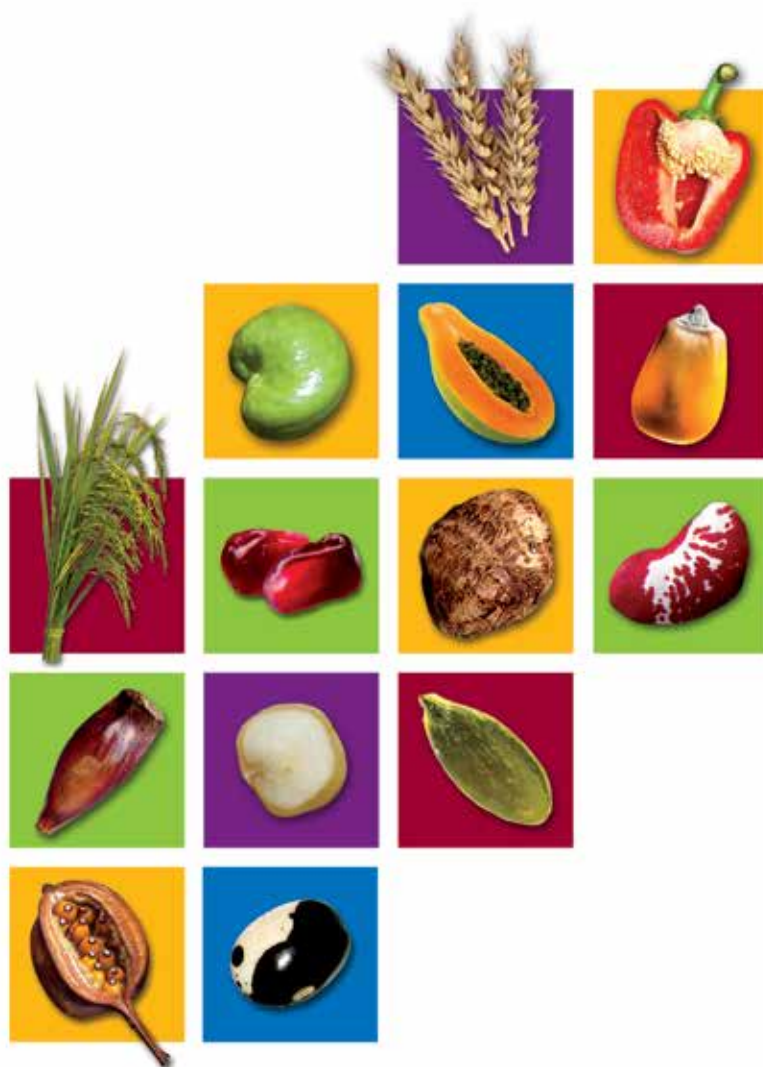


# Стандарты генных банков для генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства



КОМИССИЯ ПО  
ГЕНЕТИЧЕСКИМ РЕСУРСАМ ДЛЯ  
ПРОИЗВОДСТВА ПРОДОВОЛЬСТВИЯ И  
ВЕДЕНИЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА



# **Стандарты генных банков**

для генетических ресурсов  
растений для производства  
продовольствия и ведения  
сельского хозяйства

Издание второе, исправленное и дополненное, 2015 год

Используемые обозначения и представление материала в настоящем информационном продукте не означают выражения какого-либо мнения со стороны Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций относительно правового статуса или уровня развития той или иной страны, территории, города или района, или их властей, или относительно делимитации их границ или рубежей. Упоминание конкретных компаний или продуктов определенных производителей, независимо от того, запатентованы они или нет, не означает, что ФАО одобряет или рекомендует их, отдавая им предпочтение перед другими компаниями или продуктами аналогичного характера, которые в тексте не упоминаются.

Мнения, выраженные в настоящем информационном продукте, являются мнениями автора (авторов) и не обязательно отражают точку зрения или политику ФАО

E-ISBN 978-92-5-408262-8 (PDF)

© ФАО, 2015

ФАО приветствует использование, тиражирование и распространение материала, содержащегося в настоящем информационном продукте. Если не указано иное, этот материал разрешается копировать, скачивать и распечатывать для целей частного изучения, научных исследований и обучения, либо для использования в некоммерческих продуктах или услугах при условии, что ФАО будет надлежащим образом указана в качестве источника и обладателя авторского права, и что при этом никоим образом не предполагается, что ФАО одобряет мнения, продукты или услуги пользователей.

