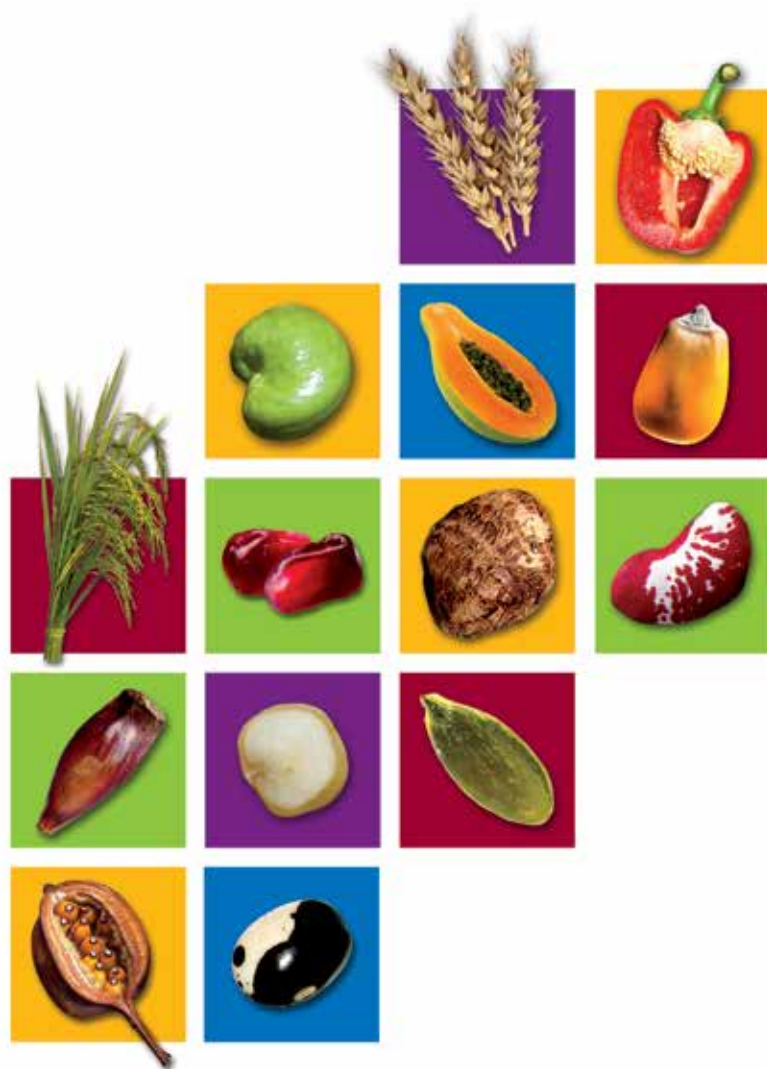


# 粮食和农业植物遗传资源 种质库标准



粮食和  
农业  
遗传资源  
委员会



粮食和农业植物遗传资源  
种质库标准

修订版，2015年

本信息产品中使用的名称和介绍的材料，并不意味着联合国粮食及农业组织（粮农组织）对任何国家、领地、城市、地区或其当局的法律或发展状态、或其国界或边界的划分表示任何意见。提及具体的公司或厂商产品，无论是否含有专利，并不意味着这些公司或产品得到粮农组织的认可或推荐，优于未提及的其他类似公司或产品。

本信息产品中陈述的观点是作者的观点，不一定反映粮农组织的观点或政策。

ISBN 978-92-5-507855-2（印刷）

E-ISBN 978-92-5-507856-9（PDF）

©粮农组织 2015年

粮农组织鼓励对本信息产品中的材料进行使用、复制和传播。除非另有说明，可拷贝、下载和打印材料，供个人学习、研究和教学所用，或供非商业性产品或服务所用，但必须恰当地说明粮农组织为信息来源及版权所有，且不得以任何方式暗示粮农组织认可用户的观点、产品或服务。

所有关于翻译权、改编权以及转售权和其他商业性使用权的申请，应递交至 [www.fao.org/contact-us/licence-request](http://www.fao.org/contact-us/licence-request) 或 [copyright@fao.org](mailto:copyright@fao.org)。

粮农组织信息产品可在粮农组织网站 ([www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications)) 获得并通过 [publications-sales@fao.org](mailto:publications-sales@fao.org) 购买。

## 封面上的物种照片

图片顺序从左向右，从上到下：

*Triticum* spp.

*Capsicum annuum*

*Anacardium occidentale*

*Carica papaya*

*Zea mays*

*Oryza sativa*

*Punica granatum*

*Colocasia esculenta*

*Phaseolus vulgaris*

*Araucaria angustifolia*

*Chenopodium quinoa*

*Cucurbita maxima*

*Brachychiton populneus*

*Phaseolus vulgaris*

# 目录

致谢 .....	vi
序 .....	viii
前言 .....	x
1. 引言 .....	1
2. 基本原则 .....	7
2.1 种质的身份 .....	8
2.2 生活力保持 .....	9
2.3 遗传完整性的保持 .....	9
2.4 种质健康的保持 .....	10
2.5 种质的物理安全 .....	10
2.6 种质资源的可用性及其利用 .....	11
2.7 信息的可获取性 .....	11
2.8 种质库主动的管理 .....	11
3. 标准—结构和定义 .....	15
4. 正常型种子种质库标准 .....	17
4.1 种质获得标准 .....	18
4.2 干燥和储藏标准 .....	24
4.3 种子活力监测标准 .....	30
4.4 更新标准 .....	36
4.5 描述标准 .....	41
4.6 评估标准 .....	45
4.7 记录标准 .....	50
4.8 分发和交换标准 .....	53

4.9	安全备份标准 . . . . .	57
4.10	安全和人员标准 . . . . .	61
5.	田间种质库标准 . . . . .	65
5.1	地点选择标准 . . . . .	66
5.2	种质获得标准 . . . . .	70
5.3	田间材料收集标准 . . . . .	76
5.4	田间管理标准 . . . . .	82
5.5	更新和繁殖标准 . . . . .	87
5.6	描述标准 . . . . .	91
5.7	评估标准 . . . . .	96
5.8	记录标准 . . . . .	101
5.9	分发标准 . . . . .	105
5.10	安全与安全备份标准 . . . . .	109
6.	体外培养与超低温保藏种质库标准 . . . . .	115
6.1	种质获得标准 . . . . .	121
6.2	非正常性态试验与含水量、活力和生存力评估标准 . . . . .	126
6.3	顽拗型种子含水储藏标准 . . . . .	130
6.4	体外培养与慢速生长保存标准 . . . . .	134
6.5	超低温保藏标准 . . . . .	139
6.6	记录标准 . . . . .	149
6.7	分发与交换标准 . . . . .	152
6.8	安全与安全备份标准 . . . . .	155
	附件 1: 缩略语表 . . . . .	160
	附件 2: 词汇 . . . . .	162



# 致谢

《粮食和农业植物遗传资源种质库标准》(《种质库标准》)的筹备和出版要感谢很多人的贡献。这个过程有粮农植物遗传资源国家联络点的贡献,也有来自各国和国际组织科技人员的参与。联合国粮农组织(FAO)在这里向他们致以衷心的感谢,感谢他们的时间、敬业和专业。

《种质库标准》是在Kakoli Ghosh的领导下由粮农组织的植物生产及保护司筹备的。在该标准的筹备过程中,值得一提的是,粮农组织的团队Kakoli Ghosh、Arshiya Noorani和Chikelu Mba与国际生物多样性中心的Ehsan Dulloo、Imke Thormann和Jan Engels紧密合作。也非常感谢联合国全球农作物多样化信托基金的Jane Toll以及岡山理工大学的Patricia Berjak 和 Norman Pammenter的杰出贡献。有很多粮农组织的工作人员提供了宝贵的帮助,他们是Linn Borgen-Nilsen、Stefano Diulgheroff、Alison Hodder、Dan Leskien、NeBambi Lutaladio、Dave Nowell、Michela Paganini和Alvaro Toledo。

我们要向那些评审《种质库标准》的专家们表示感谢,他们是:

Ananda Aguiar、Adriana Alercia、Nadiya AlSaadi、Ahmed Amri、Catalina Anderson、Miriam Andonie、Åsmund Asdal、Sarah Ashmore、Araceli Barceló、Maria Bassols、M. Elena González Benito、Erica E. Benson、Benoit Bizimungu、Peter Bretting、Zofia Bulinska、Marilia Burle、Patrícia Bustamante、Emilia Caboni、Lamis Chalak、Rekha Chaudhury、Xiaoling Chen、Andrea M. Clausen、Carmine Damiano、Hadyatou Dantsey-Barry、Maria Teresa Merino De Hart、Axel Diederichsen、Carmen del Río、Ariana Digilio、Sally Dillon、Andreas W. Ebert、David Ellis、Richard Ellis、Florent Engelmann、Epp Espenberg、Francisco Ricardo Ferreira、Brad Fraleigh、R. Jean Gapusi、Massimo Gardiman、Tatjana Gavrilenko、Daniela Giovannini、Agnes Grapin、Badara Gueye、Eva Hain、Magda-Viola Hanke、Jean Hanson、Keith Harding、Siegfried Harrer、Ir Haryono、Fiona R. Hay、Monika Höfer、Kim Ethel Hummer、Salma Idris、Brian M. Irish、Joseph Kalders、Joachim Keller、Maurizio Lambardi、Ulrike

Lohwasser, Judy Loo, Xinxiong Lu, Carmen Martín, Rusudan Mdivani, Carlos Miranda, Javad Mozafari, Gregorio Muñoz, Godfrey Mwila, Fawzy Nawar, Normah M. Noor, Dorota Nowosielska, Anna Nukari, Sushil Pandey, Maria Papaefthimiou, Wiesław Podyma, Lerotholi Qhobela, Robin Probert, Alain Ramanantsoanirina, Morten Rasmussen, B.M.C. Reddy, Bob Redden, Barbara M. Reed, Harriet Falck Rehn, Ken Richards, Maria Victoria Rivero, Jonathan Robinson, Manuel Sigüeñas Saavedra, Izulmé Rita Santos, Viswambharan Sarasan, Sarah Sensen, Fabiano Soares, Artem Sorokin, Chisato Takashina, Ayfer Tan, Mary Taylor, Mohammed Tazi, Bradley J. Till, Roberto Tuberosa, Rishi Kumar Tyagi, Theo van Hintum, Nguyen Van Kien, Bert Visser, Juan Fajardo Vizcayno, Christina Walters, Wei Wei, Fumiko Yagihashi和Francis Zee。

在本书的设计和排版方面，我们要特别感谢Petra Staberg和Pietro Bartoleschi及他们的团队。我们也要感谢Munnavara Khamidova、Sitora Khakimova、Diana Gutiérrez Méndez和Suzanne Redfern的贡献。

当然还有很多人值得感谢。我们要向那些为《种质库标准》的筹备提供过帮助，但该致谢疏忽了他们的名字的人们表达我们的歉意和谢意。





# 序

植物遗传资源是可持续性粮食生产这个核心的战略性资源。它们有效的保护与利用无论现在还是将来对保护食品与营养均是至关重要的。要迎接这个挑战，需要有连续不断的适应特定农业生态系统条件的改良作物与品种。在面对恶劣环境和骤变气象条件时，遗传多样性的丧失会减小对弹性农业进行可持续性管理的选择空间。

管理良好的种质库在保护遗传多样性的同时可以让繁育者得以利用。

《粮食和农业植物遗传资源种质库标准》制订了保育植物遗传资源而需要遵守的程序，是在联合国粮农组织粮食与农业遗传资源委员会的指导下起草并在其2013年举行的第十四届常会上获得通过。该委员会认为这些标准在全球范围内的种质保育中具有普遍指导意义。

该非强制性标准覆盖了种质库中的种子和田间种质库的营养繁殖的植物材料。这些标准为当今的科学与技术最好实践设置了基准程序，并且反映了在植物遗传资源的保育和利用方面的重要国际政策手段。它们既是实施《粮食和农业植物遗传资源国际条约》的一个重要工具，又是《第二个粮食和农业植物遗传资源全球行动计划》的支持性组份。世界范围内种质库收藏的750万号种质大多为人类和家畜提供食品和饲料的作物，包括了重要的野生近缘种和当地品种，但其他种质属于具有区域重要性的作物和未充分利用的物种。

该标准鼓励积极的种质库管理，并且提供了一系列互补的方法。认识到全球超过1750个的种质库在种质收藏规模大小、以及人力和财力配置方面差异颇大，该标准将帮助种质库管理者在科学目标、资源可获取性以及他们的客观工作条件间取得平衡。面对能力的限制和基础设施的不足，确保安全长期保护对许多发展中国家而言是一个挑战。

保护作物遗传资源的价值只有通过对其有效的利用才能体现。这需要通过种质库保藏，通过研究与育种，在从就地资源保护与收集，到农户与其社区以及最终至消费者这条链上建立密切联系。种质库管理者、育种人员以及国家层面项目必须紧密协作，以确保对人类赖以生存的食物与农业植物遗传资源实施有效而可持续的保护。我在此呼吁，在国家与地区水平上制定合理的条款，从而使得这些重要的国际《标准》能够实现其承保食品安全的目标。



王 韧  
农业及消费者保护部助理总干事



# 前言

在针对食品与营养安全而进行的作物改良过程中，种质库对大范围植物遗传资源的保护、可获得性和利用起着关键的作用。它们通过为一个可持续的和弹性的农业系统，确保研究、育种和改进的种子传送具有可持续获得的遗传资源，从而联通过去与未来。通过标准和程序的应用而进行有效的种质库管理对植物遗传资源的保护和可持续利用极为重要。

《粮食和农业植物遗传资源种质库标准》（《种质库标准》）为种子库和田间种质库的异地保护，以及离体培养与低温保藏提供了国际标准。在粮食和农业遗传资源委员会的指导下，种子与植物遗传资源团队起草了该标准。在文件起草阶段，通过咨询与国际农业磋商组织，特别是国际生物多样性中心，更新了正常型种子的标准，并新制订了其他有关田间种质库、离体培养与低温保藏的标准。种质库管理者、相关科学与研究机构、粮食与农业植物遗传资源国家联络点帮助提供了有价值的反馈。粮农植物遗传资源国际条约秘书处和国际植物保护公约秘书处也提供了帮助。粮食和农业遗传资源委员会在其2013年的第十四届例会上，通过了该《种质库标准》，并敦促其全面采纳与实施。

《种质库标准》的目的是以目前已有技术与科学知识为基础，在符合认可的和合适标准的条件下保护植物遗传资源。所有标准是在符合所有不同类型种质库的基本原理的基础上确立的。它们同时也将因分子生物学和生物信息学的进展而带来的在种子管理与技术上的变化考虑在内。它们融合了存档与信息系统领域的进展，而这个领域正日渐成为提高种质库管理和资源优化的核心。酌情描述标准的背景、技术因素、意外情况，以及有关技术手册和方案的参考文献，在文件中对每个标准给予了支持。

这个《种质库标准》具有足够的普遍性，可以用于所有的种质库，然而应用时需要与物种特有信息相结合。对那些非正常型种子和/或营养繁殖的植物尤其如此，这是因为很难建立一个特定的标准适合于那些具有不同种子储藏行为、生活型和生活周期的所有物种。该标准不具有约束

效力,是自愿的,强调在遵守国家与国际管理规定下确保与共享材料及其相关文件的重要性。考虑到政策和技术格局的变化,定期评价这些标准将很有帮助。

植物遗传资源的保护和提高其可持续利用,是目前和将来保证食品安全和营养需求的必需。因此,保护植物遗传资源的多样性是关键,可确保其能够被全人类所利用。然而,种质库的维持费用可能比较高。诸如低温保藏的许多科学进步的实现也是代价不菲,特别是在大规模检验时。田间种质库的维持也同样需要人力物力。因此,核心的问题是对种质库进行积极主动的管理,可以采取互补的方法,并在现有的条件下折衷科学考虑、可用人员、基础设施和财政资源,打造最佳的平衡。在许多国家,以可持续的方式维持种质库所需要的受训人员和足够资源具有挑战性。国家、地区和全球水平上的长期伙伴关系,与能力建设所需资源一同成为实施这些标准的必需条件。



191

66112

660114

661121

660114

660114

660114

# 第1章

引言





世界上的种质库保存有广泛的植物遗传资源种质，总的目标是长期保存并为植物育种者、研究人员和其他用户提供可获取的植物遗传资源。植物遗传资源是在作物改良中所用的原材料，并且它们的保存和应用对全球食品和营养安全性至关重要。这些植物遗传资源的持续保存取决于通过应用标准和程序进行有用的和高效的种子库管理，确保植物遗传资源连续的存活和可获取性。

《粮食和农业植物遗传资源种质库标准》源自1994年出版的粮农组织/国际植物遗传资源研究所《种质库标准》的修订本。修订是基于粮农遗传资源委员会（CGRFA）根据全球政策背景的变化和科学技术进步的要求进行的。在种质库方面影响粮农植物遗传资源（PGRFA）保存政策的主要进步与采纳各种国际契约的种质资源可获取性和分发的背景相关。这些国际协约包括生物多样性公约（CBD）、植物遗传资源国际条约（ITPGRFA）、国际植物保护公约（IPPC）和世界贸易组织卫生与植物检疫协定（WTO/SPS）。在2010年，生物多样性公约通过了获取遗传资源和公平公正分享其利用所产生惠益的名古屋议定书—这可能影响种质资源的交换。在科学方面，种子储存技术的发展、生物技术、信息和通讯技术丰富了植物种质资源保存的技术。

《粮食和农业植物遗传资源种质库标准》意图作为种质库保存与植物种质（种子、活植物和外植体）的指南。这些标准是在全球范围内与种

子保存、超低温保藏和田间种质库方面的许多专家进行一系列咨询的基础上提出来的。这些标准是自愿性的和无约束性的，不是通过正式标准设定程序制订的。它们的目标更应当被看作是建立一个有用的、高效的与合理的迁地保护体系，为种质库中种子活力和遗传完整性提供理想的保持，从而确保可以获取和利用保存的植物遗传资源的高质量种子。

重要的是这些种质库标准不能不加批判地应用，因为在保存方法上存在不断的技术进步，而且大部分既是物种特异的，也是种质保存与应用的目标和时期方面的。应该倡导的是种质库标准草案与其他参考来源相结合，特别是在考虑物种特异性信息的情况下应用。这对产生非正常型种子和/或无性繁殖的植物尤其正确，它们存在不同种子储存性态、生活型（草本植物、灌丛、树木、藤本植物/攀缘植物）和生活周期（一年生、两年生和多年生），很难提出一个对所有物种都适用的特定标准。

这个标准分为两部分。第一部分描述了支撑种质库标准和提供有用和有效种质库管理全局性框架的基本原则。种质库操作核心的关键原理是种质特征的保存、活力与遗传完整性的维持并促进获取。这包括了按照相关国家和国际法规来促进所保存植物材料利用的相关信息。这些基本原则适用于所有不同类型的种质库。

第二部分提供了种子种质库、田间种质库和体外/超低温保藏种质库三种类型种质库的详细标准。这些标准覆盖了所有在种质库中采用的主要操作，并且为所有提供了挑选出的参考文献名录。尽管相关关键技术信息是为所有标准而提供的，但是重要的是要注意程序和协议需查阅适当的技术手册。种子种质库标准（第4章）阐述了耐脱水正常型种子的保存，即可以干燥至低含水量，并且对低温易感应。低的湿度和温度的降低了代谢率的降低，从而提高种子寿命。正常型种子的植物的例子包括玉米(*Zea mays* L.)、小麦(*Triticum* spp.)、水稻(*Oryza* spp.)、鹰嘴豆(*Cicer arietinum*)、棉花(*Gossypium* spp.)和向日葵(*Helianthus annuus*)。

田间种质库和体外保存/超低温保藏种质库标准目的在于保育那些产生非正常型种子（也称为顽拗种子或中间性）和/或无性生殖的植物，这些



标准分别在第5章和第6章中给出。这些植物不能用正常型种子的低温和低湿度方式进行保存，需要采用其他迁地保护的方法。

田间种质库保存是产生非正常型种子的植物最为常见的保存方法。它也应用到那些生产很少种子的植物、无性繁殖植物和/或具有很长生命周期来产生繁殖和/或种植材料的植物。虽然采用了“田间种质库”这一术语，此方法也包括温室或遮阳棚中盆栽活植物的维持。目前有一些在田间种质库中进行种质收集的管理技术指导和培训手册(例如Biodiversity International *et al.*, 2011; Reed *et al.*, 2004; Said Saad and Rao, 2001; Engelmann, 1999; Engelmann and Takagi, 2000; Geburek and Turok, 2005)。

植物种质体外和超低温保藏既可以在中短期储存中通过慢速生长(体外)来实现，又可以通过长期保育中超低温保藏来实现。前者方法包括各种在人造培养基上在限制生长条件下维持的培养，特别是茎尖、分生组织、体细胞胚、细胞悬液或胚性愈伤组织。培养物的生长速率可由不同方法来限定，包括降温、减小光照强度或者通过添加渗透性物质或生长抑制剂的培养液操作(Engelmann, 1999)。

超低温保藏是生物材料(指种子、植物胚、茎尖/分生组织和/或花粉)在超低温，通常是在 $-196^{\circ}\text{C}$ 的液氮中的保存(Engelmann and Tagaki, 2000; Reed, 2010)。在这样的条件下，生物化学和大部分物理过程被中止，从而生物材料可以长期保存。这些保存模式对其他模式构成了一个互补方法，对一个安全、有效和成本高效的保存是必需的(Reed, 2010)。例如，超低温保藏线可以当作田间收集的后备手段，作为一个种群现存遗传多样性的参考种质或将来作为新等位基因的来源。

为各种相关类型的种质库提供了以下标准：

- **正常型种子种质库标准:**种质获得、种子干燥和储藏、生活力监测、更新、描述、评估、记录、分发、安全备份，以及安全/人员。
- **田间种质库标准:**地点选择、种质获取、田间种质种群建立、田间管理、更新和繁殖、描述、评估、记录、分发、安全与安全备份。

- **体外培养和超低温保藏种质库标准:** 种质获得、非正常性态检验与含水量评定、活力和生存力、顽拗型种子含水储藏、体外培养与慢速生长保存、超低温保藏、记录、分发与交换、安全与安全备份。

## 有关参考文献

Bioversity International/Food and Fertilizer Technology Center/TARI-COA (Taiwan Agricultural Research Institute-Council of Agriculture). 2011. *A training module for the international course on the management and utilisation of field genebanks and in vitro collections*. Fengshan, Taiwan, TARI.

Engelmann, F., ed. 1999. *Management of field and in vitro germplasm collections*. Proceedings of a Consultation Meeting, 15–20 January 1996. Cali, Colombia, CIAT, and Rome, IPGRI.

Engelmann, F. & Takagi, H., eds. 2000. *Cryopreservation of tropical plant germplasm. Current research progress and application*. Tsukuba, Japan, Japan International Research Center for Agricultural Sciences, and Rome, IPGRI.

Geburek, T. & Turok, J., eds. 2005. *Conservation and management of forest genetic resources in Europe*. Zvolen, Slovakia, Arbora Publishers.

Reed, B.M. 2010. *Plant cryopreservation. A practical guide*. New York, USA, Springer.

Reed, B.M., Engelmann, F., Dulloo, M.E. & Engels, J.M.M. 2004. *Technical guidelines for the management of field and in vitro germplasm collections*. Handbooks for Genebanks No. 7. Rome, IPGRI.

Said Saad, M. & Rao, V.R., eds. 2001. *Establishment and management of field genebank training manual*. Serdang, Malaysia, IPGRI-APO.

SGRP-CGIAR (System-wide Genetic Resources Programme of the Consultative Group on International Agricultural Research). Crop Genebank Knowledge Base (available at: <http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org>).





# 第2章

## 基本原则





种质库在全球范围内有着许多共同的基本目标，但是它们的任务、资源和运作的体系常常是不同的。因此，管理人员必须积极优化其自身全部的种质库体系，这要求管理的解决方案在不同机构之间可以存在实质的不同，但依然能够达到同样的目标。基本原则解释了保存植物遗传资源的原因和目的。这些原则为建立规范和标准来顺利运作种质库提供了基础。保存的主要基本原则在下面的部分予以叙述：

## 种质的身份

从开始获取，到储存和分发不同过程中，要小心仔细以确保种质库保存的种子样品收藏材料的身份。种质库保存的种子样品适当的身份验证要求材料的数据和信息记录。这将从记录种质的护照数据开始，如果适用，包括采集信息和供者信息。在可能的情况下，种质库中旧的种质也应该记录这样的信息，这些旧种质的护照数据以前没有记录或者不完整。通常标本馆凭证标本和种子参考种质在正确鉴别种子样品方面可以发挥重要的作用。在田间鉴别种质身份尤其重要，因为不合适的标记能导致大量的遗传侵蚀。田间标记也需要在田间布局图的补充，田间布局图要正确存档，以确保田间种质库中种质正确的身份识别。田间标记因为诸如坏天气等的各种外部因素而极易丢失。诸如带有打印条形码、射频识别(RFID)标签和分子标记的现代技术通过降低错误的可能性而能够大大地促进种质资源的管理，进而确保种质的鉴别。

## 生活力保持

保持种质库中种子样品的活力、遗传完整性和质量以及使得它们可以利用是种质库管理的最终目的。因此，严格依照标准中所有必要的种质库程序是非常重要的，以保证维持可接受的生活力水平。为达到这些目的，特别要注意种质资源获得、加工和储存标准。对顽拗型种子和其他非正常型种子类型来讲，通过视觉检查有无损伤，以及萌发率和总体萌发来评价。然而，宏观上无法察觉种子内的真菌与细菌可能会危及种子质量。总的说来，在种子种质库中，种子样品在种质库接收时应具有高的生活力，且要尽可能符合收集种质资源的标准。采集种子尽可能成熟但在自然散布之前，避免从地上收集散布的种子或带有土的并可能有腐生菌或病原真菌/细菌的种子，可以保证最高的生理学上的种子质量。种质库也应该保证收集的种质资源是在遗传上代表原初种群的，同时也要考虑活的繁殖体数目，因而样品的质量不会受到影响。应该设置监测系统，根据预期的种子寿命在适当的间隔期检查储存样品的生活力状况。如果能够正确地注意采后的处置、干燥和储存的话，能够降低更新频率。对于田间种质库来说，可繁殖性（即繁殖的质量与状态）比生活力这个术语更相关，后者与种子萌发并产生一小植物的能力相关。田间种质库极易受到诸如天气状况、病虫害发生的环境因素影响，而这些影响因不同物种类型和生活周期（例如一年生、二年生或多年生）而不同。如果一个物种的种子储藏后性态不明，即不确定属于顽拗型种子，还是其他非正常型种子或正常型种子，那么在这种情况下存在一个额外的因素，在采取任何种质储藏策略之前需要优先查明种子的反应（通常是对缓慢脱水的反应）。

## 遗传完整性的保持

保持遗传完整性的需要与保持原初采集样品生活力和多样性密切相关。从采集和获取样品开始，到储存、更新和分发，所有的种质库程序对于保持遗传完整性都是重要的。确保按照有助于保持遗传完整性的标准来维护生活力。包括对可以或者不可以逆转的表观遗传变化的调查，需要各类的分子技术来评价是否保持了基因组稳定性，特别是在样品从超低温保藏

中恢复的时候。对于从播种到生殖成熟需要长时间间隔的植物，田间的种子更新将非常不切实际。在有优势和活力下降的迹象时需要重新对原始种群进行重新取样。对在体外保藏的种质，特别是在考虑到体细胞克隆变异的风险时，其遗传完整性的维持也同等重要。这是如果不是别无选择的话应该避免间接体细胞胚胎发生（即通过一个伤愈组织阶段）来获取用于保藏的种质的主要原因。在获取阶段，应该尽可能获得高质量和数量足够的有充分代表性的种子样品。然而，要认识到当目的是收集特殊特征时，样品不必是原初种群的代表。为了将遗传侵蚀降到最低程度，遵循推荐的方案<sup>1</sup>更新种子种质，尽可能减少的更新循环次数，具备足够大的有效种群大小，平衡的抽样以及控制授粉很重要。这里特别提及安全备份的重要性以便应对种质库设施可能发生的危险。

## 种质健康的保持

种质库应努力保证其保存和分发的种子尽可能没有种子传播的疾病并控制有害生物（细菌、病毒、真菌和昆虫）。外部表面通常应用表面消毒程序而有效地将病虫害加以清除。种质库通常不具备必要的能力或资源来检测采集或获取的样品和从更新/扩繁圃收获的样品是否有种传病虫害。特别是当种质资源来自第三方的时候，更是如此。顽拗型种子的物种保存时，这些问题会更加严重。内部产生的污染只有当顽拗型种子在短期到中期脱水保藏时，或者当来自种子的外植体置于组织中时才会被发现。目前并不令人满意的解决办法是丢弃任何被污染的种子/外植体，因为这是唯一确保种质不被污染的办法。因此，当进行种质资源交换的时候，种子材料附带的有关引进和植物检疫证是十分重要的，以确保接收样品的健康状况。有些受感染/侵染的样品可能比较容易去除，而其他的可能需要更加复杂的方法去除。

1 Dullo, M.E., Hanson, J., Jorge, M.A. & Thormann, I. 2008. Regeneration guidelines: general guiding principles. In: M.E. Dulloo, I. Thormann, M.A. Jorge & J. Hanson, eds. *Crop specific regeneration guidelines*. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme (SGRP), Rome, Italy. 6 pp. Also see: <http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org/>

## 种质的物理安全

种质资源保存的一个基本原则是保存种质资源的种质库设施的物理结构符合适当的标准,保护材料免受外部因素的影响。这可能包括自然灾害和人为损坏。也需要合适的安全系统以保证种质库冷却设备以及备用发电机和控制电力超载的设备处于良好运行状态,监测设备能够一直记录主要参数。鉴于超低温保藏需要液氮,这种冷冻剂必须能够随时供应。另外,无论这种特殊保藏容器或液氮冷冻机的液氮添加/补充是人工还是自动,重要的是液氮的水平要维持住。种质库另外一个重要事项是确保材料安全地在其他地方备份,一旦收藏材料因某些原因毁坏,能够从备份恢复。

## 种质资源的可用性及其利用

保存的材料必须在目前和将来是可用的。因此,种质库操作中所有的程序和管理围绕该目标是很重要的。种质需要保持足够数量的种子及其相关信息。虽然在田间种质库中有一些种质,但分发到用户的能力有限,种质库需具备一策略,能够快速扩繁殖种质以供分发。

## 信息的可获取性

为了确保信息交流和可解读性,应该在电子数据库中记录种质获取后的基本的、详细的、准确的、最新的信息,包括历史和当前的信息,特别是有关单个种质的管理的信息。这些信息的获取、可用性和分享应该高度优先对待,因为这会引向更好和更合理的保存。包含表型评价资料的互动检索数据库能够帮助种质资源用户锁定所需要的种质资源,相应地,反馈进一步的评估数据,增加了典藏材料的价值和效用。如果保存的种质资源信息易于查阅和获取,将提高对种质资源的利用。这将进一步有助于种质库的管理者更好地计划其扩繁和更新活动以保证其收集材料适当的库存。对这样基于种质库的信息系统,推荐建立一个搜索-询问互动数据库。邱



园千年种子库(MSB)的种子信息数据库(SID<sup>2</sup>)提供了一个这种类型数据库价值的好例子。BRAHMS(植物研究与标本室管理系统)<sup>3</sup>是一个为种质库管理者和数据管理开发的系统,而EURISCO<sup>4</sup>是一个以网络为基础的目录,提供欧洲迁地植物典藏的信息。

## 种质库主动的管理

遗传资源可持续的和有效的保存取决于对保存种质资源材料的积极管理。主动的管理对于确保种质资源有效地保存和及时地并有足够可用数量提供给植物育种者、农民、研究人员和其他用户的进一步使用是极其重要的。它强调了确保和分享材料及相关信息的重要性,并为人员和财政资源提出一个功能策略,以形成一个合理体系。它包括风险管理策略和鼓励与第三方合作,为种质库服务,以保存生物多样性。应该提及的是,田间收集的维持是昂贵的,应该全力开发互补的体外或超低温保藏的收集。依附于国家和国际层面的法律法规框架是必要的,特别是它们与材料的获取、可用性和分发以及植物和种子健康紧密相关。在合适情况下对于作物应当应用粮农国际植物遗传资源条约(ITPGRFA)多边体系下的标准材料转让协定。国际植保公约(IPPC)的规定为检疫和健康管理提供了框架,防止植物病虫害的传入和蔓延。最重要的是,需要持有种质库的机构在人员和资金方面的长期和持续承担义务。

此外,主动的管理将鼓励对种质库中新种质资源应用实践经验和知识,并寻求在当地最常见的条件下尽可能应用种质库标准。这意味着有时虽然不能完全符合标准,但是要采取防范措施以满足种质库管理的基本原则。

---

2 种子信息数据库(Seed Information Database) <http://data.kew.org/sid/>

3 BRAHMS <http://dps.plants.ox.ac.uk/bol>

4 EURISCO <http://eurisco.ecpgr.org/>





# 第3章

## 标准-结构和定义

本文件叙述的《标准》详细说明了常规种质库运转操作的最低水平，低于该水平存在丧失遗传完整性的高风险（例如，种质经过储存后丧失等位基因的概率百分之五或更高）。

每部分分为：

- 标准
- 背景
- 技术因素
- 意外情况
- 选择的相关参考文献

背景提供标准应用必要的基本信息。

它提供种质库常规运作概要的叙述，为其界定了标准及其基本原则。技术因素解释了理解和支持标准的重要的技术和科学原理。

意外情况提供了在标准不能应用于某个种类时，例如例外情况，可供选择的途径以及管理选项的建议。

在所有部分提供了经选择的信息和参考资料。





# 第4章

## 正常型种子种质库 标准



## 4.1 种质获得标准

### 标准

- 4.1.1 所有添加至种质库收藏的种子样品是合法获得的并有相关的技术文件。
- 4.1.2 种子采集应尽可能接近成熟并早于自然种子散布期,避免潜在的遗传污染,以确保最佳的种子质量。
- 4.1.3 为获得最佳种子质量,种子从采集到受控的干燥环境之间的时间要在3至5天内或尽可能短,应注意种子不应暴露在高温和强烈的光线中,而且有些物种的种子需要后熟过程,以使得胚成熟。
- 4.1.4 所有的种子样品需附有至少粮农组织/生物多样性(FAO/Bioversity)多种作物基础性状叙词中最低限度的相关信息。
- 4.1.5 根据目标物种的繁育系统,种子应该采取的植株的最小数目应该在30-60株之间。

