
14.0	0/96	0/92	0/96	ND	0/264
14.5	0/91	0/95	0/96	0/93	0/375
15.0	0/91	0/88	0/90	0/94	0/363
15.5	0/91	0/85	0/90	0/95	0/361
16.0	0/83	0/92	0/81	0/85	0/311
16.5	0/91	0/77	0/92	0/93	0/333
17.0	0/96	0/97	0/76	0/84	0/333
17.5	0/98	0/93	0/85	0/90	0/366
18.0	0/96	0/94	1/92 (1.09)	0/92	1/374 (0.27)
18.5	0/98	0/93	0/93	0/94	0/378
19.0	0/95	0/91	0/91	0/91	0/368
19.5	0/94	0/82	0/98	0/59	0/333
20.0	0/99	0/94	0/88	0/92	0/373
Total	4/3632 (0.11)	4/3439 (0.12)	3/3322 (0.09)	9/3532 (0.26)	20/13925 (0.01)

Values are the number of PCR-positive seedlings/number of germinated seeds examined. Data in parentheses are gene flow frequencies (%). ND: no data

Pada percobaan tahun 2007 dihasilkan benih sebanyak 6913 benih. Dari jumlah tersebut, didapatkan 33 hibrida transgenik dari WT512 dan 50 hibrida transgenik dari CM (gambar 4).

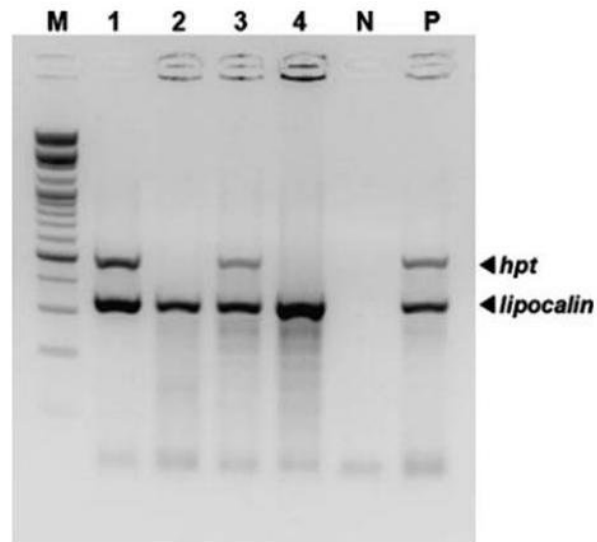


Fig. 4 Representative agarose gel electrophoresis patterns of PCR products from DNA of hygromycin-resistant hybrids obtained from 2007 field trial. *M* 100-bp DNA ladder; *lane 1* hybrid of GM/non-GM ("WT512"); *lane 2* "WT512"; *lane 3* hybrid of GM/non-GM ("CM"); *lane 4* "CM"; *N* negative control (no DNA); *P* positive control (GM chili pepper)

Gene flow dari tanaman transgenik ke WT512 lebih besar dihasilkan dari benih yang diambil pada bulan Agustus dibandingkan dari benih yang diambil pada bulan September (Tabel 3). Frekuensi hibrida transgenik tertinggi yaitu 6.19% dihasilkan dari blok W1 pada bulan Agustus. Hal yang sama juga diperlihatkan oleh tanaman CM. Secara keseluruhan, hibrida transgenik tertinggi dihasilkan pada blok W2 (1,48%) pada tanaman WT512 dan blok C1 (1,82%) pada tanaman CM.

