

К ВОПРОСАМ ДЕТЕКЦИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИ-МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛИНИЙ РАПСА

Н.И. Дробот, Г.В. Мозгова, А.М. Кривецкая, В.С. Остапчик, А.Н. Островская
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, ldgmo@igc.by

Рапс является второй по величине масличной культурой в мире после сои, на которую в 2022/2023 годах приходилось 13% основного мирового производства масличных культур. Производство рапса в 2022-2023 годах отметило скачкообразное увеличение, достигнув рекордного уровня в 87,3 млн тонн, увеличившись в годовом исчислении на 17% или 12,4 млн тонн [1].

Рапс широко применяется в различных областях промышленности (продовольственной, кормовой, производство косметики, биотоплива и др.) и является одной из первых культур, генетически модифицированные сорта которого стали выращивать в больших масштабах, например, в США и Канаде с 1996 года, а в Австралии с 2008 года [2]. Площади возделывания различных сортов рапса пищевого и кормового назначения увеличиваются, при этом растет и число одобренных для выращивания ГМ - сортов рапса в отдельных странах (США, Канада, Новая Зеландия, Япония, Австралия и др.) [3].

В условиях динамично развивающегося рынка продовольственной и сельскохозяйственной продукции имеется необходимость в контроле качества готовой продукции. Законодательство Республики Беларусь предусматривает контроль за содержанием ГМО и ГМИ, входящих в состав продуктов питания, сырья, кормов и кормовых добавок. Регулирование важно для осуществления права граждан на получение достоверной информации о составе пищевых продуктов, в том числе о содержании в них ГМО или их компонентов и обязательной маркировки при наличии ГМО в продовольственном сырье или продуктах питания на каждой единице потребительской тары в соответствии со статьёй 5 Закона Республики Беларусь от 9 января 2002 г. «О защите прав потребителей». Также, реализуется право потребителя и Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 28 апреля 2005 г. № 434 «О некоторых вопросах информирования потребителей о продовольственном сырье и пищевых продуктах» [4; 5]. Санитарные нормы и правила «Требования к продовольственному сырью и пищевым продуктам» и гигиенический норматив «Показатели безопасности и безвредности для человека продовольственного сырья и пищевых продуктов» устанавливают санитарно-эпидемиологические требования к продовольственному сырью и пищевым продуктам, их безопасности, процессам обращения и маркировке [6]. Согласно п. 102-104 гл. 4 «Маркировка пищевой продукции» [6] не допускается использование продовольственного сырья, содержащего ГМО и (или) компоненты, полученные из ГМО, для производства пищевой продукции для беременных и кормящих женщин, пищевой продукции для детского питания. В части маркировки данным ТНПА предусмотрено следующее: для пищевой продукции, полученной с применением ГМО, в том числе не содержащей дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) и белок, должна быть приведена информация: «генетически модифицированная продукция», или «продукция, полученная из генно-модифицированных организмов», или «продукция содержит компоненты генно-модифицированных организмов». В случае если изготовитель при производстве пищевой продукции не использовал генно-модифицированные организмы, содержание ГМО в пищевой

продукции 0,9 % и менее, считается, что ГМО является случайной или технически неустранимой примесью и такая пищевая продукция не относится к пищевой продукции, содержащей ГМО. При её маркировке сведения о наличии ГМО не указываются. Согласно ТР ТС 015/2011 «О безопасности зерна» зерно, поставляемое на кормовые цели, может содержать только зарегистрированные в соответствии с законодательством государства линии ГМО, при этом в таком зерне допускается не более 0,9 % незарегистрированных линий ГМО [7]. Кроме национального законодательства и связанных с ним нормативных правовых актов в области детекции ГМО, на территории Республики Беларусь, как и других стран-участниц Таможенного союза (Российская Федерация, Республика Казахстан, Республика Армения, Кыргызская Республика), действуют технические регламенты Таможенного союза (ТР ТС), устанавливающие требования безопасности к отдельным видам продукции, схемы сертификации и другие условия для подтверждения соответствия товаров или услуг. Основным ТР ТС, регулирующим область детекции ГМО в пищевой продукции, является ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». Данным ТР ТС установлено, что при производстве (изготовлении) пищевой продукции из продовольственного (пищевого) сырья, полученного из ГМО растительного, животного и микробного происхождения, должны использоваться линии ГМО, прошедшие государственную регистрацию, а в случае, если изготовитель при производстве пищевой продукции не использовал ГМО, содержание в пищевой продукции 0,9% и менее ГМО является случайной или технически неустранимой примесью, и такая пищевая продукция не относится к пищевой продукции, содержащей ГМО [8].