### 背景

获得是收藏采集的或申请来的种子并将相关的信息收录入种质库的过程。材料应该合法获得、高质量和有适当的记录。

获得应该根据有关的国际和国家法规,如植物检疫/检疫法律、粮农植物遗传资源国际条约(ITPGRFA)或生物多样性公约(CBD)相关规则,以及国家植物遗传资源相关法律。根据标准4.1.1允许种子从原产国/捐赠国出口并引进到种质库的国家,并确定管理和分发制度(例如标准材料转让协定(SMTA)或材料转让协定(MTA))。

需要保证最佳的种子质量,避免保存不成熟种子和因某些因素而暴露时间太长的种子。种子采集后到其被转到控制条件之前的处理方式对于种子质量是很关键的。采后阶段到运输到种质库期间,不利的极端温度和湿度可能导致生活力的快速丧失和储存寿命的缩短。这些同样适用于种质库内收获后的处理。种子质量和寿命受种质库内储存前经受条件的影响。建议在采集后立即进行发芽试验,确定采集的种子质量。

在获得阶段,重要的是确保每个进库样品有尽可能完整的护照数据并完全记录,特别是能够帮助确定采集地点的地理参考资料。护照数据在鉴别和分类种质方面是至关重要的,而且具有作为选择和使用种质的进入点的功能。

## 技术因素

在国际条约多边系统里应用粮农植物遗传资源(PGRFA)必须附带标准材料转让协定(SMTA)。获得者应该遵守粮农植物遗传资源国际条约(ITPGRFA)或生物多样性公约(CBD)的有关规定,同时,根据采集地国家的获取遗传资源的国家法律,应该由收集国家的委托者签订一个材料转让协定(MTA)(ENSCONET, 2009)。此外,针对提供国之要求,获得应该事先通知该国并得到同意。植物检疫规定和其他进口要求应该寻求从接收国家有关当局获得。

刚从田间收获的种子可能含有较高的水分,需要通风以防止发酵。它们应该被放在适当的容器中,空气能够流通,确保内容物不因不充分的空气交换而变湿,在采集和运输过程中不会混合或损坏。监测温度和相对



湿度(RH), 确保种子在采收后和运输以及收获后加工期间不暴露在30°C或85%相对湿度以上的条件中, 将有助于保持种子质量。如果完全成熟的种子需要在田间加工和干燥, 应该采用针对特殊或类似种类的技术建议以降低退化风险。

应当利用适当的采集数据窗来捕捉采集品数据。这些数据窗应该包含诸如样品初始分类分级、采集地点全球定位系统坐标、采集植物栖息地描述、采集植物数量和其他对于适当保存重要的有关数据信息。如果可能, 应该使用粮农组织/生物多样性(FAO/Bioversity)多种作物种质护照信息叙词表(Alercia *et al.*, 2012)。当从农民的田间/储藏采集种子时, 访问农民可以获得非常有用的附加信息, 如栽培实践、种子以前世代的历史和起源、用途等。采集期间, 采集人员应该必须关注采集对自然群体的损耗。欧洲本地种子保护网络(ENSCONET) 采集手册建议从一种群中采集不要超过所有可获得种子的20%(ENSCONET, 2009)。可能还比较有用的是在一特定地点进行重复取样, 这可以获取在某一时间不同地点的最大的遗传变异。

采集的样品应该足够多, 至少包括目标群体中95%的频率大于0.05的等位基因的拷贝(Marshall and Brown, 1975)。随机取59个不相干的配子就足以达到这个目的。随机交配的物种需要采样30个个体, 完全自交种类的需要采样60个个体(Brown and Hardner, 2000)。因此, 捕捉95%等位基因的样本大小可能在30和60个植株之间, 取决于目标种类的繁育系统。在实际中, 为了避免频繁更新应该收集足够数量的种子用以分发。然而, 我们应该意识到这个目的不会总是可以达到, 这就视种子采集的可获得性而定。

如果种子捐赠品(来自种子库或种质库), 除护照数据以外, 还应该提供分类学分级、捐赠者、捐赠者身份识别号和名称。应该从捐赠者获得接收的种质资源保存的适当信息, 包括谱系或连锁群信息, 可能的话, 包括接受监管次序的信息。种子应该分配一个唯一的识别号码(暂时的或永久的, 根据种质库的惯例而定)一直伴随种子, 将种子和护照数据以及其他采集信息关联起来, 保证种子样品的真实性。一旦有可能, 应该从与种子样品同样的种群采集干燥的凭证标本, 记录采集的方法和原因。



## 意外情况

田间采集的种子很少处于能自动保证其长期保存的条件（生理学和植物检疫状况）。在这种情况下，建议在控制条件下进行繁殖以达到长期保存的特殊目的。

当种质含有大比例 (>10%) 的未成熟种子、果实时, 应该采取措施促进收获后成熟。这通常能够通过将材料放置在周围通风良好、防止降水的条件下实现。后熟进程应该采取视觉监测, 一旦认为种子比较成熟, 就将种子转移到控制的干燥环境中。

当野生和珍稀物种种子可能无法在最佳条件下获得或获得理想数量时, 可以根据上面的标准确定容 (例如样品大小)。

## 有关参考文献

**Alercia, A., Diulgheroff, S. & Mackay, M.** 2012. *FAO/Bioersity Multi-Crop Passport Descriptors (MCPD V.2)*. Rome, FAO and Bioersity International (available at: [http://www.bioersityinternational.org/uploads/tx\\_news/1526.pdf](http://www.bioersityinternational.org/uploads/tx_news/1526.pdf)).

**Brown, A.H.D. & Hardner, C.M.** 2000. *Sampling the genepools of forest trees for ex situ conservation*. In A. Young, D. Boshier & T. Boyle. *Forest conservation genetics. Principles and practice*, pp.185-196. CSIRO and CABI.

**Engels, J.M.M. & Visser, L., eds.** 2003. *A guide to effective management of germplasm collections*. Handbooks for Genebanks No. 6. Rome, IPGRI.

**ENSCONET (European Native Seed Conservation Network).** 2009. *Seed collecting manual for wild species* (available at: <http://ensconet.maich.gr/>).

**Eymann, J., Degreef, J., HŠuser, C., Monje, J.C., Samyn, Y. & VandenSpiegel, D., eds.** 2010. *Manual on Field Recording Techniques and Protocols for All Taxa Biodiversity Inventories and Monitoring*, Vol. 8. (available at: <http://www.abctaxa.be/volumes/volume-8-manual-atbi>).

**FAO/IPGRI.** 1994. *Genebank standards*. Rome, FAO and IPGRI (available at: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/015/aj680e.pdf>).

**Guarino, L., Rao R.V. & Reid, R., eds.** 1995. *Collecting plant genetic diversity. Technical guidelines*, Wallingford, UK, CAB International.

**Guerrant, E.O., Havens, K. & Maunder, M., eds.** 2004. *Ex situ plant conservation: supporting species survival in the wild*. Washington, DC, Island Press.

**Lockwood, D.R., Richards, C.M. & Volk, G.M.** 2007. Probabilistic models for collecting genetic diversity: comparisons, caveats and limitations. *Crop Science*, 47: 859-866.

**Marshall, D.R. & Brown, A.H.D.** 1975. Optimum sampling strategies in genetic resources conservation, pp. 53-80. In O.H. Frankel & J.G. Hawkes, eds. *Crop genetic resources for today and tomorrow*. Cambridge, UK, Cambridge University Press.

**Probert, R., Adams, J., Coneybeer, J., Crawford, A. & Hay, F.** 2007. Seed quality for conservation is critically affected by pre-storage factors. *Australian Journal of Botany*, 55: 326-335.

**Probert, R.J.** 2003. Seed viability under ambient conditions and the importance of drying. In R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard & R.J. Probert, eds. *Seed conservation: turning science into practice*, pp. 337-365. Kew, UK, Royal Botanic Gardens.

**Royal Botanic Gardens, Kew.** *Millennium Seed Bank technical information sheet 04: post-harvest handling of seed collections*. Kew, UK (available at: <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/04-Post%20harvest%20handling.pdf>).

**SGRP-CGIAR.** Crop Genebank Knowledge Base (available at: <http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org>).

**Smith, R.D., Dickie, J.B., Linington, S.H., Pritchard, H.W. & Probert, R.J., eds.** 2003. *Seed conservation: turning science into practice*. Kew, UK, Royal Botanic Gardens (available at: <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/sctsip.htm>).

**Upadhyaya, H.D. & Gowda, C.L.L.** 2009. *Managing and enhancing the use of germplasm - strategies and methodologies*. Technical Manual No. 10. Patancheru, India, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics.

## 4.2 干燥和储存标准

### 标准

- 4.2.1 所有的种子样品在5-20°C控制环境下干燥到10%-25%的相对湿度，这取决于物种种类。
- 4.2.2 干燥后，所有种子样品需要封入适当的密封容器中进行长期储存；在某些情况下，当采集品需要经常使用或者在预期的生活力丧失之前可能用尽，那么可以用不密封的容器储存种子。
- 4.2.3 最初始的样品和安全备份样品在-18±3°C温度和15%±3%相对湿度长期条件(基础收集)下储存。
- 4.2.4 对于中期条件(有源收集)下，样品储存在5-10°C和相对湿度15%±3%的冰箱中。

### 背景

保持种子活力是种质库的一个重要功能，以确保用户可以获得保种质资源，且在遗传上代表所采集的种群(即最初始样品)。种子干燥和储存标准的重要目的是通过最大化种子寿命来降低最初始样品更新频率，因而降低种质库的费用和遗传侵蚀的风险。为此目的，需要对所有最初始样品和种质安全备份进行长期储存(见安全备份标准)。此外，当目的是中期或

短期保持种质,使其存活足够长时间,供分发给用户和进行种质资源的评估时,储存标准在这些情况下也是需要的,但无需像长期保存那样严格。

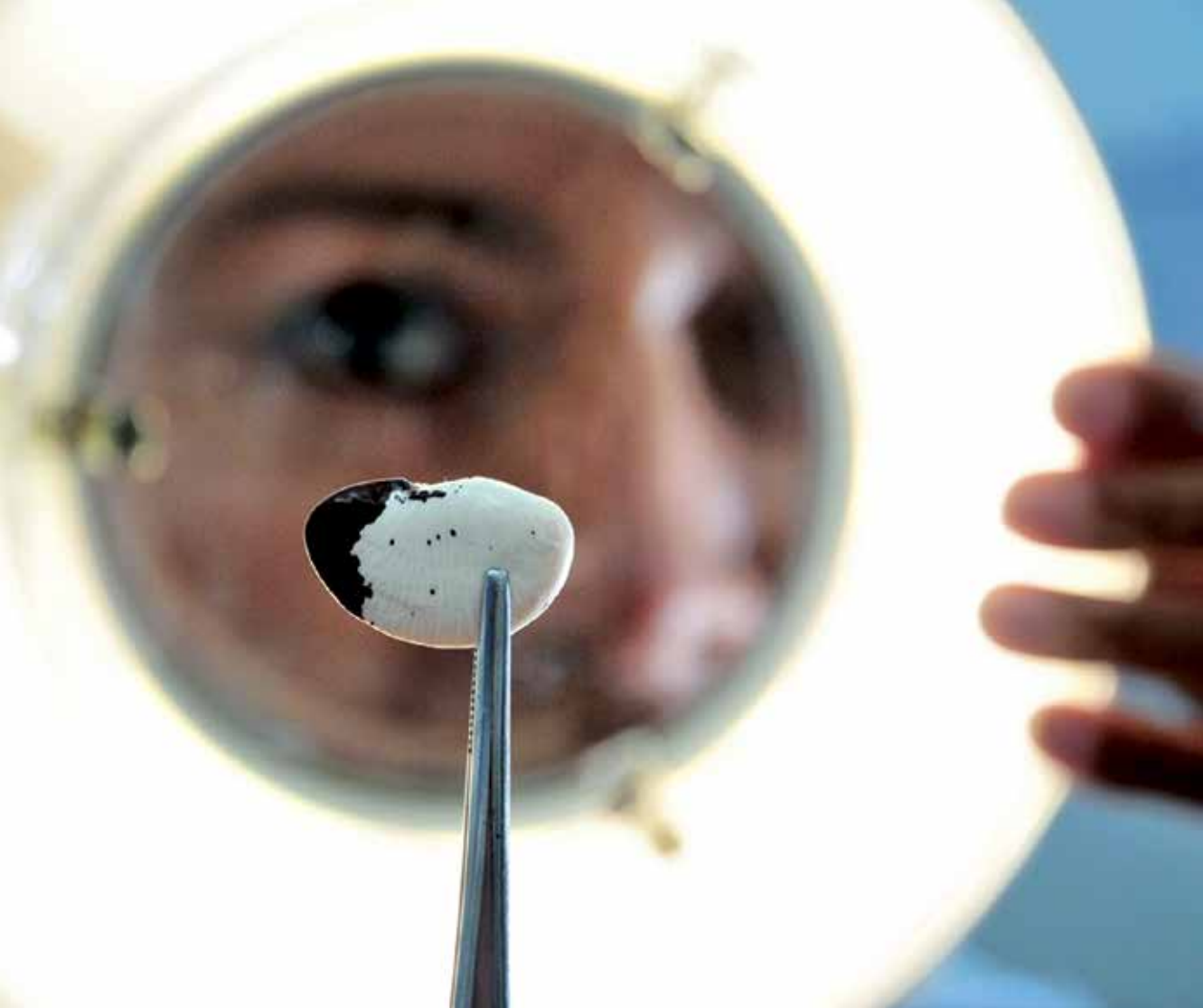
储存前,种子样品需要干燥到适当的湿度。许多方法可以用来干燥种子,使用最普遍的是干燥剂和除湿干燥箱。方法的选择取决于设备、需要干燥的种子样品数量和大小、当地的气候条件和费用。然而,干燥能够增加寿命是有限度的。在临界湿度水平下,可获得储存温度的最长寿命,低于该湿度水平不能进一步延长种子寿命。鉴于冷藏或冷冻储存的好处,建议种质库种子干燥到临界湿度水平。在干燥期间可以使用不同的湿度-温度组合,高温干燥快,但是低温干燥能降低潜在的生理老化。

正如上面所建议的那样,长期储存条件意在提供长期的较高种子质量,实际时间是物种特异性的;中期储存条件则30年足够了,一般需要冷藏储存。短期储存意在提供至少8年的高质量种子,对于长寿的种类如果相对湿度根据标准4.2.2控制,可以在环境温度(在尽可能凉爽稳定的温度但不要超过25℃)下实现。应该指出成熟期寿命、高质量种子在物种间、同种不同批次间可能有变化(Probert *et al.* 2009; Nagel and Börner 2010; Walters *et al.* 2005)。种类间和同种类不同批次间,特别是当种子在成熟度不同的情况下,需要种质库保管员注意监测生活力(见活力监测标准)。

既然种子平衡湿度水平变化取决于含油量,干燥标准最好的衡量方法是平衡相对湿度(eRH),它是一个取决于相对湿度和干燥环境温度的常数。然而,应当注意的是储存期间在密封的容器中,如果储存温度低于或高于干燥的温度,种子的eRh将会降低或增加。

## 技术因素

种子寿命取决于种子内在生物学因素和储存环境质量和一致性的交互作用,即储存温度与种子湿度控制(平衡相对湿度),同时也取决于物种的种类。众所周知,在一定限度内当种子湿度水平和储存温度降低,种子寿命延长(Ellis and Roberts, 1980; Harrington, 1972)。研究表明当种子



干燥超出某个临界点水分含量时很少或不能延长寿命(Ellis *et al.* 1985; Ellis and Hong, 2006), 甚至可能加速种子老化速率(Vertucci and Roos 1990; Walters, 1998)。提出储存标准目的在于确保种子储存在这种最佳湿度水平条件下。然而, 已经表明较低的储存温度提高了最佳种子湿度水平(Walters and Engels, 1998; Ellis and Hong, 2006), 这暗示有过度干燥种子的危险。

在储存温度下获得临界湿度水平应该用等温吸湿曲线确定, 它表明种子中水分数量(通常以占种子重量的百分数表示)与其相对湿度之间的相互关系。它们可能是特定种类的相对湿度和干燥温度的不同组合。基于种

子含油量预测的等温线相互关系可以从邱园种子信息数据库(SID)网站获得(见参考文献)。种质库的操作人员应当清楚地理解相对湿度和储存温度间的关系,以便能够确定种子干燥环境的最佳组合。

一旦种子达到了要求的湿度水平就应该包装和储存它们。干燥以后,应该用防湿容器保持种子湿度。可以应用不同类型的容器,包括玻璃、锡罐、塑料容器和铝箔,它们各具优缺点(Gomez-Campo, 2006)。例如,如果种子适合这些容器,需要考虑玻璃容器可能在潮湿的环境中集湿,以铝覆盖的塑料袋远远好于玻璃容器。在任何情况下,无论是足够厚以防破损的玻璃容器还是厚度足够的带有金属薄层的压膜包装都可以保持要求的湿度水平40年以上,取决于种质库特定区域的环境相对湿度和密封质量。例如在德国种质库用11 $\mu\text{m}$ 厚的铝箔,而在斯瓦尔巴特(Svalbard)保存的种子则保存在20 $\mu\text{m}$ 的铝箔中。种子含水量或相对湿度应该定期测量以确保保持适当的储存湿度。

储存温度决定了一个种子样品的可能的最长寿命,稳定的储存环境对维持种子活力是重要的。但是,在一定的低温范围长期储存的数据有限。在过去曾经建议-18 $^{\circ}\text{C}$ 长期储存种子,因为这是用单台标准深度制冷压缩机所能达到的最低温度。对于长期储存的种子,所有的努力用来保持储存温度在设定温度的 $\pm 3^{\circ}\text{C}$ 范围内,而且要将该温度范围外合计的波动持续时间限制在每年一周以内。当从储存环境移走种子种质时,种质库应该保持储存温度偏差和周期的记录。对于短期储存,种子应该按照其储存的相同温度烘干,例如,如果环境条件是20 $^{\circ}\text{C}$ ,种子应该按照同样的温度烘干。

## 意外情况

长期储存的种子应该很少被移走,而且只有在中期储存种子样品耗尽时或种子需要监测时才会移动。当机械环境控制失败时或当种子不断地从控制的储存环境移走时,要求的储存条件是达不到的。现场应该有备用的发电机和充足的燃油供应。



所有容器的泄漏和种子湿度最终将与储存室的环境条件达成平衡。当使用热塑性塑料作湿度屏障或者如果玻璃或铝箔制容器密封不好或不完整时,这发生得比较快。种子有时候可能需要重新干燥,容器或垫圈需要20-40年一更换。

如果应用干净的(例如,玻璃)容器,含有自动显示硅胶的有孔而透明塑料小袋,与干燥环境达到平衡,能够被用来监测长期储存期间的容器性能。如果种子密封失败,小袋中硅胶(储存在种子旁边)颜色的变化将显示湿气的进入。寿命短的正常型种子或初始质量比较低的种子可能在储存期毁损更快,除非使用了低温学条件,它们不符合长期储存的标准。

## 有关参考文献

Dickie, J.B., Ellis, R.H., Kraak, H.L., Ryder, K. & Tompsett, P.B. 1990. Temperature and seed storage longevity. *Annals of Botany*, 65: 197-204.

Ellis, R.H. & Hong, T.D. 2006. Temperature sensitivity of the low-moisture-content limit to negative seed longevity-moisture content relationships in hermetic storage. *Annals of Botany*, 97: 785-91.



- Ellis, R.H. & Roberts, E.H. 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany*, 45: 13-30.
- Ellis, R.H., Hong, T.D. & Roberts, E.H. 1985. Sequential germination test plans and summary of preferred germination test procedures. *Handbook of seed technology for genebanks*. Vol I. Principles and methodology. Chapter 15, pp. 179-206. Rome, IBPGR.
- Engels, J.M.M. & Visser, L., eds. 2003. *A guide to effective management of germplasm collections*. Handbooks for Genebanks No. 6. Rome, IPGRI.
- Gómez-Campo, C. 2006. Erosion of genetic resources within seedbanks: the role of seed containers. *Seed Science Research*, 16: 291-294.
- Harrington, J.F. 1972. Seed storage longevity. In T.T. Kozlowski, ed. *Seed biology*, Vol. III. pp. 145-245. New York, USA, Academic Press.
- Nagel, M. & Börner, A. 2010. The longevity of crop seeds stored under ambient conditions. *Seed Science Research*, 20: 1-12.
- Pérez-García, F., Gómez-Campo, C. & Ellis, R.H. 2009. Successful long-term ultra dry storage of seed of 15 species of Brassicaceae in a genebank: variation in ability to germinate over 40 years and dormancy. *Seed Science and Technology*, 37(3): 640-649.
- Probert, R.J., Daws, M.I. & Hay, F.R. 2009. Ecological Correlates of Ex Situ Seed Longevity: a Comparative Study on 195 Species. *Annals of Botany*, 104 (1): 57-69.
- Royal Botanic Gardens, Kew. Seed Information Database (SID). Predict seed viability module (available at: <http://data.kew.org/sid/viability/percent1.jsp>). Convert RH to water content (available at: <http://data.kew.org/sid/viability/mc1.jsp>). Convert water content to RH (available at: <http://data.kew.org/sid/viability/rh.jsp>). Kew, UK.
- Smith, R.D., Dickie, J.B., Linington, S.H., Pritchard, H.W. & Probert, R.J., eds. 2003. *Seed conservation: turning science into practice*. Chapters 17 and 24. Kew, UK, Royal Botanic Gardens (available at: <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/sctsip.htm>).
- Vertucci, C.W. & Roos, E.E. 1990. Theoretical basis of protocols for seed storage. *Plant Physiology*, 94: 1019-1023.
- Walters, C. 1998. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. *Seed Science Research*, 8: 223-244.
- Walters, C. 2007. Materials used for seed storage containers. *Seed Science Research*, 17: 233-242.
- Walters, C. & Engels, J. 1998. The effect of storing seeds under extremely dry conditions. *Seed Science Research*, 8. Supplement 1, pp. 3-8.
- Walters, C., Wheeler, L.J. & Grotenhuis, J. 2005. Longevity of seeds stored in a genebank: species characteristics. *Seed Science Research*, 15: 1-20.
- Walters, C., Wheeler, L.J. & Stanwood, P.C. 2004. Longevity of cryogenically-stored seeds. *Cryobiology*, 48: 229-244.

## 4.3 种子活力监测标准

### 标准

- 4.3.1 在种质清洁和干燥后或在种质库收到样品后12个月内进行初始种子活力测试。
- 4.3.2 对于多数栽培作物的种子初始发芽率应该高于85%。对于特殊的种质以及野生和林业种类通常不能达到高水平的发芽率,可以接受比较低的百分率。
- 4.3.3 生活力测试间隔应当设定在预计生活力下降到初始活力的85%<sup>1</sup>或更低一些所用时间的三分之一,这取决于种类和特殊的种质,但不能长于40年。如果不能估计退化的时间且种质在-18°C长期储存于完全密封的容器中,对于预期长寿的种子间隔应为10年,对于预期寿命短的种子5年或更短。
- 4.3.4 对于更新或其他诸如重新采集之类管理决策的生活力指标应当是85%或更低一些,这取决于种类和特殊的种质的初始生活力。

---

1 很多作物可以利用网上工具基于Ellis/Roberts的活力方程来预测种子活力降低所需时间(见<http://data.kew.org/sid/viability/>)。

## 背景

良好的储存条件保持种质资源的生活力,但是即使在极好的条件下生活力也会随储存时间而下降。因此需要定期评定生活力。在种子包装和进入储存前应该尽早进行初始生活力测试。如果由于工作流程和效率方面的实际原因,初始生活力测试不能在储存前进行,应该尽早进行且不能迟于接收后的12个月。这对于储存多物种的种质库可能会出现这种情形,需要一个宽泛的发芽测试制度,同一物种的样品一年一起测试一次。

生活力监测的目的是检测长期储存期间在生活力下降到更新指标以下之前生活力的损失情况。重要的指导原则是对种质进行主动的管理。太频繁的监测将会导致种子和资源不必要的浪费。另一方面,如果监测延误或很少,可能不能发现生活力的显著下降;样品的提前老化可能导致遗传变化(随机或者直接选择)、样品中无法修复的突变或者最终丧失种质。

当预计到在计划进行的下次再测试前生活力将要下降到85%,应该预期再测试的时间或者对种质直接计划更新。

对于匀质的样品,储存期间遗传侵蚀的风险是很低的,只要在更新时植物是足够的,发芽率低于85%是允许的。对于不匀质的样品如野生种类和地方品种,必须坚守85%的标准。对一些地方种、特殊种质、野生种和森林种,在新补充的种子中85%的生活力很少达到。在这种情况下,保管员可以为选择的种类设定比较低的生活力标准触发指标值,如70%或更低。

对于多样的农业物种,是有从环境到冷藏条件预测种子寿命的模型的。种质库员工应当用可获得的预测工具为特殊种类和储存条件预测种子保持高生活力的时间,并指导种质库的其他运作,如生活力监测和更新频率(见活力监测和更新标准)。基于一般种类特性进行的寿命预测应当被认为是大置信区间的估计。鼓励种质库开发和报告描述和更新种类对储存条件反应的新信息。

## 技术因素

生活力监测间隔应该根据收到的发芽试验数据进行调节。只要检测到显著的下降,应该缩短监测间隔以便“精细调节”时间预测以达到生活力标准。

具有很高初始生活力(>98%)的种质,其生活力在下降到85%的预计时间之前很早就显著下降,其时其发芽率远高于90%。这时进行更新或再采集可能太早或没有必要。但是,将来测试的间隔应该往前移(例如从10年改为5年)以便更精确地追踪其下降过程。

对于低质量的种质,如果生活力下降相当快,种质可能危险地逼近骤变点。这类种质应该小心管理,应该在3-5年储存间隔期后首先进行生活力测试。很少的(例如10年)监测可能不能发现快速的退化,85%的生活力指标可能会错过,且种质的遗传完整性出现负面结果。在这方面应用统计学模型能够帮助预测骤变点和预测适当的更新时间框架。

生活力测试应当给保管员一个样品生活力的近似值。目标应当是发现+5%左右的差异,而不是+0.1%的差异。生活力测试的样品大小将不可避免地取决于种质的大小,但是应该最大化以获得统计上的确定性。但是,样品量应最小以避免浪费种子。种质库中的种子是一种有价值的资源,不应被浪费。

很难为种质库中发芽试验种子数量建立一个严格的标准,然而由国际种子检验协会(ISTA)概述的标准方案通常被广泛地使用。作为一般指南建议用200粒种子作为初始发芽试验(ISTA, 2008),如果储存期间初始发芽率低于90%,Ellis *et al.* (1985)推荐的顺序测试程序将能够帮助节约种子。然而,在没有充分种子数量的情况下,100粒或甚至更少的种子也是合适的,需要重复。发芽试验是生活力的指示,且即使是小的种子样品也能够给管理者有用的信息。但是在实践中发芽的实际样品量将取决于种质的大小,一般来说种质库中的种子是非常有限的(理想地,对于自花授粉建议的最小样品是1500,对于异花授粉种类3000粒种子)。重要的是最

小化使用有价值种子进行发芽试验。对于数量少的种质（野生种类经常是这种情况）50粒或更少的种子样品大小是可以接受的。但是必须认识到发芽率低于阈值的机会很高。种质库保管员应该评估发生这种情况的风险。

发芽试验方法应该总是优先于其他可选方法如四唑测试法使用。但是，在某些情况下当不能去除种子休眠，可以进行其他可选测试。建议在两个不同的时间计数以便对发芽快的和慢的种子都有了解。也应该记录异常发芽种子的数目。比较慢的发芽和异常情况的增加常常是退化发生的早期标志。

应尽一切努力应用最佳条件和适当的打破休眠的处理，使种质中所有存在生活力的种子发芽。发芽试验尾期没有发芽的种子应该切开检验以便评估它们是死亡还是休眠。带有坚实的、新鲜组织的种子可能是休眠种子，应该被计数为活的种子。

生活力检测过程中产生的所有数据和信息应该记录下来并录入数据系统。

## 意外情况

认识到生活力检测是一个昂贵的行为以及种质库希望寻找减少成本的程序。一个可能的方法是通过测量在同一个收获年生长的同物种种质的子样品种子的质量来实现。这种实践可以揭示收获年对质量方面影响的总趋向，但将无法考虑据知对种子质量相当重要的基因型与收获年的交互作用。

当在种质间出现了大范围的成熟度不同的收获条件，那么取样策略可以从分别收获的亚组进行。其他的策略可能是对初始测试生活力最低的种质进行集中再测试。从这些种质再测试得出的数据应当为整体批次性能提供早期的预警。

常常在一些豆科饲草种类以及作物野生亲缘种中发现的已知硬粒种子种类和种质在收获时的初始发芽试验可以低至45%，10-15年后增加到95%或更高，而且维持这样很长时间。如果初始测试低于90%，那么通过适当的统计学检验在发现显著下降时进行更新/再采集。

然而，大多种质存在种内变异，因此上述策略有风险，需要予以考虑。野生种类种质的监测与作物种类相比一般来说问题更多。种子休眠可能更普遍，且小量的种质常常意味着用于发芽试验的样品不得不更小，这将不可避免地影响及时发现种子开始退化的能力。

关于初始种子活力测试，种质库接收小数量种子也是可能的。在那种情况下，既然种子是送来更新的，所以没有必要进行种子初始测试。但是更新种子在储存前必须进行测试。

野生物种固有的寿命范围也是很宽的，一些来自地中海和热带干旱栖息地的某些种类预期相当长寿，相反来自寒冷、温和地区的种类预期寿命较短。对于后者，应该考虑低于三年的再测试间隔，以及作为一个预防措施将其备份冷藏。在储存条件不能符合要求的情况下（当种子被储存在制冷单元中时发生了长时间的断电的情况），生活力将受到负面的影响，这取决于种类、中断的时间长度、中断期间的条件。在这样的情况下应该启动危机管理计划。例如，某些代表样品需要在适当的储存条件恢复后立即进行测试。

## 有关参考文献

- AOSA (Association of Official Seed Analysts).** 2005. Page 113 in Capashew, ed. *Rules for testing seeds*, 4-0, 4-11. Las Cruces, New Mexico, USA.
- Dickie, J.B., Ellis, R.H., Kraak, H.L., Ryder, K. & Tompsett, P.B.** 1990. Temperature and seed storage longevity. *Annals of Botany*, 65: 197-204.
- Ellis, R.H. & Roberts, E.H.** 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany*, 45: 13-30.
- Ellis, R.H., Hong, T.D. & Roberts, E.H.** 1985. Sequential germination test plans and summary of preferred germination test procedures. *Handbook of seed technology for genebanks. Vol I. Principles and methodology.* Chapter 15, pp 179-206. Rome, IBPGR.
- Engels, J.M.M. & Visser, L., eds.** 2003. *A guide to effective management of germplasm collections.* Handbooks for Genebanks No. 6. Rome, IPGRI.
- ENSCONET.** 2009. Manuals (available at: <http://ensconet.maich.gr/Download.htm>).
- Harrington, J.F.** 1972. Seed storage longevity. In T.T. Kozlowski, ed. *Seed biology*, Vol III, pp. 145-245, New York, USA, Academic Press.
- ISTA (International Seed Testing Association).** 2008. *International rules for seed testing.* Bassersdorf, Switzerland.
- Nagel, M. & Börner, A.** 2010. The longevity of crop seeds stored under ambient conditions. *Seed Science Research*, 20: 1-12.
- Nagel, M., Rehman Arif, M.A., Rosenhauer, M. & Börner, A.** 2010. *Longevity of seeds - intraspecific differences in the Gatersleben genebank collections.* Tagungsband der 60. Jahrestagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2009, 179-181.
- Royal Botanical Gardens, Kew.** Seed information database (SID). Kew, UK (available at: <http://data.kew.org/sid/>).
- Smith, R.D., Dickie, J.B., Linington, S.H., Pritchard, H.W. & Probert, R.J., eds.** 2003. *Seed conservation: turning science into practice.* Chapters 17 and 24. Kew, UK, Royal Botanic Gardens (available at: <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/sctsip.htm>).





