



Дополнение 3

Современные
методологии и технологии
выявления, сохранения
и использования
генетических
ресурсов растений
для производства
продовольствия и ведения
сельского хозяйства

A3.1 Введение

Масштабы и структура генетического разнообразия какой-либо популяции определяют способность этой популяции адаптироваться к своему окружению посредством естественного отбора. Причиной этому является то, что при низких показателях генетического разнообразия снижается число возможных комбинаций генов, которые могут способствовать приспособляемости и, следовательно, адаптации к различным условиям окружающей среды, что уменьшает вероятность того, что в этой популяции возникнут продуктивные индивидуумы. Таким образом, популяция в естественных условиях (или сохраняемая на охраняемой территории) нуждается в соответствующем генетическом разнообразии для поддержания своего непрерывного существования перед лицом постоянно меняющихся биотических и абиотических компонентов своей экосистемы.

Параллельная картина того, что происходит с естественными популяциями, наблюдается при осуществлении программ по улучшению культур в том, что касается имеющихся в гермоплазме наследуемых вариативных свойств. Селекционеры стремятся обнаружить генетическое разнообразие в популяциях, с которыми они работают, проводят операции по его рекомбинации и выделяют желаемые свойства или характерные черты, которые позволяют конкретной культуре нормально существовать в условиях запрограммированной окружающей среды или нормально противостоять соответствующим вредителям или болезнетворным организмам. Поэтому селекционерам для того, чтобы их селекционные программы были успешными, необходим доступ к соответствующему генетическому разнообразию.

В основе всех этих возможных вариантов (вариативность природы и разнообразие коллекций гермоплазмы для селекционных целей), поверхностно представленной концепцией о том, что «разнообразие – это хорошо» для природы и для программ улучшения культур, лежит много сложных вопросов. Основопологающим условием является необходимость отличать фенотипическое разнообразие (конечный результат взаимодействия между как наследуемыми, так и ненаследуемыми компонентами вариативности) от генетического (наследуемого) разнообразия.

Другие вопросы относятся к стратегиям выявления генетического разнообразия, его поддержания, измерения и мониторинга, а также к стратегиям разработки механизмов его использования наиболее эффективным образом. Процессы протекания обоих вариантов могут быть ещё более осложнены биологическими особенностями видов, связанными с системой их выведения, а также такими факторами, как являются ли они однолетними или многолетними, их уровнем плоидности и их экологической толерантностью. Поэтому, степень понимания этих факторов оказывает влияние на способность исследователя разработать стратегии селекции или сохранения рассматриваемых видов.

Имеются также вопросы небιологического характера, которые могут усложнить методики управления как естественными популяциями, так и селекционным материалом, а именно организационные, политические, правовые и экономические вопросы. Аналогичным образом возникают вопросы масштабов (национальных, региональных, глобальных) сотрудничества, стимулирования и эффективности, которые облегчают сохранение и использование генетических ресурсов.

Задача настоящего Дополнения заключается в первую очередь в обобщении информации о состоянии научных знаний, методик и технологий в области генетического разнообразия, которая была накоплена со дня публикации СМГРР-1 в 1998 г., содержащего в Приложении 1 аналогичный обзор. Будет рассмотрено также состояние социальной благоприятной обстановки, поскольку её компоненты оказывают прямое воздействие на национальные возможности сохранять и использовать генетические ресурсы.

В Приложении 1 к СМГРР-1 четко определяется важность генетического разнообразия в контексте как сохранения, так и использования гермоплазмы растений; различий между генетическим разнообразием с качественной и количественной точек зрения и отношений к нему со стороны управляющих генетическими ресурсами и их потребителей; средств и методов сохранения; различных стратегий селекционной работы и их роли и связанных с ними проблем относительно целей, которые ставят перед собой селекционеры, и, наконец, правовых и экономических вопросов, решение которых может содействовать или мешать сохранению и

ДОПОЛНЕНИЕ 3

использованию генетических ресурсов. В этом Дополнении эта информация не будет повторяться, а основное внимание будет уделено новым результатам, полученным со дня публикации СМГРР-1.

A3.2 Успехи в изучении тех аспектов генетики, которые имеют отношение к сохранению и использованию ГРПСХ

Принципиальные успехи в понимании и применении унаследованных признаков в управлении ГРПСХ в последние 12 лет являются следствием колоссальных сдвигов в молекулярной биологии, особенно в геномике, которая изучает весь генетический состав особи (геном). В этот период стало возможным определение последовательности ряда всего генома при приемлемых затратах времени и средств, и за эти 12 лет был накоплен всё возрастающий объем доступной информации о последовательности ряда ДНК, генов и белка. К этим успехам добавились невероятные успехи как в сборе, так и анализе данных в таких масштабах, которые несколько десятилетий назад казались недостижимыми. Приведенный пример резко отличается от значительно более узкого понимания наследственности, которое до сих пор было возможно на основе лишь одной классической генетики.

Развитие геномики и смежных областей протеомики (изучения белков), метаболомики (изучения метаболитов) и в последнее время феномики (изучения фенотипов в отношении к геномике) стало возможным благодаря слиянию классической генетики, автоматизированных лабораторных инструментов для накопления молекулярных данных и методов управления информацией, особенно биоинформатики. Успехи в таксономии и систематике, в значительной степени обусловленные высококачественной информацией, полученной при использовании молекулярно-биологических подходов для описания геномов, позволили лучше понять структуру генобанков и взаимоотношения внутри таксономических группировок и между ними и в некоторых случаях пересмотреть принятые до этого таксономические

классификации. Эти новые области биологической науки оказывают прямое воздействие на управление гермоплазмой (т.е. на определение базовых коллекций) и выявление потребностей в дальнейших коллекциях генетических ресурсов. Более того, молекулярные данные, будучи нейтральными по отношению к окружающей среде, особенно практичны для разработки стратегий по улучшению культур, включая деятельность по усилению фенотипических признаков, поскольку их можно использовать для отбора новых источников генных аллелей в генобанках.

Вклад геномики и других смежных дисциплин в фундаментальную биологию был таким же значительным, поскольку продуманное применение положений этих дисциплин продолжало помогать лучше понимать метаболические процессы, их основные компоненты и направления их протекания. Это позволяет исследователям в конечном итоге с большей точностью идентифицировать гены и их аллели для использования в селекционной работе. Весьма важным является также то, что методы молекулярной биологии позволяют лучше и точнее понимать процессы адаптации и эволюции, что в свою очередь позволяет с большой степенью надежности отличать нейтральное генетическое разнообразие от адаптивного генетического разнообразия, и лучше и точнее понимать ту роль, которую могут сыграть различные маркеры в выявлении и использовании генетического разнообразия.

При широко распространенных в настоящее время возможностях использовать соответствующие молекулярные подходы для выявления геномных сегментов, которые лежат в основе различий между особями (эти подходы заключаются в использовании молекулярных маркеров), и применять статистические алгоритмы для точного определения мест скопления этих «ориентиров», молекулярные маркеры становятся инструментами как для отслеживания наследуемых признаков целевых геномов при осуществлении программ селекции растений (селекция с помощью маркеров), так и для описания коллекций гермоплазмы. Повседневное использование молекулярных инструментов при анализе коллекций гермоплазмы в плане управления ГРПСХ приведет к повышению эффективности

управления коллекциями. Преимущества включают упрощение нахождения и устранения дубликатов (или других видов избыточности) в коллекциях гермоплазмы и одновременное упрощение задачи создания базовых коллекций.

Генетика популяций является другой областью управления ГРПДСХ, на которую большое влияние оказали методы молекулярной биологии. Это касается широко распространенного использования молекулярных данных в изучении популяций (их разнообразия и структуры). Активное использование молекулярных данных в генетике популяций породило неологизм – геномика популяций. Уже становится обычным делом, например, обнаружение конкретных локусов, прошедших естественный отбор и, следовательно, обладающих адаптивными способностями, посредством простой выборки на уровне популяции. Стало также обычным делом отслеживать экспрессию генов (на основе профилирования транскрипта; или транскриптомики), даже на уровне тканей, при различных видах воздействия окружающей среды (биотических и абиотических) и в различных режимах временного ряда. Помимо того, что такая стратегия позволяет выявлять гены, которые регулируют конкретную фенотипическую экспрессию, она также помогает объяснить функции генов и их взаимосвязи с другими генами. Рост понимания генов и их функций и разработанные таким образом инструменты будут бесценными по мере того, как будут активизироваться усилия в рамках программ по улучшению культур, направленных на получение сортов, которые будут развиваться в экстремальных климатических условиях, последующих за глобальным изменением климата.

Один из конкретных примеров поразительных различий между тем, что считалось возможным в 1995 г., и тем, что является возможным сегодня, содержится в Приложении 1 СМГРР-1, где отмечалось, что прямое применение метода определения последовательности ДНК более эффективно при выявлении гена или генов, чем при анализе всего гено типа. Вывод того времени заключался в том, что имеются «очень незначительные возможности проверки многих вариантов для проведения описания ГРПДСХ». В настоящее время по мере достижения успехов в технологиях, особенно

в том, что касается высокопроизводительных платформ для выделения ДНК, увеличения и наглядного представления фрагментов ДНК (РНК), определения последовательности фрагментов ДНК (и целого генома), значительного увеличения мощностей компьютеров (для хранения и анализа данных) и разработки обычного аналитического программного обеспечения, проведение описания больших количеств поступлений с точки зрения полиморфизма (различий в последовательности рядов) тысяч локусов ДНК во всем геноме стало обычным делом¹.