По данным Международной службы по сбору агробиотехнологических заявок число ГМ-сортов и гибридов рапса на мировом рынке с разнообразными новыми признаками достигло 41, из них больше половины приходится на США [3]. Среди них - ГМ-линии, устойчивые к гербицидам (глифосат, глюфосинат, бромоксилин, дикамба или 3,6-дихлор-2-метоксибензойная кислота, выскоизбирательные имидазолиноны и др.), с увеличенным содержанием насыщенных либо ненасыщенных жирных кислот, восстановители фертильности, ГМ-линии, обладающее антибиотикорезистентностью (устойчивость к канамицину/неомицину), устойчивостью к склеротиниозу (белая гниль) и с пониженным содержанием фитиновой кислоты. Так, для выращивания на полях США и Канады и использования в качестве продовольствия одобрена ГМ-линия Laugical™ Canola (увеличено содержание этерифицированной лауриновой кислоты), для использования в пищу в США Канаде, Японии, Малайзии, Мексике, Новой Зеландии, Филиппинах, Южной Африке, Южной Корее, Тайване – устойчивая к гербицидам DP-Ø61Ø61-7, которая в ряде этих стран выращивается на полях, в США одобрены для использования в пищу и в качестве корма ГМ-линии MPS961, MPS962, MPS963, MPS964, MPS965 с увеличенной скоростью разложения фитатов растений, что приводит к увеличению доступности связываемого ими фосфора для моногастрических животных. Одной из последних одобренных ГМ-линий рапса в США (2022 г.) и на Филиппинах (2023 г.) для употребления в пищу и в качестве корма стала линия BPS-BFLFK-2, разработанная компанией BASF, в которую встроено 10 новых генов с целью синтеза длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот - докозагексаеновой кислоты (C22:6n-3) и эйкозапентаеновой кислоты (C20:5n-3) и 1 новый ген – с целью обеспечения устойчивости к имидазолиноновым гербицидам. При разработке данной ГМ-линии использовались методы рекомбинантной ДНК для введения десяти белков десатуразы и элонгазы жирных кислот, а также белка синтазы ацетогидроксикислот (AHAS), который придает толерантность к имидазолиноновым гербицидам [3].

Проведенный анализ по другой поисковой системе EUGenius (база данных Федерального ведомства по защите прав потребителей и безопасности пищевых продуктов (Германия) и Исследовательского института «Исследование безопасности пищевых продуктов Вагенинга» (Нидерланды)) показал, что на территории Европейского союза в качестве продовольственного и сельскохозяйственного сырья (корма, кормовые добавки) одобрены ГМ-линии рапса и гибриды Ms8 (мужская стерильность, устойчивость к глифосфату), Rf3 (восстановитель фертильности, устойчивость к глюфосинату), MON88302 x Rf3 (восстановитель фертильности, устойчивость к глюфосинату и глифосату), Ms8 x Rf3 (восстановитель фертильности, мужская стерильность, устойчивость к глюфосинату), MON88302 (устойчивость к глифосату), MON88302 x Ms8 x Rf3 (устойчивость к глифосату, восстановитель фертильности, мужская стерильность, устойчивость к глюфосинату), MON88302 x Ms8 (устойчивость к глифосату, мужская стерильность, устойчивость к глюфосинату), MON94100 (устойчивость к дикамба), 73496 (устойчивость к глифосату). Также, ГМ-линии рапса T45, MPS965, Topas 19/2, Ms1, Rf1, Rf2 и гибриды Ms1 x Rf1, Ms1 x Rf2 одобрены в Евросоюзе в качестве кормового и продовольственного сырья с ограничениями, а гибриды Ms8 x Rf3 x GT73, Ms8 x GT73, Rf3 x GT73 - в качестве кормового сырья [9]. Увеличение количества ГМ-

линий рапса на мировом рынке определяет актуальность их скрининга как в семенном материале, так и в продуктах питания и кормах, получаемых из них.