## 4.4 更新标准

### 标准

- 4.4.1 当生活力下降到初始生活力85%以下时,或当剩余种子数量少于要求的种质代表群体三次播种量时应该进行更新。这些种质的更新应该用最初始样品。
- 4.4.2 更新必须以这样的方式进行,以便使种质的遗传完整性得到维持。应当采取种类特异的更新措施以防止花粉基因漂流的混合或遗传污染,这些污染来源于同种类的其他种质或更新田周围的其他种类。
- 4.4.3 如果可能在长期储存的用于参考目的的种质中获得至少50粒初始种子及相应的最初始样品。

### 背景

更新是任何保持正常型种子种质库的一个关键操作和不可或缺的责任。它是导致种质库储存种子增加(也称为“增殖”)以及生活力增加的一个过程,使其等于或高于设定的最低水平,这也被称作更新指标。当没有足够的种子进行长期储存(例如自花授粉种类1 500粒种子,异型杂交种类3 000粒种子),或当其生活力已经低于设定的最小指标(即低于储存种子初始发芽率的85%)时,将对种质进行更新。当种子数量由于种质的经常使用而耗尽时也应当进行更新。如果种质需求很少使用且生活力很

好,更新前种子数量可以低于1 000。尤其是异交种类的每次更新存在失去稀有等位基因或改变样品遗传谱的风险。更新频率应该最小化。对于很少使用的种质或种类不需要保存很多的种子数量。

因为更新是一个容易影响种质遗传组成的活动(以及其遗传完整性),需要极度的小心。因此,种质库操作人员将不得不在尽可能避免更新和生活力潜在损失进而影响种质的遗传完整性之间进行微妙的平衡。对种质的主动管理将非常有助于确定更新的最佳时期。

更新应当尽可能降低种质的遗传完整性的变化。这意味着除了考虑种质的样品之外(见下面的段落),需要适当注意更新进行的环境,因为环境可能导致对种质严重的选择压力。建议更新的环境应当尽可能与采集地点相似,特别是当对采自野外的群体进行更新时,以便将基因漂移和变化降到最小并生产最佳质量可能的种子。由于与其他种类相比,种子/植株的数量比较低,或者由于诸如种子落粒等植物散布机制的原因,要从野生近缘种收获充足数量的种子常常是困难的。因此有必要确保应用适当的技术方法捕捉尽可能多的种子(例如用网捕捉掉落的种子)。也可能需要不断重复的更新循环以确保足够的种子得到保存。对于更新,最好创造有利的种子生长环境条件,将植株之间的竞争降到最小。初始采集地的条件经常在某个或多个方面不利于种子生产的最大化。所以在一般性条件、有利条件和单个种质特别适应当地条件的那些特殊信号(无论光周期、营养还是气候)之间应该有一个折中方案。这是管理艺术的一部分。如果种质库地点不能提供当地有利的条件,保管员应当寻找办法使更新在有利的环境下进行;复制种质的环境不是保管员的必要目标。

为了保持种质库种质在种子更新期间的遗传完整性,对种质有效地进行取样很重要。用于更新过程的种子数量必须足够大,以代表种质的遗传多样性并在一定概率下捕捉一个或多个稀有基因。

用于更新的方法在种与种之间可能有变化,在其他因素中,取决于群体大小、育种制度和授粉效率。因此,尽可能比较与种类相关的有关生物学信息是非常重要的。此外,在可能和有意义的情况下,建议更新活动也可以

用于更新的种质的描述(见“描述标准”)。但是,对于异交种类,由于实际实施方面的原因,用更新过程进行描述常常是困难的。

## 技术因素

为了保持种质的遗传完整性,建议用来自最初始样品的种子进行更新。对于扩繁,建议用来自少于五次扩繁的种质,而不必使用最初始样品。

应当注意到如果初始种质或捐赠品是小样品,在接受材料后有必要立即进行更新,以便获得适当数量长期储存的种子。记录更新循环的次数和录入数据系统是重要的。建议接受的种质库一直保存某些来自初始种子样品的种子用于将来参考的目的。即使这些初始种子丧失了生活力,它们在各自种质后来世代的形态学或基因型确定方面可能是有用的。用于更新活动的种子样品大小必须反映种质的遗传组成。为此目的,有效群体大小( $N_e$ )是一个关键参数,其关系到与种质更新有关的遗传漂变程度。可以从基于传粉生物学和生长条件来估计单个种质等位基因损失最少的最小 $N_e$ 。应该采取最佳收获措施避免播种、收获和处理期间的种子混杂。

Johnson等(2002, 2004)关于多年生异株受精的物种(例如禾草)更新的研究表明100株植物是保存分类单元基因库所必需的最小数目。推荐的采集原则是每株采集3-5个花序的种子。

为了避免基因流/污染,在异花授粉种类的种质更新的地块之间采取适当隔离的方法是极端重要的。这也可以应用于自花授粉种类,取决于更新的环境。对于依赖特殊授粉媒介的种类,应当使用隔离笼和相应的授粉媒介(Dulloo, M.E. *et al.* 2008)。可以根据形态学、酶或者其他可用作标记的特征、或者分子标记来评估污染和遗传漂变/漂移(例如花的颜色;种子颜色,等等)。

参考种质(干燥标本、照片和/或原始种质的描述)对于种的确认是重要的(Lehmann and Mansfeld 1957)。要求仔细检查获得的种子以及新

种质库种质第一次更新过程,以获得重要的参考信息。为了避免种子样品中成熟度的差异,应当在结实期进行多次收获。

## 意外情况

风险管理将总是管理者职责的一个方面。在条件有限的情况下,坚实的物种生物学知识是作出最佳决策的关键因素。当计划更新活动的时候,诸如样品大小、单个种质与分隔种质其他形式之间的距离、为生活力丧失设立的阈值、生长条件和其他的因素,都需要给予注意。

考虑到其复杂性,寻找可能的意外是无意义的。如果出现紧急情况,可采取的措施是从专家和/或其他可能提供帮助的种质库的合作者征询建议。

## 有关参考文献

- Breese, E.L.** 1989. *Regeneration and multiplication of germplasm resources in seed genebanks: the scientific background*. Rome, IBPGR.
- Crossa, J.** 1995. Sample size and effective population size in seed regeneration of monocious species. In J.M.M. Engels & R. Rao, eds. *Regeneration of seed crops and their wild relatives*, pp. 140-143. Proceedings of a consultation meeting, 4-7 December 1995. Hyderabad, India, ICRISAT, and Rome, IPGRI.
- Dulloo, M.E., Hanson, J., Jorge, M.A. & Thormann, I.** 2008. Regeneration guidelines: general guiding principles. In M.E. Dulloo, I. Thormann, M.A. Jorge & J. Hanson, eds. *Crop specific regeneration guidelines*. [CD-Rom], Rome, SGRP-CGIAR.
- Engels, J.M.M. & Rao, R., eds.** 1995. *Regeneration of seed crops and their wild relatives*, pp. 140-143. Proceedings of a consultation meeting, 4-7 December 1995. Hyderabad, India, ICRISAT, and Rome, IPGRI.
- Engels, J.M.M. & Visser, L., eds.** 2003. *A guide to effective management of germplasm collections*. Handbooks for Genebanks No. 6. Rome, IPGRI.
- Johnson, R.C., Bradley, V.L., & Evans, M.A.** 2002. Effective population size during grass germplasm seed regeneration. *Crop Science*, 42: 286-290.
- Johnson, R.C., Bradley, V.L., & Evans, M.A.** 2004. Inflorescence sampling improves effective population size of grasses. *Crop Science*, 44: 1450-1455.
- Lawrence, L.** 2002. A comprehensive collection and regeneration strategy for *ex situ* conservation. *Genetic resources and crop evolution*, 49(2): 199-209.
- Lehmann, C.O. & Mansfeld, R.** 1957. Zur Technik der Sortimentserhaltung. *Kulturpflanze*, 5: 108-138.
- Rao, N.K., Hanson, J., Dulloo, M.E., Ghosh, K., Nowell, D. & Larinde, M.** 2006. *Manual of seed handling in genebanks*. Handbooks for Genebanks No. 8. Rome, Bioversity International.
- Sackville Hamilton, N.R. & Chorlton, K.H.** 1997. *Regeneration of accessions in seed collections: a decision guide*. J. Engels, ed. Handbooks for Genebanks No. 5. Rome, IPGRI.
- SGRP-CGIAR.** Crop Genebank Knowledge Base (available at: <http://croppgenebank.sgrp.cgiar.org>).

## 4.5 描述标准

### 标准

- 4.5.1 大约60%的种质应当是在获得5-7年内或第一个更新循环期间进行描述。
- 4.5.2 描述应基于标准化的和校正的计量方式和描述数据,遵循国际认可的叙词表并可以公开获得。

### 背景

描述是植物种质资源的描写。它决定了从形态学、生理学或农艺特征到种子蛋白质、油份和分子标记等高度遗传的特征的表达。

在有足够数目的种子供取样的时候,描述可以在保存过程的任何阶段进行。重要的是保存的种质资源是已知的并且进行最大可能程度的描述,以确保植物育种者最大程度地使用。因此,描述应该尽早进行,以提高种质的价值。应用一套最少的生理学表现型的、种子性状和形态学叙词以及繁育系统的信息,例如国际生物多样性中心的那些出版物,是有助于描述的。有用的叙词也能从植物新品种保护联盟(UPOV)和美国农业部国家植物种质资源系统(NPGS)的出版物中找到。应用国际认可的描述数据标准可以提高所出版数据的有用性。

描述允许用于发现种质之间和内部的多样性。为确保保存稀少等位基因或提高对特定等位基因的获取,可能需要适当的策略。记录观察和所使用的方法是极端重要的。

## 技术因素

描述是费时费钱的。可以努力尽可能将描述与繁殖或更新相结合进行。保管员应当作出所有可能的努力记录描述数据。然而,应当鼓励在高度遗传特性的描述中使用备份。

作物的特征及其描述由作物专家和/或保管员与种质库管理者磋商后决定。已经开发出大范围的作物叙词表,例如国际生物多样性中心,其中几个已经建立了可用的最少的关键叙词。此外,还有区域的和国家的叙词表可以利用,诸如美国农业部(USDA)国家植物种质资源系统(NPGS)叙词。正如国际认可并公布的作物叙词表指出的那样,数据记录必须由受过培训的人员用校准的和标准化的计量方式进行。数据上传到种质库数据库和可以公开获取之前需要经保管员和存档官员确认。也要认识到参考种质(干燥标本、种子标本、照片)在典型身份认定方面发挥重要的作用。

随着生物技术的进步,分子标记技术和基因组学越来越多地与表型观测一同用于描述(De Vicente, *et al.*, 2004),这是因为它们在估计在种质内或种质之间的变异来源的独特性方面具有优势。通过利用分子技术来描述种质获得的基因型数据比起表现型数据更具优势,这在于通过前者测定的变异大部分不受环境影响(Bretting and Widrlechner 1995)。然而,分子技术的应用对一些研究机构来说依然是一个挑战,因为它需要高级实验仪器和技术能力,并且可能昂贵(Karp *et al.*, 1997),在发展中国家尤其如此,在一些诸如SSR标记等的基因组特异分子工具需要重新开发的这种情况也是这样。现在有很多标记和技术可以应用,例如SSR、EST-SSR、AFLP,但是针对特征描述这一目的,只有诸如SSR的那些良好建立的并且重复性好的标记才可应用。对许多作物而言,大量的适合在描述中应用的标记引物已经开发出来;也建立起来了最少套数的关键标记。为了确保不同分析批次的结果可以加以比较,一些种质库种质在每一批次中作为参考而被包括

进来。这些在分子描述中包括进来的参考种质也在不同种质库之间的比较上起到重要作用。

## 意外情况

如果数据收集者没有经过很好的培训和富有经验，在他们之间数据的可靠性可能有变化。因此在植物遗传资源领域经过培训的技术人员在整个生长周期记录和存档描述数据过程中要贯穿始终。在描述的过程中最好能获得分类、种子生物学和植物病理学的专家经验（内部的或来自合作的研究机构）。

描述是劳动密集型的，并要求足够的资金以得到高质量的数据。在更新循环期间进行种质的完全描述可能降低可用于每个更新循环的种质数目。

病虫害的发生可能会限制定性数据的收集。某些像油份或蛋白质成分这类特性的确定需要实验室化验，它们并不总是能够做到或者可能是费钱的。



## 有关参考文献

**Alercia, A., Diulgheroff, S. & Mackay, M.** 2012. FAO/Bioversity *Multi-Crop Passport Descriptors* (MCPD V.2). Rome, FAO and Bioversity International (available at: [http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx\\_news/1526.pdf](http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx_news/1526.pdf)).

**Bioversity International.** 2007. *Developing crop descriptor lists. Guidelines for developers*. Technical Bulletin No. 13. Rome.

**Bioversity International.** 2013. Crop descriptors list. Rome (available at: <http://www.bioversityinternational.org/index.php?id=168>).

**Bretting, P.K. & Widrlechner, M.P.** 1995. Genetic markers and plant genetic resource management. *Plant Breeding Reviews*, 13:11-86.

**De Vicente, M.C., Metz, T. & Alercia, A.** 2004. *Descriptors for genetic markers technologies*. Rome, IPGRI.

**Karp, A., Kresovich, S., Bhat, K.V., Ayad, W.G. & Hodgkin, T.** 1997. *Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies*. IPGRI Technical Bulletin No. 2. Rome, IPGRI.

**Laucou, V., Lacombe, T., Dechesne, F., Siret, R., Bruno, J.P., Dessup, M., Dessup, P., Ortigosa, P., Parra, P., Roux, C., Santoni, S., Varès, D., Perós, J.P., Boursiquot, J.M. & This, P.** 2011. High throughput analysis of grape genetic diversity as a tool for germplasm collection management. *Theoretical and Applied Genetics*, 122(6): 1233-1245.

**Lehmann, C.O. & Mansfeld, R.** 1957. Zur Technik der Sortimentserhaltung. *Kulturpflanze*, 5: 108-138.

**UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants).** Test Guidelines - English Index (available at: [http://www.upov.int/en/publications/tg\\_rom/tg\\_index.html](http://www.upov.int/en/publications/tg_rom/tg_index.html)).

**USDA, ARS, National Genetic Resources Program.** Germplasm Resources Information Network - (GRIN). [Online Database] Evaluation/characterization. Data Queries. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland, USA (available at: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/croplist.pl>).

## 4.6 评估标准

### 标准

- 4.6.1 为在国际上达成一致的作物叙词表中所包括的性状而应该获得关于种质库种质的评估数据。它们应该符合标准化和校准的计量方式。
- 4.6.2 应该为尽可能多的种质获得评估数据，这可通过适当的实验室、温室和/或田间分析来完成。
- 4.6.3 评估试验至少在三个环境多样的地点进行，并且数据至少要收集三年。

### 背景

评估就是对那些表达通常被环境因素影响的特征的记录。它包括通过恰当设计的实验对农艺和质量性状方面数据有规律的收集。评估数据通常包括虫害抗性、植物病理学和质量评估（例如油、蛋白质含量）和环境特征（干旱/寒冷忍受力与其他）。这类信息的加入让种质鉴定更为聚焦，满足预期客户之需要。这样的数据因而应该包括在种质库记录系统里。这些数据集是使用者最期望的，以便能将性状整合到育种项目中，提高种质的利用。种质这些需要测定的性状由作物专家与种质库保管员提前界定。这些植物育种者和研究者容易获取的可信评估数据极大地促进种质库种质的

获取和利用。种质可以利用网络研究方法，在国际、地域或国家水平上进行系统的评估。

种质库对评估数据的获得耗时费力，并且比获得描述数据更为昂贵。管理人应该各尽所能来获得评估数据的记录。一个可能的来源是获取到种子的用户所做的评估记录。种质库应该邀请用户至少在用户已经发表评估结果的一段时间后分享评估数据。这方面的实际安排应该在种质库和材料的接收者/使用者之间做出。

## 技术因素

各式各样的作物叙词表已经由植物遗传资源研究所国际委员会（现在为国际生物多样性中心）和保护植物新品种国际协会（UPOV）开发出来。另外还有评估叙词表是由地域和国家机构开发的，比如USDA的国家植物种质系统（NPGS）叙词。

数据收集应该由受训人员应用尽可能多的校准的和标准化的计量方式来完成，而这些计量方式包括充分识别的核对种质（对照）和发表的作物叙词表。采用标准化的方案和实验程序获得的温室、实验室或野外评估的结果其表达通常以离散值（例如疾病综合症严重程度分值；计数）或连续值（以测量为基础）的形式。这些数据在上传至种质库数据库和公开获得之前应该由保管和档案官员进行确认。在评估过程中需要由多学科团队参与，这些团队来自于内部或协作研究机构，具有种子生物学和植物病理学、病虫害抗性、环境耐受性方面的专门知识。通常种质库不会满足这些需要，种质种质的评估最好有植物育种专家参与。

育种者需要的许多农业性状遗传上太复杂而使得在种质种质的初步评估中不能测定。农业性状的数据通常在育种项目中对种质进行评估时获得，并且许多这样的性状来自强大的基因型与环境相互作用（G x E），由此是位点特异的。在对不同环境中的目标性状进行评估时要使用重复，并且确定多年使用的控制种质是至关重要的。其实施必须至少在3种不同环境地点和超过3个植物周期，而且数据的年间比较在统计学上令人满意。



随着生物技术的进步，分子标记技术和基因组技术在评估中使用也越来越广泛(De Vicente, *et al.* 2004)(见描述标准)。在种质描述和评估中最为常用的分子标记包括扩增片段长度多态性(AFLPs)、SSRs和单核苷酸多态性(SNP)。由于相对高的基因组丰富度和数据的高重复性，它们大量地代替旧的标记类型：限制性片段长度多态性(RFLP)和DNA随机扩增多态性(RAPD)。还有新一代序列分析技术的进步和随之而来的费用降低已经导致诸如编码与非编码区测序和序列测定分型基因型(GBS)的基于序列分析手段在种质评估中越来越广泛的应用。分子标记在其遗传差异的测定方式上、在产生的数据类型上、在其最为适合应用的分类群水平上，以及在

其技术与经费需求上多种多样(Lidder and Sonnino, 2011)。在标记辅助选择(即在分子水平上对育种材料中性状的存在或不存在进行选择)可行的情况下,也可用于针对感兴趣性状的种质评估。特别是在发展中国家,设置成本相对高昂与技术人才与费用的匮乏阻止了分子标记作为种质评估的一个选项的广泛应用。

## 意外情况

植物种质的评估极为耗时费力,需要合适的持续资助,这样才确保可信的高质量数据的收集。在可以对所有种质做全面评估的条件下,尽管这样做是最好的,但在经济上不太可行,建议选择遗传上多种多样的种质作为一个起点(例如,可以在前面详细勾画的种质资源的基础上进行)。

在田间,病虫害的发生、非生物胁迫的严重,以及环境与气候因素的波动均影响了数据的准确性,应该通过合理的重复、多地点、多季节和多年的评估来减缓这些影响。还有,为测量一些诸如油或蛋白质含量、淀粉质量、营养因素等的性状的实验室测定需要特殊的并不总是可以获得或可能昂贵的设备,这又强调了在可能情况下来自于几个组织或研究机构的多学科团队共同参与的需要。

采用其他人的评估数据在实际中会遇到挑战。例如,数据可能是不同的格式,如果已经发表的话,还存在版权和知识产权问题。为了便于外部来源的数据利用,因此标准化数据收集与分析并提供统一报告格式非常重要。

## 有关参考文献

- Alercia, A., Diulgheroff, S. & Mackay, M.** 2012. FAO/Bioversity *Multi-Crop Passport Descriptors* (MCPD V.2). Rome, FAO and Bioversity International (available at: [http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx\\_news/1526.pdf](http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx_news/1526.pdf)).
- Bioversity International.** 2007. *Developing crop descriptor lists. Guidelines for developers*. Technical Bulletin No. 13. Rome, Bioversity International.
- Bioversity International.** 2013. Crop descriptor lists (available at: <http://www.bioversityinternational.org/index.php?id=168>).
- Bretting, P.K. & Widrlechner, M.P.** 1995. Genetic markers and plant genetic resource management. *Plant Breeding Reviews*, 13:11-86.
- De Vicente, M.C., Metz, T. & Alercia, A.** 2004. *Descriptors for genetic markers technologies*. Rome, IPGRI.
- Karp, A., Kresovich, S., Bhat, K.V., Ayad, W.G. & Hodgkin, T.** 1997. *Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies*. IPGRI Technical Bulletin No. 2. Rome, IPGRI.
- Lehmann, C.O. & Mansfeld, R.** 1957. Zur Technik der Sortimentserhaltung. *Kulturpflanze*, 5: 108-138.
- Lidder, P. & Sonnino, A.** 2011. *Biotechnologies for the management of genetic resources for food and agriculture*. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Background Paper No. 52. Rome, FAO.
- Rao, N.K., Hanson, J., Dulloo, M.E., Ghosh, K., Nowell, D. & Larinde, M.** 2006. *Manual of seed handling in genebanks*. Handbooks for Genebanks No. 8. Rome, Bioversity International.
- UPOV.** Test Guidelines - English Index (available at: [http://www.upov.int/en/publications/tg\\_rom/tg\\_index.html](http://www.upov.int/en/publications/tg_rom/tg_index.html)).
- USDA, ARS, National Genetic Resources Program.** Germplasm Resources Information Network - (GRIN). [Online Database] Evaluation/characterization. Data Queries. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland, USA (available at: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/croplist.pl>).

## 4.7 记录标准

### 标准

- 4.7.1 100%种质的护照数据用粮农组织/生物多样性(FAO/Bioversity)多种作物种质基本信息叙词来记录。
- 4.7.2 种质库中产生的有关保存和应用材料的各方面数据和信息记录在相应设计的数据库中。

### 背景

种质的信息对于种质库管理和维持其种质是非常重要的；分享这些信息并使得其可以让潜在的种质资源用户公开获得也是重要的，且应当附随任何分发的材料。护照数据应当是每个种质可以获得的最低限度的数据，以保证适当的管理，且应当用国际标准如粮农组织/生物多样性多种作物种质基本信息叙词(FAO/Bioversity 2001)来记录护照数据。应用国际认可的标准将非常有助于数据的交换。

在过去十年左右的时间内信息技术和生物信息技术有了较大的发展，并且许多可以在线利用。大多数种质库也可以使用计算机和互联网。这种新技术使有效地记录交换数据和信息成为可能。最终，保存以及保存的种质资源的可用性通过好的数据和信息管理得到促进。通过获得、登记、储存、监测、更新、描述、评估和分发过程产生的数据和信息应当记录在相应设计的数

据库中并被用来改进种质资源的保存和利用。这样的数据和信息范围从单个种质和群体的遗传特征的详细资料到分发网络和客户。重要的是设置一个外部的备用数据库系统。

描述和评估数据的记录对于提高各种质的使用和帮助鉴别独特的种质是特别重要的。

随着生物技术的发展,需要补充表现型特征数据的分子数据。必须努力记录通过基因组、蛋白组和生物信息学方面的分子数据。

## 技术因素

基于计算机储存数据信息的系统允许更广泛地储存与种质库管理有关的所有信息。应用种质库数据管理许多方面业已存在的数据标准有助于使信息管理更容易,而且提高了数据的使用和交换。例如,应当应用粮农组织/生物多样性(FAO/Bioversity)的多种作物种质基本信息叙词表(Alercia *et al.*, 2012)来记录护照数据,因为这对于不同的数据库和国家之间数据交换是有帮助的。

目前有一些种质资源信息管理系统,如全球种质资源信息网(GRIN-Global)、基因系统网(GENESYS)、曼斯菲尔德农业与花卉作物数据库和(Mansfield Database)(IPK) SESTO基因库信息系统(NordGen)<sup>1</sup>,它们是专门应种质库及其记录和信息管理的需求而开发的。另一个种质资源信息管理系统是国际作物信息系统平台,在系统中可以储存来自一个或多个种质库的种质资源数据,并在线公布,具有搜索查询能力,允许用户通过单个或多个特征标准为种质资源的选择设定搜索标准,且带有由某个地区的全球定位系统坐标和/或气候和土壤分布图覆盖,以便于目标种质资源的选择。

---

1 GRIN: <http://www.ars-grin.gov/>  
GENESYS: <http://www.genesys-pgr.org/>  
Mansfield Database: [http://mansfield.ipk-gatersleben.de/pls/htmlldb\\_pgrc/f?p=185:3:1644539197326401](http://mansfield.ipk-gatersleben.de/pls/htmlldb_pgrc/f?p=185:3:1644539197326401)  
SESTO: <http://www.nordgen.org/sesto/>



通过获取分发种子的用户常能产生评估数据。种质库应当邀请用户分享评估数据，然后这些数据被包括进种质库的记录系统。这些信息可集中在生物和非生物压力的抗性、种质的生长发育特征、产量品质特性等。增加这类信息允许更聚焦种质资源的鉴定以满足预期的客户需求。但是，一般认为利用用户产生的信息可能并不简单，而且可能牵涉版权和制度方面的问题。

## 意外情况

缺乏记录或丢失记录会危及种子的最佳使用，甚至可能导致种子的损失。保管员应该确保与种质库管理相关的所有信息的合适记录作为风险管理系统的一部分在备份文件系统中存放。在没有基于计算机的系统存在的话，所有重要信息应该在档案夹里合理存放。

## 有关参考文献

**Alercia, A., Diulgheroff, S. & Mackay, M.** 2012. *FAO/Bioversity Multi-Crop Passport Descriptors* (MCPD V.2). Rome, FAO and Bioversity International (available at: [http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx\\_news/1526.pdf](http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx_news/1526.pdf)).

**De Vicente, M.C., Metz, T. & Alercia, A.** 2004. *Descriptors for genetic markers technologies*. Rome, IPGRI.

**ICIS (International Crop Information System).** [Website] (available at: <http://irri.org/knowledge/tools/international-crop-information-system>).

## 4.8 分发和交换标准

### 标准

- 4.8.1 种子遵循国家法律及有关的国际条约和协定分发。
- 4.8.2 提供的种子样品要附有接收国家要求的所有有关文件。
- 4.8.3 接到种子的需求到种子发送之间的时间间隔要保持最小。
- 4.8.4 对于多数种类来说最少30-50粒有生活力种子的样品与足量库存种子被用来作种质。对于在被要求的时候种子太少的种质且缺少合适替代的种质,样品应当在更新/扩繁殖以后提供,这些要根据重新提出的请求而定。对于某些种类和某些研究用途,较小数目的种子是可以接受的分发样品量。

### 背景

保存应当与应用相连接。种质资源分发是响应植物种质资源用户请求而从种质库提供一份种子种质代表样品。为应对气候变化、主要病虫害毒力的变化和外来入侵生物引起的挑战,遗传资源的需求持续增加。这种需求已经导致人们广泛地认识到利用种质库遗传资源的重要性——这最终决定遗传资源的分发。从接到用户要求种子到随后的响应和发送种子(及有关的信息)之间的时间应当尽可能短。



认识到法律系统在其管理向法院申诉和仲裁程序规则,以及应用这些程序规则的国际和区域协定的义务方面的差异。当一个用户向种质库要求种质时,用户负责指明其国家种子进口要求,特别是植物检疫规定,以避免传播可能严重影响国家生产的检疫性或限定的有害生物或入侵物种。

管理获取遗传资源的两个国际文书是国际粮农植物遗传资源条约(ITPGRFA)和生物多样性公约(CBD)。ITPGRFA促进对粮农植物遗传资源(PGRFA)的使用,并且提供其利用中的利益共享。它已经为64种食品和饲料作物(通常参考条约的附录1作物)建立了一个PGRFA多边系统,并辅以SMTA来分发。然而SMTA也能为条约附录1作物以外的物种使用,还可以使用其他模式。在CBD框架下的获取与利益共享是根据名古屋议定书。ITPGRFA和CBD均强调在促进获取和公平合理的利益共享中保护和可持续利用的紧密联系。

种质库应当致力于让用户可以利用尽可能多的种质,并包括相关数据。当库存耗尽了,应当将扩繁种质满足用户需求作为优先事项。保持有效种质的种质库应当促进用户利用遗传资源,包括研究、育种、教育、农业和返还。在国际上,种质库可以作为一种地方品种种质资源的来源重新提供给开始建立其自己种质库的国家,或遭受诸如火灾、洪水或国内冲突灾难的国家。

应该注意分发种子的最小数目取决于种类和用途。种质库种质不仅用于育种前的研究和植物育种,而且用于研究活动。在后一种情况,常常需要非常少的种子。

## 技术因素

种质资源应当以这样的方式分发,确保种质资源以良好的条件达到其目的地。环境条件可能对运输期间的种子质量有伤害,因此为了在运输期间保护种子,种子应当小心地包装并封入密封的口袋中。

分发的样品应当符合本文件规定的质量标准要求以及接收国家提出的种子健康要求。分发的种子也应当符合国家法律规定。国家法律的内容,特别是种子健康要求必须由用户或国家植物检疫官方机构提供。

为了容易和快速地从海关官员和植物保护部门取出样品,可以得到种质接受国家或要求者要求的各种文件将是非常必要的。

植物检疫证、附加声明、捐赠证书、无商业价值证书、进口许可证以及其他证书是接收国家要求文件的一部分。因此保持和更新不同国家要求的文件清单是重要的。如果种子分发或交换需要额外费用(植物检疫证、国际种子检验协会报告、特别的封袋或其他),这些费用由用户承担,或由双方商定。国际分发的主要问题是种质库需要声明某个特定的病害在种子生产田间没有发现。对于20-30年之前生产的种子,种质库不可能满足附加声明的要求。当附加声明未能满足,接收种子的国家应当负责处置种子的检疫程序。

材料清单和相关信息(以护照数据作为最低要求)应当与有关获取和使用遗传资源的法律协议一起提供给接收者。

强烈建议尽可能减少发送和交付货品之间的时间。当种子不能获取时,应当给予答复,包括详细的原因描述、种质可以得到的预计日期、以及可能满足要求者需求的替代的种质。

鼓励种质库种质接受人自己扩繁种子用于他们自己的试验需求和实验。这特别与野生种类有关，因为野生种类常常很少，也与重复的田间实验有关，这种要求的种子数量供应不能考虑。

对于条约多边系统外材料的分发，分发的种质库应当鼓励按照材料转让协定(MTA)的条款从接收者向提供者反馈所收到的种质资源用途方面的信息。

## 意外情况

政治决策或危机情况或官僚的延误可能延长种子要求的接受和材料的分发之间的时间跨度。与更新和/或扩繁种质相关的限制可能影响和延误分发的过程。

## 有关参考文献

**Engels, J.M.M. & Visser, L., eds.** 2003. *A guide to effective management of germplasm collections*. Handbooks for Genebanks No. 6. Rome, IPGRI.

**FAO.** 2009. International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture (ITPGRFA), Rome (available at: <http://www.itpgrfa.net/International/>).

**FAO.** 2009. Standard Material Transfer Agreement of the International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture (SMTA of the ITPGRFA), Rome (available at: <http://www.itpgrfa.net/International/>).

**FAO/IPGRI.** 1994. *Genebank standards*. Rome, FAO and IPGRI (available at: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/015/aj680e.pdf>).

**Rao, N.K., Hanson, J., Dulloo, M.E., Ghosh, K., Nowell, D. & Larinde, M.** 2006. *Manual of seed handling in genebanks*. Handbooks for Genebanks No. 8. Rome, Bioversity International.

**SGRP-CGIAR.** Crop Genebank Knowledge Base (available at: <http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org>).

**United Nations.** 1992. Convention on Biological Diversity (CBD) (available at: <http://www.cbd.int/convention/convention.shtml>).

## 4.9 安全备份标准

### 标准

- 4.9.1 每个原始种质的安全备份样品储存在地理上较远、具有与原种质库相似或更好条件的区域。
- 4.9.2 每个安全备份样品附有有关的信息。

### 背景

安全备份是具有同样遗传性种质的子样品，以降低由自然和人为灾难导致的部分或全部损失。安全备份与长期种质是遗传性相同的，并被视为仅次于最原始样品(Engels and Visser, 2003)。安全备份包括材料备份和其相关的信息，并有数据库支持。材料的安全备份在不同的地点长期储存。选择风险最小的地点并且能够提供最好可能的储存设施。为了将单个国家可能产生的风险降到最低，比较理想的是将安全备份保存在那个国家之外。

安全备份一般按照“黑箱”形式处理。这意味着储存的种质库无权使用或分发种质资源。确保寄存材料的高质量、监测种子随时间推移的生活力以及当种子开始丧失生活力时利用他们自己的基础种质更新种质是寄存者自己的职责。在没有寄存者允许时，种质资源不能碰，并且只有当原始种

质丢失或损坏时才能根据请求返还。当已经用新更新的种质资源替换时，招回寄存物也是可能的。然而，认识到黑箱不是唯一的方法。也存在安全种质由接收种质库照管的情况。

所有种质库收集的原始种子或当只有种质库持有时，应该制作安全备份。然而，种质库仍应保存一套原始样品，以便促进更新或其他管理决策。来自其他种质备份的种子通常能够从这些种质找到，因而不需要安全备份，除非对其他种质的安全性存在疑问。

任何安全备份的安排需要安全备份寄存者和接收者之间签署清晰的法律协议，明确各方责任、期限以及材料保存的条件。

现在从挪威斯匹次卑尔根岛上的斯瓦尔巴特（Svalbard）全球种子库可以得到安全备份。研究机构寄存的种子保留拥有权且只有寄存者可以获得储存在斯瓦尔巴特的样品。

## 技术因素

当选择安全备份的地点时，主要考虑该地点的地理位置和环境条件。设施必须确保低辐射（放射）和稳定性（地震可能性低）。设施应该位于高地以保证雨季能彻底排水，并且消除如果因全球变暖海平面上升发大水的风险。同样重要的是经济稳定和社会政治稳定。Koo等（2004）建议安全备份样品应该位于远离那些可能有阻碍国际获取的政治禁运、军事行动或恐怖风险的地方。

安全备份以与基础收集同样的方式制备。条件至少应当与种质库中那些长期保存的种质资源储藏品一样严格，且种子制备（如干燥）的质量是重要的。在某些情况下，在送出安全备份之前，根据短寿命、中等寿命和长寿种子群体对材料进行分类是有帮助的。

样品大小不应当限于确定的最少数目。样品的大小应当足够进行至少三次更新。安全备份不只是为将来更新；它也可以提供最小的样品用于更新一个失去的种质。在第二个地点的一个最小量种子“临界的”安全备份要好于没有任何备份。对于具有较高差异的异交植物和异质的种质，如果可能的话，种质的安全备份应该包含至少500粒有生活力的种子，而对于遗传性比较一致的种质最少300粒种子。对于生活力比较低的种子种质，则需要更多的种子。储存温度应当是 $-18^{\circ}\text{C}$ 到 $-20^{\circ}\text{C}$ 。

安全备份的包装材料应当是三压层材料，其中间金属层应当有适当的厚度。应当形成四边缝合的小袋。它可以为在 $-18^{\circ}\text{C}$ 运输和储存至少30年提供适当的防水屏障。在每个种子口袋上应该放置外部和内部标签确保种质资源得到识别。

因为安全备份储存条件应当相似于或好于基础种质，种子活力可以在种质库中长期储存的同样种质的种子批次进行监测，如果满足储存条件的基本标准而且用的容器相同，可以对安全备份进行推断。在某些情况下，根据与存放处的协议，发芽试验的样品可以用一个装有安全备份的单独的盒子发送以监测发芽。

强抗寒的盒子（厚盒子或聚丙烯盒子）是运输和储存种子最好的选择。盒子应当完全密封。应当考虑可以利用的最快的运输方式，空运、快递或陆运，以避免运输过程中种子质量的退化。当发送者以同样条件储存种质基础材料样品的生活力开始下降时，应当对来自发送者的样品进行更新。

## 意外情况

在从基础收集样品的生活力监测结果推断安全备份的生活力时，应该小心谨慎。尽管平均储存温度是相同的，如果两个地点周围环境相对湿度和/或温度波动范围和频率不同，种子可能以不同的速率老化。



用密封的黑箱条件送样品可能产生责任问题。一个问题是密封箱内容的责任问题，由进入国家的海关官员和其他当局处置。在某些情况下箱子被打开然后由当局贴上特殊封条以确认样品不是药品或其他禁止的植物。另一个问题是如果运输期间受压、容器未密封好、或温度相比标准有波动，导致材料毁损或比预计的早丧失生活力中接收机构的责任问题。在这里描述的条件下，只有温度变得无法控制时，安全备份仓库才负有“责任”；这应当立即报告给主管机构以便他们能够决定采取什么措施。主管机构应当为运输灾难和无法控制的湿度负完全责任。

由于样品固有的生物学原因，如寿命短的种子、空间和费用限制的情况下大粒种子的种类，对于某些种类实施标准和技术因素可能是困难的。

## 有关参考文献

Engels, J.M.M. & Visser, L., eds. 2003. *A guide to effective management of germplasm collections*. Handbooks for Genebanks No. 6. Rome, IPGRI.

