

О «генетическом паспорте»

В законе о семеноводстве появилось новое требование: «генетический паспорт» сорта/ F_1 гибрида при его испытаниях и оценке.

По определению в законе, «генетический паспорт» – это документ, созданный на основе молекулярно-генетического анализа семян сорта или гибрида с.-х. растений. Цель мероприятия – внесение сведений в Государственный реестр сортов и гибридов с.-х. растений, допущенных к использованию.

Испытание по хозяйственно полезным признакам и (или) свойствам с.-х. растений дополнено молекулярно-генетическим анализом (МГА) семян сорта/гибрида. Молекулярно-генетический анализ и испытание по хозяйственно полезным признакам сортов и гибридов из перечня растений продовольственной безопасности РФ будет выполнять государственное учреждение, подведомственное федеральному органу исполнительной власти, осуществляющему функции по выработке государственной политики и нормативно-правовому регулированию в области семеноводства с.-х. растений, за счет средств федерального бюджета.

За счет средств заявителя будут выполняться испытание и молекулярно-генетический анализ сортов и гибридов вне вышеуказанного перечня при желании заявителя включить их в Государственный реестр сортов и гибридов, допущенных к использованию, на добровольной основе по экспертной оценке, равно как испытание и молекулярно-генетический анализ семян растений, ввозимых в РФ из-за рубежа (кроме стран-членов ЕвразЭС). Таким образом из существующей практики МГА будут подлежать все овощные культуры, кроме капусты, моркови, лука репчатого и свеклы столовой, указанных в Приказе №344 Госсортокмиссии от 16 декабря 2019 года.

Согласно п.5 и п.6 статьи 20 Закона о семеноводстве результатом МГА будут являться данные о наличии/отсутствии в семенах генно-инженерно-модифицированных организмов, и в случае отсутствия таковых – выдача «генетического паспорта» сорта/гибрида.

Какая информация и в каком виде будет представлена в «генетическом паспорте» сорта/гибрида?

Общеизвестно, что молекулярно-генетический анализ может включать применение различных генетических технологий: ДНК-секвенирование, молекулярное (ДНК) генотипирование на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) или полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ), ДНК-микрочипирование. В соответствии с п.8 статьи 20 «Испытания и оценка сортов и гибридов с.-х. растений» в форме «генетического паспорта» закона о семеноводстве помимо общей информации о сорте будут указаны белковые и (или) ДНК-маркеры, идентифицирующие сорт семян с.-х. растений.

Если задачей «генетического паспорта» является генетическая идентификация каждого сорта/гибрида, то все отечественные и зарубежные сорта/гибриды, внесенные в Государственный реестр селекционных достижений, должны быть генотипированы и выявлены комбинации ДНК-маркеров специфические исключительно для каждого конкретного сорта/гибрида. В Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию, на состоянию на декабрь 2021 года 23378 сортов/гибридов (реестр (gossortrf.ru)), в том числе арбуз – 301, баклажан – 265, горох овощной – 208, капуста белокочанная – 455, картофель – 490, кукуруза – 1094, лук репчатый – 405, морковь – 355, огурец – 1649, перец сладкий – 924, редис – 283, салат – 456, свекла столовая – 163, соя – 279, томат – 3371 и тд. Для создания генетического паспорта каждой культуры должно быть выявлено по крайней мере эквивалентное в числовом выражении количество ДНК-маркеров, а именно не менее 23378 шт. по состоянию на декабрь 2021 года.

Какова стоимость и продолжительность разработки генетического паспорта для одного сор-

та/ F_1 гибрида и стоимость молекулярно-генетического анализа при ввозе семян из зарубежных стран?

От 156 до 3371 молекулярных маркеров на культуру – очень весомое число, и для разработки ДНК-тест системы потребуются значительные вложения финансов и времени. Можно провести параллель с разработкой ДНК-тест системы на коронавирус, на создание которой ушло около 1 года. В случае с идентификацией сортов/гибридов с.-х. растений по сотням ДНК-маркеров затраты времени на разработку тест-системы могут составлять от трех до десяти и более лет.

Примерный расчет стоимости разработки генетического паспорта сортов/гибридов кукурузы, при условии, что в лабораторных работах все складывается безупречно, следующей: при условной стоимости ПЦР-анализа одного генотипа по одному ДНК-маркеру 35 р. только для однократного генотипирования 1094 сортов в Госреестре по 1094 ДНК-маркерам потребуются 41,9 млн р. Как показывает практика, чтобы найти один полиморфный маркер, необходимо протестировать десять потенциальных. Соответственно стоимость разработки генетического паспорта можеткратно увеличиться. Себестоимость молекулярно-генетического анализа одного сорта/гибрида, направленного на испытание, или завозимого из-за рубежа может составить 38,3 тыс. р. При фактических расценках, которые мы видим на коммерческое ПЦР-тестирование Covid-19, не менее 1500 р. за тест, стоимость генетической паспортизации кукурузы по 1000 маркерам может составить до 1,5 млн р.

Под вопросом стоит сама возможность разработки эффективного генетического паспорта сорта. Многие сорта вегетативно размножаемых растений, например, яблони «Делишес», «Ред Делишес», «Голден Делишес», являются клоновыми (соматическими) мутациями и поиск этих мутаций молекуляр-

ными маркерами является сложнейшей задачей. Большинство сортов перекрестноопыляемых растений (капуста, лук репчатый, свекла столовая, морковь, редис и мн. др.) являются сложными по генотипическому составу (гетерогенными) популяциями и содержат несколько биотипов, различающихся между собой на молекулярно-генетическом уровне. Проблема усугубляется тем, что в зависимости от погодных и климатических условий при первичном семеноводстве генетическая структура сортовой популяции изменится. Вопрос об изменении генетического профиля сорта в зависимости от репродукции не изучен. При селекции F_1 -гибридов на базе различных типов мужской стерильности, как правило, создается серия гибридов, у которых общая материнская линия и различные отцовские. Это также усугубляет поиск различий и интерпретацию результатов ДНК-анализа. Методологически существует проблема выявления на ДНК-уровне механической и биологической примеси в партиях семян, что будет приводить к несоответствию с данными зарегистрированного генетического паспорта.