Другой областью, в которой с 1995 г. был достигнут значительный прогресс, является обнаружение сохраняющегося линейного порядка генов в одной хромосоме, и это явление известно под названием синтении. Существование такого явления было установлено не только по отношению к тесно связанным видам, но и по отношению к более далеким друг от друга таксонам и даже к видам, значительно отличающимся друг от друга по размеру генома. К настоящему времени проведено описание синтении у многих таксонов, принадлежащих к таким семействам, как Fabaceae, Poaceae, Solanaceae и Brassicaceae. Эти результаты стали импульсом для значительной активизации усилий в области сравнительной геномики с целью максимального использования информации о геной последовательности модельных видов для выявления генов в таксонах видов, не являющихся модельными. Микросинтении (сходство таксонов в том, что касается рядов нуклеотидной последовательности на одной хромосомной нити) может быть измерена лишь после получения огромных объемов широко доступных данных о геномной последовательности. Известные случаи макросинтении (сходства таксонов в том, что касается последовательности больших количеств генов на одной хромосомной линии) свидетельствуют, следовательно о существовании наследственных геномных сегментов у многих таксонов. Следствием этого является то, что выявленные в этих сегментах молекулярные маркеры могут быть использованы в описаниях геномов даже у различных таксонов. Несомненным является то, что применение законов синтении будет всегда зависеть от воздействия хромосомных перестроек².

ДОПОЛНЕНИЕ 3

В целом, со дня публикации СМГРР-1 ключевыми достижениями были возросшее понимание распределения и структуры генетического разнообразия внутри видов, популяций и генобанков и возросшие возможности для их изучения. К настоящему времени установлено, что полиморфизм нуклеотидной последовательности является источником ценной информации для понимания и расширения генетического разнообразия в целях улучшения культур. Практичность этих полиморфизмов в качестве молекулярных маркеров ещё более возрастает в тех случаях, когда полиморфизм отмечается в исследуемом гене (продуктивные функциональные маркеры). Характерные примеры представлены ниже.

A3.3 **Успехи в биотехнологии, относящиеся к сохранению и использованию ГРПСХ**

Первоначально для описания геномов растений область применения молекулярной биологии включала определение последовательности единичного генома, разработку и использование маркеров полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) и дог-блоттинговых типов наборов фрагментов ДНК малой плотности (или нозерн-блоттинга). Первоначальный уровень знаний позволял работать с единичным геном, одним фенотипом. Всё вышеперечисленное уже существовало во время публикации СМГРР-1, но было быстро вытеснено методами определения последовательности полного генома, широко использующимися молекулярными генетическими маркерами на основе ПЦР, маркерами однонуклеотидного полиморфизма (ОП) и матрицами средней плотности (для обнаружения генов и понимания функций). В настоящее время сравнительное определение последовательности полного генома (с использованием множественных взаимосвязанных видов), генотипирование при исключительно высокой плотности (при использовании метода повторного определения индивидуумов) и использование матриц полного генома для мониторинга транскрипции всего генома и для альтернативного (или дифференциального) сплайсинга являются примерами лишь нескольких новых молекулярных биологических инструментов,

которые в корне меняют глубину и ширину геномного анализа гермоплазмы культур. Аналогичным образом, парадигма единичного гена, одного фенотипа уступает место новой философии динамичного генома, т.е. философии глобального поиска путей развития и глобального ответа на сигналы окружающей среды³.

Прорывы в технологии в наибольшей степени положительно сказались на таких параметрах, как скорость, масштаб и размер. Скорость или производительность выросли значительно во многих различных видах деятельности, начиная с выделения ДНК, включая полимеразные цепные реакции и кончая микроматричным транскриптомным профилированием. Масштабы также выросли в значительной степени, что подтверждается числом молекулярных маркеров, которые могут использоваться для одновременного анализа отдельных образцов ДНК; числом потомков, которые появились в результате мутации или рекомбинации и которые можно отобрать по принципу реакции с низкой степенью вероятности; или числом образцов, которые могут обрабатываться одновременно с помощью робототехники. В целом, контролируемые размеры и масштабы многих операций и анализов увеличились существенно; несколькими примерами такого увеличения являются число пар нуклеотидных оснований, у которых могут быть проведены амплификация или определение последовательности; масштабы изучения генома за один анализ; плотность молекулярных маркеров (число маркеров на сантиморган) на молекулярной генетической карте сцепления; длины фрагментов, помещенных в библиотеки искусственных бактериальных хромосом (ИБХ); и длины контигов, которые могут быть собраны при сравнении данных о последовательности рядов.

Интересно отметить, что увеличение сферы охвата и масштабов происходило одновременно с повышением уровней эффективности, значительным снижением финансовых и временных затрат на получение единицы информации, удешевлением оборудования и расходных материалов, что в результате привело к расширению доступа к новым технологиям для исследовательских учреждений с различным уровнем финансирования, инфраструктурных ресурсов и подготовки сотрудников. Однако, необходимо также отметить, что в результате увеличения скорости, масштаба и размера и уменьшения затрат и времени

появился новый тип проблемы – огромные объемы данных, которые необходимо хранить, обрабатывать, анализировать, объяснять и загружать в сеть. Развитие материальной базы и программного обеспечения компьютеров позволяет решать эту проблему, поскольку обычно у исследователей на выбор имеется широкий круг средств обработки информации для того, чтобы справляться с молекулярными данными.

Вместе с вышеупомянутыми достижениями в области молекулярной биологии и инновациями в том, что касается сопутствующих технологий, продолжали развиваться методы определения последовательности ряда генома. Первой культурой, у которой в 2000 г. была полностью определена последовательность ряда генома, был *Arabidopsis thaliana*⁴. У этого вида геном маленький, и он стал модельным видом для исследований в области биологии и генетики. Вторым видом растений, у которого была определена последовательность ряда, стал рис – данные о последовательности ряда двух различных генотипов риса были опубликованы в 2002 г. (*Oryza sativa indica*⁵ и *O. sativa japonica*⁶). Первым деревом, последовательность ряда генома которого была определена в 2006 г., был вид тополя (*Populus trichocarpa*)⁷. Также в 2006 г. был опубликован проект последовательности ряда генома *Medicago truncatula*⁸. Этот вид является модельным для зернобобовых культур. Другими культурами, у которых была определена последовательность ряда генома, были сорго (*Sorghum bicolor*), виноград (*Vitis vinifera*) и папайя (*Carica papaya*); все три отчета о последовательности ряда были опубликованы в 2007 г.⁹. В 2008 г. были опубликованы проекты последовательности ряда соевых бобов (*Glycine max*)¹⁰ и *Arabidopsis lyrata*¹¹. *Arabidopsis lyrata* является близкой родственной формой *A. thaliana*, но обладает более значительным геномом. Совсем недавно (2009 г.) были опубликованы данные о последовательности ряда *Brachypodium distachyon*¹² (нового модельного вида для травяных и злаковидных калорийных культур умеренных широт) и кукурузы (*Zea mays*)¹³. Во Вставке А3.1 перечисляются несколько других видов высших культур, по которым осуществляются проекты по определению геномного ряда (по состоянию на начало 2010 г.)¹⁴. Помимо информации об определении последовательности

полного генома имеются большие объемы данных по определению последовательности многих видов растений; это явилось результатом определения последовательности крупных фрагментов их геномов (например, определения последовательности библиотек ИБХ или целых хромосом). Примерами видов культур (или видов, тесно связанных с культурами), по которым в общедоступных базах данных имеются значительные объемы информации о последовательности ДНК, являются *Brassica rapa*, *Carica papaya*, *Gossypium hirsutum*, *Glycine max*, *Hordeum vulgare*, *Lotus japonicus*, *Medicago truncatula*, *Sorghum bicolor*, *Solanum lycopersicum*, *Triticum aestivum*, *Vitis vinifera* и *Zea mays*¹⁶. Другим источником информации об определении рядов последовательности являются коллекции коротких экспрессируемых последовательностей (КЭП, полученные путем определения последовательности библиотек комплементарных ДНК или кДНК), имеющихся у многих культур. По кукурузе, пшенице,

Вставка А3.1

Список видов растений, относительно которых в 2010–2015 гг. осуществляются проекты по определению последовательности генома¹⁵

Amaranthus tuberculatus, *Aquilegia coerulea*, *A. formosa*, *Arabidopsis arenosa*, *Arundo donax*, *Beta vulgaris*, *Brassica napus*, *B. oleracea*, *B. rapa*, *Capsella rubella*, *Chlorophytum borivillianum*, *Citrus sinensis*, *C. trifoliata*, *Cucumis sativus*, *Dioscorea alata*, *Eucalyptus grandis*, *Gossypium hirsutum*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Hordeum vulgare*, *Jatropha curcas*, *J. tanjorensis*, *Lotus japonicus*, *Madhuca indica*, *Malus x domestica*, *Manihot esculenta*, *Millettia pinnata*, *Mimulus guttatus*, *Miscanthus sinensis*, *Musa acuminata*, *Nicotiana benthamiana*, *N. tabacum*, *Oryza barthii*, *Panicum virgatum*, *Phoenix dactylifera*, *Pinus taeda*, *Ricinus communis*, *Solanum demissum*, *S. lycopersicum*, *S. phureja*, *S. pimpinellifolium*, *S. tuberosum*, *Theobroma cacao*, *Triphysaria versicolor*, *Triticum aestivum*, *Vigna radiata* и *Zostera marina*.