Koo, B., Pardey, P.G., Wright, B.D., Bramel, P., Debouck, D., Van Dusen, M.E., Jackson, M.T., Rao, N.K., Skovmand, B., Taba, S. & Valkoun, J. 2004. *Saving seeds: The economics of conserving crop genetic resources ex situ in the future harvest centres of the CGIAR*. Wallingford, UK, CAB International.

SGRP-CGIAR. Crop Genebank Knowledge Base. Page on safety duplication: Background documents, list of references and standard safety deposit agreement template (available at: [http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=58&Itemid=207&lang=English](http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=58&Itemid=207&lang=English)).

## 4.10 安全和人员标准

### 标准

- 4.10.1 种质库应当有风险管理策略，包括防止断电、火灾、水灾和地震等的措施。
- 4.10.2 如果适用的话，种质库应当遵循当地的职业安全和健康的要求和协议。
- 4.10.3 种质库雇佣必要的人员来履行所有的日常职责，确保种质库能够根据标准获得、保存和分发种质资源。

### 背景

实现种质库获得、保存和分发种质资源的目标不仅需要备有合适的处置种质资源程序和设备，而且需要雇佣适当的经过培训的人员进行必要的工作并保证种质库的安全。

主动的种质库的管理需要经过良好培训的人员，将职责分配给合适胜任的雇员是至关重要的。因此，种质库应当有一个人事及相应预算的计划或策略，以便保证可以有最基本的经过培训的人员来履行职责，确保种质库能够根据标准获得、保存和分发种质资源。能够得到学科领域范围内的专家是需要的，取决于每个种质库的要求和目标。但是，人员的补充

和培训将取决于特殊的情况。种质库中储存种子的健康和用途也取决于与种质库的安全有关的事项。例如，需要安排备用电；必须配备灭火设备并定期检查，如果种质库位于地震易发区域，种质库建筑需要防震等。因此种质库应当执行和促进系统的风险管理措施，管理在种质和有关信息暴露的日常环境中物理的和生物学的风险。

## 技术因素

人员应当通过证书培训和/或在职培训获得适当的训练，应当分析培训需求。种质库人员应当意识到安全程序并经培训使得种质资源的风险最小化。

应当建设种质库设施以便抵挡在种质库建设的地点据知可能发生的自然灾害，如飓风、龙卷风、地震、洪水。

储存设施应当用标准的安全设施保护，如栅栏、警报系统、安全门和其他有助于防止盗贼和其他入侵者的系统。种质库中种子种质的安全将通过严格的只允许经过授权的人员进入实际储存设施而得到加强。

应当在储存区域提供并使用防护衣。应当采取适当的预防措施，应该设置包括警报和从干燥室和冷冻室里面开门的安全设备。

制冷几乎肯定是依赖于电源的，因此电源供应必须是适当和可靠的。电源供应失败可能导致种质库种质的完全丧失。应当考虑提供一台备用发电机，当主要电源不能供应时自动切入。这需要储存足够数量的燃料在电源切入时运转发电机。

在干燥室和储存室里应当有温度监测设备，记录不同时间的实际参数。如果制冷确实不可靠，应当考虑是否在没有冷藏的情况下储存种子更好。如果制冷用来保存种质资源，它必须符合必要的标准，因为不可靠的制冷可能比不制冷伤害更大。

如果制冷和/或电力不可靠,可以在10-20米深的土中建设一个设施,那里的温度可能在平均10°C。这在没有洪水风险的几个热带地区是有吸引力的。干燥应当适当操作,但是种子应该被保持在适当密封的小瓶中。

种质库里需要火警和灭火设备。多数火灾开始于电路损坏,因此应当进行电路定期检查确保安全标准。灭火设备包括灭火器和防火毯。对于受雷雨影响的区域,种质库应当装有避雷针。

## 意外情况

当没有经过适当培训的人员,或当有时间限制和其他限制时,利用外包部分种质库工作可能是一个解决办法。如果种质库功能处于危险时,应当通知种质库国际团体。

未经授权进入种质库设施可能导致材料的直接损失,而且也能通过无意引进病虫和干涉管理系统危及种质。

## 有关参考文献

Engels, J.M.M. & Visser, L., eds. 2003. *A guide to effective management of germplasm collections*. Handbooks for Genebanks No. 6. Rome, IPGRI.

SGRP-CGIAR. Crop Genebank Knowledge Base. Page on risk management (available at: [http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=135&Itemid=236&lang=english](http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=135&Itemid=236&lang=english)).



# 第5章

## 田间种质库标准



## 5.1 田间种质库地点选择标准

### 标准

- 5.1.1 田间种质库地点的农业生态条件(气候、海拔、土壤、排水)应该尽可能与所收集植物材料正常生活或采集的环境相同。
- 5.1.2 田间种质库地点的选定应该使来自于诸如害虫、疾病、动物损害、洪水、干旱、火灾、雪和冰冻、火山爆发、冰雹、偷盗或故意破坏等天灾人祸的风险降到最低。
- 5.1.3 对那些用来生产分发种子的物种来讲,田间种质库的地点应该将一些相同物种的作物或者野生种群的基因流或污染的风险降至最小,而这些相同物种是用以维持遗传完整性。
- 5.1.4 田间种质库的地点应该具有安全的土地所有制,并且足够大而便于将来种质的扩大。
- 5.1.5 田间种质库的地点应该便于工作人员进入和设备运输,容易获得水源和足够的用以繁殖与检疫的设施。

### 背景

考虑到田间种质库具有长期性这一特点,合适位置的选择是种质成功保存的关键。在选择田间种质库的位置时有许多需要考虑的因素,包括

在此地点所保育植物的合适农业生态条件、相关的天灾人祸、安全的长期土地所有制、人员到地点的便利和水资源的获得。

## 技术因素

植物如果种植在合适的农业生态条件下则长得强壮而健康。对于那些因原生环境与种质库地点差异很大的材料适应性差所造成的损失，田间种质库特别脆弱。为田间种质库所选择的地点应该具有最适合物种的环境和土壤类型，以此降低不适应的风险。解决适应性差的一个办法是种质库管理采用一个分散处理方法，即将种质布置在不同农业生态环境中，而不是在一个集中的种质库中。适应性相似的种质一起保存在一个与其原生地环境相似或与其自然栖息地相似或接近的地点。原生环境的自然条件可以通过提供较强的遮阴强度和排水来模拟，例如，可把源于自然生活在森林中的野生近缘种与适应高光照强度的栽培作物相对比。

田间种质库要避免病虫害，昆虫媒介非常重要。如有可能，田间种质库应该位于没有重大病原性疾病和虫害的地点，或者远离所知真菌和病毒感染区来降低与植物保护相关的风险和管理费用，以此确保分发材料来源干净。在种植之前应该检查土壤来确保它们没有被真菌、白蚁或其他土壤寄生物感染，以及种植前采取措施净化土壤。如没可能，所选择的位点应该与种植相同作物的田地保持一定的距离，以此降低病虫害威胁，并且患病植物应该按严格淘汰程序除掉。如有可能，将种质保存在不适合媒介移动和病虫害的干热地区。另外，将大量植物集中在一起使植物易于染病，这很容易导致疾病爆发。如此大的单一种属的种质从疾病角度来看应该进行特别地监视。

对来自诸如水灾、火灾、雪/冰、火山爆发、地震和飓风等天灾的评估确保种质自然安全的一个重要标准。另外，自然安全和诸如偷盗和故意破坏等的人为威胁的可能性应该考虑在内。在对一个种质库进行地点确定和设计时应该将这些特定考虑在内，这有助于减少种质的损失(参见安全标准)。



昆虫网与昆虫笼可用来保护小型植物免于昆虫或鸟类的伤害。诸如具顽拗型种子的果树或以植株保藏而收获种子的禾草等的异交物种需要与可能的传粉动物隔离。选择一个地点通常远离作物群落地段或相同物种的野生种群来避免基因流或杂草污染，这对确保这些物种的遗传完整性非常重要。建立并实施所建议的隔离距离、隔离笼或授粉控制措施用以繁殖。在更新种质中有关隔离距离的作物特定信息在作物种质库知识基地 (Crop Genebank Knowledge Base) 上可以获得(见参考文献)。

田间种质库应该位于一个安全的地点，具有长期的协议和保证或公告的土地使用和资金支持，并将该地区的开发计划考虑在内。土地使用历史可以给予土地害虫与杂草状况和所施肥料数量的信息。在前几年肥料的大量使用能影响根系和块茎的生长。例如高度的残余肥料可以抑制红薯的块根发育。当足够的降水或为辅助灌溉系统的供水作为一个选择标准考虑在内的话，就能够避免干旱胁迫。除了土地使用历史，建议将可以确定和校正土壤自然和营养状况的方法考虑在内。这从根本上意味着随校正措施之后的土壤物理和化学分析。大量使用过钾肥的地区需要利用补充钙和镁来达到平衡，对热带水果树尤其如此。

所选地点的大小应该提供足够的空间，不仅为所保育物种的类型，而且为未来收集的增长而带来的可能的扩展，特别是在多年生物种的情况下。树木作物的所需空间相当大。还有，应该有足够的空间容纳需样地间连续重栽和轮作的一年生作物，这种连续重栽和轮作可以避免来自于前次种植的可能污染，同时一年生作物与多年生作物之间的轮作可控制疾病和管理土壤肥力。如果植物材料在收获后下次种植前需要储存，那么需要足够与合适的保藏设施。

种质的容易的物理性接近将帮助监测和植物管理。地点应该适合进行护根、施肥和杀虫剂的喷洒的人力和机器的进入，并且可以取得足够的整年灌溉、繁育以及体外或超低温保藏所需要的设施。并且需要一个有效的安全系统来避免对种质和设施的偷盗或损害。

## 意外情况

当来自不同生态地理原生地的种质在一个地方种植时,田间管理人员应该加倍注意来监测繁殖物候学和种子生产,识别适应性差的种质并将之转移到可能的替代地点、温室或体外培养,以此避免遗传损失。对一些种质可能需要特定的管理措施。诸如荫棚或笼子的保护区也许需要用来保护植物免于被摄食。

## 有关参考文献

- Anderson, C.M.** 2000. *Citrus germplasm resources and their use in Argentina, Brazil, Chile, Cuba and Uruguay*. Proc. IX ISC. Vol I: 123-125, Orlando, Florida, USA.
- Anderson, C.M.** 2008. *Recursos genéticos y propagación de variedades comerciales de cítricos*. XII Simposium Internacional de Citricultura. Tamaulipas, México.
- Borokini, T.I., Okere, A.U., Giwa, A.O., Daramola, B.O. & Odofin, T.W.** 2010. Biodiversity and conservation of plant genetic resources in field genebank of National Centre for Genetic Resources and Biotechnology, Ibadan, Nigeria. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 2(3): 037-050.
- Davies, F.S. & Albrigo, L.G.** 1994. *Citrus*. Wallingford, UK, CAB International.
- Gmitter, F.G. & Hu, X.L.** 1990. The possible role of Yunnan, China, in the origin of contemporary citrus species (Rutaceae). *Economic Botany*, 44: 267-277.
- Said Saad, M. & Rao, V.R., eds.** 2001. *Establishment and management of field genebank training manual*. Serdang, Malaysia, IPGRI-APO.
- SGRP-CGIAR.** Crop Genebank Knowledge Base (available at: <http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/>).

## 5.2 种质获得标准

### 标准

- 5.2.1 添加到种质库的所有种质应该合法获取，并具有相关技术存档。
- 5.2.2 所有材料应该至少附带最少量的相关数据，该数据具有按FAO/Bioversity多种作物种质基本信息叙词表的细节数据。
- 5.2.3 繁育材料应该从健康生长的植物上采集，在任何情况下应该达到足够成熟而适合繁殖才采集。
- 5.2.4 在采集、运输和处理并转到田间种质库的这段时间应该尽可能短，防止材料的损失或变质。
- 5.2.5 从其他国家或本国其他地区获取的样本应该在加入田间种质库之前经过相关的检疫过程以满足相关要求。

### 背景

获得是采集或请求田间种质库中包括该材料与其相关信息的过程。在为田间种质库获取种质时，要特别注意顽拗型种子植物和无性繁殖植物的本性要求。需要建立田间种质库的繁殖体可能是多种不同的形式，如种子、插条、块茎、球茎、接穗枝、组织培养、嫁接木或超低温保藏的材料。植物材料可以从现存的种质库、研究和育种者的收集、地方品种和农民种植的品种和来自植物勘探/探索。相关的国家和国际规定，如植物检疫法和遗传

资源获取的国家法律、IPPC、ITPGRFA、CBD和其他任何能够管理种质移动和获取的规定，都应该给予重视。

## 技术因素

遵守标准5.2.1准许种质的安全移动，包括从国内收集地点和到国外具备种质库的地点。当种质材料在原生境收集，服从国家法律是最重要的，这些法规通常要求从相关国家机关颁发的采集许可。如果收集是从农夫的田间或公共场所，按照相关国家、地区和国际法律，需要事先知情同意。如果种质必须从一个国家出口，应该签署一份合适的材料转运协议。比如对PGRFA而言，出口可以伴随SMTA或其他按照获得与利益共享的国家规定的相似许可。进口许可规定特别强调植物检疫和任何其他进口需求，必须从接受国家的相关国家机关获得。

在获取阶段，重要的是确保每个种质的护照数据尽可能完整。特别地，地标数据非常有用，因为他给出了原始采集地点的精确位点，有助于按照原始采集点的农业气候条件，识别具有特别适应特征的种质。护照数据在识别和分类每个种质中极为重要，并且在选择和利用种质中起到一个切入点的作用。应该采用合适的收集格式来获取全面的采集数据。这些格式应该包括在FAO/Bioversity多种作物种质基本信息叙词(Alercia *et al.* 2012)中提供的对正确保护重要的信息，诸如样品的最初分类、收集地点的经纬度、所收集植物的栖息地的描述、取样植物的数量以及其他相关数据。非常有用的附加信息，诸如培养技术、繁育方法、历史与起源、应用，在样品从农田收集时通过访谈而获得。一旦有可能，从样品种群中作为样品收集的蜡质标本凭证应该按参考种质存放好，并且应该有一存档记录说明获取的方法和原因。

在来自研究项目或种质库的捐助情况下，除了可获得的护照数据，还应该提供分类、捐助者名字、捐助者身份号码，以及种质名字。要维持种质如何收到的充分信息，除了从捐助者那里可得到的种质所有者变更信息，还包括谱系或连锁信息。材料应该给予一个独一无二的识别号码(要么是临



时性的, 要么是永久性的, 视在种质库中的应用情况而定), 这个号码将此材料与护照数据和任何其他收集的信息连接起来, 确保样品的真实性。

尽管不可能确保原生境收集的植物材料完全健康(没有病虫害感染), 但是重要的一点是尽可能从看起来健康的植株收集繁殖体, 避免病虫害感染或危害。从已经证明的来源获取的干净材料应该存储在网室中, 防止昆虫感染干净植物和传播病原体。在收集过程中, 收集者还应该避免耗尽所收集的野生种群。还可能有用的是在特定地点重复取样, 以此获得在不同时间点上的最大遗传多样性(Guarino *et al.* 1995)。在收集无性繁殖的多年生样品的过程中, 特别是当收集适合插枝或嫁接的嫩枝时, 应当通过

在植物干或枝上划痕来刺激足够多的嫩枝形成；这些嫩枝在第二次生长起来的时候就可以收集了。

重要的是要强调从收集转移原始遗传资源到种质库的时间是严谨的。这对那些产生顽拗型种子和无性繁殖物种尤其如此，因为这里植物其生存力不会保持太久，并且植物繁殖体也容易腐烂。在一些情况下，种质材料可能需要长距离运输，比如说材料从其他国家获得。运输时间的合适安排包括将运输和处理时间考虑在内，并采取恰当措施确保材料以良好状态到达目的地种质库。还重要的一点是正确准备繁殖体(接穗、种子或插条)来提高邮寄或包裹运输中的生存力。例如，顽拗型种子和插穗应该在凿孔塑料袋中用消毒棉或其他合适材料打包，凿孔是确保足够的空气交换。种子应该加以保护，在运输中包裹在有弹性的垫子中，避免被机械信件分类装置压碎。对接穗来说，干净接穗的两个剪切端应该用封口蜡膜包裹，以此降低水分损失。采集于热带地区的材料在运输中要特别注意高温。

如果田间收集不能提供很多样品(见材料收集标准)，收集的样品大小与正常型种子相比通常受限。尽管如此，为了目标种群遗传多样性应该全力让收集最大化。然而，在为田间种质库的收集中，收集者需要决定一个种群中实际收集多少植物。实际情况主要依赖于植物的繁殖系统、植物类型和所要收集植物的部位。

## 意外情况

如果不是为了满足合法需要，特别是种质要运往国外的话，就不能进行收集。在因植物检疫要求而料不能出国的情况下，应该努力在原生地的国家建立田间种质库和/或建立更符合出口要求的体外培养材料。应该为繁殖材料可能不具备理想条件或数量的野生和稀有物种设定样品大小的限额。

## 有关参考文献

**Alercia, A., Diulgheroff, S. & Mackay, M.** 2012. FAO/Bioversity *Multi-Crop Passport Descriptors* (MCPD V.2). Rome, FAO and Bioversity International (available at: [http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx\\_news/1526.pdf](http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx_news/1526.pdf)).

**Bioversity International/ Food and Fertilizer Technology Center/TARI-COA (Taiwan Agricultural Research Institute-Council of Agriculture).** 2011. *A training module for the international course on the management and utilisation of field genebanks and in vitro collections*. Fengshan, Taiwan, TARI.

**Brown, A.H.D. & Hardner, C.M.** 2000. *Sampling the gene pools of forest trees for ex situ conservation*. In A. Young, D. Boshier & T. Boyle. *Forest conservation genetics. Principles and practice*, pp.185–196. CSIRO and CABI.

**Bustamante, P.G. & Ferreira, F.R.** 2011. Accessibility and exchange of plant germplasm by EMBRAPA. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, S1: 95–98.

**Engelmann, F., ed.** 1999. *Management of field and in vitro germplasm collections*. Proceedings of a Consultation Meeting, 15–20 January 1996. Cali, Colombia, CIAT, and Rome, IPGRI.

**FAO.** 1995. Collecting woody perennials. In L. Guarino, V.R. Rao & R. Reid, eds. *Collecting plant genetic diversity. Technical guidelines*, pp. 485–511. Wallingford, UK, CABI.

**Ferreira, F.R. & Nehra, N.** 2011. *Forestry germplasm exchange and quarantine in Brazil*. In Society of American Foresters, National Convention, Honolulu, Hawaii, USA, 2-6 November 2011 (available at: <http://www.eforester.org/natcon11/program/2011conventiononsitebook.pdf>).

**Frison, E.A. & Taher, M.M., eds.** 1991. *FAO/IBPGR technical guidelines for the safe movement of citrus germplasm*. Rome, FAO and IBPGR.

**Guarino, L., Rao R., V. & Reid, R., eds.** 1995. *Collecting plant genetic diversity. Technical guidelines*, Wallingford, UK, CAB International.

**Marshall, D.R. & Brown, A.H.D.** 1975. Optimum sampling strategies in genetic resources conservation. In O.H. Frankel & J.G. Hawkes, eds. *Crop genetic resources for today and tomorrow*, pp. 3–80. Cambridge, UK, Cambridge University Press.

**Reed, B.M., Engelmann, F., Dulloo, M.E. & Engels, J.M.M.** 2004. *Technical guidelines for the management of field and in vitro germplasm collections*. Handbooks for Genebanks No. 7. Rome, IPGRI.

**Said Saad, M. & Rao, V.R., eds.** 2001. *Establishment and management of field genebank training manual*. Serdang, Malaysia, IPGRI-APO.

**SGRP-CGIAR.** Crop Genebank Knowledge Base. Field genebanks (available at: [http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english](http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english)).

**Veiga, R., Ares, I., Condon, F. & Ferreira, F.R.** 2010. *Intercambio seguro de recursos fitogenéticos*. In *Estrategia en los recursos fitogenéticos para los países del Cono Sur/IICA*. pp. 75-83. Montevideo, PROCISUR, IICA.

**Walter, B.M. & Cavalcanti, T.B.** 2005. *Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal*. D.F. Brasil, Embrapa Recursos Genéticos.



## 5.3 田间材料收集标准

### 标准

- 5.3.1 应该保持足够数目的植物以获得种质的遗传多样性并确保种质的安全。
- 5.3.2 田间种质库应该有一个表明每一种质确切位置的清晰地图。
- 5.3.3 应该采用合适的栽培方法，将微环境、种植时间、根茎、水状况、病虫害和杂草控制考虑在内。

### 背景

很难来提供田间种质库的特殊操作标准。它主要依赖于想要保育的物种的特性。物种特异标准将依据物种的生物特征、物候学、繁殖机制和种群结构来建立。要建立一个种质库收集，有3个主要问题要酌加考虑：(a)每个种质要维持多少植物；(b)植物在种质库内如何安排；和(c)应该采用何种栽培方法来确保收集的种质的最佳生长条件。

## 技术因素

决定每一需要在田间种质库种植的种质有多少植物依一个多方面之间的平衡而定,这几个方面包括维持种质遗传多样性之需要、空间考虑、描述之需要和田间种质库的经济条件。对一年生和多年生植物而言它将不同,无论物种是种子繁殖植物还是无性繁殖均如此。在种子繁殖的物种的情况下,样品大小需要足够大来保持已经收集的种质的遗传多样性。在此值得一提的是,在收集非正常型种子材料期间,要制定一个合适的优化所采集植物的取样设计,因为在一个田间种质库收集中很难包容大量的“种质内遗传多样性”。对无性繁殖植物而言,只需要小数目植物来表示种质内遗传多样性,并确保种质的安全。然而,在一些情况下,种群内多样性大于种间多样性,这可能需要更多的植物。样品大小也要依赖于建立收集的目的,即评估和/或分发,相对于保育目的,这可决定每一种质的不同数量的个体。

在建立田间种质库过程中,很重要的一点是哪样的种质要在这里栽培。一个合适的计划配置和充分准备的田间计划将促进空间使用和收集管理的效率。个体种质的位置应该清晰界定。在这方面,除了条形码和田间标记外,样方设置、设计电子和印刷地图也应该体现在田间种质库的建立阶段。应该考虑到将种质置于种质库中最适宜的微生境中。一些植物需要特殊的环境条件而应该置于便于环境控制(例如避免冷热)的温室中或者需要其他植物遮阴。

除了灌溉系统和维持便利,还有植物的生长习性和成体大小在计算样地大小时需要加以考虑。对多年生物种来讲,在样地内植物合适的空间可使个体植株(例如一棵树)得以正常生长,并且避免混种那些长长的地下生殖根上生长块茎的作物。另外,在样地间应该设置物理屏障来避免混合(基因流),例如通过分离种植不同物种样地而使得不同物种免于交叉授粉。它还有助于避免能产生脆弱植物的竞争或疾病,或者避免疾病和虫害的快速传播。具入侵性的无性系需要在罐、盆或盒中栽培,这可降低与活力较弱的种质混合或竞争。当匍匐、散开、或者株芽或种子脱落到相邻样地中则成为一个问题时,具显著形态特征的种质可种植在相邻的样地中。

对异交的物种来讲，种植不同种质样地间足够的隔离距离或诸如隔离笼等措施是需要的，可维持以分发为目的而收集的任何种子保持遗传完整性。

应该强调布置和田间计划并不是一成不变，而是根据种植计划有所变化。在一年生植物情况下，轮作是必需的，而这需要合适的计划和额外的空间。还比较重要的是设计布局来确保没有任何杀虫剂漂移到直接相邻的环境。

在田间收集时正确而清晰地填写标记非常重要，每一标记具两个防水永久性标签。标签应该包含信息有：日期、常用名和田间收集号码。如果可能的话，应该采用计算机输出的标记，因为计算机降低了名字和号码的转写错误。田间地图（纸质和数字两种格式）是田间种质库的必备文件，能为容易丢失或损毁的田间标记提供一个后备。它们应该在种植前就准备好，并且保持随时更新。

田间种质库的建立需要合适的栽培技术，具体到每个物种，这样可确保植物种群在田间种质库成功建立。种植材料需要仔细挑选。在田间种质库中只挑选强壮的植物可减小遗传变异。当在新田种植或在空置样地重新种植时，或当不再进行遗传选择而复壮全部收集材料时，从植物检疫角度来看，原始种植材料的质量特别重要。只可采用植物的健康材料和强壮的部分。在准备种植材料时，要遵守像使用干净消毒工具这样简单的卫生措施。在可能的情况下，在建立之前应该考虑检索外表不明显疾病诸如病毒和嫁接传播的病原体（即类病毒、植原体和不能识别生物）的可能性。

植物应该适时种植。在已经对来自不同地区的不同物种的种植时间提出建议的田间种质库应该遵守此建议。应该考虑植物建立种群的适宜条件，这可能包括温度、湿度、土壤类型和根状茎等。对于通过嫁接繁殖的植物，应该以标准化的方法获取根状茎，对所有的样品在正确的时间进行嫁接。特定类型的物种嫁接到相同物种或者已证明具良好匹配性的亲缘种的根状茎上。在那些情况下，应该为那个物种的所有种质使用相同根状茎。应该挑选那些适应土壤特性和对所嫁接材料的性态影响最小的根状茎。树木应该在其自身根上种植，而非嫁接，除非需要根状茎来防止疾病或嫁接是该物种栽培的常规方法。



需要异花授粉的作物应该按开花时节而集中种植。在雌雄异株的物种中，应该种植合适数量的雄性/雌性植物。对于无性繁殖的自交不亲和物种，为了有一个良好的野外采集和确保果实或种子的形成，管理者应该知道物种表达的哪种自交不亲和(SI)系统以及等位基因组合。还重要的是观察在田间材料收集期间土地的处理(农业技术措施)。

一些物种需要通过以合适的设计种植成荫树木(例如咖啡树)来提供额外的支持，这要根据当地条件和物种的需求来挑选。藤本物种(例如香草、许多豆类、瓜类等等)需要适宜其生长的树木、木棍、金属线或其他装置。对于特殊物种(主要那些来自干旱气候)需要安置特殊的苗床，例如“桌床”和遮荫物，以此避开某些阶段的降水。同样如此，一些物种需要特殊的成荫阶段、灌溉或水泛滥，或者防护霜冻的覆盖物。一些种类的水果树木需要常规修剪以表现典型外表和保持健康。对于树木作物，强烈建议使用矮化砧木技术。

## 意外情况

一些基因型对为特定物种而建立的常规繁育方法响应不好，需要开展研究，探索新的方法。在根状茎繁殖的植物中，其栽培地点需要利用亲缘种作根状茎，在此情况下必须使用中间砧。

重要的是考虑在另一个地点保持备份收集植物(见安全与安全备份)。一些基因型，例如那些生活在森林中树下阴凉处，或者易受疾病感染的物种，不能很好适应田间全日照条件，并由此需要供给足够的阴凉。这种情况因资源受限而恶化，导致田间种质库的双重作用(保育加作物改良)，在例如种质库布局、管理和种质备份之间的冲突。当维持田间备份困难时，一个可能的选择是在体外培养中建立备份。

## 有关参考文献

Reed, B.M., Engelmann, F., Dulloo, M.E. & Engels, J.M.M. 2004. *Technical guidelines for the management of field and in vitro germplasm collections*. Handbooks for Genebanks No. 7. Rome, IPGRI.

Sebbenn, A.M. 2002. Número de árvores matrizes e conceito genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. *Revista do Instituto Florestal de São Paulo*, V.14(2): 115-132.

SGRP-CGIAR. Crop Genebank Knowledge Base. Field genebanks (available at: [http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english](http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english)).

## 5.4 田间管理标准

### 标准

- 5.4.1 植物与土壤要进行病虫害常规监测。
- 5.4.2 应该实施合理的栽培技术,如施肥、灌溉、修剪、大棚、砧木和除草,以此确保满意的植物生长。
- 5.4.3 应该监测每一种质的遗传身份,要确保在合适的情况下种质的合适分离,避免种质的交叉生长,应用合理的标记和田间地图和利用形态或分子技术对身份进行周期性评估。

### 背景

田间管理指的是为确保植物种质状态良好并且方便利用,而对田间种质的日常管理。这涉及许多不同的活动,包括病虫害控制、植物的合理营养、浇水、除草、修剪和种质的监测,这可确保种质的遗传完整性。

### 技术因素

因健康不良造成的种质损失可能成为田间种质库遗传侵蚀的主要原因。维持种质收集中的健康植物种质是一个主要挑战,特别是当种质采

集自大范围的分布区时,这样存在不同病虫害。采集而来的种质如果管理不善也会成为病虫害扩散的源头/焦点。因此,重要的是严格控制向种质库引进植物。另外,昆虫和疾病种群的当前和历史水平应该考虑在内。仔细检查和记录在所有病虫害管理手段中非常重要。疾病控制的时机也极为重要,因为植物材料被感染后,其危害通常不可逆转。气候状态和疾病的建模也会有助于新发病虫害的控制。

根据收集种质的不同,病虫害可能包括非常广泛的生物。一些最为常见的植物种质有害生物除了杂草,还包括昆虫、白蚁、真菌、细菌、线虫、病毒、类病毒、螺原体、植原体、蛭螭、蜗牛。无性繁殖植物可能受病毒感染,导致活力和耐性的损害、嫁接不相容和其他。在隔离或维持期间,害虫和疾病可由许多技术检测,这些技术包括视觉检查、由琼脂平板方法/划线平板法进行分离、保湿室孵育、嫁接、生物检测、电子显微镜检查和植物诊断试剂盒。后者可包括酶联免疫吸附测定(ELISA),这种方法使用方便,已经用于检测块根农作物(木薯、马铃薯、甜菜)、水果(香蕉、梨果、果核,和无核小水果)和蔬菜的疾病。主要真菌和细菌疾病必须用预防来控制。基于DNA的诊断试剂盒在通过病原体的特定基因的PCR分析来检测疾病中特别有效。已有建议让工作人员在农业、园艺、微细增殖,和疾病评测的病理学等专业方面接受培训。

在传递过程中,种质要保持正确的身份,并且种质容易感染害虫与疾病。田间种质库有一个关于所收集作物分布区的病虫害身份鉴别系统很重要。对具有已描述的病原体高检疫风险的作物尤其如此。针对当地、地区或国家要求,种质库还应该有一个合适的应用相关诊断方法的程序,这套方法对害虫和疾病的状况提供了严格的保证。在种质库没有这种能力的情况下,这些任务应该外包给专业的研究机构,对到来的植物进行检疫。

种质库工作人员应该采取能使疾病在收集中降低传播风险的管理措施。需要确保大小工具、土壤和鞋袜适当消毒。酌情推荐虫害综合治理(IPM)的害虫管理措施。这个措施在可能的情况下利用生物防治,并辅以杀虫剂和机械防治。鉴于过去十年检测技术取得长足进步,检测无性繁殖材料的病毒或者其他嫁接传播病原体非常重要。如果发现单独的植物



被感染，它们就应该通过温热疗法和/或组织培养加以清洁。为避免昂贵的治疗，通常建议从“干净的”或者感染较轻的来源中寻找相似材料。

田间种质库管理人员必须积极满足多样种质的每一个要求。在样方中种植后，工作人员需要通过提供生长发育的合适条件帮助植物生长。在干旱季节定期为植物浇水远比为其施肥重要。灌溉系统应该适合植物类型和田间种质的生态条件。因为不同类型的植物生长在一起，田间种质的施肥很复杂。每一类型的植物因其遗传差异、大小或年龄而有特殊的营养要求。可以使用复合掺合料，每一植物用量小一些，并提供合理的照看以确保肥料分散均匀。不时地小量施肥可能比几个月才使一次同样量的肥料效果要好。大多数植物需要修剪，以将其大小控制在可以接受的尺寸，并对树木的树冠进行造型。有时仅仅剪掉薄薄一层，以让枝条在没有为阳光过度竞争的情况下而有足够的空间正常发育。这种修剪造型和去除一层的操作应该由一有经验人员负责。鉴于种质收集的重要性，劳动必须是高质量的，并且田间维护工作也须由受训人员承担。

由于幼小植物根系尚浅，其与杂草的竞争与年老植物相比是一个更为严重的问题。杂草控制对快速而旺盛的植物生长很重要。杂草可以机械方式或利用化学品(除草剂)来加以控制。可以使用除草剂将体力劳动和机械耕作的需要性降至最低。要对每一物种建议相应的杂草控制类型。

在一些种质中，需要其他保护措施，例如霜冻和/或冰雹保护，或利用荫棚防备疾病昆虫媒介。果实摘除也是疾病控制的一个重要管理措施，可避免与来年作物竞争和降低对植物的胁迫。

为了确保每一种质的遗传身份，应该避免种质中的任何污染、来自相邻植物的基因流和种质的交叉生长。田间种质库中的种质可能开花和随之产生种子，而种子脱落可在样地中生长。这些种子因杂合性或异花授粉而不能纯育。应该阻止或强制拔除这样无意的种苗。应该监测和定期检查以确保每一个种质在田间正确识别和在地图上标出。标记非常重要，需要在现场和与种质库样地规划相比较进行常规确认。标记应该清新、简明和尽可能不受天气影响。鼓励条形码或其他计算机产生的标记的应用，以此减小

转写错误。当有可能时,每个种质的身份应该利用形态和分子标记进行定期检查(见描述标准)。

维护措施通常是作物特异性的,并根据收集的使用目的(保育、评估和分发)的不同而有所变化。所有种质应该被监测,其频次则视植物是草本还是木本而定,前者监测频繁而后者监测并不经常。所有种质应该予以监测,针对可能引进到种质库收集中的新动物、昆虫和疾病。所有种质还应该对故意毁坏进行监测(见安全标准)。

## 意外情况

种质库病虫害防治方面专门技术的匮乏可能成为收集中植物健康维护的主要限制因素,为此可能需要有经验的植物病理学家。种质库应该具有合适的临时计划来应对疾病暴发。它们应该与专门的植物病理学服务部门保持联系,这些部门可包括国立植物病理学官方机构、大学实验室或商业实验室,它们都能为种质库提供所需要的服务。

另一个好措施是(有条件时)对种质地点进行轮作(对那些对土壤衰颓高度敏感的一年生物种和多年生植物而言尤其如此,)由此可以减小任何土壤病虫害的永久性。另一个选择就是对土壤进行消毒。在一些情况下,植物生长在在植物检疫条件容易控制的苗圃里,然后在植物驯化适应后移栽到田间。

一些种质可能极具价值,而且易受病原体侵害。针对这样的情况,重要的是将它们保存在筛选房中,并且在体外或者超低温保藏中保存备份来作为补充保育的后备。

在植物可能受除草剂使用损害的情况下需要手工除草。为了种质库更新,建议利用那些不会有利于害虫和疾病发育的地点。

## 有关参考文献

**Mathur, S.B. & Kongsdal, O.** 2003. *Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi*. Bassersdorf, Switzerland.