Основными смысловыми генами, встраиваемыми в ГМ-линии рапса являются: *cp4epsps*, *barnase*, *barstar*, *bar*, *gox247*, *gat*, *pat*, *fad2*, *gox*, *phyA*, в качестве регуляторных генов выступают промоторы 35S, FMV, TA29, SsuAra, TSF1, Ubi, Cru, терминаторы E9, NOS, *tg7*, *PinII*, *guf*, *ttml3*, OCS и другие регуляторные последовательности [10]. В настоящее время существует достаточно большое количество методов обнаружения ГМО в продуктах питания, пищевых добавках и кормах [11]. При этом, метод ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) является основным методом рутинной лабораторной диагностики, который с высокой точностью и воспроизводимостью позволяет определять наличие чужеродной встройки ДНК в образце и при необходимости производить количественный расчет содержания ГМО в нем даже в малых количествах [12].

Эффективный скрининг по определению и идентификации разрешенных и неразрешенных (не одобренных для использования в хозяйственной деятельности) ГМО включает в себя несколько этапов. Первый этап подразумевает первичный скрининг основных ГМ-последовательностей (промоторов, терминаторов, маркерных и в некоторых случаях целевых генов), что позволяет значительно сузить спектр ГМ - линий, которые могут присутствовать в анализируемой продукции. На втором этапе проводят определение отдельных ГМ-линий, наличие которых предполагается в образце, с помощью ДНК-маркеров к целевым генам либо участкам встройки целевых генов в геном организма [11]. На последнем этапе происходит количественное определение содержания отдельных ГМ-линий и расчет неопределенности измерений [13].

Используя указанную выше схему широкомасштабного скрининга, в 2022 году в Национальном координационном центре биобезопасности Института генетики и цитологии НАН Беларуси проведен скрининг 65 образцов семян рапса на наличие промоторов 35S, FMV, SsuAra, tNOS, te9, терминаторов *nptII*, *pat*, *cp4* EPSPS и других регуляторных последовательностей. Процент ГМ-положительных образцов составил 16,92%. Также было проанализировано 45 образцов продуктов переработки семян рапса (масло, шрот, лецитин), и по результатам анализов 2 образца были признаны ГМ-положительными. По состоянию на сентябрь 2023 года был проанализирован 31 образец семян рапса, из них 3 образца идентифицированы как ГМО. Также было проанализировано 73 образца продуктов переработки семян рапса (масло, шрот, лецитин, рапсовый жмых). По данным ПЦР-РВ 13 из них являлись ГМ-положительными (17,80%). Результаты скрининга представлены на рисунке.

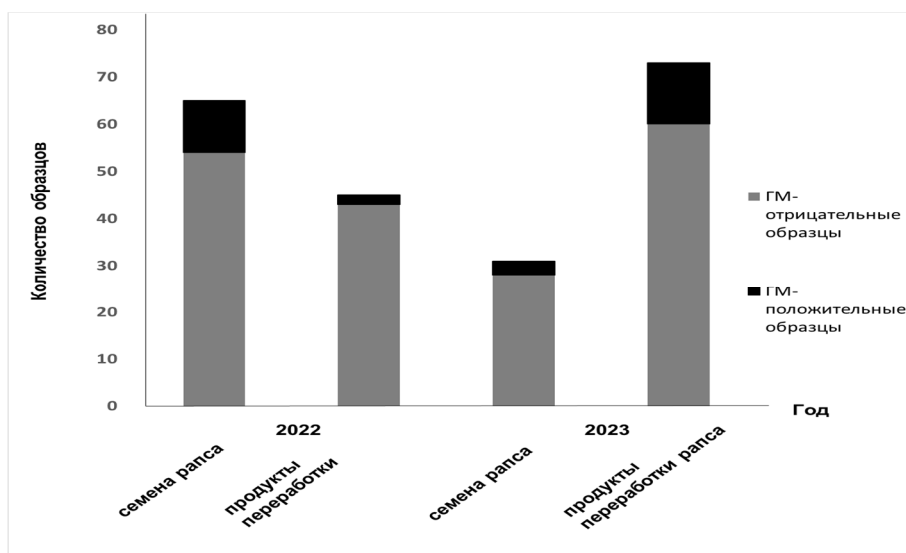


Рисунок – Результаты скрининга ГМ-последовательностей рапса масличного и продуктов его переработки в 2022-2023 гг.