ДОПОЛНЕНИЕ 3

рису, ячменю, соевым бобам и *Arabidopsis* имеются самые крупные коллекции КЭП; по каждому из этих видов растений опубликованы данные относительно более одного миллиона КЭП¹⁷.

Разработка новой технологии определения последовательности ряда ДНК¹⁸ проводилась научно-исследовательскими институтами, работающими в области геномики человека и финансируемыми как из государственных, так и частных источников. Масштабы использования этих технологий в изучении растений в целом и в исследованиях в области улучшения культур, эволюции растений и сохранения ГРР в частности отстают от достижений в области геномики человека, но тем не менее растениеводы активно пользуются результатами этих достижений. Постоянные успехи отмечаются в разработке как материальной базы, так и программного обеспечения для проведения определения последовательности генома¹⁹, и предполагается, что в ближайшем будущем определение последовательности всего генома и любая стратегия описания генома будут широко доступными. В подтверждение этого прогноза следует подчеркнуть, что платформы определения последовательности так называемого следующего поколения (например, новейшие методы, которые не основаны на методе Зангера от 1997 г., как определители последовательности РОШ 454 и СОЛЕКСА компании Иллюмина, а которые основаны на более дешевых и быстрых технологиях пироопределения последовательности) постоянно завоевывают признание и, соответственно, более крупные ниши на рынке оборудования по определению последовательности.

А3.4 Оценка и анализ генетического разнообразия

В настоящее время существует много стратегий оценки генетического разнообразия и структуры популяций растений. Многие из них использовались во времена публикации СМГРР-1 и до сих пор полноценно используются; к ним относятся анализ генеалогических схем и реплицирующиеся полевые эксперименты (для количественной оценки

наследуемых видов изменчивости и их компонентов). Молекулярные инструменты, использовавшиеся в 1995 г. для описания гермоплазмы и изучения разнообразия, включали: изоферменты, ПДРФ маркеры, маркеры случайного амплифицированного полиморфизма ДНК (РАПД), маркеры повтора простой последовательности (ПП) и маркеры полиморфизма длины амплифицированных фрагментов (ПДАФ). По мере широкого распространения метода определения последовательности генома и накопления данных о КЭП стало проще собирать данные с помощью маркеров ПП, которые вследствие этого стали более широко использоваться. Достижения в разработке высокопроизводительных систем тестирования маркеров, особенно платформ, которые могут быть автоматизированы и в различной степени уплотнены, также упростили и повысили эффективность использования маркеров полимеразной цепной реакции, включая ПДАФ маркеры. Очень важно отметить, что прямым результатом значительного повышения возможностей по определению последовательности ряда является появление возможности обнаруживать ОП без труда во всех частях генома, т.е. такой тип маркера, который быстро становится самым распространенным в высокопроизводительных системах. ПП и самые последние ОП маркеры подходят для фингерпринтинга генотипов²⁰. ОП маркеры обеспечивают более высокую разрешающую способность карты, более высокую производительность, более низкие затраты и меньшую погрешность по сравнению с ПП маркерами²¹.

Дополнительной чертой таких маркеров, как ОП и ПП, является возможность их перенесения из генотипов, в которых они были обнаружены, в другой материал, относительно которого информации о последовательности ряда не имеется, без повторного определения последовательности ряда²². Фингерпринтинг особей путем обнаружения ОП во всем геноме или его конкретной представляющей интерес части стал мощным средством описания таких коллекций, как коллекции селекционного материала (включая популяции после расщепления), и поступлений в генобанки²³.

Использование ОП маркеров для описания генома в целях улучшения культур и получения

описательных данных о генобанках (о материалах *in situ* и *ex situ*) может не дать результатов в тех случаях, когда не имеется информации о последовательности ряда. В этих случаях ОП маркеры не применяются; соответствующей альтернативой является высокопроизводительная процедура микроматричного анализа, а именно технология разнонаправленных матриц (ТРМ). С помощью ТРМ можно различать особи на основе данных об их полиморфизме при их одновременном сравнении с какой-либо определенной общей геномной моделью. Для этой низкочастотной и высокопроизводительной технологии требуется минимальный объем ДНК от каждой особи, и в то же время она обеспечивает всеобъемлющую информацию о геноме организмов, относительно которых данных о последовательности ДНК не имеется²⁴. С тех пор, как в 2001 г. была доказана концепция по рису, ТРМ использовалась для высокопроизводительных анализов многих родов, включая ячмень, *Musa* и эвкалипт. Например, маркеры ТРМ наравне с другими маркерами использовались для выявления генетических взаимосвязей между 48 поступлениями *Musa* (полученными от двух диких видов с разным составом генома), но были дешевле и показали более высокую разрешающую способность и более высокую скорость²⁵.

Качественные признаки (такие, как сопротивляемость ко многим заболеваниям и стойкость ко многим стрессам) и количественные признаки (такие, как показатели урожайности и продуктивности) обычно являются объектами программ селекции растений и описания коллекций генобанков. Получение этой информации для коллекций особей является трудоемким и затратным процессом, связанным с проверкой на наличие болезнетворных организмов и стрессов в ходе реплицирующихся полевых экспериментов с образцами соответствующего размера. Очевидным является использование молекулярных маркеров, которые могут стать модулями-посредниками для трудоемких и затратных исследований такого типа.

Как естественный, так и искусственный отбор происходят на уровне генов. Хотя отбор зависит от конкретного локуса, в ходе его протекания создается схема вариативности с участием нескольких локусов в конкретных частях генома. Вариативность управляемых генами признаков

должна, следовательно, стать мерой адаптивного генетического разнообразия или адаптивного потенциала популяции или селекционного генобанка. Большинство молекулярных маркеров лишь измеряют нейтральную генетическую вариативность, т.е. изменения в тех частях генома, которые не участвуют в кодировании генов или в регулировании генов и, следовательно, не являются, как предполагается, объектом естественного отбора. Эти схемы генетической вариативности распространяются на весь геном. Вследствие того, что молекулярные методы являются быстрыми и сравнительно дешевыми, всё более распространенными и привлекательными становятся составленные с помощью молекулярных маркеров обзоры вариативности в качестве средства оценки генетического разнообразия популяций или генобанков. Преимущества растут при использовании генных маркеров для проведения анализа. Одним из достижений последнего десятилетия стал рост понимания взаимосвязей между адаптивным генетическим разнообразием и нейтральным генетическим разнообразием²⁶.

К сожалению, многие нейтральные молекулярные маркеры обычно не указывают на адаптивный потенциал популяций или поступлений, для описания которых они, как правило, используются (например, ПДРФ, РАПД, ПДАФ и ПП маркеры)²⁷. В некоторых случаях они неправильно использовались для этих целей, поскольку считалось, что нейтральные маркеры и количественная адаптивная вариативность соотносятся положительно. Существуют области, в которых применение нейтральных молекулярных маркеров особенно ценно для сохранения и использования генетических ресурсов. В тех случаях, когда можно измерить схемы генетической вариативности во многих нейтральных молекулярных точках, беспорядочно разбросанных по всему геному, нейтральные молекулярные маркеры могут дать очень полезную информацию для измерения процессов, происходящих в экосистемах, например потока генов, генетического дрейфа и миграции или рассеивания по всему геному; это является важным для биологии популяций, мониторинга результатов содержания видов на охраняемых территориях или проверки результатов пространственных связей между заповедниками²⁸.

ДОПОЛНЕНИЕ 3

В связи с тем, что в последнее время звучит много обоснованных заявлений об отличиях между типами молекулярных маркеров и соответствием их использования в целях сохранения и использования генетических ресурсов, ожидается, что в каком-либо отчете об использовании молекулярных маркеров будет, наконец, содержаться логическая аргументация относительно типа маркеров, который должен соответствовать целям работы²⁹. Примером изучения использования конкретных типов маркеров в конкретных целях явился анализ трех типов маркеров (производных от КЭП ПП маркеров, производных от КЭП ОП маркеров и ПДАФ маркеров) при анализе разнообразия ячменя для селекции, в естественных популяциях и генобанках. Для всех исследованных целей ни один из типов не был оптимальным³⁰.

При том условии, что теперь появились возможности определять последовательность ряда неизученного генома, стала возможной оценка всеобъемлющей схемы полиморфизма ДНК внутри вида. *Arabidopsis thaliana* является наиболее тщательно изученным на этом уровне растением после определения последовательности его генома. Отмечена избыточная природная вариативность в том, что касается как нейтральных ДНК маркеров, так и локусов, вызывающих фенотипические изменения³¹. Возможности построить такую модель самих видов культур будут возрастать по мере повышения доступности данных о последовательных рядах генома. Производные от КЭП ОП маркеры были успешно использованы для выявления культиваров дыни; это является примером использования полиморфизма на уровне ДНК для описания генома в тех случаях, когда в распоряжении у исследователей имеется мало геномных инструментов, а именно лишь КЭП маркеры и генетические карты, составленные с помощью очень старых молекулярных маркеров³².