**Navarro, L.** 1988. Application of shoot-tip grafting *in vitro* to woody species. *Acta Horticulturae*, 227: 43-55.

**Navarro, L., Civerolo, E.L., Juárez J. & Garnsey, S.M.** 1991. Improving therapy methods for citrus germplasm exchange. In R.H. Brlansky, R.F., Lee & L.W. Timmer, eds. *Proceedings of XI Conference of the International Organization of Citrus Virologists*, pp. 400-408. Riverside, Florida, USA.

**Reed, B.M., Engelmann, F., Dulloo, M.E. & Engels, J.M.M.** 2004. *Technical guidelines for the management of field and in vitro germplasm collections*. Handbooks for Genebanks No. 7. Rome, IPGRI.

**Roistacher, C.N., Navarro, L. & Murashige, T.** 1976. Recovery of citrus selections free of several viruses, exocortis viroid, and *Spiroplasma citri* by shoot-tip grafting *in vitro*. *Proceedings of VII Conference of the International Organization of Citrus Virologists*, pp.186-194. Riverside, Florida, USA.

**SGRP-CGIAR.** Crop Genebank Knowledge Base. Field genebanks (available at: [http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english](http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english)).

**Sheppard, J.W. & Cockerell, V.** 1996. *ISTA PDC handbook of method validation for the detection of seedborne pathogens*. Bassersdorf, Switzerland, ISTA.

**Sutherland, J.R., Diekmann, M. & Berjak, P.** 2002. *Forest tree seed health*. IPGRI Technical Bulletin N° 6. Rome, IPGRI.

## 5.5 更新和繁殖标准

### 标准

- 5.5.1 当活力和/或植物数目已经下降到临界水平,为了将它们恢复到原有水平并确保多样性和遗传完整性得以维持,田间收集中每个种质应该加以更新。
- 5.5.2 应该利用典型的健康植物材料用于繁育。
- 5.5.3 有关植物更新周期和程序的信息应该给予恰当的记录并且包括在种质库信息系统中,这些信息包括日期、种质的真实度、标记与地点地图。

### 背景

在田间收集的背景下,术语更新和繁育指的是当活力与植物数目变低时对遗传上与原收集相同的种质样品的重建(Dulloo *et al.*, 2008)。更新和繁育程序标准需要具有物种特异性。可能的话,应该应用特定物种的方案或指南。更新和繁育的目的应该在于确保在收集中没有损失任何植物。无论如何,任何单一的种质损失必然会带来种质的遗传侵蚀,因为通常每一种质只有几株植物(见田间材料收集标准-样品大小)。更新和繁育花费大,应该仔细计划。它们可能需要为了安全或避免疾病、害虫和土壤衰颓过程而变更地点。

## 技术因素

需要更新和繁育可能出于不同理由，这视植物类型、威胁和分发需要而定。一株植物的营养生长活力下降或甚至死亡，归于许多不同原因，包括气候、土壤和/或生物因素。为了让田间收集样地达到最大效率，必须替换每一株死掉的植物。这特别重要，因为每一种质的个体数目在田间收集中通常比较低(见田间材料收集标准)。

目标物种的繁育方式是一个要考虑的重要因素。一些物种靠种子繁殖的，其他物种是无性繁殖。原则上，即使这个物种可以由种子进行繁殖，但在一个田间种质中，种子也不应该用来繁殖，除非种群大小由足够大的数量的个体组成。因为更新的目标是维持种质的遗传完整性，并且如果每个种质只有有限数目的植物，那么通过种子的繁殖能在种质中导致显著的遗传漂变。另外，在异花授粉的物种中，种质间的杂交能有效地降低种质间的遗传变异，并且改变个体种质的完整性。在任何可能的时候，植物应该进行无性繁殖，在这种情况下每个子代是一个父本准确复制品，由此种质的遗传完整性得以维持。

应该采取更新的时间是另一个重要的因素，这通常视气候和作物的种植季节而定。FAO已经为拉丁美洲和非洲出版了一系列作物日历(FAO, 2004, 2012)，这是决定种植并由此更新的合适时间的有用指导。FAO作物日历提供了位于44个国家283个农业生态带的130多种作物的信息。还有时间的选定是物种特异的，并且可能是地点特异的。开始繁殖的最佳时机的一个好的指示就是繁殖体开始快速生长或母体植物开始连续死亡。另一个考虑是种质是否根出苗，即允许分支发育生长，成为下一代作物，如同天南星科植物那样。

应该采用典型植物类型和健康植物材料来繁育。如有可能，新植物必须由特殊设备(温室、体外保藏或冷冻室)存储的繁殖材料，以此确保其健康。应该采用能得到的特定物种的实验草案或准则。异交物种种质的更新应该隔离进行，可利用特殊设备和提供杂草、害虫和疾病防护。

重要的是与种质更新相关的所有信息进行恰当的存档,并且包括在种质库档案系统中。其中要包括以下的信息,新到编号和每一种质内的植物序列号、实施更新的地点、繁育和所采用材料的类型(插条、块茎、球茎、鳞茎)、种植日期、繁育材料的存活率、种子休眠解除程序、采用的管理技术、种植方法、田间条件、所建立植物的数目和收获日期。

## 意外情况

与大龄植物相比,气候因素可能对幼小植物伤害更大。因为一些植物在第一年一般由于各种原因易于丧失,种植时一个明智的预防措施是准备一些如有需要就可以用以替代的植物。这可确保有与原始类型和年龄一样的植物替代所损失个体。

田间种质极易受气候或其他环境干扰的影响,因此田间种质库需要具备一个种质紧急更新的应急计划。一个安全的备份是在体外或超低温保藏作为补充措施。作物野生亲缘种和土著种也会发生意外事件,也需要设立更新程序。凡此种种通常需要不同于其栽培亲缘种的处理。



## 有关参考文献

- Costa, N., Plata, M.I. & Anderson, C.** 2004. Plantas cítricas libres de enfermedades. In V. Echenique, C. Rubistein & L. Mroginski, eds. *Biotecnología y Mejoramiento vegetal*, pp. 317–318. Argentina, INTA.
- Dulloo, M.E., Thormann, I., Jorge, A.M. & Hanson J., eds.** 2008. *Crop specific regeneration guidelines*. [CD-ROM], Rome, SGRP-CGIAR.
- FAO.** 2004. *Calendario de cultivos. América Latina y el Caribe*. Estudio FAO producción y protección vegetal No. 186. Rome.
- FAO.** 2012. *Crop calendars* (available at: <http://www.fao.org/agriculture/seed/cropcalendar/welcome.do>).
- ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid-Tropics).** Germplasm regeneration (available at: <http://www.icrisat.org/what-we-do/genebank/genebank-manual/germplasm-regeneration-9.pdf>).
- Jackson, G.V.H.** 2008. Regeneration guidelines: major aroids. In M.E. Dulloo, I. Thormann, A.M. Jorge & J. Hanson eds. *Crop specific regeneration guidelines*. [CD-ROM], Rome, SGRP-CGIAR.
- Plata, M.I. & Anderson, C.M.** 2008. In vitro *blueberry* (*Vaccinium spp.*) *germplasm management in Argentina*. 9th International Vaccinium Symposium, ISHS, Corvallis, Oregon, USA.
- Sackville Hamilton, N.R. & Chorlton, K.H.** 1997. *Regeneration of accessions in seed collections: a decision guide*. J. Engels, ed. Handbooks for Genebanks No. 5. Rome, IPGRI.
- SGRP-CGIAR.** Crop Genebank Knowledge Base. Field genebanks (available at: [http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english](http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english)).

## 5.6 描述标准

### 标准

- 5.6.1 所有种质应该加以描述。
- 5.6.2 对每一个种质，应该利用一定代表数量的植物来描述。
- 5.6.3 种质应该按照可以获取的国际通用叙词表来进行形态描述。在证明种质身份和类型真实度时分子手段也非常重要。
- 5.6.4 描述应该在国际应用叙词中提供的记录格式的基础上进行。

### 背景

特征描述是对植物种质的描述，是种质描述和指纹图谱、收集植物的类型真实度的证明和备份身份识别的工具。它决定了高度遗传特性的描述表达，这些性状包括形态学、生理学和农艺学特征，而农艺学特征包括了农学植物学性状，诸如多年生植物的植物高度、叶形态学、花色、种子性状、生物气候学和越冬能力。这些是管理者区分收集植物中样品的中重要信息。

对于田间种质，可以在保育过程的任何阶段进行描述。然而，很有必要对所要保育的种质最大程度地加以描述并为人所知，这可保证用户和利益相关者对种质的最大利用。因此，应该尽快进行描述，以增加种质的价值。时间的选择会因它们的生活周期而随物种而变化。关于繁育系统的一套最



少量的表型、生理或形态叙词和信息增加了描述数据的有用性和交叉参照，叙词是选自国际上使用的叙词表(例如由国际生物多样性中心、UPOV或USDA-ARS NPGS出版物)。

随着生物技术的进步，分子标记技术和基因组技术越来越广泛地应用于描述(De Vicente, *et al.* 2004)。描述将允许真实身份识别、基因流测定、设置参考说明、识别错误标记和备份、测定种质内和种质之间的多样性和亲缘系数。诸如分离样品等措施可能对确保稀有等位基因的保持或促进对确定等位基因的获取很有必要。所实施的观察和方法的存档记录特别重要。

## 技术因素

相对于种子收集来说，田间的植物可以在合适的时间长年重复地对描述的相关性状进行评定，田间种质的表型描述操作更为简单。

在田间收集时可以获得一些相关描述数据，因此进行收集考察的时间尽可能仔细计划。于是种质可以在收集时一并进行描述。在收集考察期间从农民、植物学家、园艺师或当地居民收集的历史与文化信息通常很有价值。关于种质起源、疾病和昆虫抗性的当地知识可以降低描述成本和备份限制。

作物的叙词由作物专家和/或保管员为提高种质的利用而与其他作物专家和种质库管理者磋商制定的。除了已经为应用而制定了几种作物的最小量叙词外，还开发了范围广泛的作物叙词表(例如，国际生物多样性中心、UPOV、OIV和USDA-ARS NPGS)。数据记录应该由受训人员利用校准的和标准化的在叙词表上显示的计量方式来进行。数据在上传至种质库数据库和允许公开使用以鼓励使用种质之前应该由管理者和档案官员进行验证。应该意识到，在同一田间种植的参考种质也应该对其性质进行评定。参考种质(蜡叶标本、高质量凭证图像)在真实身份识别中起着重要作用。

在一个种质内的进行描述的植物数目应该是有代表性的样品,这反过来视其多样性而定。一般来说,为了在统计学上有良好效果,多种种质最小应该为3株植物,而对无性繁殖植物来说1-2株足够<sup>1</sup>。在有变异倾向的物种(例如柑橘属果树)中,为确保类型正确,应该对关键特征每年做一次描述。

随着生物技术的进步,分子标记技术和基因组技术与表型技术一同越来越多地用于描述(De Vicente, *et al.* 2004),这是因为其在确保无性繁殖植物身份、识别错误标记和备份、测定种质内或种质内之间的遗传多样性和亲缘关系等方面具有优势。利用分子技术进行种质描述而获得的基因型数据比起表型数据更具优越性,通过前者测定变异通常不受环境影响(Bretting and Widrlechner 1995)。分子技术发展很快,其费用也快速下降,这就为其在田间种质中更为广泛应用提供了条件,因此在资源允许的情况下应该使用这些技术。然而,设置成本相对高昂与技术人才与费用的匮乏阻止了分子标记作为种质评估的一个选项的广泛应用。现在有许多标记技术(例如SSR、EST-SSR、AFLP),但是针对描述这个目的,只有诸如SSR这样完善建立的重复性好的标记技术才可应用。对于许多作物,已经开发了范围广泛的适合描述的标记引物;还建立了最小量的成组关键标记。为了确保不同分析批次的结果具有可比性,应该将一些种质库种质作为每一批次的参考包括在内。在分子描述中包括参考种质在不同种质库之间的比较中也起着关键的作用。

在树木物种的改良中所采用的一个最先进的技术是全基因组选择(GWS)(Grattapaglia and Resende, 2011; Fonseca *et al.*, 2010)。GWS需要利用那些允许广泛覆盖基因组和高密度基因分型的分子标记。尽管这个技术应用是用于物种改良,但是获得的信息可以用来描述和保育新的种质或最优基因型。

---

1 [http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=47&Itemid=205&lang=english](http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=47&Itemid=205&lang=english)

## 意外情况

数据的可靠性可能在数据收集者之间有所变化,这视其培训和经验而定。因此,在整个生长周期内植物遗传资源的田间需要受训的有经验技术人员来记录描述数据。在描述过程中,关于分类学、种子生物学、植物病理学和分子描述(内部或协作研究单位)的专门知识是必需的。对那些没有国际叙词表的作物,要在利用可得到的亲缘种或参考物种的叙词表的同时制定其自己的标准。

## 有关参考文献

**Alercia, A., Diulgheroff, S. & Mackay, M.** 2012. FAO/Bioversity *Multi-Crop Passport Descriptors* (MCPD V.2). Rome, FAO and Bioversity International (available at: [http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx\\_news/1526.pdf](http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx_news/1526.pdf)).

**Bioversity International.** 2007. *Developing crop descriptor lists. Guidelines for developers.* Technical Bulletin No. 13. Rome.

**Bioversity International.** 2007. List of published crop descriptors (available at: <http://www.bioversityinternational.org/index.php?id=168>).

**Bioversity International.** 2013. Descriptor lists and derived standards (available at: <http://www.bioversityinternational.org/index.php?id=168>).

**Bretting, P.K. & Widrechner, M.P.** 1995. Genetic markers and plant genetic resource management. *Plant Breeding Reviews*, 13:11-86.

**De Vicente, M.C., Metz, T. & Alercia, A.** 2004. *Descriptors for genetic markers technologies.* Rome, IPGRI.

**Engels, J.M.M. & Visser, L., eds.** 2003. *A guide to effective management of germplasm collections.* Handbooks for Genebanks No. 6. Rome, IPGRI.

**Fang, D.Q., Roose, M.L., Krueger, R.R. & Federici, C.T.** 1997. Fingerprinting trifoliolate orange germplasm accessions with isozymes, RFLPs, and inter-simple sequence repeat markers. *Theor. Appl. Genet.*, 95:211-219.

**Fonseca, S.M., Resende, M.D.V., Alfenas, A.C., Guimarães, L.M.S., Assis, T.F. & Grattapaglia, D.** 2010. *Manual prático de melhoramento genético do eucalipto.* UFV, Viçosa, MG.

**Grattapaglia, D. & Resende, M.D.V.** 2011. Genomic selection in forest tree breeding. *Tree Genetics & Genomes*, 7: 241.

**Lateur, M., Maggioni, L. & Lipman, E.** 2010. *Report of a Working Group on Malus/Pyrus*. Third Meeting, 25-27 October 2006, Tbilisi, Georgia. Rome, Bioversity International.

**Maggioni, L., Lateur, M., Balsemin, E. & Lipman, E.** 2011. *Report of a Working Group on Prunus*. Eighth Meeting, 7-9 September 2010, Forlì, Italy. Rome, Bioversity International.

**OIV (International Organisation of Vine and Wine).** 2009. *OIV descriptor list for grape varieties and Vitis species*. 2nd ed. Paris.

**SGRP-CGIAR.** Crop Genebank Knowledge Base (available at: [http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english](http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english)).

**UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants).** Descriptor lists (available at: [http://www.upov.int/test\\_guidelines/en/list.jsp](http://www.upov.int/test_guidelines/en/list.jsp)).

**USDA, ARS, National Genetic Resources Program.** Germplasm Resources Information Network - (GRIN). [Online Database] Evaluation/characterization. Data Queries. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland, USA (available at: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/croplist.pl>).

## 5.7 评估标准

### 标准

- 5.7.1 田间种质库种质的评估数据如有可能应该根据国际上使用的叙词表从感兴趣的性状中获取。
- 5.7.2 评估方法/程序、格式和测量应该恰当记录,并辅以引文。应该利用数据存储标准来指导数据收集。
- 5.7.3 评估试验应该酌情按照完善统计学设计(在时间和地点上)进行重复。

### 背景

评估是记录那些表达通常受环境因素影响的描述。通过合理设计的实验测定,它涉及了循规蹈矩的关于农艺学和质量性状的数据收集。评估数据通常包括害虫和疾病抗性和质量评估(例如油、蛋白质或糖含量或密度)、生产(木材、谷物、水果、种子、叶子和其他)和非生物特性(耐旱/耐寒和其他)。使用者非常期待这些数据集,将有用的特性融入育种项目中,并帮助提高收集材料的利用。这些种质需要被测定的性状由作物专家与种质库管理者商议提前限定。可信的评估数据可由植物育种者和研究人员很容易地反馈补充,极大地促进了植物种质种质的利用。种质可以利用研究网络在国际和国内水平上系统地进行评估。

获取种质库评估数据非常耗时,并且通常比获取描述数据昂贵。由此,评估应该优先对那些具有优良性状的种质进行,建议与育种人员和其他专家(病毒学家、昆虫学家、真菌学家)进行协作完成这项工作。管理员应该尽其所能来至少获得一定最低数量的评估数据的记录。评估数据的可能来源为先前分发到种质材料的用户。种质库应该邀请用户分享评估数据,为此应该在种质库和材料的接收者或用户之间做出可行的安排。这些信息能够涵盖对生物和非生物胁迫的抗性、种质的生长和发育特征、生产的质量特征等等的描述。将这类信息添加到种质库的数据库中,能够聚焦种质识别以满足未来用户的需要。这样的数据在合理的证明和确认后应该包括在种质库记录系统中。

## 技术因素

广泛的作物叙词表已经建立起来,比如国际生物多样性中心和保护植物新品种国际协会(UPOV)。另外,还有由地区和国家组织建立的评估叙词表,诸如美国农业部(USDA)的国家植物种质系统(NPGS)。

数据收集应该由受训人员利用尽可能多的校对的和标准化的测量格式来进行,这些数据含有足够的用以识别的对照种质和发表的作物叙词表。根据标准化程序和实验过程而获得的温室、实验室或田间评估的结果,通常要么为离散型数值(例如,疾病综合征严重性分值;计数),要么为连续型数值(基于测量)。这些数据在上传至种质库数据库并公布使用之前应该由管理者和记录官员进行确认。

许多育种者所要求的农业性状遗传上太复杂而在种质的初步评估中不能检查。农业性状的数据通常在一个育种项目中对种质的评估时获取的,并且许多这样的性状由基因型与环境(G x E)较强的相互作用而产生,因此是具有地点特异性。有必要利用重复来对不同环境的所期望性状进行评估,并且清晰界定和鉴别长期使用的核对用种质。核对用种质利于所收集数据的年际比较。

随着生物技术的进步,分子标记技术和基因组学也越来越多地用于评估(De Vicente, *et al.* 2004)(见描述标准)。在种质描述和评估中最为常用的分子标记包括扩增片段长度多态性(AFLPs)、SSRs和单核苷酸多态性(SNP)。由于它们的相对基因组丰度和数据的高重复性而已经大量地替代较旧的标记类型,限制性片段长度多态性(RFLP)和随机扩增多态性DNA (RAPD)。还有新一代序列分析技术的进步和随之而来的费用降低已经导致诸如编码与非编码区测序和序列测定分型基因型(GBS)的基于序列分析手段在种质评估中越来越广泛的应用。分子标记在其遗传差异的测定方式上、在产生的数据类型上、在其最为适合应用的分类群水平上,以及在其技术与经费需求上多种多样(Lidder and Sonnino, 2011)。在标记辅助选择(即在分子水平上对育种材料中性状的存在或不存在进行选择)可行的情况下,也可用于针对感兴趣性状的种质评估。特别是在发展中国家,设置成本相对高昂与技术人才与费用的匮乏阻止了分子标记作为种质评估的一个选项的广泛应用。

## 意外情况

如果数据收集者没有得到良好的训练和经验也匮乏,并且数据收集过程也没有很好的协调,那么数据的可信度会因数据收集者而变化。因此在植物遗传资源领域内有受训技术人员来收集和记录评估数据。非常需要有多学科团队共同参与评估过程,这些团队的专门知识包括植物病理学、昆虫学和环境(非生物)胁迫抗性,可以来自内部和协作研究单位。

植物种质的评估极为耗时费力,需要合适的持续资助,这样才确保可信的高质量数据的收集。在可以对所有种质做全面评估的条件下,尽管这样做是最好的,但在经济上不太可行,建议选择遗传上多样性的种质作为一个起点(例如,可以在前面详细勾画的种质资源的基础上进行)。

害虫和疾病的发生率、非生物胁迫的严重性,以及田间环境和气候因素的波动这些变化对数据的准确性有影响,应该通过合理的重复、多地点、多季节和多年评估来降低这个影响。还有,为测量一些诸如水份或蛋



白质含量、淀粉质量、营养因素等性状进行的实验室测定需要特殊仪器和熟练工作人员，而这并不常备，而且可能花费颇高。这强调了来自于几个组织和研究单位的多学科团队合作的必要性，而情况可能也往往如此。种质的卫生状况(病毒)除了关联形态学描述，还与评估有关。

利用他人的评估数据可能具有显著的实际性挑战。例如，数据可能格式不同，如果已经发表，还涉及到版权和知识产权问题。为了对外源数据进行利用，重要的是标准化数据收集、分析、汇报和输入格式。

应该注意的是许多特征在田间种质库内就可进行合理评估。然而，为收集带来风险和如果控制不好会导致种质损失的胁迫，应该在分离的特别设计的测定中对其进行评估。严重害虫和疾病或主要土壤问题就是一些例子。田间种质通常并不适合来评估产量或质量，因为不合理的样地设计或者需要将植物留在地上超出正常收获季节。



## 有关参考文献

**Ayad, W.G., Hodgkin, T., Jaradat, A. & Rao, V.R.** 1997. *Molecular genetic techniques for plant genetic resources*. Report on an IPGRI workshop, 9-11 October 1995, Rome, Italy. Rome, IPGRI.

**De Vicente, M.C. & Fulton, T.** 2004. *Using molecular marker technology in studies on plant genetic diversity*. Rome, IPGRI, and Ithaca, New York, USA, Institute for Genetic Diversity.

**Karp, A., Kresovich, S., Bhat, K.V., Ayad, W.G. & Hodgkin, T.** 1997. *Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies*. IPGRI Technical Bulletin No. 2. Rome, IPGRI.

**Lidder, P. & Sonnino, A.** 2011. *Biotechnologies for the management of genetic resources for food and agriculture*. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Background Paper No. 52. Rome, FAO.

## 5.8 记录标准

### 标准

- 5.8.1 所有种质护照数据应该利用FAO/Bioversity多种作物基础资料叙词进行记录。另外，种质信息还应该包括详细目录、地图与样地位点、更新、描述、评估、订单、分发数据和用户反馈。
- 5.8.2 田间管理过程和培养技术应该加以记录。
- 5.8.3 来自5.8.1和5.8.2的数据应该在一个合适的数据库系统中存储和随时更新，并且采用国际数据标准。

### 背景

除了田间管理过程方面的信息，还有包括随时更新和详细的田间地图的种质综合信息对田间种质库管理和维持其田间收集非常重要。描述和评估数据的记录对促进各自收集的利用和帮助独特种质的识别特别重要。

### 技术因素

在获得过程、收集植物建立、田间管理、更新、描述、评估和分发所产生的所有数据和信息应该加以记录。这样的数据和信息的范围包括了

个体种质的遗传特征细节、用于网络分发的种群，以及用户和使用者反馈。除了护照数据和标准作物叙词，在田间种质库中所记录的数据类型，举例说，可以为植物目录、凭证图像(照片、绘图)、种质和收获日期，以及身份历史的备注

FAO/Bioversity多种作物基础资料叙词(Alercia *et al.*, 2012)应该用来记录护照数据，因为它们对不同种质库和国家之间的数据交换有所帮助。应该利用记录描述数据的标准，诸如国际生物多样性中心作物叙词和遗传标记叙词(De Vicente *et al.*, 2004)。随着生物技术的进步，有必要利用分子数据与表型特征相辅相成。应该努力记录通过基因组学、蛋白质组学、代谢学和生物信息学获得的分子数据。

在手头经常备有包括日常干预的田间管理过程的记录对于田间收集的良好管理非常重要。田间地图(纸质和数字两种格式)的良好记录对正确地记录很有必要。旧地图应该保留，并注明日期以供参考。

不同的培养技术必须用于不同类型物种种质的合理管理，并且应该仔细记录以保证其使用的一致性和种质的合理处理。

目前大多数种质库可以使用计算机和网络。基于计算机的存储数据和信息的系统顾及了所有与田间收集管理相联系的信息的综合存储。种质信息管理系统，诸如GRIN-Global，特意为通用种质库记录和信息管理而开发。当今涉及种质库数据管理大多数方面的数据标准的采用使得信息管理更容易并且促进了数据的使用和交换。与潜在种质使用者分享种质信息和公开可以获取，这对促进和支持种质的利用非常重要。最后，所保藏种质的保育和利用通过良好的数据和信息管理而得以提高。

所有数据应该保持最新。它们应该在每个常规时间间隔上备份，并且在一远距离地点存储，以此防备因火灾、计算机故障等而造成的损失(见安全与安全备份标准)。具有主要护照数据的手写记录和田间地图的纸质版本非常有用。

## 意外情况

记录、田间规划或标记的缺少或丢失会危害种质的最佳应用，或如果阻碍了合理管理和更新的话甚至能导致种质的损失。

物种适当身份鉴别的缺失阻碍了记录种质合理管理的全部需要信息，和鉴定合理的培养技术。

## 有关参考文献

**Alercia, A., Diulgheroff, S. & Mackay, M.** 2012. *FAO/Bioversity Multi-Crop Passport Descriptors* (MCPD V.2). Rome, FAO and Bioversity International (available at: [http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx\\_news/1526.pdf](http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx_news/1526.pdf)).

**De Vicente, M.C., Metz, T. & Alercia, A.** 2004. *Descriptors for genetic markers technologies*. Rome, IPGRI.

**Fabiani, A., Anderson, C. & Tillería J.** 1996. *Desarrollo de una base de datos para la evaluación de germoplasma cítrico. (Abstr.)*. VIII Congreso latinoamericano y VI Nacional de Horticultura. Montevideo, Sociedad Uruguaya de Horticultura

**Lipman, E., Jongen, M.W.M, van Hintum, Th.J.L., Gass, T. & Maggioni L., comps.** 1997. *Central crop databases: tool for plant genetic resources management*. Rome, IPGRI, and Wageningen, Netherlands, CGN.

**Painting, K.A, Perry, M.C, Denning, R.A. & Ayad, W.G.** 1993. *Guidebook for genetic resources documentation*. Rome, IPGRI.

**Tillería, J.** 2001. *Sistema DBGERMO para la Documentación de Bancos Activos de Germoplasma*. Memoria, Reunión Técnica para Latinoamérica y el Caribe del Sistema Mundial de la FAO de Información y Alerta para los Recursos Filogenéticos. pp 85-115. Turrialba, Costa Rica.

**Tillería, J. & Anderson, C.M.** 2004. *The DBGERMO II desktop system for an easy documentation of germplasm collections*. Proc. ISC. (Abstr.), Agadir, Morocco.

**Tillería, J. & Zamuz, J.** 2011. *La Herramienta Curatorial DBGERMOWeb para la Documentación de Colecciones Vegetales. Demostración de la aplicación web en tiempo real con colecciones documentadas*. VIII SIRGEALC, Quito.

**Tillería, J., Andrade, R. & Zamuz, J.** 2011. *Documentación de la colección de chirimoya (Annona cherimola Mill) del INIAP con la herramienta curatorial DBGERMOWeb*. VIII SIRGEALC, Quito.

**Tillería, J., Paniego, N., Zamuz, J. & Luján, M.** 2009. *El Sistema DBGERMO Web para la Documentación de Colecciones Vegetales*. VII SIRGEALC, Pucón, Chile.

**USDA, ARS, Bioversity International, Global Crop Diversity Trust.** GRIN-Global. Germplasm Resource Information Network Database - Version 1 (available at: [http://www.grin-global.org/index.php/Main\\_Page](http://www.grin-global.org/index.php/Main_Page)). *DBGERMOWeb*. VIII SIRGEALC, Quito, Ecuador.

**Tillería, J., Paniego, N., Zamuz, J. & Luján, M.** 2009. *El Sistema DBGERMO Web para la Documentación de Colecciones Vegetales*. VII SIRGEALC, Pucon, Chile.

**Tillería, J. & Zamuz, J.** 2011. *La Herramienta Curatorial DBGERMOWeb para la Documentación de Colecciones Vegetales. Demostración de la aplicación web en tiempo real con colecciones documentadas*. VIII SIRGEALC, Quito, Ecuador.

**Tillería, J.** 2001. *Sistema DBGERMO para la Documentación de Bancos Activos de Germoplasma*. Memoria, Reunión Técnica para Latinoamérica y el Caribe del Sistema Mundial de la FAO de Información y Alerta para los Recursos Filogenéticos. pp 85-115. Turrialba, Costa Rica.

**Tillería, J. & Anderson, C.M.** 2004. *The DBGERMO II desktop system for an easy documentation of germplasm collections*. Proc. ISC. (Abstr.), Morocco.