Проведение МГА, в том числе при ввозе из зарубежных стран, подразумевает дополнительную нагрузку на таможенную службу и требует создание молекулярно-генетических лабораторий с современным лабораторным оборудованием для выделения ДНК, проведения МГА и интерпретации результатов. В лабораториях должен работать штат компетентных сотрудников, дефицит которых ощущается в стране. Кроме того, сам анализ начиная с отбора пробы, выделения ДНК, молекулярно-генетический анализ, интерпретация данных будут задерживать процесс таможенного оформления партий семян.

Последний вопрос, который напрашивается, – какую проблему или вопрос решает генетический паспорт сорта F_1 гибрида?

Монахос Григорий Федорович, канд. с.-х. наук, генеральный директор ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева». E-mail: breedst@mail.ru, orcid.org/0000-0001-9404-8862, Scopus ID 6507616886.

Монахос Сократ Григорьевич, доктор с.-х. наук, зав. кафедрой ботаники, селекции и семеноводства садовых растений, ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева. E-mail: s.monakhos@rgau-msha.ru, orcid.org/0000-0001-9404-8862, Scopus ID 56052882900.

В идеальном случае «генетический паспорт» должен четко идентифицировать сорта или F_1 гибриды с.-х. растений. Для этого могут использоваться белковые маркеры (на основе запасных белков) и/или маркеры, основанные на ДНК-технологиях. Если говорить о паспортизации на основе запасных белков, то ее в ряде случаев уже используют на зерновых. При регистрации сорта может быть предостановлен профиль запасных белков. Однако нигде в мире это не обязательно. Такую паспортизацию используют лишь как вспомогательный метод для решения некоторых задач, например, подтверждение принадлежности к сорту партий зерна при производстве пива, когда пивоваренные заводы готовы нести дополнительные затраты с целью соблюдения регламентов. При этом требуется лишь сопоставить генетический профиль нужного сорта с генетическим профилем партии поставляемого на завод зерна. Также производители гибридных семян кукурузы идут на дополнительные затраты для оценки уровня гибридности произведенных ими партий семян. Задача облегчается тем, что известны профили родительских форм и нет необходимости проводить генетическую идентификацию самого гибрида, т.е. доказывать, что он уникален по отношению к другим гибридам в таком случае нет необходимости. Такой анализ позволяет сэкономить время по сравнению с традиционным грунтовым контролем. Сортотиповая идентификация обычно делается по морфологическим признакам при апробации сортов и гибридов. Белковые маркеры можно использовать только на некоторых культурах, чаще на зерновых. Из-за ограниченного полиморфизма таких маркеров они не всегда демонстрируют уникальный профиль для каждого зарегистрированного сорта даже в нашей стране. Такая проблема остро стоит для ячменя, где ряд сортов имеют одинаковые профили по запасным белкам, т.е. одинаковые генетические паспорта, хотя при полевой апробации морфологически отличимы.

Более перспективно использование ДНК маркеров, как более полиморфных, количество которых может исчисляться десятками тысяч. Такое количество позволяет рассчитывать на выявление индивидуального профиля для любого генотипа. Несмотря на огромный прогресс в секвенировании растительных геномов, идентификация генотипов сортов и гибридов F_1 с.-х. растений остается не-

тривиальной задачей. В лабораториях только разрабатывают методы такой идентификации. В нашей стране во ВНИИ с.-х. биотехнологии разработаны методы паспортизации сортов картофеля на основе использования микросателлитных маркеров и находятся в стадии разработки методы ДНК паспортизации гибридов F_1 гибридов сахарной свеклы и кукурузы. Даже для картофеля, вегетативно размножаемой культуры, где все растения сорта представляют собой один и тот же генотип, эта технология не перешла за рамки лабораторных испытаний. Чтобы внедрить в производство ДНК паспортизацию необходимы масштабные испытания, которые позволили бы выявить слабые стороны метода, а главное – оценить воспроизводимость. Без таких испытаний и разработки четких правил внедрение ДНК паспортизации даже на картофеле преждевременно. Также следует оценить затраты по каждой из культур. На сегодняшний день они будут колоссальными, а внедрение ДНК паспортизации может носить добровольный характер и использоваться только при необходимости и на ограниченном числе культур.

Таким образом, генетическая паспортизация может решать лишь незначительную часть задач и применяться в очень ограниченном объеме. Борьба с некондиционными семенами может быть легко решена путем разработки правил контроля за качеством самих семян и повышения ответственности для производителей и продавцов некондиционных семян. В качестве не очень затратного можно было бы установить механизм отбора проб из партий семян и их хранения на случай такой экспертизы, например, в опломбированных пакетах у продавца и покупателя. При этом при возникновении спорных ситуаций они могли бы разрешаться проведением грунтового контроля с привлечением соответствующих специалистов. А генетический паспорт мог бы применяться при судебных разбирательствах сторонами спора в качестве дополнительного аргумента.

Карлов Геннадий Ильич, доктор биол. наук, профессор, академик РАН, директор ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии. E-mail: iab@iab.ac.ru, orcid.org/0000-0002-9016-103X, Scopus ID 57214069433, Researcher ID F-7403-2013.