Поскольку исследователи пользуются этими инновациями, необходимо подчеркнуть, что стратегии, которые отбираются для оценки генетического разнообразия, должны соответствовать целям сохранения и использования генетических ресурсов. Для иллюстрации вышесказанного можно предположить, что, если цель тестирования ряда популяций вида на разнообразие (измеряемого нейтральным молекулярным маркером) заключается в том, чтобы в первую очередь сохранить наиболее

разнообразные популяции при том условии, что при этом будет в наибольшей степени сохранено адаптивное генетическое разнообразие, то исследователь может принять решение, что для этого необходимо сравнительно небольшое число популяций. Возможная ошибка такого решения заключается в том, что, если, например, другие популяции не будут включены в первоочередной список для сохранения, то может быть утеряна значительная часть адаптивного генетического разнообразия, поскольку оно не может быть распространено среди всех популяций в равной степени. Это в конечном итоге будет противоречить первоначально обозначенным целям оценки генетического разнообразия³³.

Молекулярные маркеры всё чаще используются для решения более приземленных задач. Например, помимо того, что маркеры являются инструментами сохранения и использования генетических ресурсов, они успешно использовались для изучения генетического воздействия традиционных фермерских методик, которые зачастую в недостаточной степени оформлены документально. Изучение примера с бататом в Бенине показало, что традиционная практика фермеров спонтанного отбора диких видов батата с территорий, прилегающих к фермам, и выращивания их приводит к появлению новых сортов с новыми генетическими комбинациями. Появление этих новых сортов стало прямым результатом гамогенеза между дикими и культивируемыми видами батата, поскольку у предшественников можно было отследить аллели. В этом исследовании использовались ПП маркеры. Таким образом было установлено, что цикл гамогенеза с последующим традиционным вегетативным размножением (с использованием клубней) приводит к крупномасштабной культивации самых лучших генотипов, что облегчает интрогрессию потенциального разнообразия, обладающего способностью к будущей адаптации.³⁴

A3.5 Технологии и стратегии сохранения ГРПСХ

Одним из аспектов использования и сохранения ГРПСХ, который не претерпел никаких значительных

изменений со дня публикации СМГРР-1, являются традиционные условия хранения семян. Современные рекомендации относительно температурного режима и режима влажности остаются теми же, что и до публикации СМГРР-1. С тех пор, однако, в страновых докладах, являющихся частью данного СМГРР-2, и разработанных ГКДТ стратегиях сохранения конкретных культур всё больше говорилось об озабоченности в связи с пробелами в тестировании и регенерации поступлений. Например, результаты тестирования на жизнеспособность, по сообщениям, свидетельствуют о том, что регенерацию необходимо проводить после более коротких периодов хранения, чем это прописано в настоящее время в нормативных документах. Один из исследователей показал, что, по-видимому, режим влажности является более важным из двух факторов хранения и что уровень влажности выше оптимального в тех случаях, когда семена хранятся в упаковочном материале, что ведет к потере жизнеспособности³⁵. Поскольку необходимо повышать эффективность хранения семян, настало, по-видимому, время начать применять инновационные биологические средства расшифровки казалось бы сложных взаимосвязей между типом ёмкостей для хранения семян, температурой хранения и режимами влажности³⁶.

За последние 12 лет постоянно росло число отчетов об оценке использования молекулярных маркеров как надежных инструментов управления сохраняемым в генобанках разнообразия. Одним из примеров такого типа исследований стало использование ПДАФ маркеров для оценки масштабов генетического разнообразия внутри поступления самооплодотворяющегося вида, а именно салата-латука, в Центре генетических ресурсов (ЦГР) в Нидерландах. С использованием различных имеющихся маркеров были протестированы два растения, каждое из которых состояло из 1 390 поступлений (включая шесть типов культиваров). В целом, была очень низкая (около одного процента) средняя вероятность того, что два растения в поступлении будут отличаться друг от друга. Однако, показатели вероятности были разными у разных типов культиваров. У типов, состоящих из поступлений, являвшихся в первую очередь новейшими культиварами, показатели вероятности различий

между двумя растениями равнялись приблизительно 0,5 процента, а у двух типов, состоящих из поступлений, являвшихся в основном местными сортами, этот показатель был выше одного процента. Эта информация понадобится для определения того, нужно ли поддерживать отмеченный уровень разнообразия у каждого поступления для его будущих поколений и как этого можно добиться³⁷.

Полезность молекулярных маркеров для принятия решений по стратегиям управления сохраняемым разнообразием также была подробно доказана на примере почвенных коллекций. Для определения идентичности и избыточности в крупных почвенных коллекциях был использован метод фингерпринтинга. Например, в ИЦГТ в Тринидаде и Тобаго более 2 000 поступлений культур хранятся в почвенной коллекции, причем каждое поступление представлено даже 16 отдельными деревьями, а усредненный показатель составляет шесть деревьев на одно поступление. В целях устранения неопределенности, явившейся следствием неправильной маркировки растений, что представляет собой серьезную проблему для таких крупных коллекций, был успешно использован многолокусный ПП фингерпринтинг³⁸.

В последние 12 лет возникла тенденция сохранять банки ДНК ГРРПСХ. Поступали сообщения о том, что отмечались случаи, когда банки ДНК поступлений гермоплазмы, картированных популяций, селекционного материала и т.д. специально направлялись для прохождения молекулярных испытаний. Такая практика должна быть расширена, поскольку молекулярные испытания и соответствующие установки становятся дешевле, что, в свою очередь, упрощает доступ к ним работающим в этой области специалистам. Показательным является то, что под эгидой ботанических садов (например, Банк ДНК КБС в Кью или Банк ДНК Ботанического сада и Ботанического музея в Берлине) или отдельных учреждений (например, Банк ДНК растений Австралии и Банк ДНК Национального института агробиологических наук [НИАС], Японии) были созданы лучше организованные хранилища ДНК растений. Для того, чтобы банки ДНК могли проводить такие операции с молекулярными данными, как определение последовательности ряда и получение информации о каждом поступлении с помощью маркеров, у них помимо обычных платформ

ДОПОЛНЕНИЕ 3

управления данными о классических поступлениях гермоплазмы должны быть соответствующие биоинформатические платформы. Банки ДНК могут стать также источниками генетической информации о находящихся под угрозой таксонах без проведения дополнительных исследований гермоплазмы.³⁹

А3.6 Методологии, используемые в селекционной работе

В первую очередь необходимо подчеркнуть, что использование геномных инструментов для решения различных проблем управления ГРПСХ не умаляет важности фенотипического описания селекционного материала, картированных и естественных популяций или поступлений в генобанк. Наоборот, тщательное и точное определение фенотипа остается как никогда важным и является ключевым фактором использования молекулярных данных, поскольку маркеры представляют собой определенную значимость только при точном определении их взаимосвязи с фенотипами.

Своевременные усилия, направленные на разработку большого числа молекулярных маркеров, генетических карт высокой плотности и правильно структурированных картированных популяций, привели к повышению эффективности генетического улучшения многих видов сельскохозяйственных культур. При работе с представляющими интерес признаками растений результаты многочисленных работ по картированию генов позволяют более точно подсчитать число локусов, определить аллельные последствия и просчитать действия аллелей⁴⁰. Со дня публикации СМГРР-1 молекулярные методы были успешно включены в несколько стратегий селекции растений. Такой успех привел к возникновению самого понятия молекулярной селекции как совокупного определения стратегии улучшения культур, охватывающей селекцию при помощи маркеров и методы рекомбинантных ДНК.

СПМ

СПМ представляет собой новую стратегию улучшения культур с использованием молекулярных маркеров

(генных ориентиров), позволяющих принимать решения при тестировании селекционного материала. Такой поворот в системе понятий стал в значительной степени возможен благодаря высокопроизводительным методам выявления и использования молекулярных маркеров в больших масштабах, включая инфраструктуру информационных технологий, и благодаря межотраслевым подходам, позволяющим осуществлять определение фенотипов и описание признаков в различных условиях. Достоверная проверка совместного расщепления представляющего интерес признака с помощью одного из многих возможных типов ДНК маркеров предшествует использованию маркера для селекции признака в селекционном материале. СПМ становится ценным инструментом для работы со многими различными сельскохозяйственными культурами, причем ценность этого метода будет расти по мере уменьшения стоимости молекулярно-биологических испытаний⁴¹. Разработка маркеров была значительно упрощена благодаря успехам в локализации геномов генных аллелей, отвечающих за тот или иной признак. Успехи в конструировании молекулярно-генетических карт сцепления, физических карт и с недавних пор ассоциативных карт внесли свой вклад в постоянное пополнение ряда полезных молекулярных маркеров, используемых для улучшения сельскохозяйственных культур.

Ассоциативное картирование, известное также как картирование неравновесного сцепления (НС) или анализ ассоциаций, является самым новым методом картирования, основанным на изучении популяции с целью объединения полиморфизма последовательного ряда (обычно однонуклеотидного полиморфизма) с фенотипической изменчивостью на базе неравновесного сцепления (неслучайной ассоциации аллелей в сцепленном локусе) без необходимости в создании структурированных расщепленных картированных популяций. Таким образом, путем картирования расположенных поблизости ОП можно установить геномные места расположения относящихся к признаку генов без их клонирования. Причинные ОП, выявленные с помощью ассоциативных карт высокой плотности, обычно впоследствии подтверждаются с помощью функциональных анализов. У метода

ассоциативного картирования по сравнению с методом анализа сцепления имеются три основных преимущества: более высокая разрешающая способность картирования, экономия потраченного на исследование времени и большее число аллелей⁴².