## 5.9 分发标准

### 标准

- 5.9.1 所有种质应该按照国家法律和相关国际条约和协定进行分发。
- 5.9.2 所有样品应该附有种质提供国和接受国要求的相关文件。
- 5.9.3 相关信息应该伴随任何待分发的种质。信息至少应该包括详细项目单、种质身份确认、样品数目和/或重量和关键护照数据。

### 背景

种质分发是作为对种质使用者要求的回应而从一个种质库种质中提供代表性的样品。遗传资源的需求在持续增加，这可迎合一些挑战，这些挑战来自气候变化、主要害虫和疾病毒力范围的变化、入侵的外来种，以及其他最终用户的需要。这个需要已经让人们更广泛地意识到，对来自种质库的种质利用具有重要性，而种质库最终决定了种质分发。重要的是越境种质分发必须符合与植物检疫规定相关的国际规范与标准，并要根据关于生物多样性公约和植物遗传资源国际条约的相关条款。



## 技术因素

管理获取遗传资源的两个国际文书是国际粮农植物遗传资源条约（ITPGRFA）和生物多样性公约（CBD）。ITPGRFA促进对粮农植物遗传资源（PGRFA）的使用，并且提供其利用中的利益共享。它已经为64种食品和饲料作物（通常参考条约的附录1作物）建立了一个PGRFA多边系统，并辅以SMTA来分发。然而SMTA 也能 为条约附录1作物以外的物种使用，还可以使用其他模式。在CBD框架下的获取与利益共享是根据名古屋议定书。ITPGRFA和CBD均强调在促进获取和公平合理的利益共享中保护和可持续利用的紧密联系。

另外,确切地根据国际植物保护公约(IPPC),所有种质应该伴有所需要的记录,诸如植物检疫证和出口准许证。最终的目的地和进口国家的最新植物检疫进口要求(在许多国家,规定时常变动)在运输之前应该进行核查,种质转运应该咨询国家植物保护机构或官方授权的研究机构,并认真计划,比如应进口国家之要求,需要提供诸如官方植物检疫证的合适文件。种质的接受者应该为供给种质库提供有关进口要求文件的信息,包括植物检疫要求。

田间种质库种质的植物营养体在分发到种质使用者前应要进行治病和检查程序。检查诸如病毒那样难于察觉的病原体在限制其扩散中很重要。当无法检查病原时,特别是对那些来自病毒感染的材料时,其卫生状况应该附加到护照数据中,并且如果接收者有检疫设施或者它符合种质需要国家或地区的进口许可,就可以分发。

运输容器的类型、装箱材料和运输公司的选择主要视植物材料所要分发的地方而定。植物检疫证以及检疫与进口许可通常记录了特殊种质如何装箱与运输。休眠或存储器官比起活跃生长的繁殖体需要较少的预防措施,较长时间运输也不会造成损害。种质应该分离运输,不应该混合。许多种质库的标准化操作规程(SOPS)包含了技术细节,诸如打包装箱、处理、运输方法、样品大小等等,应该遵守。

运输时间的选择要避免恶劣天气(炎热和寒冷),在植物到达之前通知接收者或海关官员,这可提高植物以良好状况到达的可能性。脆弱的繁殖体可能需要快递服务。如果将必需文件附在容器的外面,相关官员可以在没有打开包装查看内含文件而打扰植物的情况下就可以得到文件。植物需求者可能需要购买快递服务将种质通过海关运进国家。

所有种质应该至少附以需求者正确利用植物材料所需要的信息。这样的信息至少必须包括一个项目清单,内有种质身份识别、样品数目和/或重量和关键护照数据,病原体检查历史也很有用,应该包括在内。分发记录(需求日期记录、需求植物、植物形态、需求者的姓名与地址、运输日期和运输费用)应该保存,并且包括到种质库记录系统(见记录标准)。如果原发种质库的原始材料遭受灾难性损失,所分发的植物材料会成为繁殖源。



## 意外情况

同时进行的种质体外保存可以提供保护免于害虫、病原体和气候灾难，并且如果材料保持无病毒的话可提高其分发的可能性。在一些情况下，诸如田间种质库的木薯(*Manihot esculenta* L.)和可可豆(*Theobroma cacao* L.)插条，由于害虫和疾病检疫条例的要求，通常只能在一个国家内分发，并且有时只能在一个国家的某个区域内分发。繁育的其他形式，例如体外培养或种子，应该用来在国家或检疫区之间交换种质。对于虫媒或螨类传播病毒的作物其分发可能需要来自温室或荫棚的材料，有时需要体外培养体。

政策、危机状况或官僚主义低效率可能加大从收到样品需求到样品分发的时间跨度。与种质更新和/或扩繁有关的限制也可能影响或耽搁分发过程。对检疫规定检查拖延至即将运输之时的话会造成资源浪费。感染害虫或不具适当文本的种质会被拒绝进入所要进口的国家，或者被销毁。

## 有关参考文献

**SGRP-CGIAR.** Crop Genebank Knowledge Base. Distribution (available at: [http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=59&Itemid=208&lang=english](http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=59&Itemid=208&lang=english)).

## 5.10 安全与安全备份标准

### 标准

- 5.10.1 风险管理策略应该按标准确定的物理或生物风险之要求进行制订和更新。
- 5.10.2 种质库应该遵守当地职业安全和保健(OSH)的要求和协议。
- 5.10.3 种质库应该聘任必要人员来完成所有常规工作,以确保种质库可以根据标准来获取、保存和分发种质。
- 5.10.4 每一个田间种质库种质应该至少在超过一个的地方进行安全备份保存,和/或由另外一种方法/策略来进行备份,诸如在可能的条件下可采用体外或超低温保藏。

### 背景

如果田间种质库是植物活体收集,这些植物从不同的地方收集而来而要在一个地方多年,这很容易受到许多威胁,包括环境条件、害虫、疾病、土地租赁和土地开发。田间种质库相比于其他方法的保存,其维持费用高,并且需要常规看护。应该进行和提高涉及日常环境中物理和生物风险的系统风险管理。这个标准提供了种质库应该实施的细节,这可使种质免于这些风险并确保没有发生遗传多样性损失。

## 技术因素

田间种质库应该有一合适的书面风险管理实施策略，一旦种质库在种质或相关数据方面有意外发生就可按此策略办理。此策略以及所附行动计划应该进行日常检查与更新，可以充分利用变化环境和新技术，并且向种质库工作人员做好宣传。

田间种质库暴露在很多危险之下。这些危险包括极端环境条件，如干旱、结冰、冰雹、龙卷风、台风、飓风，这些环境条件具部分可预测性，可以进行预防，在非理想期间给予植物额外保护。如果植物种植在盆中，那么可以将它们置于有防护的地方。对开阔地带小型植物而言，根据植物类型不同，如有可能可以加强支撑桩或覆以保护性遮盖物，除此之外不需要其他措施。对果树进行修剪枝条可以降低强风的影响，强风能拔出树木。

其他极端情况诸如火灾爆发或地震很难预测，在此情形之下，需要采取防止田间种质库植物伤害的预防性措施。越过田间种质库的防火障应该建立并总是维护好。另外，灭火器材合适并进行日常检查。灭火器材包括灭火器和灭火毯。包括温室和苗圃的田间种质库建筑如果位于地震易发区域则需要防震。

田间种质与生物因素相关的其他威胁包括害虫、疾病、捕食者、外来种、害鼠，以及生长在该地区野外的相同物种并且能作为杂草进入田间种质库的当地植物。应该采取措施预防这些威胁。应该慎用杀虫剂，它不仅对环境具有负作用，而且也对使用者的健康和安全也有影响。在合适的时候，利用陷阱捕获捕食者或沟渠防止进入样地，这在生态上比较友好，应该通过由相关学会认可的人性化手段避免田间种质库动物的入侵。

植物材料的故意破坏或偷盗也是植物种质安全的主要问题。田间种质库应该用栅栏加以合理防护，田间种质库进入许可也应该控制好。在一些地方，可能需要额外安全警卫或安全防护。鉴于田间种质库特别是果树和其他树木的长期性，安全的土地租赁和本地的开发计划对降低迁往新地方的需要和允许扩展非常重要。



还应该考虑到工作人员的职业健康与安全。在田间，特别是在使用化学杀虫剂和化肥时，应该提供和使用功能良好的设备和工作服。农用化学品的选择对减少风险非常重要。应该制订通常对各种作物安全的化学品名单和具有危险并且禁止使用的化学品“黑名单”。应该通过提供田间环境健康和安全的日常培训加以指导工作人员正确安全使用设备。

主动种质库管理需要良好训练的工作人员，将责任合理分配给合格的雇员相当重要。因此，种质库应该有一合理的员工计划和策略，以及相应的常规分配预算，以此保证最小量的训练良好的员工能够承担种质库获取、保存和分发种质的责任。根据每个种质库的任务和目标，需要能够获取一系列领域的学科和技术专家的支持。然而，工作人员的补充和培训要视特殊环境而定。工作人员应该通过资格培训和/或岗位培训获得足够的培训，并且培训由工作需要来决定。

在田间种质库中所维护的种质安全备份这种补充保存方法的应用是一个重要的降低上述风险并且可能比较经济的策略。不论什么时间所保存种质有了实验方案,可以在体外培养种质和在液氮超低温保藏中低速生长,以备份种质。对于生产短命或顽拗型种子的物种,鉴于种子在存活力丢失之前需要更新,短期种子储存是一个可能的划算的备份方法。在气候和农业生态适宜的另一地区建立备份种质库也是安全备份的方法,在这里植物繁茂生长,而不需要面对主种质库的风险。还可提供额外的一个地点,在此植物材料可以分发,并且为了种质的安全可以位于具有不同害虫和疾病风险的一个地区,并解除在地区内分发的检疫限制。花粉和DNA保存也是田间种质库的补充,比起田间种质库以植物保存方式来,这提供了一种在一个种质内维持更大多样性的划算方法。

任何安全备份的安排需要一个在安全备份的存放者和接收者之间明确签署的合法协议,确定双方的责任,以及所保存材料的项目和条件。这在植物需要每天管理的田间种质库中特别重要。

## 意外情况

在没有合适受训人员,或者存在时间或其他限制时,其解决办法可包括外包一些种质库工作或向其他种质库求助。重要的是与其他种质库建立网络和开展协作。如果种质库功能受到威胁,应该立即告知种质库国际团体。

人类非法进入种质库设施或包括鸟类和其他野生动物在内的动物侵入可能导致材料的直接损失,但是因疏忽而造成害虫和疾病引进和对管理系统的干扰也能危害种质。与当地社区保持紧密关系以提高关于种质库目标与价值的意识,由此可以给予主人翁意识并提高田间区域的保护。

## 有关参考文献

**Engels, J.M.M. & Visser, L., eds.** 2003. *A guide to effective management of germplasm collections*. Handbooks for Genebanks No. 6. Rome, IPGRI.

**NordGen.** 2008. *Agreement between (depositor) and the Royal Norwegian Ministry of Agriculture and Food concerning the deposit of seeds in the Svalbard Global Seed Vault*. The Svalbard Global Seed Vault. The Nordic Genetic Resource Centre, ALNARP (available at: [http://www.nordgen.org/sgsv/scope/sgsv/files/SGSV\\_Deposit\\_Agreement.pdf](http://www.nordgen.org/sgsv/scope/sgsv/files/SGSV_Deposit_Agreement.pdf)).

**Reed, B.M., Engelmann, F., Dulloo, M.E. & Engels, J.M.M.** 2004. *Technical guidelines for the management of field and in vitro germplasm collections*. Handbooks for Genebanks No. 7. Rome, IPGRI.

**SGRP-CGIAR.** Crop Genebank Knowledge Base. Safety duplication (available at: [http://croppgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=58&Itemid=207&lang=english](http://croppgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=58&Itemid=207&lang=english)).





# 第6章

体外培养与  
超低温保藏  
种质库标准







因为非正常型种子和无性繁殖植物存在显著变异，所以体外培养与超低温保藏种质库标准从本质讲是广泛而通用的。这种变异性是相关植物的内在生物学和代谢状况的一个功能，这影响它们对各种操作不同反应，并且通常需要对在种特异性基础上提出的基本方法进行修饰。这些多种多样的特征需要我们对非正常型种子的非正常行为和存储行为做介绍，以此可以更好的了解这些标准的科学基础。

## 非正常性态

相对于非正常型种子(中间性种子和顽拗型种子)，了解正常型种子的脱水耐性和敏感性对超低温保藏非常重要。尽管一些物种在脱落时含更多的水分，并且脱落后还经历大量的脱水，但是正常型种子在成熟时其含水量的范围通常为 $0.05-0.16 \text{ g g}^{-1}$  (5%-14% [wmb])。与顽拗型种子不同，所有正常型种子需要具有脱水耐性，由遗传编码，诱发于成熟干燥开始之时或之前。顽拗型种子在发育后期并不变干，脱落时水含量的范围是 $0.3-0.4- >4.0 \text{ g g}^{-1}$ 。因为它们具有脱水敏感性，水的损失立刻导致活力和生存力的下降，在水含量依然相对较高时种子就死亡。这是因为

1 在此文件中，术语水含量(wmb 这里是湿重)优先用于湿气含量，如顽拗型种子是与水结合的(湿)而不是湿润(仅仅湿一点)。还有，所提供的图片是以干重表达的( $\text{g H}_2\text{O g}^{-1}$  干物质 [ $\text{g g}^{-1}$ ])，这被认为比以湿重百分率表达更为精确。

它们的代谢活动(Berjak and Pammenter 2004)很少或没有发生细胞间分化,由此将细胞膜暴露在脱水胁迫的危害之下(Walters *et al.* 2001; Varghese *et al.* 2011)。脱落后生理学的一系列差别也在中间性种子中出现。表现出中间型性态的种子能够耐受水损失至~0.11和~0.14 g g<sup>-1</sup>之间(Berjak and Pammenter 2004)。它们具有表达一些控制脱水耐性的重要机制和过程的能力。然而,它们在脱水状态下不能长久存活,一些物种在低温下尤其如此。

顽拗型种子生理学变异性通常在种内也存在。种子或胚胎/胚轴水含量在来自同一地点的种质在年际间变动显著,来自同一位点在一个季节内材料间也如此。这意味着对每一物种应该评估其参数(水含量、对干燥的反应)。另外,在一个季节后期收获的种子通常在质量上明显不如那些早些收获的种子(Berjak and Pammenter 2004)。收获种子的种群原产地也是顽拗型种子的特性与反应的一个主要的因素。由此,即使它们是同一物种,沿不同纬度的种子发育能表现出显著不同的特征(Daws *et al.* 2006; Daws *et al.* 2004)。

当顽拗型种质需要超低温保藏时,要认真考虑种子发育状况。在种子发育早期,所有种子对脱水高度敏感。在顽拗型种子里,在显现出发芽代谢过程时其脱水敏感性就增加(Berjak and Pammenter 2004)。顽拗型种子在脱落后就开始发芽的早期过程,没有像正常型种子那样因为成熟变干而导致的在发育结束和发芽开始之间的间断。

由其物种决定,顽拗型种子在脱落后就开始其发芽代谢。在脱落时具有发育完全胚胎的物种,通常立即开始发芽,同时其脱水敏感性也增加。在一些其他物种中,种子脱落时胚胎未发育完全,在开始发芽代谢之前需先完成发育。这些发育差别决定了种子可以湿保藏(即以脱落时水含量进行湿润保藏)持续时间的长短。现在我们知道顽拗型种子不能脱水使含水量降低至阻碍其发芽的(所谓的亚浸透保存)的程度,因为这样确实缩短其脱水储存寿命幅度。轻微脱水实际上可刺激发芽启动/进程,由此通过缩短外部供水前的时间可以用来支持这个进程(Drew *et al.* 2000; Eggers *et al.* 2007)。

总之,来自于温带原产地的顽拗型种子耐寒,而来自于热带或亚热带的相同物种对低温比较敏感。低温敏感性也是中间性种子保存的一个问题,对于那些来自热带和亚热带的那些种子尤其如此。在干燥至没有对其本身造成危害的水含量时,这样种子的储存寿命幅度在温度 $\leq 10^{\circ}\text{C}$ 下变短(Hong *et al.* 1996)。

与种子相关的微生物群落(真菌和细菌)通常是顽拗型种子所具有的主要问题,这些微生物特别是出现种子内部表面时,例如子叶或胚轴,这个问题对来自于热带和亚热带的种子尤其严重(Sutherland *et al.* 2002)。水合保存的条件为湿润而通常温度适宜,这有利于真菌繁殖,菌丝有可能穿透胚胎组织。这显然存在有害影响,并且能显著缩短水合储存寿命幅度。

在田间条件下,如果没有很快建立幼苗,顽拗型种子将逐渐失水,其速率视种特异性特征和形态学而定。在慢速失水(几天到一周或更长)的条件下,脱水伤害逐渐加重,大多数种子在胚胎/胚轴含水量大约为 $0.8\text{ g g}^{-1}$ 时将失去生存力(Pammenter *et al.* 1993)。由此,在处理和保存顽拗型种子时,通常要特别注意将水含量保持在脱落时的水平上。

外植体对脱水的反应依赖于干燥速率和外植体大小。通常顽拗型种子太大而不会干燥太快,并且太大的话则在(要成功超低温保藏所必需的)冷冻剂中温度下降也就不会太快。由此,切下的胚胎或胚轴是外植体的不错选择,因为它们可以脱水至不足以结冰的水含量,为 $\leq 0.4\text{ g g}^{-1}$ 。胚胎/胚轴可以在气流中加以干燥(快速干燥)(Pammenter *et al.* 2002),这明显缩短了因脱水伤害而引发的代谢发生的时间。这并不是因为胚胎/胚轴变得耐脱水了,而仅仅是在致命伤害加大之前就干燥了,这为它们提供了降至冷冻温度的时间。在胚胎/胚轴被证明不可能成功低温保存的情况下,可以利用替代外植体,诸如从幼苗切下的根尖分生组织,此幼苗由种子体外发芽发育而成。

除了超低温保藏,产生顽拗型或者非正常型种子的物种还有其他保存方法,包括体外保藏,这涉及到幼苗/幼小植物/小植物的慢速生长。在一些例子中,慢速生长条件可以在试管外进行。在最后的情况下,可能是

慢速生长,小植物可以从胚性愈伤组织(其本身可能用于超低温保藏)和体外保存获取。

### 有关参考文献

- Benson, E.E., Harding, K., Debouck, D., Dumet, D., Escobar, R., Mafla, G., Panis, B., Panta, A., Tay, D., Van den Houwe, I. & Roux, N. 2011. *Refinement and standardization of storage procedures for clonal crops - Global Public Goods Phase 2: Part I. Project landscape and general status of clonal crop in vitro conservation technologies*. Rome, SGRP-CGIAR.
- Berjak, P. & Pammenter, N.W. 2004. Recalcitrant Seeds. In R.L. Benceh-Arnold, & R.A. Sánchez, eds. *Handbook of seed physiology: applications to agriculture*, pp. 305-345. New York, USA, Haworth Press.
- Daws, M.I., Lydall, E., Chmielarz, P., Leprince, O., Matthews, S., Thanos, C.A. & Pritchard, H.W. 2004. Developmental heat sum influences recalcitrant seed traits in *Aesculus hippocastanum* across Europe. *New Phytologist*, 162: 157-166.
- Daws, M.I., Cleland, H., Chmielarz, P., Gorian, F., Leprince, O., Mullins, C.E., Thanos, C.A., Vandvik, V. & Pritchard, H.W. 2006. Variable desiccation tolerance in *Acer pseudoplatanus* seeds in relation to developmental conditions: a case of phenotypic recalcitrance? *Functional Plant Biology*, 33: 59-66.
- Drew, P.J., Pammenter, N.W. & Berjak, P. 2000. 'Sub-imbibed' storage is not an option for extending longevity of recalcitrant seeds of the tropical species, *Trichilia dregeana* Sond. *Seed Science Research*, 10: 355-363.
- Eggers, S., Erdey, D., Pammenter, N.W. & Berjak, P. 2007. Storage and germination responses of recalcitrant seeds subjected to mild dehydration. pp. 85-92. In S. Adkins, S. Ashmore, S.C. Navie, eds., *Seeds: biology, development and ecology*. Wallingford, UK, CABI.
- Engelmann, F. & Takagi, H., eds. 2000. *Cryopreservation of tropical plant germplasm. Current research progress and application*. Tsukuba, Japan, Japan International Research Centre for Agricultural Sciences, and Rome, IPGRI.

**Hong, T.D., Linington, S. & Ellis, R.H.** 1996. *Seed storage behaviour: A compendium*. Handbooks for genebanks No. 4. Rome, IPGRI.

**Lync P., Souch, G., Trigwell, S., Keller, J & Harding, K.** 2011. Plant cryopreservation: from laboratory to genebank. *As. Pac J. Mol. Biol. Biotechnol.*, 18 (1): 239-242.

**Pammenter, N.W., Vertucci, C. & Berjak, P.** 1993. Responses to dehydration in relation to non-freezable water in desiccation-sensitive and -tolerant seeds. In D. Côme & F. Corbineau, eds. *Proceedings of the Fourth International Workshop on Seeds: Basic and Applied Aspects of Seed Biology*, pp.867-872. Angers, France. ASFIS, Paris. Vol. 3.

**Pammenter, N.W., Berjak, P., Wesley-Smith, J. & Willigen, C.V.** 2002. Experimental aspects of drying and recovery. In M. Black & H.W. Pritchard, eds. *Desiccation and survival in plants: drying without dying*, pp. 93-110. Wallingford, UK, CABI.

**Reed, B.M.** 2010. *Plant cryopreservation. A practical guide*. New York, USA, Springer.

**Reed, B.M., Engelmann, F., Dulloo, M.E. & Engels, J.M.M.** 2004. *Technical guidelines for the management of field and in vitro germplasm collections*. Handbooks for Genebanks No. 7. Rome, IPGRI.

**Sutherland, J.R., Diekmann, M. & Berjak, P., eds.** 2002. *Forest tree seed health*. IPGRI Technical Bulletin No. 6. Rome, IPGRI.

**Varghese, B., Sershen, Berjak, P., Varghese, D. & Pammenter, N.W.** 2011. Differential drying rates of recalcitrant *Trichilia dregeana* embryonic axes: A study of survival and oxidative stress metabolism. *Physiologia Plantarum*, 142: 326-338.

**Walters, C., Pammenter, N.W., Berjak, P. & Crane, J.** 2001. Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation-tolerant and sensitive seeds. *Seed Science Research*, 11: 135-148.

## 6.1 种质获得标准

### 标准

- 6.1.1 所有添加到种质库中的种质应该合法获取,并具备相关技术记录。
- 6.1.2 所有材料应该至少附以最小量的相关数据,并且具备详细的FAO/Bioversity多种作物基本资料叙词。
- 6.1.3 应该只收集状况良好和成熟一致的材料,并且样品大小应该足够大,使得种质库具备生存力。
- 6.1.4 材料应该以最短的时间和最好的条件运输至种质库。
- 6.1.5 所有收到的材料应该经过表面消毒,以去除所附微小生物,这些处理在接收处指定的区域进行,并且不能改变其生理状态。

### 背景

获得是为种质库保存而收集和要求种质(种子和其他繁殖体<sup>1</sup>)以及其相关信息的过程。必须遵守法律,必须合理地予以满足国际和国家要求。在获得阶段,重要的是确保每个种质的护照数据尽可能完整和记录完全(Alercia *et al.* 2012)。

---

1 在此背景下,一个繁殖体指的是植物的营养生殖部分,诸如种子、芽、球茎、插条和其他分株,可用于繁育植物。

有必要确保种质质量最好，避免保存未成熟种子和长久暴露在各种影响之下的种子。在收集后和在转移至控制条件下之前的种子和其他繁殖体的处理方式对质量极为重要。在收集后和在转移至种质库期间，不利的极端温度和湿度能导致生存力极快地丧失，从而缩短保存寿命。这同样适合在种质库内收获后的处理。种子质量和寿命受到种质库存储前条件的影响。因为顽拗型种子在成熟时其代谢活跃和含水量高，收集后处理的方式对材料成功的长期保存非常重要。由于田间生长的材料通常被真菌和/或细菌污染，有必要有一套合理的措施来降低材料在收获后衰退的风险。

材料应该尽可能清洁。因此，建议将田间材料转至盆中，在玻璃房中生长一小段时间。在这些情况下，植物应该从底部浇水，对于感染严重的材料，可以用杀虫剂来进行外植体消毒。明显可见的被感染材料应该从开始或者一发现就去除。

## 技术因素

在ITPGRFA多边系统内的植物遗传资源应该按标准材料转让协定(SMTA)来处理。在种质库所在国以外获取或收集的材料应该遵从相关国家和国际立法。植物检疫规定和任何其他进口需求必须符合接收国的相关国家当局规定。

需要护照数据来确认和分类种质。许多种质是野生物种，在收集时必须包括精确的田间数据。因此，多种作物基本资料叙词除了包括尽可能多的栖息地GPS坐标值和摄影图片，以及地层外，还包括蜡质标本凭证。如果收集了落地的材料，则应该进行记录，并且与从母体植物收获的材料分开保存。样品大小应该包括足够数目的个体/种质，足够大而能建立合适的超低温保藏程序和/或长期低温保存样品。

需要确保种子和繁殖体质量最高并且避免保存未成熟或暴露在(不利)因素下太长时间的过于成熟材料(比如说种子)。收集成熟良好的干净高质量繁殖体将确保存储的最长寿命。应该避免那些表现出磨损或枯萎

迹象的落地材料和果实(种子)。季节晚期收获的种子质量要比早期生产的种子质量差(Berjak and Pammenter 2004)。建议不要收集季节晚期的任何物种的顽拗型种子。当利用鳞茎和块茎时,也应该考虑到季节性,因为只有在一些季节才发新芽,在木本植物中只有在冬季才有休眠芽,并且幼嫩开花外植体或花粉只有在开花期才能得到。

许多生产顽拗型种子的果实携带真菌污染物,甚至有时看不到。这个问题很严重,因此在运输前表面消毒很重要,可以除去任何位于表面的污染物。在收集后期和在运输至种质库的过程中高温与高湿使得这个问题更加恶化,并且可能导致生存力的快速丧失和减低保存寿命。然而,种子和其他繁殖体可能对寒冷敏感,温度的升高会促进发芽或毁坏种子。由此,运输温度既不能太高也不能太低,通常不低于 $-16^{\circ}\text{C}$ 和不高于 $-25^{\circ}\text{C}$ 。

真菌污染问题也同样在种质库内的收获后期的操作中存在,果实在打开之前应该对其表面进行完全消毒。同理,对任何进口的种质,其污染可能来自容器和包装材料,这些容器和包装材料通常根据国家植物与种子健康规定予以烧毁。果实果肉、纤维等应该从种子外表完全清除,但不能用水,因为种子很容易吸水,从而影响种子的水含量。还重要的是收集那些关于果实和种子在水含量测定前的重量信息(见标准2)。

在可能的情况下(就像硬皮果实这种情形),为了保护和避免脱水,种子应该保持在果实内运输。水损失会刺激发芽代谢和缩短储存寿命幅度,由此在收集和运输期间保持水含量很重要,这可以通过维持保存容器内的较高相对湿度(RH)来达到这一点。应该优先使用特殊塑料袋,它们不会像玻璃管那样容易破碎。绝热包装将有助于保持温度稳定,并且在长途运输中能尤其重要。

硬皮果实生产的顽拗型种子通常在较长时期内比从果实取出的种子可保持更好的状态。软果实,或者那些受损害或开裂的果实应该立即进行表面消毒、取出种子、除去与销毁果实。如果是长期运输,建议在运输前把种子取出、手工清洁和表面消毒。作为理想的做法,在田间考察时应该随身



携带成套消毒装备,此成套装备包括纯化水用药片或次氯酸钠 (NaOCl)、水(如有可能为无菌水,或者就地烧开水)和无菌纸巾。

在热带条件下,还可以采取其他措施,诸如在阴凉下存储小植物 (Marzalina and Krishnapillay 1999)或者试管外的田间收集(Pence *et al.* 2002; Pence and Engelmann 2011)。当利用体外收集材料时应该将运输时间缩至最短。

对于体外培养的外植体,表面消毒通常先用70%乙醇,然后在用纯净溶解液溶解的次氯酸钠(NaOCl)或者使用商用漂白剂组分,含有大约3%浓度的活化氯。几滴去污剂能增强消毒作用。也可以使用其他合理浓度的材料(例如次氯酸钙)。外植体在表面消毒后需要修剪至最终大小。要注意消毒剂能进入表皮切口而产生一死亡区,在修剪时要除去。

## 意外情况

当托运材料被污染或损坏,所有材料与其包装应该予以销毁,即使价值不菲也如此办理。

托运品在国家检疫机构耽搁是一个常见威胁。在这种情况下,必须采取措施降低耽搁,包括利用快递公司。

在果实不多季节的情况下,应该优先将收集推迟至下一个果实季节。如果条件决定只能采集落地果实时,应该考虑只收集那些新落下的果实。

偶尔,特定物种的果实对NaOCl 和/或普通杀真菌剂反应不良,在此情况下应该使用安全的替代品(Sutherland *et al.* 2002)。请注意可以使用无菌水配置的70%乙醇(v/v)/沸水。

## 有关参考文献

- Alercia, A., Diulgheroff, S. & Mackay, M.** 2012. FAO/Bioversity *Multi-Crop Passport Descriptors* (MCPD V.2). Rome, FAO and Bioversity International (available at: [http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx\\_news/1526.pdf](http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx_news/1526.pdf)).
- Berjak, P. & Pammenter, N.W.** 2004. Recalcitrant seeds. In R.L. Benech-Arnold & R.A. Sánchez, eds. *Handbook of seed physiology: applications to agriculture*, pp. 305-345. New York, USA, Haworth Press.
- Engelmann, F.** 1997. *In vitro* conservation methods. In J.A. Callow, B.V. Ford-Lloyd & H.J. Newbury, eds. *Biotechnology and plant genetic resources*, pp. 119-161. Wallingford, UK, CABI.
- ENSCONET (European Native Seed Conservation Network).** 2009. *Seed collecting manual for wild species* (available at [www.ensconet.eu](http://www.ensconet.eu)).
- Marzalina, M. & Krishnapillay, B.** 1999. Recalcitrant seed biotechnology applications to rainforest conservation. In E.E. Benson, ed. *Plant conservation biotechnology*, pp. 265-276. London, Taylor & Francis.
- Pence, V.C.** 1996. *In vitro* collection (IVC) method. In M.N. Normah, M.K. Narimah & M.M. Clyde, eds. *In vitro conservation of plant genetic resources*, pp. 181-190. Percetakan Watan Sdn. Bhd, Kuala Lumpur.
- Pence, V.C. & Engelmann, F.** 2011. Collecting *in vitro* for genetic resources conservation. In L. Guarino, V. R. Rao & E. Goldberg. *Collecting plant genetic diversity: technical guidelines*. 2011 update. Rome, Bioversity International.
- Pence, V. C., Sandoval, J., Villalobos, V. & Engelmann, F., eds.** 2002. *In vitro collecting techniques for germplasm conservation*. IPGRI Technical Bulletin No. 7. Rome, IPGRI.
- Sutherland, J.R., Diekmann, M. & Berjak, P., eds.** 2002. *Forest tree seed health*. IPGRI Technical Bulletin No. 6. Rome, IPGRI.

## 6.2 非正常性态试验与含水量、活力和生存力评估标准

### 标准

- 6.2.1 种子保存策略应该直接由评估其对脱水的反应来决定。
- 6.2.2 含水量应该分别对繁殖体的组分进行单个测定,并且植物数目要足够大。
- 6.2.3 活力和生存力应该由在足够数目的植物中进行发芽试验来评估。
- 6.2.4 在试验期间,干净的种子样品应该保持在既不会失水也不会浸水的条件下。

### 背景

保持种质生存力是种质库的一个关键功能,这可确保使用者可以得到种质,在遗传上可以代表它所获取的种群。作为保藏的第一步,通过评估繁殖体对脱水的反应来确定种子存储的类型。对干燥的反应则会决定对低温保存的处理。许多因素影响干燥速率,包括相对湿度(RH)、种子大小、种子覆盖物特性、种子下方空气流速和种子层的深度(Pammenter *et al.* 2002)。

种子样品或者从种子获取的外植体的发芽速率和一致性是活力的一个可信指标,而发芽率(即进行试验的种子或外植体最终发芽的比率或百分比)说明了样品的总体生存力。一个样品的生存力不应该低于80%。

## 技术因素

水含量测定与活力和生存力评估应该作为一个单独操作来进行,并且是选择干燥技术类型之前要确定的问题。所要调查过程的数目由所能获得的种子数目来决定。按种子特性不同,可采用三种检查种子的方法。这包括了一种可以区分中间性种子和顽拗型种子的方法(Hong and Ellis 1996)、一种当种子有限的情况下而设计的方法(Pritchard *et al.* 2004),以及一种评估胚轴含水量而非整个种子含水量的方法。不考虑所选取的方法,在检查过程期间必定带来的脱水在温度增高时千万不要进行,这会造成危害。对热带/亚热带物种和温带来的物种所建议温度分别为25°C和15°C(Pritchard *et al.* 2004)。对每个新种质应该确定随水含量下降而生存力受损的干燥时间-过程评估。

在顽拗型种子不同组分内含水量对其成功超低温保藏非常关键。在整体顽拗型种子的基础上确定的含水量并不表明胚轴的含水量。因此,应该分别确定胚轴、胚胎、新分生组织或胚乳的含水量(Berjak and Pammenter 2004),并且单个测定(而不是批量样品同时进行)。在许多情况下,顽拗型种子胚轴的干重太小而只有几个毫克,需要6位数精度的天平。

重要的是将繁殖体清洁后立即测定每个新到种质的含水量,这可避免进一步干燥。即使已经收集了相同物种的其他种质,也不能就此假定其含水量相同。因为顽拗型或其他非正常型野生物种的胚轴和保存组织的组分通常不同,建议干燥的温度为80°C,直至达到恒定重量。当组织在80°C下干燥时,达到恒定重量的时间通常为24h和48h。在干燥期后,极为重要的是样品要达到室温,在重新称量之前不能吸水。

建议用以测定含水量(以单个种子/胚胎/胚轴为基础进行测定)的最小数目是10枚种子。要进行任何生物化学分析则需要额外的种子。

种子和从其切下的胚胎/胚轴在刚收获时应该达到其发育的最具活力的阶段。完整种子在0.8-1%琼脂(水)于塑料容器或培养皿中发芽最好,这将为所有这样的评估提供了基本条件。重要的是在让其发芽之前或者切除胚胎或胚轴之前种子表面要进行消毒。休眠并不是顽拗型种子的普通特征,种子通常在栽种后相对较短的时间间隔就开始发芽。然而,这段时间在物种间有变化,要视胚胎发育程度而定。重要的是所有发芽/存活力试验每个物种在相同的控制条件下进行。形态异常的幼苗/小植物的产生(Pammenter *et al.* 2011)应该加以注明和定量,因为异常的发生会是所加胁迫的结果,例如这些胁迫可以是顽拗型种子、胚胎或胚轴的脱水。生存力检验所建议的最小量是20粒种子。

当操作顽拗型种子时通常要倍加细心,将含水量保存在脱落时的水平。然而,完整的顽拗型种子几乎总是太大而不易降至制冷剂温度。因此,外植体、胚胎或胚轴需要从种子切下来并且脱水。进一步地讲,将清洁好的种子样品保存在避免含水量变化的条件非常重要。如果暴露在大气中一段时间,无论长短如何,种子的含水量会变化,对脱落时含水量相对较高的种子要进行一定的脱水。

## 意外情况

如果一个种质库不具备控制温度和湿度的干燥室,那么对整体种子可采用钟形容器内桌面干燥或单层晾干。在从干燥炉取出之前如果没有封闭培养皿,应该重新放回炉中,因为干燥组织吸收水蒸气很快,在潮湿环境下尤其如此。

切下的胚胎/胚轴通常不会像完整种子发芽那般快。当进行操作切下的胚轴时,通常枝条不会发生快速发育。在这种情形之下,根生产量会是评估活力和生存力的标准。

在已经证明胚胎/胚轴不可能成功进行超低温保藏的情况下,应该利用替代外植体。其类型可能多样,但是最适宜的是从幼苗切下的根尖分生组织,此幼苗由种子体外发芽发育而成。

### 有关参考文献

**Berjak, P. & Pammenter, N.W.** 2004. Recalcitrant seeds. In R.L. Benceh-Arnold & R.A. Sánchez, eds. *Handbook of seed physiology: applications to agriculture*, pp. 305-345. New York, USA, Haworth Press.