Для получения прав на перевод и адаптацию, а также на перепродажу и другие виды коммерческого использования, следует направить запрос по адресам: [www.fao.org/contact-us/licence-request](http://www.fao.org/contact-us/licence-request) или [copyright@fao.org](mailto:copyright@fao.org).

Информационные продукты ФАО размещаются на веб-сайте ФАО ([www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications)); желающие приобрести информационные продукты ФАО могут обращаться по адресу: [publications-sales@fao.org](mailto:publications-sales@fao.org).

**Для цитирования:**

ФАО. 2015 год. Стандарты генных банков для генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства. Издание второе, исправленное и дополненное. Рим

**Виды, изображенные на обложке**

(слева направо, начиная с верхнего ряда):

*Triticum* spp.

*Capsicum annuum*

*Anacardium occidentale*

*Carica papaya*

*Zea mays*

*Oryza sativa*

*Punica granatum*

*Colocasia esculenta*

*Phaseolus vulgaris*

*Araucaria angustifolia*

*Chenopodium quinoa*

*Cucurbita maxima*

*Brachycthon populneus*

*Phaseolus vulgaris*

# СОДЕРЖАНИЕ

Благодарности.....	vi
Вступление.....	viii
Предисловие.....	x
<b>1. ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. ОСНОВОПОЛАГАЮЩИЕ ПРИНЦИПЫ.....</b>	<b>7</b>
<b>3. СТАНДАРТЫ – СТРУКТУРА И ОПРЕДЕЛЕНИЯ.....</b>	<b>15</b>
<b>4. СТАНДАРТЫ ГЕННЫХ БАНКОВ ДЛЯ ОРТОДОКСАЛЬНЫХ СЕМЯН..</b>	<b>17</b>
4.1 Стандарты пополнения генбанка зародышевой плазмой.....	18
4.2 Стандарты сушки и хранения.....	24
4.3 Стандарты мониторинга жизнеспособности семян.....	30
4.4 Стандарты восстановления всхожести и размножения.....	36
4.5 Стандарты описания.....	41
4.6 Стандарты оценки.....	45
4.7 Стандарты документирования.....	50
4.8 Стандарты рассылки и обмена.....	53
4.9 Стандарты дублирования для обеспечения надежного сохранения....	57
4.10 Стандарты безопасности/персонала.....	61
<b>5. СТАНДАРТЫ ПОЛЕВЫХ ГЕННЫХ БАНКОВ.....</b>	<b>65</b>
5.1 Стандарты выбора места для полевого генбанка.....	66
5.2 Стандарты пополнения генбанка зародышевой плазмой.....	70
5.3 Стандарты создания полевых коллекций.....	76
5.4 Стандарты агротехники.....	82
5.5 Стандарты восстановления всхожести и размножения.....	87
5.6 Стандарты описания.....	91
5.7 Стандарты оценки.....	96
5.8 Стандарты документирования.....	101
5.9 Стандарты рассылки.....	105
5.10 Стандарты безопасности и дублирования для обеспечения надежного сохранения.....	109

<b>6. СТАНДАРТЫ ГЕННЫХ БАНКОВ ДЛЯ КУЛЬТУРЫ <i>IN VITRO</i> И КРИОСОХРАНЕНИЯ</b> .....	115
6.1 Стандарты пополнения генбанка зародышевой плазмой .....	121
6.2 Стандарты тестирования поведения неортодоксальных семян и оценки содержания воды, силы роста и жизнеспособности .....	126
6.3 Стандарты хранения рекальцитрантных семян в условиях повышенной влажности .....	130
6.4 Стандарты хранения культур <i>in vitro</i> и в условиях замедленного роста .....	134
6.5 Стандарты криосохранения .....	139
6.6 Стандарты документирования .....	149
6.7 Стандарты рассылки и обмена .....	152
6.8 Стандарты дублирования для обеспечения надежного сохранения ...	155
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ 1: СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	160
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ 2: ГЛОССАРИЙ</b> .....	162



# Благодарности

*Стандарты генных банков для генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства* были подготовлены и опубликованы благодаря усилиям многих людей. В эту работу были вовлечены национальные координаторы по генетическим ресурсам растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства, а также специалисты национального и международного уровня. Пользуясь случаем, ФАО выражает свою искреннюю благодарность всем участникам проекта за уделенное время, приверженность делу и профессиональные знания.