Развертывание этих стратегий было ограничено в первую очередь учреждениями, занимающимися улучшением культур, у которых появились также возможности получать информацию о последовательности ряда интересующих их культур. В рамках национальных программ сохранения и использования ГРР растут опыт и общие возможности в области биотехнологии растений, как об этом говорится в страновых докладах, опубликованных в качестве части настоящего СМГРР-2⁴³. Международные и другие национальные усилия, направленные на наращивание потенциала и инфраструктуры, способствовали развитию этой тенденции. Однако, в развивающихся странах и даже во многих развитых странах ещё не произошло полного развертывания передовых стратегий селекции, возможностей биоинформатики и геномики, это можно сделать лишь при налаживании сотрудничества с другими национальными или международными проектами в области геномики.

Проблема любой программы селекции заключается в разработке соответствующих стратегий для многих различных случаев, когда необходимо применить к ГРРПСХ методы молекулярной биологии⁴⁴. Например, для возвратного скрещивания с помощью маркеров потребуются несколько маркеров для генотипирования сотен образцов (потомства, полученного от возвратного скрещивания) по конкретному наследуемому признаку, как и для скрининга элементов интрогрессии или ГМО конструкций, а для успешных генетических описаний или фингерпринтинга, с другой стороны, потребуются от сотен до тысяч маркеров. В целом, для программ, связанных с широким разнообразием маркеров, большой производительностью и большим количеством образцов, потребуются центры оказания услуг в области геномных исследований. Необходимость в таких высоких начальных инвестициях, по-видимому, объясняет тот факт, что СПМ применяется в основном в крупных многонациональных селекционных

компаниях; исключением являются финансируемые государствами организации.

Генетическая трансформация

Методы, основанные на рекомбинантных ДНК, т.е. на молекулах, содержащих последовательности ДНК, полученные из более чем одного источника, используются для создания новых генетических вариаций. При улучшении культур это связано с инкорпорацией внешних последовательных рядов ДНК или РНК с помощью либо баллистической трансфекции, либо переносчиков в геном организма-реципиента, который в результате приобретает новые и ценные с агротехнической точки зрения признаки. Новые вариации называются генетически модифицированными организмами или ГМО. Впервые трансгенные культуры были выращены в коммерческих целях в середине девяностых годов прошлого столетия во время публикации СМГРР-1. С тех пор четыре товарные культуры, а именно кукуруза, соевые бобы, рапс сорта канола и хлопок, выращивались как ГМО на коммерческой основе. К 2008 г. на них приходилось более 99,5 процента всего производства трансгенных культур (Джеймс, 2008 г.⁴⁵). Интересно также отметить, что в этих культурах были экспрессированы лишь два результата трансформации, а именно терпимость к гербицидам и сопротивляемость по отношению к вредителям или комбинация этих признаков. Это, следовательно, означает, что через более чем 25 лет после первого успешного производства трансгенных растений масштабы использования генетической трансформации как обычного способа улучшения культур остаются ограниченными, несмотря на очевидный потенциал этой технологии. Недостатки включают отсутствие эффективных, независимых от генотипа систем регенерации для большинства культур и ограничения, которые связаны с правами ИС и которые являются, по-видимому, самыми сдерживающими из всех факторов. В тех случаях, когда ГМО остаются эксклюзивной прерогативой частных селекционных предприятий развитых стран, участие нескольких компонентов исследований и разработок (с помощью патентов) исключается из производства трансгенных культур. Интерес

ДОПОЛНЕНИЕ 3

представляет наметившаяся тенденция (которая в конечном итоге может ускорить пересмотр роли прав ИС в том, что касается ГРПСХ), заключающаяся в том, что ГМО культуры в настоящее время выращиваются в развивающихся странах, что подтверждается фактами выращивания трансгенных соевых бобов в Южной Америке и трансгенного хлопка в Индии и Китае (Джеймс, 2008 г.; Гловер, 2007 г.⁴⁶, 2008 г.⁴⁷).

По мере того, как всё большее число развивающихся стран овладевают соответствующими навыками работы с нормативными актами, регламентирующими выращивание ГМО, особенно в соответствии с правилами биобезопасности, сформулированными в Картахенском протоколе о биобезопасности, совместные усилия необходимо направлять на создание потенциала в области ограничений, связанных с правами на ИС и эффективно сдерживавших изучение всех возможностей переноса генов ГРПСХ. Высказываются предположения, что с другой стороны в будущем исследования будут направлены на усовершенствование систем регенерации растений и – что достаточно важно – на увеличение числа агротехнических признаков, которые могут быть улучшены посредством генетической трансформации. До сих пор объединение результатов нескольких трансформаций в одном организме-реципиенте для экспрессии фенотипов было невыполнимым. Преодоление технологических барьеров будет иметь ключевое значение для использования метода генетической трансформации в целях решения задач, касающихся полигенных признаков, особенно относящихся к изменению и вариативности климата, а именно к засухе и засоленности почв. Решение этой проблемы будет также важным для разветвления генов.

А3.7 Биоинформатика

Для того, чтобы можно было сравнительно легко накапливать молекулярно-генетические данные, необходимо было разработать всё более мощные электронные системы хранения, анализа и разархивации данных. В настоящее время потребности в хранении данных измеряются в

петабайтах, что приблизительно на три порядка выше, чем система, обычно применявшаяся в 1995 г. Тенденция в усилиях, направленных на снижение затрат в биоинформатике, заключается в том, чтобы в центрах геномики дорогостоящие установки универсальных вычислительных машин в большинстве случаев заменялись на серверные фермы, состоящие из объединенных друг с другом стандартных обычных персональных компьютеров или серверов, обеспечивающих аналогичные или более существенные возможности обработки данных при более низких затратах, и из встроенного дополнительного Центрального вычислительного блока (ЦП). Для обеспечения большей надежности даже при выходе из строя одного из блоков эти установки оборудованы кондиционерами. Эти системы хранения и анализа данных становятся ещё более доступными благодаря тому, что в эти системы встраиваются сетевые серверы.

Именно благодаря объединению усилий изобретательных программистов, разработчиков доступных операционных систем и программных средств баз данных, появлению неограниченного доступа к интернету и возможностей пользоваться им, а также как государственным, так и частным инвестициям появились надежные инструменты для работы в лабораториях геномики и, соответственно, возможности хранить, анализировать, распространять и объяснять массивные базы данных, накопленных в ходе осуществления проектов по определению последовательности генов и работ в области молекулярной биологии.

Для изучения взаимосвязей между наборами данных постоянно необходимы новые алгоритмы и статистические данные. Для представления генетической информации карты являются наиболее распространенным форматом, и разработка программного обеспечения для составления таких карт остается одной из самых активных областей исследований и разработок в молекулярной биологии. Для упрощения анализа геномных данных и их интеграции с данными из смежных областей транскриптомики, протеомики, метаболомики и феномики по-прежнему необходимы будут новые открытия в биоинформатике.

Результатом совместных проектов в области геномики стало создание баз данных, в которых данные хранятся централизованно, а доступны на глобальном уровне. Неотъемлемой частью этой деятельности стало создание коллекций геномных ресурсов, описи которых, как и доступ к ним являются компонентами базы геномных данных. Такие проекты финансировались в основном государственным сектором (на национальном и международном уровнях).

А3.8 Политические, организационные и правовые вопросы

С 1995 г. важным международным инструментом, оказывающим воздействие на сохранение и использование ГРР, стал МДГРРПСХ, который был принят в 2001 г. и вступил в силу в 2004 г.⁴⁸. Этот Договор, направленный на усовершенствование Конвенции о биологическом разнообразии, обязывает его участников разработать законодательство и правила по выполнению своих обязательств относительно упрощения сохранения генетических ресурсов, подпадающих в сферу действия МДГРРПСХ, обмена ими и их использования. Впоследствии был разработан специальный механизм финансирования деятельности в рамках МДГРРПСХ, и в 2004 г. был создан ГКДТ. В настоящее время ГКДТ собирает вклады и дополнительные средства для улучшения условий хранения национальных коллекций гермоплазмы, наращивания потенциала и усиления информационных систем. Особое внимание уделяется совместной разработке региональных и глобальных стратегий сохранения культур⁴⁹. Со дня публикации СМГРР-1 важным событием в деле обмена ГРРПСХ стала разработка ССПМ, которое для участвующих сторон представляет собой многостороннюю систему процедур обмена гермоплазмой сельскохозяйственных культур.

Признавая необходимость сотрудничества для успешного выполнения проектов в области геномики, национальные и международные органы, занимающиеся финансированием исследований, специально приспособили некоторые из своих

программ финансирования к тому, чтобы оказывать конкретную поддержку совместным усилиям. В результате, государства стали вкладывать средства в создание центров определения последовательности генома, разработку баз данных о геноме, производство инструментов для проведения анализов и обеспечение открытого доступа к информации, как правило через интернет. Сохранение или увеличение этих инвестиций будут зависеть от состояния мировой и национальных экономик. Несмотря на то, что впервые после Второй мировой войны в 2009 г. было отмечено снижение показателей мирового валового продукта, прогнозы, как представляется, говорят о возможности восстановления положения в 2010 г.⁵⁰.