**Hong, T.D. & Ellis, R.H.** 1996. *A protocol to determine seed storage behaviour*. IPGRI Technical Bulletin No. 1. Rome, IBPGR.

**Pammenter, N.W., Berjak, P., Wesley-Smith, J. & Willigen, C.V.** 2002. Experimental aspects of drying and recovery. In M. Black & H.W. Pritchard, eds. *Desiccation and survival in plants: drying without dying*, pp. 93-110. Wallingford, UK, CABI.

**Pammenter, N.W., Berjak, P., Goveia, M., Sershen, Kioko, J.I., Whitaker, C. & Beckett, R.P.** 2011. Topography determines the impact of reactive oxygen species on shoot apical meristems of recalcitrant embryos of tropical species during processing for cryopreservation. *Acta Horticulturae*, 908: 83-92.

**Pritchard, H.W., Wood, C.B., Hodges, S. & Vautier, H.J.** 2004. 100-seed test for desiccation tolerance and germination: a case study on eight tropical palm species. *Seed Science and Technology*, 32: 393-403.

## 6.3 顽拗型种子含水储藏标准

### 标准

- 6.3.1 含水储藏应该在相对湿度(RH)饱和的条件下进行。在不会对其造成伤害的最低温度下,种子应该保存在密封容器中。
- 6.3.2 所有种子在含水储藏前应该进行消毒,并且清除感染材料。
- 6.3.3 储藏的种子应该定期检查和取样来确定是否已经发生真菌或细菌污染,是否含水量和/或活力与生产力已经下降。

### 背景

为了准备再引进和恢复项目而种植原种,或者在进行试验期间仅仅为了保持种子,有时需要在短期到中期(几周到几个月)存储顽拗型种子。将顽拗型种子储存寿命幅度最大化的基本原则是含水量应该维持与新收获时大概一样的水平。由此,种子在储存前后均不应该失水。即使轻微水平的失水就能刺激发芽的开始,而进一步的脱水可导致有害的变化,这样的变化会影响活力和生存力,缩短种子能够存储的时间。将顽拗型种子置于维持其含水量的条件之下被称为含水储藏,通过将种子置于饱和RH的密闭条件下就可实现。

## 技术因素

为了避免任何的失水,含水储藏必须在饱和RH下进行,通过维持储藏容器内的饱和空气来实现。理想的情况是,密封内含纸袋的聚乙烯袋(“袋中有袋”)或者密封根据种子数量的尺寸合适的塑料桶,这均有利于储藏(Pasquini *et al.* 2011)。作为绝不可少的预防,储藏容器(诸如桶)除了具有内部格栅外还有密封盖子,在加入种子之前必须灭菌。无论所选择容器如何,必须包括吸收冷凝液的媒质材料,弄湿后就换新的。

存储温度应该为该物种所能耐受的最低温度,不会对活力和生存力造成任何不利影响。这将降低发芽和真菌繁殖这两个进程。存储温度必须保持稳定,以此可将储藏容器内表面的冷凝降至最低。对来自温带的顽拗型种子,适合储藏的温度通常为 $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,而大多数来自热带/亚热带的种子,温度 $16\pm 2^{\circ}\text{C}$ 是正常范围。也有例外,特别是一些来自赤道地区的物种(Sacandé *et al.* 2004; Pritchard *et al.* 2004)。

在含水储藏条件下,真菌(或偶尔细菌)很容易繁殖,需要提高警惕和采取合理措施来降低种子间的感染。如果不去除感染的种子,那么它们会感染存储容器的整批种子。这使得所储藏种子无效,也失去了为超低温保藏提供外植体的潜力。因此,从一开始就进行常规检查,尽量最早发现机会,利用诸如杀真菌剂等合理措施来除掉种子表面和内部的感染(Calistru *et al.* 2000)。

种子表面应该进行灭菌,去掉任何残留灭菌剂,撒上广谱灭真菌剂。内部产生的真菌,大部分恰好位于种子覆盖物下,会被极为有效地去除,因为种子会吸收合适的内吸性灭真菌剂。然而,这会对种子造成很大的不利影响。像对感染玉米所应用的热治疗(Sutherland *et al.* 2002)是另一种可能的方法,但是这仅仅在种子能非常适应短暂增高温度的才可以应用,而情况并非总是如此。要对种子里面直接消毒,应该确保种子在去除覆盖物后在含水储藏中存活很好,并且种子组织中的内吸性灭真菌剂的存在不会伤害种子。



根据含水储藏的持续时间，容器应该简单而周期性地予以通风，以防止缺氧状况的发生，此时需要检查容器内材料，丢弃任何被污染的种子。单层存贮种子是比较理想的，但是如果种子以几层存储，在通气期间种子应该予以混合。在丢弃任何有污染迹象的种子后，必须倒空容器，对所有看起来没有污染的种子进行消毒，将种子放置于灭菌后的容器中。

所存储的种子应该定期取样，以便检查含水量、活力或者生存力是否下降。如果含水量保持当初种子进行含水储藏时的状况，并且没有明显的真菌(或细菌)繁殖，但生存力已经下降，那么这时就已经达到了有效存储时期的末尾。同样，如果许多种子的可见发芽迹象很明显，那么已经达到了有效存储时期的末尾。没有任何明显程度种子失水，或者大多数种子也没有根突出，在这种情况下种子活力的下降表明在特定温度条件下进行含水储藏是可能的。

## 意外情况

从种子的失水表明没有维持较高的相对湿度(RH)，可能是因为存储容器没有密封好。这给样品留下了不确定的结果，应该丢弃。在存储期间种子的生存力的损失可能也是在存贮温度不合适的结果。这个参数测定需要通过种子对一系列温度的反应的试验来解决。可能由于开始时质量就较差，或者在收获时还远没有成熟，种子可能会丧失生存力。

在种质内的内部污染种子发生率很高的情况下，污染物应该予以分离和鉴定，其目的在于将其在未来的收集中除去。真菌的鉴定，确定至属水平，能帮助选择何种杀真菌剂混合使用时(“鸡尾酒”)更为有效，特别针对所鉴定的真菌。有时病毒出现在种子中，不能用任何方法予以去除。如果它们会导致严重疾病，那么病毒症状一旦发现就必须丢弃植物。

可能已经证明对污染物的任何治疗处理都无效，在这种情况下，种子不能以这种方式存储，应该采用遗传资源保存的替代方式。如此情形之下，应该让种子发芽，从任何在慢速生长条件下保存的未被感染的种

子发育成的幼苗和/或用来为迁地保护提供的替代外植体,例如可以转移和种植在田间种质库或其他合适的植物园里。

### 有关参考文献

**Calistru, C., McLean, M., Pammenter, N.W. & Berjak, P.** 2000. The effects of mycofloral infection on the viability and ultrastructure of wet-stored recalcitrant seeds of *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. *Seed Science Research*, 10: 341-353.

**Pasquini, S., Braidot, S., Petrusa, E. & Vianello, A.** 2011. Effect of different storage conditions in recalcitrant seeds of holm oak (*Quercus ilex* L.) during germination. *Seed Science and Technology*, 39: 165-177.

**Pritchard, H.W., Wood, C.B., Hodges, S., & Vautier, H.J.** 2004. 100-seed test for desiccation tolerance and germination: a case study on eight tropical palm species. *Seed Science and Technology*, 32: 393-403.

**Sacandé, M., JØker D., Dulloo, M.E. & Thomsen, K.A., eds.** 2004. *Comparative storage biology of tropical tree seeds*. Rome, IPGRI.

**Sutherland, J.R., Diekmann, M. & Berjak, P., eds.** 2002. *Forest tree seed health*. IPGRI Technical Bulletin No. 6. Rome, IPGRI.

## 6.4 体外培养与慢速生长保存标准

### 标准

- 6.4.1 应该根据物种确定最佳的体外培养存储条件。
- 6.4.2 体外保存材料应该以整株小苗或枝条，或者物种自然形成的存储器官进行存储。
- 6.4.3 需要有检查慢速生长保存中体外培养质量和可能污染的常规监测系统。

### 背景

体外保存采用中期保存(几个月到几年)，在无伤害和生长受限的条件下维持植物器官或小植物。通常并利用长期保存(Engelmann 2011)。体外保存优先应用于无性系作物种质，在植物检疫管理下也支持安全种质转运。有些技术文件提供了详细信息，这些信息包括关于体外保存的可能性、要考虑的主要参数、与其他诸如田间种质库的存储技术的联系和互补性(Reed *et al.* 2004; Engelmann 1999a)。

体外培养的功用包括用以分发、繁殖无病材料的来源，以及超低温保藏外植体的来源。安全去除和丢弃感染材料非常重要，它确保病原体或害虫不会释放到环境中。需要永久常规监测来避免污染的累积，这在材料转

运中可能发生,通过空气从一个在容器间传播,或者由如螨和蓟马等媒介传播。由超度脱水造成的破坏是另一个危险,这通常在一些容器中开始的比较早,因而就有早发现并抢救其他材料的机会。

## 技术因素

需要在存储前就确定慢速生长的最佳条件。这可通过操作变量而实现,包括光照、温度和培养液组成,既可以单个改变,也可以改变组合(Engelmann 1991),但是通常需要试验得到最佳结果。

外植体的类型和生理状况是体外慢速生长成败的关键。体外培养也用做超低温保藏的准备阶段和超低温保藏后恢复阶段。由此,作为第一步应该建立外植体体外生长的合适培养液和条件。这涉及恰当的表面消毒过程和发芽培养液(从一个标准培养液(Murashige and Skoog 1962)开始,这需要细化)。基本培养液可以从关于相似物种的培养的文献中来决定。已经发表了标准试验程序,可以用作指导(包括George 1993; Hartmann *et al.* 2002; Chandel *et al.* 1995),但是在很多情况下,利用外植体培养液和生长条件的细节试验是关键,并且即使物种亲缘关系很近的物种,需要使用外植体培养液和生长条件的个性修改方案。

确保材料以整株小苗或枝条来保存,能够避免超湿(“玻璃化”)。对自然生长缓慢的物种的外植体,可能不需要培养液和培养条件的操作。

在第一次保存一个物种的外植体时,要获得满意的慢速生长,必须进行一系列的方法改变和组合实验方案。例如,已经记录到同一属的不同物种对慢速生长操作的非常多样化的反应。慢速生长条件下维持存储材料的长期遗传稳定性是必需的(Engelmann 2011)。耐寒物种的最佳存储温度可能为0-5°C或者再高一些;对热带原产地的材料最低的可耐受温度其范围根据物种不同可能为15-20°C (Normah *et al.* 2011; INIBAP 2011; Engelmann 1999a; Engelmann 1991)。

通常对培养液进行各种改变,特别是降低矿物质水平、降低蔗糖含量和/或生长调节因子类型和浓度的操作,同时增添渗透活跃物质(例如甘露糖醇)的可能是有效的(Engelmann 2011; Engelmann 1999a)。培养液中的活性炭可以吸收渗出的多酚(Engelmann 1991)。

培养容器的类型、体积、封盖方式和空气是重要参数(Engelmann 2011; Engelmann 1991),当使用新材料进行工作时,只有通过实验才能建立这些条件。

虽然在传统上,慢速生长保存用来进行材料体外培养,小苗也可以在生长受限条件下进行试管外保存。在自然株冠下成荫、光线受限的条件下幼苗慢速生长是一个便宜的替代选择(Chin 1996)。另外,体外诱导的存储器官可用来有效地增加自然存储器官生成作物(例如姜[Engels *et al.* 2011]、芋、薯蓣、马铃薯等)的保存期限。

## 意外情况

木本物种外植体的体外培养可能带来特殊问题,特别是关于多酚渗出问题(Engelmann 1999b)。相关问题包括根系发育不良和外植体超度含水。在缓慢生长期间,出现的超度脱水和叶子坏死可导致质量的衰退,在一些情况还导致整个繁殖体的死亡。

在一些材料中,隐蔽处的细菌聚集可能逐渐成为延长的慢速生长保存的障碍。它可以用培养液暂时不添加维生素或者添加抗生素来抵消,但是这些措施很少长久有效。由此,可能需从存储中将这些培养丢弃(Abreu-Tarazi *et al.* 2010; Leifert and Cassels 2001; Senula and Keller 2011; Van den Houwe 2000; Van den Houwe 1998)。

在种质库内,不同物种/变种对体外存储的反应差别很大,一些反应很好,而另外一些不能以此种技术保存,由此其应用也就无从谈起(例如咖啡树(Dussert 1997))。在一些物种中(例如薯蓣),可以用体外培养形式

存储器官,但很难获得发芽。在一个物种的一些种质中由体外培养获得的小球茎也存在这种情况(例如大蒜(Keller 2005))。

在一些物种中(例如甘蔗),内在遗传不稳定性会被体外培养技术所加大,而在另外一些物种中(例如木薯),有延长保存期下遗传稳定性的记录(IPGRI/CIAT 1994)。在后者情况下,体细胞克隆变异可能高频发生。随后由于应用避免不定枝诱导或切后基部愈伤组织形成这些技术,在大多数情况下体细胞克隆变异可以降至最低。在转移至下一培养阶段时需要切除已经形成愈伤组织的地方。需要通过观察来源外植体的一致性来避免任何遗传偏差的发生,也应该从供者材料中去除嵌合体(或者在杂合植物中需要则仔细保存)。因为采用分子标记方法进行的常规筛选似乎花费太大,在体细胞克隆变异会发生的情况下可以采用常规取样。

当枝条停止发育时,器官休眠会成为一个问题(通常出现在形成体外存储器官的物种中)。额外切除或细胞因子可打破休眠。如果这无效,那么可以等待一段时间直到出现自发枝条,可这能是惟一解决方法(即使这种方法有效否也并不确定)。

## 有关参考文献

**Abreu-Tarazi, M.F., Navarrete, A.A., Andreote, F.D., Almeida, C.V., Tsai, S.M. & Almeida, M.** 2010. Endophytic bacteria in long-term *in vitro* cultivated “axenic” pineapple microplants revealed by PCR-DGGE. *World J. Microbiol Biotechnol.* 26: 555-560.

**Benson, E.E., Harding, K. & Johnston, J.W.** 2007. Cryopreservation of shoot-tips and meristems. In J.G. Day & G. Stacey, eds. *Methods in molecular biology, Vol. 368. Cryopreservation and freeze drying protocols.* 2nd edition, pp. 163-184. Totowa, New Jersey, USA, Humana Press.

**Chandel, K.P.S., Chaudhury, R., Radhamani, J. & Malik, S.K.** 1995. Desiccation and freezing sensitivity in recalcitrant seeds of tea, cocoa and jackfruit. *Annals of Botany*, 76: 443-450.

**Chin, H.F.** 1996. Strategies for conservation of recalcitrant species. In M.N. Normah, M.K. Narimah & M.M. Clyde, eds. *In vitro conservation of plant genetic resources*, pp. 203-215. Kuala Lumpur.

**Dussert, S., Chabrilange, N., Anthony, F., Engelmann, F., Recalt, C. & Hamon, S.** 1997. Variability in storage response within a coffee (*Coffea* spp.) core collection under slow growth conditions. *Plant Cell Reports*, 16: 344-348.

**Engelmann, F.** 1991. *In vitro* conservation of tropical plant germplasm - a review. *Euphytica*, 57: 227-243.

**Engelmann, F.** ed. 1999a. *Management of field and in vitro germplasm collections*. Proceedings of a consultation meeting, 15-20 January 1996. Cali, Colombia, CIAT, and Rome, IPGRI.

**Engelmann, F.** 1999b. Alternative methods for the storage of recalcitrant seeds - an update. In M. Marzalina, K.C. Khoo, N. Jayanthi, F.Y.M. Tsan & B. Krishnapillay, eds. *Recalcitrant seeds*, pp. 159-170. Kuala Lumpur, FRIM.

**Engelmann, F.** 2011. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. *In vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 47: 5-16.

**Engels, J.M.M., Dempewolf H. & Henson-Apollonio V.** 2011. Ethical considerations in agro-biodiversity research, collecting, and use. *J. Agric. Environ. Ethics*, 24: 107-126.

**George, E.F.** 1993. *Plant propagation by tissue culture. Part 1: The technology*. 2nd edition. Whitchurch, UK, Exegenics.

**Hartmann, H.T., Kesler, D.E., Davies, F.T. & Geneve, R.L.** 2002. *Plant propagation - principles and practices*. 7th edition. Upper Saddle River, New Jersey, USA, Prentice Hall.

**IPGRI/CIAT (IPGRI/International Center for Tropical Agriculture).** 1994. *Establishment and operation of a pilot in vitro active genebank*. Report of a CIAT-IBPGR collaborative project using cassava (*Manihot esculenta* Crants) as a model. Cali, Colombia, IPGRI and CIAT.

**Keller, E.R.J.** 2005. Improvement of cryopreservation results in garlic using low temperature preculture and high-quality *in vitro* plantlets. *Cryo-Letters*, 26: 357-366.

**Leifert, C. & Cassells, A.C.** 2001. Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant*, 37: 133-138.

**Murashige, T. & Skoog, F.** 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.

**Normah, M.N., Kean, C.W., Vun, Y.L. & Mohamed-Hussein, Z.A.** 2011. *In vitro* conservation of Malaysian biodiversity - achievements, challenges and future directions. *In vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 47: 26-36.

**ProMusa.** [Website] (available at: [http://www.promusa.org/tiki-custom\\_home.php](http://www.promusa.org/tiki-custom_home.php)).

**Reed B.M., Engelmann, F., Dulloo, E. & Engels, J.M.M., eds.** 2004. *Technical guidelines for the management of field and in vitro germplasm collections*. Rome, IPGRI/FAO/SGRP-CGIAR.

**Senula, A. & Keller, E.R.J.** 2011. Cryopreservation of mint - routine application in a genebank, experience and problems. *Acta Hort.*, 908: 467-475.

**Van den Houwe, I. & Swennen, R.** 2000. Characterization and control of bacterial contaminants in *in vitro* cultures of banana (*Musa* spp.). *Acta Hort.*, 530: 69-79.

**Van den Houwe, I., Guns, J. & Swennen, R.** 1998. Bacterial contamination in *Musa* shoot tip cultures. *Acta Hort.*, 490: 485-492.

## 6.5 超低温保藏标准

### 标准

- 6.5.1 为超低温保藏所选择外植体应该尽可能质量最高,使得在切除和超低温保藏后向前发育。
- 6.5.2 低温存储程序的每一步应该逐个试验,并且在外植体的保留中将活力和生存力达到最佳。
- 6.5.3 应该建立能够抵消在切除和随后所有操作中产生的活性氧簇(ROS)危害效应的方法。
- 6.5.4 在恢复后,外植体应该按照标准消毒程序进行消毒。

### 背景

超低温保藏可使细胞和组织在液氮(LN,  $-196^{\circ}\text{C}$ )中无限期存储,此时代谢活动终止。任何超低温保藏四步是必需的: (i)选择、(ii)培养前处理<sup>1</sup>、(iii)超低温保藏技术、(iv)保存后恢复,以及(v)幼植或小苗建立。

应该建立低温操作程序以防止超低温保藏带来的危害,这可能包括低温防护、局部干燥、冷却、低温存储、再加温、再水化。超低温保藏程序

---

1 处理慢速外植体,使其在脱水/寒冷/结冰中得以驯化。



主要有两种类型：基于制冷诱导脱水的常规缓慢制冷；和瞬间冻结法(玻璃化)，包括冷却之前脱水(Engelmann 2011a)。

## 技术因素

### 外植体的选择

脱水速率以及细胞和组织如何均匀地干燥与样品大小有关，并且因为绝大多数顽拗型种子太大而不能快速和均匀干燥，它们不能整个进行超低温保藏。另外，含水量 $\geq 1.0 \text{ g g}^{-1}$ 的细胞在暴露到低温条件下不能生存。适当外植体的切下和培养是特别为了超低温保藏的操作。外植体应该尽可能小，但是要足够大可进行切下后的发育。外植体内较高的细胞/组织均匀性提高了超低温保护所有(或大多数)外植体细胞的机会，以及没有愈伤组织增殖情况下的更新能力。进行超低温保藏的外植体来自胚轴、茎尖、分生组织和胚胎组织。对顽拗型种子而言，切下的胚胎/胚轴是选择用于超低温保藏的外植体。在它们太大的情况下，不能承受所需要的脱水程度，易受到所有普通类型的表面感染的影响，和/或在培养条件下难以操作，在这种情况下，诸如枝条顶端分生组织的外植体是一个较好的选择。

对无性繁植物种而言，所选择的外植体为芽、茎尖、分生组织和胚胎组织。并不是所有类型的外植体遵从相似的超低温保藏过程，即使亲本物种在分类学上相对很近也是如此(Sershen *et al.* 2007)，并且需要确定除了物种还有每个基因型对超低温保护过程的反应。未完全发育的材料通常更易受到切除伤害；如此相似，不应该选择已经发育/萌发至可见根基突出(或胚胎其他部分)阶段的种子(Goveia *et al.* 2004)。

整个花药或分离的花粉粒也可进行超低温保藏。它们像种子一样代表了所遗传的遗传多样性，但是只是携带了雄性种质单位，它们通常只具有单倍体染色体(Ganeshan 2008; Rajashekaran 1994; Weatherhead *et al.* 1978)。当保存花粉时，需要把它置于明胶胶囊或纸袋中，或者包裹在纸条上，一些物种在存储之前花粉需要脱水。

要提取材料,在室温下将花药或花粉从胶囊、袋或条上脱落下来。花粉萌发的评估最好在发芽培养液中进行。存活率可以由花粉染色来试验,其结果与花粉萌发相关,尽管萌发率几乎总是较低。当一个物种的性态还未知时,需要授粉试验来确认种子的育性(Ganeshan *et al.*, 2008; Rajashekar *et al.*, 1994; Weatherhead *et al.*, 1978)。

可以使用有利于计算需要存储和恢复繁殖体数目的概率工具,其依赖于目标、超低温保藏后存活和其他参数(Dussert *et al.*, 2003)。

### 超低温保藏技术

重要的是切下的胚胎/胚轴需要有一个干燥时程,用来确定降低材料至适当含水量所需要的干燥时间。在任何前生长或超低温保藏处理之后都需要进行一个额外的干燥时程。

冷却至液氮(LN)温度的速率很重要,并且应该与外植体含水量相联系起来考虑。应该选择超低温保藏程序来确保含水量维持在一个范围内,不但可防止冷却和加温时细胞内形成结冰,而且也避免对亚细胞结构造成伤害。在要进行干燥的胚轴的含水量范围的高端冷却速率越快越好,因为小标本的快速冷却使其趋向于均匀并最小化利于冰晶形成温度的时段。胚胎/胚轴通常仅仅占很小一部分的种子质量和体积,并且适合快速干燥,由此适于解决与损伤相关的代谢问题。在另一方面,冷却速率对顽拗型种子(利用蒸发脱水)快速干燥至耐受低限并不是很重要。

基于控制速率制冷期间脱水的技术,在对来自温带物种的胚胎培养体和茎尖材料进行超低温保藏时得以应用(Engelmann 2011a)。对营养材料而言,不同物种外植体利用一个或多个程序进行的超低温保藏的实验方案和例子已有记载(Benson *et al.* 2007)。另外,有许多出版物是关于尖端、其他分生组织、胚胎组织和休眠芽的超低温保藏的,以及杂志《超低温保藏通讯》刊登了很多这样的文章。一旦为某个物种建立了一个成功的方案,储存一小段时间后,应该定期对从超低温保藏提取的样品进行测试。

大多数植物玻璃化实验草案利用超低温保护剂(通常为穿透和非穿透类型的混合)。蒸发脱水已经广泛应用于合子的胚胎/胚轴。尽管起初针对顶端和体细胞胚而建立,包围-脱水(encapsulation-dehydration)和称之为玻璃化的过程(利用各种植物玻璃化溶液[PVS])也在对来自种子的胚胎和胚轴进行超低温保藏时得以应用。一篇最近发表的综述(Engelmann 2011b)提供了利用PVS<sub>2</sub>为体细胞胚建立的所有玻璃化程序的信息。利用PVS<sub>2</sub>的玻璃化也用于范围广泛物种茎尖的超低温保藏,这些物种来自热带和温带原产地,其中前者包括了几种顽拗型种子的植物和无性繁殖植物。另一个常用的玻璃化溶液是PVS<sub>3</sub> (Nishizawa *et al.*, 1993), 不含DMSO, 因而在受DMSO伤害的物种中优先使用。最近建立的一系列替代的加样与玻璃化溶液,可以有效地用于超低温保藏那些对PVS<sub>2</sub>和PVS<sub>3</sub>敏感的材料(Kim *et al.* 2009a; Kim *et al.* 2009b)。

在顽拗型种子的胚胎和胚轴耐受脱水的低限,通常保留了一定比例的可结冰水。在慢速制冷或再温育时,可结冰水部分在大约-40° C和-80° C可产生冰晶。在~37° C到40° C再温育可阻止此种情况的发生,请注意从超低温保藏温度转移过来时要快速。

主要超低温保藏技术及其重要的所需参数如下:

- 控制速率制冷: 制冷保护剂的选择(很少是制冷保护剂的混合)、制冷速率的选择(为了避免细胞内结晶);
- 包围-脱水: 渗透性脱水时间与处理速率的确定、空气干燥时间的确定;
- 玻璃化: 玻璃化溶液种类和处理时间(其毒性的评估)的确定; PVS<sub>2</sub>应该在冰上使用。
- 小滴结冰: 玻璃化溶液种类和处理时间(其毒性的评估)的确定。

#### 从超低温保藏恢复

玻璃化的种质的再温育通常要采取两步,第一步是较慢,使得玻璃张弛,通常在室温下。随后是较快的再温育,在大约45° C下进行,以避免冰晶核(Benson *et al.* 2011)。

快速再温育时,由包围-脱水<sup>2</sup>处理的标本可以直接转移到恢复/发芽培养液,或者将含有藻酸盐珠的冻存管放在40°C水浴2-3分钟。可替代的是,通过转至液体培养基中~10分钟对藻酸盐珠进行再水化。已经表明去掉胶囊是有利的(Engelmann *et al.* 2008)。包围-脱水已经证明对很多物种的茎尖(Gonzalez and Engelmann 2006)、针叶树的体细胞胚(Engelmann 2011b)、一系列柑橘物种和品种,以及温带水果物种(Damiano *et al.* 2003; Damiano *et al.* 2007)是稳定和成功的。

为了在再温育时恢复细胞内的代谢活动,必须将有毒的超低温保护剂从细胞中去除,并且在细胞回到其正常作用温度时,正常的水平衡逐渐恢复。外植体经过脱水或超低温暴露后,恢复培养基的原始组成需要稍加改变。随着植物玻璃化溶液(PVS)的使用,在快速再温育后,需要一个稀释或解负荷步骤(去除有毒的PVS) (Sakai *et al.* 2008; Kim *et al.*, 2004)。

超低温保藏的所有步骤可能对生存不利,特别是温育和再水化伴有大量的活性氧(ROS)释放<sup>3</sup>(Whitaker *et al.* 2010; Berjak *et al.* 2011)。再温育和再水化培养液也应该理想化地缓解ROS的有害影响,但是必需要建立降低伴随切除而大量产生的ROS的方法(Whitaker *et al.* 2010; Berjak *et al.* 2011; Engelmann 2011a; Goveia *et al.* 2004)。以阴极水(氯化钙和氯化镁的电解稀释溶液)处理具有有效的抗氧化特性,可缓解马钱子(*Strychnos gerrardii*)顽拗型种子胚轴超低温保藏程序所有阶段的ROS的影响,并且促进枝条发育(Berjak *et al.* 2011)。这个处理的显著影响在含水储存期间胚胎/胚轴发育时更为突出,显示了种子发育状况的重要性。看起来用无毒性抗氧化的阴极水对胚轴的处理,既解释了先前胚轴产枝条失败的原因,又提供了抵消胁迫相关ROS释放的一种减缓方法。还有,切除胚胎/胚轴所用仪器能够加剧ROS产生。从这方面讲,使用皮下针比手术刀片可带来较小创伤(Benson *et al.* 2007)。二甲基亚砜(DMSO)为羟基自由基清除剂,作为培养前一步(完全切下分生组织残留之前)和作为去除后的处理,能促进枝条发育。其他抗氧化物质也用来减低ROS形成,例如抗坏血酸和生育

2 包围-脱水需要外植体在藻酸盐珠的胶囊中,并在富含蔗糖液体培养基上培养(生长前)达7d。随后,要对其脱水,可利用层流或快速干燥,或者通过暴露于活化硅胶,以此干燥外植体,使其含水量达 ~0.25 g g<sup>-1</sup> (20% wmb),并且最后快速冷却。

3 ROS 是高度活性分子,通常为自由基,可损害蛋白质、脂类和核苷酸。

酚(Chua and Normah 2011; Johnston *et al.* 2007; Uchendu *et al.* 2010)。植物材料的存活也能基于活植物细胞的酶活动进行评估(Mikula 2006)。

### 幼植和小苗的建立

一旦切下的胚胎/胚轴已经再温育,下一步是产生和建立幼植或小苗来完成更新周期。幼植和或小苗的建立需要两步:(i)体外培养建立和(ii)试管外建立和练苗或驯化。从超低温保藏恢复的材料起先必须引进到恢复培养液中和保持黑暗条件。在引进到体外培养中时,外植体表面需要消毒,并且以灭菌器材处理,并且所有过程在洁净层流中完成。在没有层流工作台(清洁操作台)的情况下,可以在一密闭的整个房间和空气都消毒过的干净房间内完成工作。胚胎和胚轴需要在黑暗中室温再水化30 min。在它们直接置于再温育培养液时,再水化应该在相同组成的溶液中。产生的幼苗每株生产一条根与一条茎,这是成功胚轴超低温保藏的一个测度。对无性生殖材料而言,当根出现时,超低温保藏被认为是成功的,其后可以或者栽种,或者进一步在微生境下繁育。

通过在黑暗中仔细培养一段时间(Touchell and Walters 2000),外植体通常应该置于常规生长房间内,光照和温度设定应该适合该物种与其原产地。体外萌发和幼植/小苗发育的光照和温度是需要精确调节的参数,可能需要通过几个培养阶段来转移外植体。重要的是,在体外培养的幼植和小苗在开始时要维持在高相对湿度(RH)下,然后逐渐降低。

试管外建立以及驯化基本上包括转自慢速生长培养的幼植/小苗或营养材料的超低温保藏,此营养材料从异养的体外条件转移至以无菌土壤为基础的培养液,在这种培养液中,会逐步建立自养条件。恢复培养液必须包含大型和微小营养物、必需的矿物质和碳源,但也可能需要添加生长调节因子。在准备期间,培养液必须高压灭菌,对热不稳定组分(如果需要)过滤除菌,且随后添加。不同物种的胚胎/胚轴的合适萌发培养液都基于MS(Murashige and Skoog 1962)。然而,MS营养培养液可能被利用了全强部、半强度或四分之一强度,这由首次操作特定物种的种子时外植体的反应表现出来。根据所要求的目标,从超低温保藏恢复的外植体为了驯化可直接生

长成幼植/小苗, 或者在驯化前存在一个扩繁殖阶段, 由此提供了生产所恢复种质足够数目拷贝的可能性。

## 意外情况

应该注意, 方案建立可能需要不止一个种质, 并且因种子可获得性的季节特性而延展两年或更长。

应该注意, 材料可以保存在液氮(LN)中, 也可保存在其上方的蒸气相中。蒸气相中的保存比起直接保存在液氮中费用高得多, 同时安全性也差些。即使一些微生物悬浮在液氮中, 并不肯定会污染样品, 因为样品在再温育时要在无菌条件下经受几道冲洗程序。即使孢子可能黏附在外植体表面, 微生物在液氮中无从进入它们, 因为所有这些过程在如此低温之下而终止。

切下的胚轴因其成熟状况而可能不萌发。因此, 所收集繁殖体需要含水保存, 并且定期取样检查切下的胚轴萌发与性能。在无论种子/繁殖体, 还是切下的胚胎/胚轴均不萌发的情况下, 材料可能是死亡或休眠了。进行四氯唑试验可以确定种子存活否。如果是这样, 那么可以假定是休眠, 应该进行打破休眠状况的研究。

大多数顽拗型种子物种的情况, 并不适合进行正常型种子物种的更新。如果超低温保藏的胚胎/胚轴质量下降而无法接受, 唯一的办法是从亲本种群重新取样, 并细化其过程。在胚胎/胚轴持续不适宜超低温保藏的情况下, 应该特别注意合适替代外植体和建立, 理想的情况是取自体外建立的幼植/小苗。

延长的体外培养或体外保存的材料可能不再适合用于提取超低温保藏的茎尖, 因为这种材料可能包含或已经聚集了隐蔽细菌(内寄生菌), 在从超低温保藏恢复时会爆发, 由此会全面阻碍超低温保藏。有这样的情况, 来自长期体外维持培养来源的材料的外植体(例如结节部分)过度含水。如此情形之下, 来源材料应该重新进行培养。



被感染的培养应该立即从生长室移走并销毁。最具毁灭性的可能发生的情况是生长室被螨感染。在移走所有出现“螨痕迹”的培养体后，需要对所有器具进行消毒。随后对剩余的每个培养管进行检查，移走并销毁任何显示螨存在的管(透过Parafilm™取食，并从一感染培养向至其他培养传播真菌孢子)。

在超低温保藏容器或液氮冷冻剂中液氮的耗尽会导致所有样品不可逆转的损失。如果没有及时检查到生长室中温度控制系统的电子或其他失效，能导致过热，并随之会造成体外培养材料的损失。

### 有关参考文献

**Benson, E.E. & Bremner, D.** 2004. Oxidative stress in the frozen plant: a free radical point of view. In B.J. Fuller, N. Lane & E.E. Benson, eds. *Life in the frozen state*, pp. 205-241. Boca Raton, Florida, USA, CRC Press.