Table 3 Gene flow from GM chili peppers to non-GM control ("WT512") and a commercial hybrid cultivar ("CM") in 2007

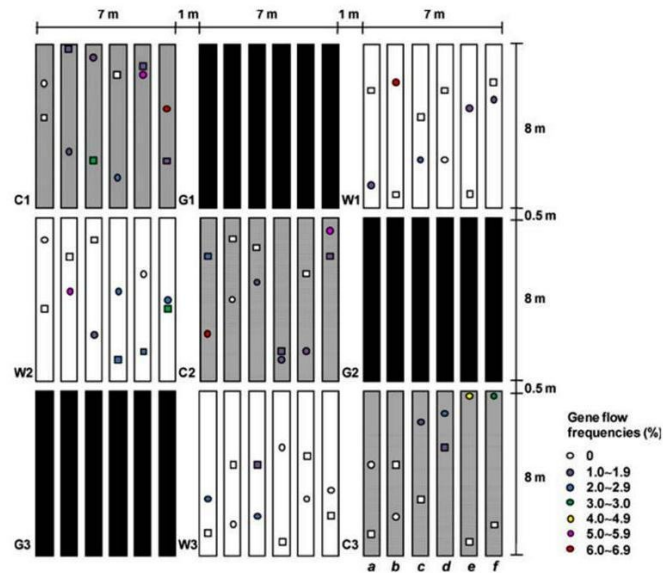
Sampling months	Rows	"WT512" plots			"CM" plots		
		W1	W2	W3	C1	C2	C3
August	a	1/99 (1.01)	0/97	2/92 (2.17)	0/96	6/97 (6.19)	0/98
	b	6/97 (6.19)	5/98 (5.10)	0/97	1/95 (1.05)	0/91	0/98
	c	2/100 (2.00)	1/99 (1.01)	2/100 (2.00)	1/94 (1.06)	1/96 (1.04)	1/99 (1.01)
	d	0/97	2/96 (2.08)	0/95	2/100 (2.00)	1/98 (1.02)	2/96 (2.08)
	e	1/97 (1.03)	0/93	0/100	5/98 (5.10)	1/97 (1.03)	4/96 (4.17)
	f	1/97 (1.03)	2/97 (2.06)	0/95	6/98 (6.12)	5/94 (5.32)	3/95 (3.16)
	Total	11/587 (1.87)	10/580 (1.72)	4/579 (0.69)	15/581 (2.58)	14/573 (2.44)	10/582 (1.72)
September	a	0/97	0/91	0/94	0/98	2/99 (2.02)	0/98
	b	0/97	0/98	0/97	1/90 (1.11)	0/92	0/95
	c	0/95	0/92	1/96 (1.04)	3/97 (3.09)	0/94	0/95
	d	0/94	2/97 (2.06)	0/93	0/94	1/98 (1.02)	1/97 (1.03)
	e	0/96	2/97 (2.06)	0/90	1/97 (1.03)	0/92	0/94
	f	0/94	3/94 (3.19)	0/98	1/99 (1.01)	1/96 (1.04)	0/96
	Total	0/573	7/569 (1.23)	1/568 (0.18)	6/575 (1.04)	4/571 (0.70)	1/575 (0.17)

Values are the number of PCR-positive seedlings/number of germinated seeds examined. Data in parentheses are gene flow frequencies (%).

Cabai tergolong sebagai partially self-pollinated, Namun, penyerbukan silang alami pada cabai termasuk tinggi. Penyerbukan silang alami pada cabai dapat mencapai 54.9% (Campodonico, 1983) atau 91% (Tanksley, 1984). Salah satu yang menyebabkan hal itu terjadi adalah adanya aktivitas serangga pollinator. Walaupun demikian, frekuensi gene flow yang terjadi pada percobaan ini masih lebih rendah. Pada percobaan tahun 2006, seluruh gene flow terjadi pada jarak pertanaman 5 m dari tanaman transgenik kecuali 2 hibrida transgenik yang dihasilkan pada jarak 7 m dan 18 m (Tabel 2). Hasil ini sejalan dengan hasil yang dilaporkan oleh Kim (2009) bahwa gene flow dari tanaman cabai transgenik CMV resisten hanya terjadi pada jarak 5 m dari blok tanaman transgenik.