Технические успехи в фингерпринтинге ДНК могут иметь отношение к защите интеллектуальной собственности лишь в том, что теперь можно четко выявлять культивары. ОП фингерпринтинг дает точные и практичные результаты в высокоскоростных процессах; его применение, однако, всё ещё ограничено культурами с базой ОП данных. В настоящее время более широко используются платформы фингерпринтинга на основе ПП маркеров или даже ПДАФ и РАПД маркеров.⁵¹

Первоначально защита прав ИС изобретателей в том, что касается ГРРПСХ, ограничивалась защитой ПСР. На национальном уровне такая защита обеспечивалась различными законами, в соответствии с которыми права ИС на новые сорта культур предоставлялись разработчику, а именно селекционеру растений. Усилия, направленные на гармонизацию этих национальных законов, привели к тому, что в 1961 г. была принята Международная конвенция и был создан Союз по защите новых сортов растений (УПОВ); в 1972 г., 1978 г. и 1991 г. были приняты пересмотренные Акты этой Конвенции. Затем в 1994 г. было подписано Соглашение ВТО по торговым аспектам прав интеллектуальной собственности (ТАПИС). ТАПИС содержало конкретные положения по защите прав ИС, относящихся к инновациям в сельскохозяйственном производстве (растений и животных). Усилия, направленные на развитие прав ИС как на национальном, так и на международном уровнях, всегда имели четко сформулированную цель облегчения справедливого и равного доступа к инновациям. Но очевидным является то, что в конечном

ДОПОЛНЕНИЕ 3

итоге эти действия с наилучшими побуждениями приводили к дальнейшему ограничению доступа.

Успехи в биотехнологии, включая области, относящиеся к ГРПСХ, породили беспрецедентную гонку за патентами, которая стала походить на виртуальную преграду, мешающую усилиям по облегчению доступа к инновациям в области биотехнологии. Со дня публикации СМГРР-1 биотехнологическая составляющая в производстве продовольствия и ведении сельского хозяйства продолжала расти, и вездесущие ГМО культуры использовались как для коммерческого производства, так и для проведения испытаний во многих частях мира. Патентная защита культур и даже материалов, используемых в их селекции, например последовательных рядов генов конструкций, была, как известно, ограничительной. Например, именно вопросы, связанные с правами ИС, сдерживали широкое распространение использования риса с высоким содержанием бета-каротина, а именно золотого риса, как общедоступного товара. При учете моральных обязательств по обеспечению продовольственной безопасности удивительным является то, что для снятия этих преград не были предприняты дополнительные усилия.

Возможности национальных исследовательских организаций пользоваться запатентованными биотехнологическими новинками являются исключительно ограниченными, поскольку связанные с этим затраты обычно непомерно высоки. Альтернативы, которые обычно предполагают доступ к технологиям без получения разрешения, связаны с использованием лазеек в законодательстве о патентах и охраняемых сортах. Международным государственным исследовательским структурам, а именно центрам Консультативной группы по международным сельскохозяйственным исследованиям, также удалось успешно провести переговоры о доступе к новинкам без уплаты авторских гонораров. В рамках новаторского регионального проекта, а именно Африканского фонда сельскохозяйственных технологий, также удалось договориться о доступе к защищаемым правами ИС биотехнологиям, позволяющим национальным программам полностью использовать потенциал ГРПСХ. В целом, предпринимаемые в настоящее

время усилия, направленные на получение доступа к технологиям, находящимся в режиме прав ИС, были раздробленными, дорогостоящими и свидетельствовали о необходимости международного сотрудничества в этой области. Для решения этих очень сложных вопросов необходимо начинать с организации образования и наращивания потенциала.

A3.9 Будущие перспективы

В будущем выращивание сельскохозяйственных культур будет обусловлено многочисленными проблемами, которые могут быть эффективно решены при помощи сочетания выведения выносливых и стойких сортов культур (посредством модификации геномов культур путем селекции, желательного упрощенной благодаря эффективным молекулярным подходам) и внедрения ряда смягчающих факторов в агротехническую практику. Для повышения надежности прогнозов относительно урожаев на основе молекулярно-генетической информации исследователям должны быть доступны новые инструменты, повышающие возможности более точного объединения молекулярных профилей (генотипов) со свойствами материала (фенотипами).

Должны быть также заполнены многочисленные пробелы в знаниях. Например, остаются в значительной степени непонятными тонкости фенотипической пластичности к изменениям условий окружающей среды и количество слоев генетической избыточности, которые характеризуют биологические системы. Согласованное применение большого числа имеющихся и разрабатываемых инструментов и процедур может с большой долей вероятности помочь распутать эти процессы и, таким образом, повысить возможности более эффективного управления ГРПСХ перед лицом пугающих проблем растущей изменчивости климата, роста мирового населения и стремлений использовать продукты питания в нетрадиционных целях, а именно в качестве топлива, корма для животных и тканей.

Накопленные к настоящему времени достижения в геномике и её вспомогательных научных и технологических дисциплинах являются лишь началом понимания того, каким образом генотип

передает живому организму определенный набор признаков. Сегодня существуют возможности разобрать на части сложный фенотип и определить, в каком месте хромосом физически расположены отдельные гены или правильнее сказать ЛКП. Данные ДНК маркеров, совмещенные с данными о ЛКП, представляют собой мощный диагностический инструмент, позволяющий селекционеру избрать конкретную представляющую интерес интрогрессию. По мере того, как всё большее число представляющих интерес генов будет клонировано, идентифицировано или занесено на карты, а их участие в сложных биологических системах будет лучше понято, будут появляться многочисленные возможности для созидательного «синтеза» новых сортов. Вероятным также является то, что для реализации некоторых из этих возможностей понадобятся решения из области геномной инженерии, в которой новая информация о генах, регулировании генов и реакции растений на окружающую среду может быть использована инновационным путем с тем, чтобы существующие сорта растений после соответствующей корректировки более эффективно использовали ресурсы, были более питательными или просто стали вкуснее.

Необходимо будет постоянно распространять стратегии и возможности по молекулярному улучшению культур на недостаточно изученные и недостаточно финансируемые культуры (так называемые культуры-сироты), но которые по иронии судьбы представляют собой оплот продовольственной безопасности для огромной доли человечества. Достижение такого положения, когда на культуры-сироты будут широко распространяться и к ним будут повседневно применяться новейшие биотехнологические методы, что одновременно может оказать широкомасштабное положительное воздействие на благополучие человека, является, следовательно, неоспоримой возможностью не только для тех, кто занимается производством общественных товаров, но и для человечества в целом. Существующие неприемлемо высокие масштабы отсутствия продовольственной безопасности не должны оставаться такими же и не должны расти ещё дальше; для того, чтобы повернуть вспять эту тенденцию необходимо рачительное управление ГРПСХ при применении новейших инструментов и достижений.

Немедленные шаги в этом направлении потребуют вложения ресурсов в экспериментальные исследования, направленные на получение информации о биологических процессах, которые лежат в основе фенотипов самих культур⁵². К настоящему времени проведено или проводится определение последовательности ряда видов, представляющих лишь около 13 семейств растений. Существует настоятельная необходимость в проведении определения последовательности ряда более 600 семейств растений, которое до сих пор ещё не начато, поскольку преимущества от наличия данных о геномной последовательности, как оказывается, не поддаются счету. Определенным является то, что в первую очередь необходимо определить последовательность ряда многих видов культур-сирот.

Ни одно из этих продвижений в области новых технологий не умаляет значимости коллекций ГРР. И действительно, для того, чтобы с наибольшей пользой применять новые инструменты, могут понадобиться новые стратегии обнаружения ещё более широкого генетического разнообразия и поддержания этого разнообразия во время сохранения и регенерации образцов. Сохраняется жизненная важность генобанков, которые нуждаются в дополнительной поддержке⁵³.

Аналогичным образом, параллельный прогресс в анализе генома вредителей и болезнетворных организмов растений должен привести к росту понимания механизмов сопротивляемости по отношению к заболеваниям и вредителям. Глобальные изменения климата и его колебания будут представлять определенные предсказуемые проблемы для сельскохозяйственных производственных систем (например, повышение температур, засуха, наводнения, усиление ветров и увеличение числа и появление новых вредителей и болезнетворных организмов). Для решения этих проблем в исследованиях должны в полной мере использоваться имеющиеся молекулярные инструменты и стратегии не только с целью повышения производительности, но и также с целью уменьшения воздействия на окружающую среду, усиления связывания углерода и замещения ископаемых видов топлива.⁵⁴