**Benson, E.E., Harding, K. & Johnston, J.W.** 2007. Cryopreservation of shoot-tips and meristems. In J.G. Day & G. Stacey, eds. *Methods in molecular biology* vol. 368. *Cryopreservation and freeze drying protocols*. 2nd edition, pp. 163-184. Totowa, New Jersey, USA, Humana Press.

- Benson, E.E., Harding, K., Debouck, D., Dumet, D., Escobar, R., Mafra, G., Panis, B., Panta, A., Tay, D., Van den Houwe, I. & Roux, N. 2011. *Refinement and standardization of storage procedures for clonal crops - Global Public Goods Phase 2: Part I. Project landscape and general status of clonal crop in vitro conservation technologies*. Rome, SGRP-CGIAR.
- Berjak, P., Seršen, Varghese, B. & Pammenter, N.W. 2011. Cathodic amelioration of the adverse effects of oxidative stress accompanying procedures necessary for cryopreservation of embryonic axes of recalcitrant-seeded species. *Seed Science Research*, 21: 187-203.
- Chua, S.P. & Normah, M.N. 2011. Effect of preculture, PVS2, and vitamin C on survival of recalcitrant *Nephelium ramboutan* Ake shoot tips after cryopreservation by vitrification. *Cryo Letters*, 32: 596-515.
- Damiano, C., Arias Padró, M. D. & Frattarelli, A. 2007. Cryopreservation of some Mediterranean small fruit plants. *Acta Horticulturae*, 760: 187-194.
- Damiano, C., Frattarelli, A., Shatnawi, M.A., Wu, Y., Forni, C. & Engelmann, F. 2003. Cryopreservation of temperate fruit species: quality of plant materials and methodologies for gene bank creation. *Acta Horticulturae*, 623: 193-200.
- Dussert, S., Engelmann, F. & Noirot, M. 2003. Development of probabilistic tools to assist in the establishment and management of cryopreserved plant germplasm collections. *CryoLetters*, 24: 149-160.
- Engelmann, F. 2011a. Germplasm collection, storage and preservation. In A. Altman & P.M. Hazegawa, eds. *Plant biotechnology and agriculture - prospects for the 21st century*, pp. 255-268. Oxford, UK, Academic Press.
- Engelmann, F. 2011b. Cryopreservation of embryos: an overview. In T.A. Thorpe & E.C. Yeung, eds. *Plant embryo culture methods and protocols. Methods in molecular biology*, Vol. 710, Springer Science+Business Media, LLC.
- Engelmann, F., González-Arno, M.T., Wu, Y., & Escobar, R. 2008. The development of encapsulation dehydration. In B.M. Reed, ed. *Plant cryopreservation. A practical guide*, pp. 59-75. New York, USA, Springer.
- Ganeshan, S., Rajasekharan, P.E., Shashikumar, S. & Decruze, W. 2008. Cryopreservation of pollen. In B.M. Reed, ed. *Plant cryopreservation. A practical guide*. pp. 443-464. New York, USA, Springer.
- González Arno, M.T. & Engelmann, F. 2006. Cryopreservation of plant germplasm using the encapsulation-dehydration technique: review and case study on sugarcane. *Cryo Letters*, 27: 155-168.
- Goveia, M., Kioko, J.I. & Berjak, P. 2004. Developmental status is a critical factor in the selection of excised recalcitrant axes as explants for cryopreservation: A study of *Trichilia dregeana* Sond. *Seed Science Research*, 14: 241-248.
- Johnston, J., W. Harding, K. & Benson, E.E. 2007. Antioxidant status and genotypic tolerance of *Ribes in vitro* cultures to cryopreservation. *Plant Sci.*, 172: 524-534.



- Kim, H.H., Cho, E.G., Baek, H.J., Kim, C.Y., Keller, E.R.J. & Engelmann, F. 2004. Cryopreservation of garlic shoot tips by vitrification: Effects of dehydration, rewarming, unloading and regrowth conditions. *Cryo Letters*, 25: 59-70.
- Kim, H.H., Lee, Y.G., Shin, D.J., Kim, T., Cho, E.G. & Engelmann, F. 2009a. Development of alternative plant vitrification solutions in droplet-vitrification procedures. *Cryo Letters*, 30: 320-334.
- Kim, H.H., Lee, Y.G., Ko, H.C., Park, S.U., Gwag, J.G., Cho, E.G. & Engelmann, F. 2009b. Development of alternative loading solutions in droplet-vitrification procedures. *Cryo Letters*, 30: 291-299.
- Mikula, A., Niedzielski, M. & Rybczyński, J.J. 2006. The use of TTC reduction assay for assessment of *Gentiana* spp. cell suspension viability after cryopreservation. *Acta Physiologiae Plantarum*, 28: 315-324.
- Murashige, T. & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.
- Nishizawa, S., Sakai, A., Amano, Y. & Matsuzawa, T. 1993. Cryopreservation of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) embryogenic suspension cells and subsequent plant regeneration by vitrification. *Plant Sci.*, 91: 67-73.
- Rajasekharan, P.E., Rao, T.M., Janakiram, T. & Ganeshan, S. 1994. Freeze preservation of gladiolus pollen. *Euphytica*, 80: 105-109.
- Reed, B.M., ed. 2008. *Plant cryopreservation. A practical guide*. New York, USA, Springer.
- Sakai, A., Hirai, D. & Niino, T. 2008. Development of PVS-based vitrification and encapsulation-vitrification protocols. In B.M. Reed, ed. *Plant cryopreservation. A practical guide*, pp. 33-57. New York, USA, Springer.
- Sershen, Berjak, P., Pammenter, N.W. & Wesley-Smith, J. 2011. Rate of dehydration, state of subcellular organisation and nature of cryoprotection are critical factors contributing to the variable success of cryopreservation: studies on recalcitrant zygotic embryos of *Haemanthus montanus*. *Protoplasma*, 249(1): 171-86.
- Sershen, Pammenter, N.W., Berjak, P. & Wesley-Smith, J. 2007. Cryopreservation of embryonic axes of selected amaryllid species. *Cryo Letters*, 28: 387-399.
- Shatnawi, M.A., Engelmann, F., Frattarelli, A. & Damiano, C. 1999. Cryopreservation of apices of *in vitro* plantlets of almond (*Prunus dulcis* Mill.). *Cryo Letters*, 20: 13-20.
- Touchell, D. & Walters, C. 2000. Recovery of embryos of *Zizania palustris* following exposure to liquid nitrogen. *Cryo Letters*, 21: 26-270.
- Uchendu, E.E., Leonard, S.W., Traber, M.G. & Reed, B.M. 2010. Vitamins C and E improve regrowth and reduce lipid peroxidation of blackberry shoot tips following cryopreservation. *Plant Cell Rep.*, 29: 25-35.
- Weatherhead, M.A., Grout, B.W.W. & Henshaw, G.G. 1978. Advantages of storage of potato pollen in liquid nitrogen. *Potato Res.*, 21: 331-334.
- Whitaker, C., Beckett, R.P., Minibayeva, F. & Kranner, I. 2010. Production of reactive oxygen species in excised, desiccated and cryopreserved explants of *Trichilia dregeana* Sond. *South African Journal of Botany*, 76: 112-118.

## 6.6 记录标准

### 标准

- 6.6.1 所有种质的护照数据应该利用FAO/Bioversity多种作物护照叙词进行存档。
- 6.6.2 种质库中产生的管理数据和信息应该记录在合适的数据库中,在记录时应该包括描述和评估数据(C/E数据)。
- 6.6.3 来自6.6.1和6.6.2的数据应该保存在合适的数据库系统中,并随时更新,数据管理采用国际数据标准。

### 背景

种质的广泛信息对种质库管理非常关键。护照数据是最低限度,但是额外的信息全部非常有用,除了材料的描述数据和评估数据外,还包括收集地点的地理数据(GPS坐标值)和环境数据(气候图和土壤图)和历史信息。

## 技术因素

由于信息技术的进步,现在对有关种质信息的记录、管理和分享相对简单。所有种质库应该利用可兼容数据存储与检索系统。FAO/Bioversity多种作物基本资料叙词(Alercia *et al.*, 2012)有利于数据交换,所有种质库应该使用。

描述和评估数据由使用者产生,其对种质库管理其种质有用(Filer, 2011)并能促进对种质的连续使用。推荐种质库请求反馈以获得这些数据。

管理数据应该尽可能完善,确保有效的种质管理。多数管理数据仅供管理者内部使用,对种质使用者和/或接收种质库等其他方的价值有限或没有价值。因此,管理数据应该仅限于种质持有者使用;一系列种质历史、生活型和可获得性等数据可提取出来为公众使用。除了种质的关键数据(护照和描述数据),它们还应该包括以下:

- 历史(获得日期、初始数目、数目改变的日期、分类学鉴定、鉴定材料的专家名字、在田间或温室任何供体材料的培育、从这种供者材料提取体外和超低温保藏材料的方式);
- 保存类型(体外或超低温保藏,或者顽拗型种子的含水保存);
- 存储材料的地点(培育室、具体放置支架和盒子的低温箱);
- 将种质分成几部分(材料按亚无性系分开、几个超低温保藏批次、保藏管数目);
- 安全备份(备份日期、备份设置的研究机构/国家、那里的负责人、备份协议文件的参考文献);
- 体外培养和/或超低温保藏所采用程序的参考文献;
- 培养管的标记(颜色代码、条码)。应该使用耐液氮标签,如有需要,可以缠绕已经冻结的冻存管。

## 意外情况

记录的未完成或丢失降低了种质的价值,甚至到了无法使用的程度。不合适的材料(例如不耐液氮的标记)能导致数据的丢失。对于大的种质收集,工人的技能成为一个非常重要的因素。不当数据输入的风险必须明确标明。在复杂种质中,应该仅限于相关责任人才能动态接触管理数据。

## 有关参考文献

**Alercia, A., Diulgheroff, S. & Mackay, M.** 2012. FAO/Bioversity *Multi-Crop Passport Descriptors* (MCPD V.2). Rome, FAO and Bioversity International (available at: [http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx\\_news/1526.pdf](http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx_news/1526.pdf)).

**Filer, D.L.** 2012. BRAHMS Version 7.0. Department of Plant Sciences, University of Oxford, UK (available on <http://herbaria.plants.ox.ac.uk/bol/>).

**USDA, ARS, Bioversity International, Global Crop Diversity Trust.** GRIN-Global. Germplasm Resource Information Network Database - Version 1 (available at: [http://www.grin-global.org/index.php/Main\\_Page](http://www.grin-global.org/index.php/Main_Page)).

## 6.7 分发与交换标准

### 标准

- 6.7.1 所有种质的分发应该遵守国家法律和相关国际协定。
- 6.7.2 所有样品应该伴随一整套由供者和接收国家要求的相关文件。
- 6.7.3 供者和接收者应该建立转移材料的条件, 并且应该确保从体外/超低温保藏材料恰当建立植物。

### 背景

种质分发是为响应种质使用者的要求而提供种质库种质的代表性样品。为迎接一系列的挑战, 对遗传资源的需求持续增加, 这些挑战来自气候变化、主要害虫和疾病的毒力范围的变化、入侵的外来种, 以及其他终端用户需求。这种遗传资源的需求已经导致对使用来自种质库种质的重要性的广泛认可, 这最终决定了种质分发。重要的是跨境种质分发要遵守与植物检疫规章相关的国际规定和标准, 符合相关生物多样性公约和植物遗传资源的国际条约的相关条款。

## 技术因素

管理获取遗传资源的两个国际文书是国际粮农植物遗传资源条约 (ITPGRFA) 和生物多样性公约 (CBD)。ITPGRFA 促进对粮农植物遗传资源 (PGRFA) 的使用, 并且提供其利用中的利益共享。它已经为 64 种食品和饲料作物 (通常参考条约的附录 1 作物) 建立了一个 PGRFA 多边系统, 并辅以 SMTA 来分发。然而 SMTA 也能为条约附录 1 作物以外的物种使用, 还可以使用其他模式。在 CBD 框架下的获取与利益共享是根据名古屋议定书。ITPGRFA 和 CBD 均强调在促进获取和公平合理的利益共享中保护和可持续利用的紧密联系。

所有种质除了护照数据信息外, 应该附有所需要的文件记录, 诸如植物检疫证和进口许可证。进口国的最终目的和最新植物检疫进口要求 (在许多国家, 规定经常改变) 应该在每次运输前进行核对。种质转运应该认真计划, 向国家授权研究机构咨询合适的文件, 诸如遵从进口国要求的官方植物检疫证。种质的接收方应该为供给种质库提供关于植物材料进口所需要文件的信息, 这些记录包括植物检疫需求。

大多数顽拗型种子物种是寿命长的多年生植物, 直到生长几年后才能繁殖。由此, 更新并不是一个快速增大样品大小满足需要的途径。如果样品是体外外植体的形式, 那么在生产独立小苗之前的扩繁是可能的, 必须提前提出此要求。

种质应该以良好状况到达目的地, 因此应该将在运输和通过海关的不利环境条件降至最低。建议使用一个可信的具有与海关打交道经验的快递公司。在收到种质需求与种质分送出去之间的时间跨度应该保持最小, 以此增加种质库的功能效率。如果种质处于超低温保藏状态, 并且需要转运至另一个种质库, 在那里需要继续超低温保藏, 样品需要在液氮中运输。

如果样品在收到后立即生长, 在分送出去前它可以再温育、再水化和包围在藻酸钙珠中。这样的人工种子起始为体细胞胚而建立, 但是再温育和再水化的超低温保藏的切下的胚胎/胚轴能够在 16°C 维持良好状态至少

10天而不会开始发芽(根生突出)。人工种子的萌发及其幼植/小苗的建立是可能的,在体外和无菌幼苗混合中均如此。来自超低温保藏的其他小外植体也是一种选择,但是仅仅在个别情况下才能用。

取自体外慢速生长保存或超低温保藏的小苗应该在合适的容器中转运。体外/超低温保藏材料的接收者需要具有将材料转至花盆或田间的可能性,并能够为此做出安排。

建议使用含有特殊通气区的无菌塑料袋来转运体外小苗。如果使用了玻璃,应该确保足够的容器垫料和易碎声明。在玻璃和塑料管的情况下也应该标明容器的正确放置方向。

## 意外情况

不当操作,包括不合适包装或运输拖延,会导致生存力的损失和材料的丢失。由此,非常重要的一项是供给者和接收者已经建立了一个条件,在此条件下,材料可转运,并确保恰当的植物再建立的前提条件。

## 有关参考文献

Rao, N.K., Hanson, J., Dulloo, M.E., Ghosh, K., Nowell, D. & Larinde, M. 2006. Germplasm distribution. In *Manual of seed handling in genebanks*. Handbooks for Genebanks No. 8. Rome, Bioversity International.

## 6.8 安全与安全备份标准

### 标准

- 6.8.1 风险管理策略应该按需求建立和更新,表明了标准中确认的物理和生物风险,包括诸如火灾、水灾和停电的问题。
- 6.8.2 种质库应该遵循当地的职业安全和健康的要求和协议。种质库的超低温保藏部分遵从与液氮使用相联系的所有安全预防措施。
- 6.8.3 种质库聘任必要的工作人员来完成所有日常工作,以此确保种质库可获取、保存和分发种质。
- 6.8.4 每一个种质的安全备份样品应该保存在地理上较远、尽可能最好条件下的种质库。
- 6.8.5 安全备份样品应该附有相关记录。

### 背景

极为重要的是任何种质库其物理基础结构及其工作人员一同受到保护,以此确保其所保存种质在任何外部威胁因素下是安全的。为了成功地管理种质,种质库也需要熟练与受训人员。管理不但涉及种质与其数据的维护,而且还涉及了对来自人类活动或自然导致的风险的评估。在使用液氮时还具有特殊危险。





种质的物理安全也需要在地理上较远地点的种质库在相同条件下建立安全备份。在自然/物理灾难(火灾、水灾)情况下,这种备份可能用来重建种质。除了样品本身,安全备份涉及信息备份,这意指数据库备份。

## 技术因素

种质库应该实施和改善系统风险管理,处理日常环境中的物理和生物风险。应该具有合适的书面风险管理行动策略,在有关种质与其相关数据的种质库中发生任何紧急情况任何时候可以依靠。考虑到变化的环境和新技术,这个策略与其伴随行动计划应该经常加以评论和更新,并在其种质库工作人员间广为散发。

工作人员的健康与安全也应该予以考虑。超低温保藏区应该通风良好,具有排风设备,氧气监测器也需要安装。液氮泄露至冻存管具有潜在

的危险性；因此应该使用为此设计的特殊容器，并且必须严格附有产品说明书。为了减小个人伤害的风险，操作者应该穿着防护服、手套和面罩。

液氮必须持续供给，维持保存容器中液氮水平非常重要。超低温保存容器应该置于合适的位置：通风良好和温度在50° C以下。存储容器的液氮水平绝对不可忽视；如果所有液氮蒸发，那么存储容器中的所有材料必须丢弃。

为了维持样品的存活率，组织保存温度必须维持在玻璃化温度<sup>1</sup> 以下。当从超低温保藏的容器中取出冻存管时，应该倍加小心，使得冻存管温度维持在玻璃化温度以下。冻存管不能以常规黏合标签标记，因为在液氮温度下会脱落。利用专用计算机操作标签打印机可以打印特殊超低温保存标签，记录有信息和特有条码。应该附有厂商建议，说明哪种冻存管适合哪个特殊用途。

主动种质库管理需要训练良好的工作人员，并且重要的是将责任合理地分配给有能力的聘任人员。因此，种质库应当有一个人事及相应预算的计划或策略，以便保证可以有最基本的经过培训的人员来履行职责，确保种质库能够根据标准获得、保存和分发种质资源。最好能够获得广泛领域的学科和技术专家的指导。工作人员应该通过资格培训和/或岗位培训获得足够的培训，并且培训由工作需要来决定。

为了种质的物理安全，需要在地理上较远地点的种质库在相同条件下建立安全备份。在自然/物理灾难(火灾、水灾)情况下，这种备份可能用来重建种质。备份种质库应该位于在政治上和地理上稳定的地方，并且位于一定海拔高度，海平面上升不会成为一个问题。安全备份的存储条件应该尽量与初始种质库一样好。

安全备份需要一个在寄存方和保存种质库之间签署的合法协议。后者没有使用和分发种质的权利。种质的利用应该加以控制，以避免非法使用。

---

1 在最为常用的超低温保护剂溶液中的一种，PVS2中，其玻璃化温度大约为-115° C。

安全备份的样品应该以与原始种质相同的方式进行准备。确保安全备份质量良好是寄存方的责任。为了阻止转运至接收种质库时的变质，超低温保藏的样品应该在液氮保存下发送，而且转移越快越好。

## 意外情况

在没有合适受训人员，或者存在时间或其他限制时，其解决办法可包括外包一些种质库工作或向其他种质库求助。

未经授权进入种质库设施可导致材料的损失，为种质带来引入害虫和疾病的危险。

液氮容器通常被真菌和细菌污染。如果样品保存在氮气液体相中，会发生样品污染。

如果样品在转运中品质下降，则会产生责任问题。因此，所有可能性应该附加到委托协议中。

## 有关参考文献

**Benson, E.E.** 2008. Cryopreservation of phytodiversity: a critical appraisal of theory and practice. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 27: 141-219.

**Volk, G.M. & Walters, C.** 2006. Plant vitrification solution 2 lowers water content and alters freezing behaviour in shoot tips during cryoprotection. *Cryobiology*, 52: 48-61.



## 附件1： 缩略语表

AFLP	扩增片段长度多态性
BRAHMS	植物研究与标本室管理系统
CBD	生物多样性公约
CGRFA	粮农遗传资源委员会
DMSO	二甲基亚砷
DNA	脱氧核糖核酸
ELISA	酶联免疫吸附测定
ENSCONET	欧洲本地种子保护网络
EST-SSR	表达序列标签-简单重复序列
FAO	粮农组织
GBS	序列测定分型基因型
GPS	全球定位系统
GRIN	种质资源信息网
GWS	全基因组选择
ICIS	国际作物信息系统
IPPC	国际植物保护公约
ITPGRFA	粮农作物遗传资源国际条约
IPGRI	国际植物遗传资源研究所（目前称为“国际生物多样性中心”）
ISTA	国际种子检验协会

LN	液氮
MS	Murashige and Skoog营养培养基
MSB Kew	邱园千年种子库
MTA	材料转让协定
NaOCl	次氯酸钠
Ne	有效群体大小
NPGS	国家植物种质系统
PGRFA	粮农植物遗传资源
PVS	植物玻璃化溶液
OIV	葡萄与葡萄酒国际组织
OSH	职业安全和保健
RAPD	随机扩增多态性
RFID	射频识别
RFLP	限制性片段长度多态性
RH	相对湿度
ROS	活性氧簇
SID	种子信息数据库
SMTA	标准材料转让协定
SNP	单核苷酸多态性
SOPS	标准化操作规程
SSR	简单重复序列
USDA	美国农业部
UPOV	保护植物新品种国际协会
WTO/SPS	世界贸易组织/实施卫生和植物卫生措施协定

## 附件 2: 词汇

**种质 (Accession):** 种子中不同的惟一标识的样品, 代表一个栽培品种、繁育系或一个种群, 保存在种质库中的目的为保育和利用。

**新到编号 (Accession number):** 在一种质进入种质库时由保管员指定的惟一标识号码。此号码应该不再指定其他种质。

**有源种质 (Active collection):** 用于更新、繁殖、分发、描述和评价的种质。有源种质维护在在中短期保藏中, 其基础种质中的备份通常维护在中长期保藏中。

**条码 (Barcode):** 一个为识别种质而在标签上使用一个打印图形或条形的计算机编码系统。条码由光学扫描打印图形进行读码, 再利用计算机程序对图形进行解码。

**描述 (Characterization):** 容易看见和在所有环境中可表达的高度遗传的特征记录。

**收集 (Collection):** 在限定条件下为特定目的而维护的一些种质资源。

**超低温保藏 (Cryopreservation or Cryo-storage):** 在液氮(-196° C)或其上方蒸气相(最高 -140° C)中植物器官的保存。在种质库中, 它用以保存芽、茎尖、其他分生组织和胚胎组织、顽拗种子的外植体和(在特殊情况下)整个正常型种子、花粉和体细胞胚。在大多数情况下, 涉及了在存储前和/或存储后的体外培养阶段。

**花粉的超低温保藏 (Cryopreservation of pollen):** 在一些植物科中花粉粒可能是目标。如同种子那样,有物种具有“正常型”花粉,而具有“顽拗”性态。在超低温保藏前花粉可能需要脱水,但是一些物种的花粉容易保存而不需要事先处理。要从所保存花粉样本进行更新,需要有一杂交伙伴通过种子结实和萌发来获取最终所要求的植物材料。

**数据库 (Database):** 为某特定目的而组织的互相关联数据的组合,一般保持在一种或多种存储媒介中。

**叙词 (Descriptor):** 在种质中所观察的可识别和可测量的性状和特征或标志,用来促进数据分类、存储、检索和应用。

**叙词表,系索词表 (Descriptor list):** 一特定作物或物种的所有单个叙词的收集。

**分发 (Distribution):** 向繁育者或其他使用者供给种质样本的过程。

**记录 (Documentation):** 对描述结构、目的、操作、维持以及数据需求的记录的有组织收集。

**供者 (Donor):** 供给种质的机构或个人。

**休眠 (Dormancy):** 某些生活种子即使在正常合适条件下也不萌发的状态。

**平衡含水量 (Equilibrium moisture content):** 种子中与周边空气相对湿度处于平衡状态的含水量。

**评估 (Evaluation):** 对那些表达通常受环境因素影响的特征的记录。

**迁地保护 (Ex situ conservation):** 在其自然栖息地以外的生物多样性保护。在植物遗传资源这种情况下,这可能在种质库、体外种质库或田间种质库中的活体收集。

**田间 (Field):** 具有确定界限的土地样方,其内生长农产品。

**种质库 (Genebank):** 为延长其寿命而在合适条件下保护遗传资源的中心。

**遗传多样性 (Genetic diversity):** 可以产生不同特征的遗传性状的变异。



**遗传漂变 (Genetic drift):** 当一个种群个体数目降低至其某等位基因的频率以下时的遗传组成的变化。

**基因型 (Genotype):** 个体植物或生物的遗传组成。

**种质资源 (Germplasm):** 形成遗传性物理基础的遗传材料, 通过繁殖细胞从一代传递到下一代。

**萌发 (Germination):** 导致从种子发育成幼苗的生物过程。胚根出现是萌发的第一个可见迹象, 但随后可能没有进一步生长或者异常发育。根据ISTA规定, 只有那些显示正常形态学的幼苗才被认定为已经萌发。

**发芽试验 (Germination testing):** 决定在特定一系列条件下具萌发能力的种子的比例的一个过程。

**体外培养 (In vitro culture):** 在玻璃或塑料容器中人工营养培养基上进行的植物器官或整个植物的栽培。无性繁殖作物的体外培养包括几个选项, 如微细增殖、通过分生组织培养慢速生长保存进行的病毒去除。体外培养除了用在超低温保藏后的恢复阶段, 还用在超低温保藏的准备阶段 (也见慢速生长储存)。

**等湿线 (Isotherm):** 表明在种子含湿量和相对湿度百分比之间关系的图形。

**地方品种 (Landrace):** 经过许多年由农民进行的选择而进化成的作物栽培品种, 特别适应于当地环境; 地方品种通常在遗传上属于异质的。

**长期保存 (Long-term conservation):** 种质的长期保存, 诸如基础种质和备份种质。在种子需要更新前的保存期限变化各异, 但至少几十年, 还可能一百年或更长。长期保存在温度 $0^{\circ}\text{C}$ 以下进行。

**中期保存 (Medium-term conservation):** 种质的中期保存, 诸如有源种质和工作种质; 通常假定大约10年生存力会发生少许损失。中期保存在温度 $0^{\circ}\text{C}$ 和 $10^{\circ}\text{C}$ 之间进行。

**含湿量 (Moisture content (wet-weight basis)):** 含水重量除以含水量和干物质重量之和, 以百分比表示。

**监测 (Monitoring):** 为生存力和质量对种质进行的周期性检查。

**监测间隔 (Monitoring interval):** 在监测检验之间的存储间期。

**最原始样品 (MOS) (Most original sample (MOS)):** 种质库所要求的更新次数最少的种子样品, 建议作为基础种质而保存。它可能是原始种子的一小部分, 或者如果在保存前初始种子需要更新的话, 是第一次更新的种子样品。

**扩繁 (Multiplication):** 为了分发, 种质的代表样本生长用来增大所保存材料的数量。

**正常型种子 (Orthodox seeds):** 为提高种子寿命而可以干燥至低含水量并且在低温下保存而不会造成危害的种子。

**病原体 (Pathogen):** 可在一另外生物导致疾病的活的微生物, 诸如病毒、细菌或真菌。

**护照数据 (Passport data):** 有助于种质识别的关于种质来源的基本信息, 诸如采集时记录的细节、谱系或其他相关信息的细节。

**谱系 (Pedigree):** 一个遗传系或变种的血统记录。

**表型 (Phenotype):** 遗传组成 (基因型) 与环境相互作用而产生的植物外在表现。

**植物检疫 (Phytosanitary):** 与植物的检疫有关。

**植物检疫证 (Phytosanitary certificate):** 由政府植物健康部门签发的用以证明种子材料实质上无害虫和疾病的证书。

**传粉 (Pollination):** 花粉通过诸如风、昆虫、蝙蝠等媒介或花的开放从花药转移到可接收柱头的过程。

**种群 (Population):** 栖息于某一地理区域并具有共同性状的一组植物或动物个体。

**繁殖体 (Propagule):** 无论通过有性繁殖还是无性繁殖具有产生新植株能力的任何结构。这包括种子、孢子, 以及如果从亲体分离可独立生长的植物身体的任何部分。

**检疫 (Quarantine):** 为确保种质没有携带对进口国有害的疾病或害虫而根据植物检疫条例而对引进种质进行的官方控制

**随机样本 (Random sample):** 从一大群个体中随机抽取的样本。

**顽拗型种子 (Recalcitrant seed):** 不能耐受干燥的种子; 在其发育后期不会变干, 脱落时含水量范围为0.3-4.0 g g<sup>-1</sup>。水损失会立即导致活力和生存力的下降, 种子死亡时的含水量也相对较高。

**更新 (Regeneration):** 种子种质的生长获得具更高活力和更多数目的鲜种子。

**更新标准 (Regeneration standard):** 一种质的种子活力比率, 处于或低于此比例下, 种质必须更新产生新的种子。

**相对湿度 (Relative humidity)(RH):** 在某一温度下空气中的当前含水量占最大可能含水量的量度, 以百分比表示。它与绝对湿度不同, 后者为单位体积空气的水蒸气含量, 通常以千克每立方米表示。

**安全备份 (Safety duplication):** 长期存贮在相似条件下的基础种质的备份, 但为预防基础种质的意外损失而需要设定在在不同的地点。

**样本 (Sample):** 用以评价整体特征的总体的一部分。

**硅胶 (Silica gel):** 可从其环境吸收水分并通过加热可蒸发掉的一种惰性化学物质。

**种子 (生) 活力 (Seed viability):** 在理想条件下种子的萌发能力。

**体外慢速生长保存 (Slow-growth storage *in vitro*):** 在减低植物发育速度的条件下保存植物器官或这个植物, 以降低需要的人工投入和转运频次以及随之而发生的最终会威胁遗传稳定性的感染和胁迫风险。降低发育速度的主要方法是降低温度, 合适的温度因种而异。在一亚培养阶段结束后需要转移至新的培养基, 扩繁殖这一步可有可无, 有时因为重新建立而需要温暖培养阶段。

**吸附等湿线 (Sorption isotherm):** 见等湿线。

**储存寿命 (Storage life):** 在死亡发生前种子能够储藏的年数。

**四唑测试法 (Tetrazolium test):** 将潮湿种子浸入氯化三苯四唑中进行的生存力检验。

**性状 (Trait):** 一个基因或一组基因与环境发生相互作用而产生的可识别特性。

**生活力检验 (Viability test):** 为了评价整个种质的生存力而对来自种质种子的样品进行的检验。

**变种 (Variety):** 物种的一个可识别分化, 在分类地位上低于亚种 ; 根据花的颜色、叶的颜色和成熟植物大小等特征来加以鉴别。此术语认为与栽培品种同义。

# 图片来源

## 封面:

图片素材来自粮农组织媒体库和其他网络资源

## 内页:

- v © FAO/M. Uz Zaman
- vii © nkzs - adapted from [www.sxc.hu/photo/1239768](http://www.sxc.hu/photo/1239768)
- ix © lazysheep1 - [www.sxc.hu/photo/566617](http://www.sxc.hu/photo/566617)
- 1 © Linn Borgen Nilsen
- 2 © FAO/M. Uz Zaman
- 7 © FAO/G. Napolitano
- 8 © FAO/G. Napolitano
- 13 © chesnutt - [www.sxc.hu/photo/1187030](http://www.sxc.hu/photo/1187030)
- 15 © johnnyberg - [www.sxc.hu/photo/1379733](http://www.sxc.hu/photo/1379733)
- 17 © FAO/G. Napolitano
- 21 © CIAT/Neil Palmer
- 26 © CIAT/Neil Palmer
- 28 © gokoroko - [www.sxc.hu/photo/298008](http://www.sxc.hu/photo/298008)
- 35 © iliana - [www.sxc.hu/photo/107131](http://www.sxc.hu/photo/107131)
- 47 © FAO/P. Thekiso
- 54 © FAO/P. Thekiso
- 65 © Linn Borgen Nilsen
- 72 © FAO/O. Asselin
- 79 © FAO/G. Thomas
- 83 © alainap - [www.sxc.hu/photo/922348](http://www.sxc.hu/photo/922348)
- 99 © FAO/G. Napolitano
- 106 © FAO/D. Dennis
- 111 © Ayla87 - [www.sxc.hu/photo/757027](http://www.sxc.hu/photo/757027)
- 115 © FAO/G. Napolitano
- 116 © Linn Borgen Nilsen
- 146 © FAO/G. Bizzarri
- 156 © Global Crop Diversity Trust (GCDT)/Cary Fowler
- 159 Adapted from: [www.az-cactus-for-sale.com/seeds-for-sale/Bottle-Tree-Seeds-For-Sale.htm](http://www.az-cactus-for-sale.com/seeds-for-sale/Bottle-Tree-Seeds-For-Sale.htm)
- 168 © brokenarts - [www.sxc.hu/photo/211551](http://www.sxc.hu/photo/211551)



管理良好的种质库可以在保护遗传多样性的同时让繁育者得以利用。《粮食和农业植物遗传资源种质库标准》制订了为保护植物遗传资源而需要遵守的程序。这些自愿性标准为当今的科学技术最佳规范设置了基准,并对植物遗传资源的保护和利用方面的重要国际文书提供了支持。