Стандарты генных банков были подготовлены Отделом Растениеводства и защиты растений ФАО под всеобщим руководством Kakoli Ghosh. В процессе подготовки, команда ФАО, в которую входили Kakoli Ghosh, Arshiya Noorani и Chikelu Mba, тесно сотрудничала с Ehsan Dulloo, Imke Thormann и Jan Engels из Bioversity International, которая заслуживает особого упоминания. Выражаем огромную благодарность Jane Toll, сотруднику Глобального доверительного фонда разнообразия сельскохозяйственных культур, а также профессору Patricia Berjak и профессору Norman Pammenter из Университета Квазулу-Натал за их великолепный вклад. В подготовку данного документа вклад внесли многие сотрудники ФАО, а именно: Linn Borgen-Nilsen, Stefano Diulgheroff, Alison Hodder, Dan Leskien, NeBambi Lutaladio, Dave Nowell, Michela Paganini и Alvaro Toledo.

Мы выражаем признательность и хотим поблагодарить за критический анализ Стандартов генных банков следующих ученых:

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 и Francis Zee.

Особую признательность мы выражаем команде Petra Staberg и Pietro Bartoleschi за оформление и дизайн издания. Благодарности заслуживают и Munnavara Khamidova, Sitora Khakimova, Diana Gutiérrez Méndez и Suzanne Redfern за их вклад и помощь.

Есть и другие люди, также заслуживающие упоминания, поэтому мы приносим наши извинения и выражаем благодарность всем тем, кто оказал поддержку в подготовке Стандартов генных банков, но чьи имена были неумышленно опущены.





# Вступление

Генетические ресурсы растений являются стратегическим ресурсом и основой устойчивого производства сельскохозяйственных культур. Их эффективное сохранение и использование имеют ключевое значение для обеспечения продовольственной и пищевой безопасности как в настоящем, так и в будущем. Для решения данной проблемы необходимо, чтобы постоянно создавались улучшенные культуры и сорта, адаптированные к специфическим условиям конкретных агроэкосистем. Утрата генетического разнообразия снижает возможность устойчивого и гибкого управления сельским хозяйством в условиях неблагоприятной окружающей среды, а также резкого колебания климатических условий.

Генные банки (генбанки) с хорошо налаженным управлением надежно сохраняют генетическое разнообразие и делают его доступным для селекционеров. *Стандарты генных банков для генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства* подготовлены под руководством Комиссии ФАО по генетическим ресурсам для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства и утверждены на четырнадцатой очередной сессии в 2013 г. Данные стандарты устанавливают процедуры, которые необходимо соблюдать для сохранения генетических ресурсов растений. Комиссия считает, что они имеют универсальную ценность для сохранения гермоплазмы во всем мире.

Рекомендуемые *Стандарты* относятся к сохранению как семян в генбанках, так и вегетативно размножаемого растительного материала, в том числе в полевых генбанках. Они являются мерилем существующих передовых научно-технических методов и отражают основные положения международной политики в сфере сохранения и использования генетических ресурсов растений. Стандарты являются важным инструментом реализации *Международного договора о генетических ресурсах растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства*, а также элементом поддержки *Второго глобального плана действий по генетическим ресурсам растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства*.

Хранящиеся в генбанках мира 7,5 млн образцов большей частью представляют культуры, составляющие основной источник продуктов питания для человека и кормов для животных. В их числе не только ценные дикие родичи культурных растений и староместные сорта, но также культуры, имеющие местное значение, и малоиспользуемые виды.

Стандарты способствуют активизации управления генбанками, а также обеспечивают ряд дополнительных подходов. Они призваны помочь менеджерам генбанков установить баланс между научными целями, доступными ресурсами и объективными условиями, в которых они осуществляют свою деятельность, учитывая то, что более 1750 генных банков по всему миру сильно различаются по размеру сохраняемых коллекций, а также доступных им человеческих и финансовых ресурсов. Трудности, с которыми сталкиваются многие развивающиеся страны

в обеспечении безопасного долгосрочного хранения в условиях ограниченных возможностей и недостаточной инфраструктуры, усложняют эту задачу.