ДОПОЛНЕНИЕ 3

Библиография

- ¹ Метскер М.Л. 2010 г. Технологии определения последовательности ряда – следующее поколение. *Записки о природе: генетика* 11:31-46. Несмотря на то, что в этом обзоре основное внимание уделяется вопросам геномики человека, его выводы о возможностях и потенциале определения последовательности ряда относятся и к геномике растений.
- ² Дельсени М. 2004 г. Переоценка актуальности наследственной общей синтении как одного из инструментов улучшения культур. *Оценка состояния дел в биологии растений в настоящее время* 7:126-131.
- ³ Содержащееся в этом пункте сравнение достижений в геномной технологии с серией волн почерпнуто из следующего обзора: **Боревиц Дж.О. и Экер Дж.Р.** 2004 г. Геномика растений: Третья волна. Ежегодный обзор геномной генетики. 5:443-447. Несмотря на то, что этот обзор того, что было и что будет возможным сделать на основе науки о геномике растений, иллюстрируется примером успехов, достигнутых при работе с *Arabidopsis thaliana*, многие наблюдения имеют отношение к геномике растений в целом.
- ⁴ **Инициатива по изучению арабидопсиса.** 2000 г. Анализ последовательности генома *Arabidopsis thaliana* на этапе цветения. *Природа*, 408:796-815.
- ⁵ Ю Дж., Ху С., Ванг Дж., Вонг Дж.К., Ли С., Лю Б., Денг Ю., Дан Л., Жу Ю., Жанг К., Као М., Лю Дж., Сан Дж., Танг Дж., Чен Ю., Хуанг К., Линн В., Йе К., Тонг В., Конг Л., Дженг Дж., Хан Ю., Ли Л., Ли В., Ху Дж., Хуанг К., Ли В., Ли Дж., Лю З., Ли Л., Лю Дж., Ки К., Лю Дж., Ли Л., Ли Т., Ванг К., Лю Х., Ву Т., Жу М., Ни П., Хан Х., Донг В., Рен К., Фенг К., Кюи П., Ли К., Ванг Х., Ксу Х., Жаи В., Ксу З., Жанг Дж., Хе С., Жанг Дж., Ксу Дж., Жанг К., Женг К., Донг Дж., Женг В., Тао Л., Йе Дж., Тан Дж., Рен К., Чен К., Хе Дж., Лю Д., Тянь В., Тянь К., Кся Х., Бао К., Ли Дж., Гао Х., Као Т., Ванг Дж., Жао В., Ли П., Чен В., Ванг К., Жанг Ю., Ху Дж., Ванг Дж., Лю С., Йанг Дж., Жанг Дж., Ксионг Ю., Ли З., Мао Л., Жу К., Жу З., Чен Р., Хао Б., Женг В., Чен С., Гуо В., Ли Дж., Лю С., Тао М., Ванг Дж., Жу Л., Юан Л. и Янг Х. 2002 г. Вариант последовательного ряда генома риса (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Наука*, 296: 79-92.
- ⁶ **Гофф С.А., Рике Д., Лан Т.Х., Престинг Дж., Ванг Р., Дани М., Глейзбрук Дж., Сессионс А., Ёлер П., Варма Х., Хедли Д., Хачисон Д., Мартин К., Катагири Ф., Ланге Б.М., Мугамер Т., Кся Й., Будворт П., Жонг Ж., Мигель Т., Пашковский У., Жанг С., Кольберт М., Сан В.Л., Чен Л., Купер Б., Парк С., Вуд Т.К., Мао Л., Кейл П., Винг Р., Дин Р., Ю Ю., Жарких А., Шен Р., Сахасрабуде С., Томас А., Каннингс Р., Гутин А., Прус Д., Рид Дж., Тавтигян С., Митчелл Дж., Элдредж Дж., Шолл Т., Миллер Р.М., Батнагар С., Эдей Н., Рубано Т., Туснеем Н., Робинсон Р., Фельдхаус Дж., Макаима Т., Олифант А. и Бриггс С.** 2002 г. Вариант последовательного ряда генома риса (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Наука*, 296: 92-100.
- ⁷ **Тускан Дж.А., ДиФазиио С., Янсон С., Больманн Дж., Григорьев И., Хелстен Ю., Путнам Н., Ральф С., Ромбаутс С., Саламов А., Шейн Дж., Стерк Л., Аерте А., Балерао Р.Р., Балерао Р.П., Блаудез Д., Боерджан В., Брун А., Бруннер А., Бусов В., Кэмпбелл М., Карлсон Дж., Шало М., Чапман Дж., Чен Дж.Л., Купер Д.Л., Кутино П.М., Кутюрье Дж., Кувер С., Кронк К., Канингэм Р., Дэвис Дж., Дигрев С., Дежарден А., деПамфилис К., Деттер Дж., Диркс Б., Дубчак И., Дюплессис С., Элтинг Дж., Эллис Б., Гендлер К., Гудстайн Д., Грибсков М., Гриввуд Дж., Грувер А., Гюнтер Л., Хамбергер Б., Хайнце Б., Хелариутта Ю., Хенрисат Б., Холлиган Д., Холт Р., Хуанг В., Ислам-Фарида Н., Джоунс С., Джоунс-Роадес М., Йоргенсен Р., Джоши К., Кангасярви Й., Карлссон Дж., Келлехер К., Киркпатрик Р., Кирст М., Кёлер А., Каллури Ю., Лаример Ф., Либенс-Мак Дж., Лепле Дж.К., Локачио П., Лу Ю., Лукас С., Мартин Ф., Монтанини Б., Наполи К., Нельсон Д.Р., Нельсон К., Ниеминен К., Нильссон О., Переда В., Питер Г., Филипп Р., Пилат Г., Поляков А., Разумовская Ю., Ричардсон П., Ринальди К., Ритланд К., Рузе**

- П., Рябой Д., Шмуц Дж., Шрадер Дж., Сегерман Б., Шин А., Сиддики А., Стерки Ф., Терри А., Цай К.Дж., Убербахер Е., Уннеберг П., Вахала Дж., Уолл К., Весслер С., Янг Дж., Йин Т., Дуглас К., Марра М., Сандберг Дж., Ван де Пиер Ю. и Рохсар Д.** 2006 г. Геном тополя волосистоплодного *Populus trichocarpa* (Торр. И Грей). *Наука*, 313:1596-1604.
- ⁸ <http://medicago.org/genome/>
- ⁹ См.: <http://www.phytozome.net/sorghum>; <http://www.phytozome.net/grape.php>; и <http://www.phytozome.net/paraya.php>
- ¹⁰ <http://www.phytozome.net/soybean.php>
- ¹¹ <http://genome.jgi-psf.org/Araly1/Araly1.info.html>
- ¹² <http://brachypodium.pw.usda.gov/>
- ¹³ <http://maizesequence.org/index.html>
- ¹⁴ Хорошими точками доступа к базам данных о последовательности ряда и о геномных программах являются сайты PlantGDB по адресу <http://www.plantgdb.org/> и Phytozome по адресу <http://www.phytozome.net/>.
- ¹⁵ Перечисленный список таксонов взят с сайта геномного проекта NCBI Entrez, находящегося по адресу <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/leuks.cgi?taxgroup=11:|12:Land%20Plants&p3=12:Land%20Plants>.
- ¹⁶ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucgss>
- ¹⁷ http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/dbEST_summary.html
- ¹⁸ **Страусберг Р.Л., Леви С. и Роджерс Ю.-Х.** 2008 г. Возникновение технологий определения последовательности ДНК для геномной разработки лекарственных средств для человека. *Создание лекарств в современном мире* 13:569-577. Несмотря на то, что три основные технологии определения последовательности ряда представлены в контексте геномики человека, они в настоящее время применяются и в исследованиях растений; прогноз относительно новых технологий относится также к изучению растений.
- ¹⁹ **Метскер М.Л.** 2010 г. Технологии определения последовательности ряда – следующее поколение. *Записки о природе: генетика* 11:31-46. В работе содержится самый последний обзор тех же трех технологий, а также приводятся подробные данные о планах на 2010 г.
- ²⁰ **Ангали С.А.** 2009 г. Генотипирование однонуклеотидного полиморфизма и применение его результатов в картировании и селекции растений с помощью маркеров. *Африканский журнал биотехнологии*, 8:908-914.
- ²¹ **Джоунс Е., Чу В.-К., Айель М., Хо Дж., Брюгеман Е., Ёрстоун К., Рафальский А., Смит О.С., МакМуллен М.Д., Безавада К., Воррен Дж., Бабаев Дж., Басу С. и Смит С.** 2009 г. Разработка маркеров однонуклеотидного полиморфизма (ОП маркеров) для работы с гермоплазмой кукурузы (*Zea mays* L.) в коммерческих целях. *Молекулярная селекция*, 24:165-176.
- ²² **Веццulli С., Микелетти Д., Риас С., Пиндо М., Виола Р., Тис П., Уолкер М.А., Троджио М. и Веласко Р.** 2008 г. Обзор ОП трансплантатности рода *Vitis*. *Журнал биологии растений Главного БиоМед Издательства* 8:128-137. Геномная информация об одном из культиваров *V. vinifera*, относительно которого информация о последовательности ряда была известна, была в максимальной степени передана другим тесно связанным культиварам и диким формам без повторного определения последовательности ряда. Этот метод, однако, не был столь успешен с другими видами *Vitis*.
- ²³ **Спунер Д., ван Треурен Р. и де Висенте М.К.** 2005 г. Молекулярные маркеры в управлении генобанками. Технический бюллетень МИГРР № 10. Международный институт генетических ресурсов растений [в настоящее время Биоверсити Интернэшнл]. Рим, Италия.