Наиболее часто детектируемыми последовательностями являлись: промоторы 35S, FMV, te9, терминаторы *nptII*, *cp4* EPSPS. По результатам скрининга предполагается, что исследуемые образцы могут содержать следующие ГМ-линии рапса: Mon88302, GT200, GT73, RT73 и гибриды линий Mon88302 x MS8, Mon88302 x MS8 x RF3, MS8 x RF3 x RT73. Поскольку в Республике Беларусь согласно Приложению 2 «Ветеринарно-санитарных правил обеспечения безопасности в ветеринарно-санитарном отношении кормов и кормовых добавок» нет одобренных для использования в

хозяйственных целях ГМ-линий рапса, все образцы, в которых были выявлены генетически измененные последовательности, запрещены к обороту в стране. В связи с тем, что в Республике Беларусь разработано свыше 30 сортов рапса (пищевого назначения) традиционной селекции, такое увеличение числа детектируемых ГМ-событий для данной сельскохозяйственной культуры показывает необходимость усиления контроля за оборотом ГМ-рапса и целесообразность расширения списка объектов, на которые распространяется приложение к постановлению.

Список использованных источников

1. Масложировой союз России [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://mzhsr.ru/> – Дата доступа: 24.10.2023
2. Gleich A. von. Gene Drives at Tipping Points: Precautionary Technology Assessment and Governance of New Approaches to Genetically Modify Animal and Plant Populations. Gene Drives at Tipping Points / A. von Gleich, W. Schröder. – Springer Nature, 2020. – 264 p.
3. GM Approval Database | GMO Database | GM Crop Approvals - ISAAA.org [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/crop/default.asp?CropID=2&Crop=Argentine%20Canola> – Дата доступа: 24.10.2023
4. О защите прав потребителей: Закон Респ. Беларусь от 9 янв. 2002 г. №90-З : в ред. от 8 июля 2008 г. №366-З : с изм. и доп. от 2 мая 2012 г. № 353-З. – Минск : Амалфея, 2013. – 59 с.
5. О некоторых вопросах информирования потребителей о продовольственном сырье и пищевых продуктах [Электронный ресурс]: постановление Совета Министров Респ. Беларусь, 28 апр. 2005 г., № 434 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=3871&p0=C20500434>. – Дата доступа: 24.10.2023.
6. Об утверждении Санитарных норм и правил "Требования к продовольственному сырью и пищевым продуктам", Гигиенического норматива "Показатели безопасности и безвредности для человека продовольственного сырья и пищевых продуктов" и признании утратившими силу некоторых постановлений Министерства здравоохранения Республики Беларусь [Электронный ресурс]: постановление Мин. здрав. Респ. Беларусь, 21 июня 2013 г., № 52 // Нац. фонд технич. норматив.правов.акт. – Режим доступа: <https://tnpa.by/#!/FileText/417757/299816>. – Дата доступа: 24.10.2023.
7. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности зерна» (ТР ТС 015/2011) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.mshp.gov.by/ru/protection-ru/view/technicheskij-reglament-tamozhennogo-sojuza-laquo-o-bezopasnosti-zernaraquo-tr-ts-0152011-2171/>. – Дата доступа: 24.10.2023.
8. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС021/2011) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: chrome-extension://efaidnbmninnkcbpccjpcglclefindmkaj/http://www.mshp.gov.by/uploads/Files/documents/tkp/tr2_010_025.pdf – Дата доступа: 24.10.2023.
9. The European GMO database – EUGenius / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://euginius.eu/euginius/pages/home.jsf/> – Дата доступа: 24.10.2023
10. ГенБит/ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://genbitgroup.com/ru/> – Дата доступа: 24.10.2023
11. Методика оценки состояния национальной безопасности в отношении генно-инженерных организмов / Г.В. Мозгова, А.В. Кильчевский, А.Н. Островская, Т.В. Железнова, Н.И. Дробот, В.С. Остапчик, А.М.Кривецкая // Новости медико-биологических наук. – 2022. – 20 с.
12. Мозгова Г.В., Макеева Е.Н., Островская А.Н., Остапчик В.С., Дробот Н.И., Железнова Т.В., Кузьмич А.Н. Биобезопасность генно-инженерной деятельности. Детекция и идентификация генно-инженерных организмов. – Минск: Беларусь, 2022. — 477 с.
13. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Общие принципы и определения: СТБ ИСО 5725-1-2002. – Введ. 01.07.2003. – Минск: Белорусский государственный институт метрологии, 2002. – 28 с.