Важность сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных культур осознается только при их эффективном использовании. Для этого необходимы устойчивые связи элементов всей цепи, начинающейся от сохранения и сбора *in situ*, хранения в генбанках, проведения научных исследований и селекции, и далее ведущей к фермерам и их общинам, а в конечном итоге – к потребителям. Кураторы генбанков, селекционеры и специалисты национальных программ должны работать рука об руку для обеспечения эффективного и устойчивого сохранения генетических ресурсов растений для ведения сельского хозяйства и производства продовольствия, от которых зависит судьба человечества. Я призываю принять соответствующие меры на национальном и региональном уровне для того, чтобы эти важные международные Стандарты могли сыграть свою роль в обеспечении продовольственной безопасности.



**Рен Ванг**  
Заместитель Генерального директора  
Департамент сельского хозяйства и защиты потребителей ФАО



# Предисловие

Генные банки играют ключевую роль в сохранении, обеспечении доступности и использования широкого спектра генетического разнообразия растений для улучшения сельскохозяйственных культур и повышения продовольственной безопасности. Они помогают наладить связь между прошлым и будущим, обеспечивая доступность генетических ресурсов для научных исследований, селекции и предоставления улучшенных семян системам сельскохозяйственного производства для обеспечения их устойчивости и гибкости. Эффективное управление генным банком посредством применения стандартов и процедур, играет ключевую роль в деле сохранения и устойчивого использования генетических ресурсов растений.

*Стандарты генных банков для генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства* (Стандарты генбанков) обеспечивают международные стандарты сохранения семян *ex situ* в генбанках, а также материалов в полевых генбанках, *in vitro* и криохранилищах. Рабочая группа по семенам и генетическим ресурсам подготовила Стандарты под руководством Комиссии по генетическим ресурсам для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства. В ходе подготовки, стандарты для ортодоксальных семян были обновлены, а на основе консультаций с КГМСХИ, в частности с Bioversity International, разработаны стандарты для полевых генбанков, сохранения *in vitro* и криосохранения. Менеджеры генбанков, профильные научно-исследовательские институты, национальные координаторы по генетическим ресурсам растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства сыграли важную роль в обеспечении обратной связи. Это также относится к Секретариатам Международного договора о генетических ресурсах растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства и Международной конвенции по защите растений. Комиссия одобрила Стандарты генбанков на состоявшейся в 2013 г. четырнадцатой сессии и призвала к их использованию во всем мире.

Целью Стандартов генбанков является сохранение генетических ресурсов растений в условиях, отвечающих общепризнанным надлежащим стандартам, которые опираются на современные и доступные научно-технические знания. Все стандарты базируются на основополагающих принципах, которые являются общими для всех различных типов генбанков. Также, стандарты принимают во внимание изменения в управлении и технологиях сохранения семян вследствие прогресса в области молекулярной биологии и биоинформатики. В них учитываются успехи в развитии документирования и информационных систем, которые играют всё большую роль в совершенствовании управления генбанками и оптимизации ресурсов. В данной публикации каждый стандарт сопровождается текстом с описанием конкретных условий его применения, технических аспектов, дополнительных данных и при необходимости отдельными ссылками на технические справочники, протоколы и процедуры.

Стандарты достаточно универсальны и могут применяться во всех генбанках в совокупности с информацией о конкретном виде. В особенности, это относится

к видам растений с рекальцитрантными семенами и/или размножающимися вегетативным путем, поскольку трудно установить конкретные стандарты, которые были бы применимы ко всем упомянутым видам вследствие различий в поведении семян во время хранения, а также разнообразия жизненных форм и жизненных циклов. Применение стандартов является необязательным и добровольным. Они призваны подчеркнуть важность сохранения материала и обмена им в совокупности с соответствующей документацией согласно действующих национальных и международных правил. Стандарты следует периодически пересматривать с учетом политических и технических изменений.

Сохранение и улучшение устойчивого использования генетических ресурсов растений является необходимым для достижения продовольственной безопасности и решения пищевых потребностей нынешнего и будущих поколений. Поэтому жизненно необходимо сохранить разнообразие генетических ресурсов растений, обеспечивая его доступность для мирового общества. При этом, поддержание деятельности генбанка может быть достаточно дорогим. Многие научные достижения, например криоконсервация, сопряжены с большими затратами, особенно если они связаны с крупномасштабными экспериментами. Содержание полевых генбанков также требует вложений в виде рабочей силы и финансовых средств. Следовательно, необходимо сделать упор на развитии проактивного управления генными банками и использовании дополнительного подхода в целях достижения оптимального баланса между деятельностью научного характера и имеющимися людскими, инфраструктурными и финансовыми ресурсами в сложившихся условиях. Во многих странах наличие обученных сотрудников и соответствующих ресурсов, необходимых для устойчивого содержания генбанков, продолжает оставаться сложной задачей. Для применения этих стандартов необходимы долгосрочное партнерство на национальном, региональном и глобальном уровнях, а также ресурсы для наращивания научно-технического потенциала.