ДОПОЛНЕНИЕ 3

- ²⁴ Джакуд Д., Пенг К., Фейнштейн Д. и Килиан А. 2001 г. Матрицы разнообразия: Твердотельная технология для независимого генотипирования информации и последовательности ряда. *Изучение полинуклеотидов* 29:e25-e31. В работе описывается методика на примере риса.
- ²⁵ Ристеруччи А.-М., Гиполайт И., Перье Х., Ксиа Л., Кейг В., Эверс М., Хатнер Е., Килиан А. и Глацман Дж.К. 2009 г. Разработка и оценка технологии матриц разнообразия для высокопроизводительного анализа ДНК культуры *Musa*. *Теоретическая и прикладная генетика*, 119:1093-1103.
- ²⁶ Гонсалес-Мартинес С.К., Крутовский К.В. и Нил Д.Б. 2006 г. Геномика лесных популяций и адаптивная эволюция. *Новая Ботаника* 170:227-238. В работе содержится обзор различий между типами маркеров.
- ²⁷ ФАО. 2001 г. Геномика лесов для сохранения адаптивного генетического разнообразия. Документ подготовлен К.Крутовским и Д.Б.Нилом. Рабочие документы по генетическим ресурсам лесов, Рабочий документ FGR/3 (июль 2001 г.). Служба развития лесных ресурсов, Отдел лесных ресурсов. ФАО, Рим (*не опубликован*).
- ²⁸ Холдереггер Р., Камм У. и Гугерли Ф. 2006 г. Сравнение адаптивного и нейтрального генетического разнообразия: Последствия для ландшафтной генетики. *Ландшафтная экология* 21:797-807.
- ²⁹ Например, подробное обсуждение нескольких типов маркеров и многих различных областей их применения содержится в документе Де Винсенте М.К., Гузман Ф.А., Энгельс Дж.М.М. и Рао В.Р. 2006 г. Генетическое описание и использование его результатов при принятии решений относительно сохранения гермоплазмы культур. стр. 129-138 *в работе* Дж.Руан и А.Сонино (под редакцией) *Роль биотехнологии в изучении и защите сельскохозяйственных генетических ресурсов*. Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций. Рим, Италия.
- ³⁰ Варшни Р.К., Шабан К., Хендре П.С., Аггарвал Р.К. и Гранер А. 2007 г. Сравнение КЭП-ПП, КЭП-ОП и ПДАФ маркеров при осуществлении оценки генетического разнообразия и сохранения генетических ресурсов на примере диких, культивируемых и элитных сортов ячменя. *Наука о растениях*, 173:638-649.
- ³¹ Цит. выше, примечание 4.
- ³² Делё В., Эстерас К., Ройг К., Гонсалес-То М., Фернандес-Силва И., Гонсалес-Ибеас Д., Бланка Дж., Аранда М.А., Арус П., Нуез Ф., Монфорт А.Дж., Пико М.Б. и Гарсиа-Мас Дж. 2009 г. Набор КЭП-ОП маркеров для заполнения карт и выявления культиваров у дынь. *Журнал биологии растений Главного БиоМед Издательства*, 9:90-98.
- ³³ Бонин А., Николь Ф., Помпанон Ф., Мио К. и Таберле П. 2007 г. Адаптивный индекс популяций: Новый метод, позволяющий измерять внутривидовое генетическое разнообразие и определять очередность сохранения популяций. *Биология сохранения* 21:697-708. В работе объединены анализ различий между нейтральным и адаптивным разнообразием и рассказ об «адаптивных индексах популяций», предложенных в качестве средства, позволяющего использовать многие молекулярные маркеры во всем геноме (что становится возможным лишь при современном состоянии биотехнологии), что в свою очередь позволит точно локализовать различия в моделях разнообразия и, следовательно, локусы, которые, по-видимому, подвергаются природной селекции и, таким образом, имеют значение с адаптивной точки зрения.
- ³⁴ Скарелли Н., Тостен С., Вигуру Ю., Агбангла К., Дайну О. и Фам Дж.-Л. 2006 г. Использование фермерами диких родственными форм растений и гамогенез культур, размножающихся вегетативным путем. Пример с бататом в Бенине. *Молекулярная экология*, 15:2421-2431.
- ³⁵ Гомес-Кампо К. 2006 г. Потери генетических ресурсов в генобанках семян: Роль контейнеров для хранения семян. *Исследования в области науки о семенах*, 16:291-294.

- ³⁶ **Перес-Гарсия Ф., Гонсалес-Бенито М.Е. и Гомес-Кампо К.** 2007 г. Регистрация признаков высокой жизнестойкости у сверх сухих семян *Brassicaceae* после почти 40 лет хранения. *Наука о семенах и соответствующие технологии* 35:143-153. В данном документе содержатся данные о воздействии влажности и качества материала, в котором содержатся семена, на продолжительность их жизни.
- ³⁷ **Янсен Дж., Вербакель Х., Пилман Дж. и Ван Хинтум Т.Дж.Л.** 2006 г. Записка об определении генетического разнообразия в хранящихся в генобанке образцах салата-латука (*Lactuca sativa L.*) с использованием ПДАФ маркеров. *Теоретическая и прикладная генетика*, 112:554-561.
- ³⁸ **Мотилл Л.А., Жанг Д., Умахаран П., Мишке С., Боккара М. и Пинни С.** 2009 г. Повышение точности и объема крупномасштабного микросателлитного определения фингерпринтов в почвенных коллекциях гермоплазмы какао. *Биология тропических растений*, 2:23-37.
- ³⁹ **Райс Н., Кордейро Дж., Шеферд М., Бандок П., Бредбери Л., Пейси-Миллер Т., Фуртадо А. и Генри Р.** 2006 г. Банки ДНК и их роль в упрощении применения геномики к гермоплазме растений. *Генетические ресурсы растений* 4:64-70. Банк ДНК растений Австралии: <http://www.dnabank.com.au/>; Банк ДНК НИАС: <http://www.dna.affrc.go.jp/>; Банк ДНК КБС в Кью: <http://data.kew.org/dnabank/homepage.html>; Банк ДНК Ботанического сада и Ботанического музея (БСБМ) в Берлине-Далеме: <http://www.bgbm.org/bgbm/research/dna/>.
- ⁴⁰ **Муз С.П. и Мам Р.Х.** 2008 г. Селекция растений с помощью молекулярных методов как основа работ по улучшению сельскохозяйственных культур в 21^{ом} веке. *Физиология растений*, 147:969-977.
- ⁴¹ **Гимараш Е.П., Руан Дж., Шерф Б.Д., Сонино А. и Дарги Дж.Д.** (под редакцией) 2007 г. Селекция при помощи маркеров: *Текущее положение дел и перспективы на будущее для сельскохозяйственных культур, скота, лесов и рыбы*. Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций. Рим, Италия.
- ⁴² **Жу К., Гор М., Баклер Е.С. и Ю Дж.** 2008 г. Положение дел и перспективы в области картирования ассоциаций у растений. *Геном растений*, 1:5-20.
- ⁴³ Например, согласно страновым докладам молекулярные маркеры используются для улучшения культур в Аргентине, Азербайджане, Бразилии, Китае, Хорватии, Чешской Республике, Египте и Индонезии.
- ⁴⁴ **Багге М. и Любберстед Т.** 2008 г. Функциональные маркеры в пшенице: Технические и экономические аспекты. *Молекулярная селекция*, 22:319-328.
- ⁴⁵ **Джеймс К.** 2008 г. *Мировое положение с находящимися в коммерческом обороте сельскохозяйственными культурами, полученными биотехнологическим/ГМ путем*: 2008 г. Короткая пояснительная записка ИСААА № 39. Доступно на сайте: www.isaaa.org/resources/publications/briefs/39/default.html
- ⁴⁶ **Гловер Д.** 2007 г. *Монсанто и мелкие фермеры: Ситуационное исследование вопросов корпоративной ответственности*. Рабочий документ ИДС 277. Университет Сассекса, Соединенное Королевство, Институт изучения развития.
- ⁴⁷ **Гловер Д.** 2008 г. *Сделано Монсанто: Деятельность корпорации по формированию образа ГМ культур как технологии для бедных*. Рабочий документ СТЕПС 11. Брайтон: Центр СТЕПС. Доступно на сайте: www.steps-centre.org/PDFs/GM Crops web final_small.pdf.
- ⁴⁸ См. Главу 7
- ⁴⁹ См. Главу 6 и Дополнение 4.
- ⁵⁰ **Организация Объединенных Наций.** 2010 г. *Состояние мировой экономики и её перспективы 2010*. Департамент экономических и социальных вопросов, Организация Объединенных Наций. Нью-Йорк США.

ДОПОЛНЕНИЕ 3

- ⁵¹ **Ромеро Дж., Адева К. и Баттад П. З.** 2009. Генетический фингерпринтинг: Расширение границ биологического изучения культур. *Филиппинский научный журнал* 2:8-13. В данном обзоре суммируется информация о применении метода фингерпринтинга с использованием различных маркеров на примере сельскохозяйственных культур и в условиях Филиппин.
- ⁵² **Нельсон Р.Дж., Нейлор Р.Л. и Ян М.М.** 2004 г. Роль исследований в области геномики в деле улучшения культур-сирот. *Наука о сельскохозяйственных культурах*, 44:1901-1904.
- ⁵³ См. Главы 3 и 4. Прямой призыв применять более развернутые стратегии сбора и сохранения ресурсов содержится в работе **Валк Дж. и Диксон К.** 2009 г. Настало время для хранения растений, соответствующих требованиям завтрашнего дня. *Природа*, 462:721.
- ⁵⁴ В главе 9 странового доклада Бразилии содержатся очень эффективный разбор этих вопросов и логическое обоснование вклада генетических ресурсов в устойчивое развитие и продовольственную безопасность.