Jumlah tanaman transegenik yang digunakan dalam percobaan ini telah ditingkatkan dari hanya 40 tanaman pada percobaan 2006 menjadi 342 tanaman pada percobaan tahun 2007. Hal ini menyebabkan frekuensi gene flow lebih tinggi terjadi pada tahun 2007. Pada percobaan tahun 2007 sulit untuk menentukan jarak gene flow. Namun, terlihat bahwa terdapat hibrida transgenik yang dihasilkan dari tanaman nontransgenik pada jarak pertanaman yang dekat dengan tanaman transgenik (Gambar 5), sehingga isolasi jarak sebesar 20 m merupakan jarak yang direkomendasikan untuk pengujian lapang tanaman cabai transgenik Korea. Jarak isolasi ini sebelumnya hanya terbatas pada percobaan tanaman transgenik di Canada (CIFA, 2000)

Fig. 5 Frequencies of gene flow from GM chili peppers to non-GM control ("WT512") and commercial cultivar ("CM") in 2007 study. Colored circles and squares indicate different levels of frequencies for fruits collected for screening hybrids in August and September, respectively



Gene flow yang lebih tinggi dihasilkan dari benih yang dipanen pada bulan Agustus 2007 dibandingkan benih dari bulan September 2007. Hal ini mengindikasikan adanya aktivitas pollinator yang lebih tinggi selama bulan Juni, sedangkan buah yang dipanen pada bulan September, polinasinya diduga baru terjadi pada bulan Juli 2007 sehingga frekuensi gene flow nya lebih rendah. Besarnya curah hujan yang terjadi pada bulan tersebut juga mempengaruhi terjadinya gene flow dari cabai transgenik ke cabai non-transgenik. Hal ini dapat terjadi karena angin dan hujan berpengaruh tidak langsung terhadap keberhasilan penyerbukan silang alami pada tanaman cabai (Bosland 1993; Free 1993; Delaplane and Mayer 2000), sehingga kecepatan angin bukan merupakan faktor utama yang mempengaruhi gene flow transgen dari cabai transgenik ke cabai non-transgenik. Bumble bees, honeybees, and thrips diduga merupakan faktor utama yang mempengaruhi terjadinya penyerbukan silang alami pada tanaman cabai (Rabinowitch et al. 1993; Shipp et al. 1994; Saxena et al. 1996). Diantara ketiganya, honeybees dan thrips terdeteksi pada percobaan ini. Namun sayangnya, mereka tidak dapat dihitung dengan pasti walaupun jumlah yang terdeteksi di lapang cukup banyak. Pada percobaan ini dihasilkan frekuensi hibrida transgenik yang lebih tinggi dari tanaman – tanaman kultivar hibrida komersial (manidida dan CM) dibandingkan dari tanaman WT512. Hal ini dapat terjadi karena polen yang berasal dari kultivar – kultivar hibrida tersebut lebih vigor dan baik dibandingkan dengan polen yang berasal dari WT512.

Penelitian ini hanya dilakukan selama dua tahun pada lapangan yang terbatas dan terisolasi. Percobaan pada berbagai tempat lain mungkin akan dapat memberikan informasi yang lebih baik terhadap gene flow tanaman transgenik. Cabai merupakan tanaman menyerbuk sendiri sebagian, walaupun demikian penyerbukan silang alami pada tanaman ini tetap dapat terjadi karena adanya serangga polinator (OECD, 2006). Khusus untuk honeybees yang penyebarannya sangat luas dan hampir sama di wilayah Korea. Fakta memperlihatkan bahwa pada percobaan gene flow single – field pada tanaman cotton (Umbeck et al. 1991), potato (McPartlan and Dale 1994), soybean (Yoshimura et al. 2006), and watermelon (Kim et al. 2008), serangga polinator yang menjadi faktor utama terjadinya gene flow dari tanaman transgenik ke tanaman non transgenik. Hal yang sama juga diperlihatkan dari percobaan gene flow pada percobaan two-field (Llewellyn and Fitt 1996; Kimetal. 2009)

Kesimpulan dari percobaan menunjukkan bahwa frekuensi gene flow cabai transgenik antaknosa resisten tidak lebih besar dari frekuensi penyerbukan silang alami yang terjadi diantara kultivar cabai yang non-transgenik. Hal ini dapat terjadi karena adanya escape gene, sehingga pencegahan dengan penggunaan isolasi jarak terbatas dapat digunakan.