191

66112

661121

660114

660114

660114



# Глава 1

## ВВЕДЕНИЕ







Генбанки всего мира сохраняют коллекции широкого спектра генетических ресурсов растений в целях их долговременного сохранения и обеспечения доступности зародышевой плазмы растений для селекционеров растений, исследователей и других пользователей. Генетические ресурсы растений являются исходным материалом для улучшения культур, и их сохранение и использование являются критически важными для глобальной продовольственной и пищевой безопасности. Устойчивое сохранение этих генетических ресурсов растений зависит от эффективного и действенного управления генными банками через применение стандартов и подходов, которые обеспечивают существование и доступность генетических ресурсов растений.

Данные *Стандарты генных банков для генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства* являются результатом пересмотра *Стандартов генных банков* ФАО/МИГРР, опубликованных в 1994 году. Пересмотр был осуществлен по просьбе Комиссии по генетическим ресурсам растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства (КГРРПСХ) в связи с изменениями в общей глобальной политике и достижениями в области науки и технологии. Главные перемены в области политики, влияющие на сохранение генетических ресурсов растений в генбанках, относятся к вопросам доступности и распределения зародышевой плазмы, возникшим вследствие принятия различных международных документов. Среди них Конвенция о биологическом разнообразии (КБР), Международный договор о генетических ресурсах растений (МД ГРРПСХ), Международная конвенция о защите растений (МКЗР) и соглашения ВТО по применению санитарных и фитосанитарных мер (ВТО/СФС). В 2010 году КБР был принят Нагойский протокол о регулировании доступа к генетическим ресурсам и совместного использования на справедливой основе выгод от их применения, который может повлиять на обмен зародышевой плазмой. Благодаря успехам, достигнутым на научном фронте в сфере развития методик сохранения семян, биотехнологии и информационных и коммуникационных технологий, в области сохранения зародышевой плазмы растений появились новые грани.

Стандарты генных банков для генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства задуманы как руководство для всех генных банков, сохраняющих коллекции растений (семена, живые растения и эксплантаты). Они были разработаны на основе консультаций с большим числом мировых экспертов по сохранению семян, криосохранению, сохранению *in vitro* и полевым генбанкам. Стандарты имеют рекомендательный характер и не имеют обязательной юридической силы; они не были созданы в рамках формальной процедуры разработки стандартов. Их следует рассматривать как целевые ориентиры в развитии эффективного, действенного и рационального *ex situ* сохранения в генбанках, обеспечивающего оптимальное поддержание жизнеспособности и генетической целостности семян, тем самым гарантируя доступ к высококачественным семенам сохраняемых генетических ресурсов растений и их использованию.

Важно, чтобы Стандарты генбанков не применялись бездумно, так как методы сохранения постоянно технически совершенствуются, и многие из этих новшеств относятся к конкретным видам растений. Также следует учитывать цели и срок сохранения и использования зародышевой плазмы. Поэтому рекомендуется использовать Стандарты генных банков в сочетании с другими источниками данных, и особенно это касается данных по конкретным видам. Главным образом, это относится к растениям с рекальцитрантными семенами и/или растениям, размножающимся вегетативным способом: ввиду различий в поведении семян в процессе хранения, в жизненных формах (травы, кусты, деревья, лианы/лозы) и в жизненных циклах (однолетний, двухлетний, многолетний), очень трудно создать конкретные стандарты, которые подходили бы для всех видов.

Данный документ состоит из двух частей. В первой части дано описание основополагающих принципов, лежащих в основе Стандартов генных банков, и обеспечивающих всеобъемлющую основу для эффективного и действенного управления генбанками. Ключевыми принципами, лежащими в основе работы генбанка, являются сохранение идентичности зародышевой плазмы, поддержание ее жизнеспособности и генетической целостности, а также улучшение доступа к ней. Эти принципы относятся и к сопутствующей информации, призванной облегчить использование сохраняемого растительного материала в соответствии с национальными и международными нормативными положениями. Основополагающие принципы являются общими для всех различных типов генбанков.

Во второй части дается подробное описание стандартов для трех типов генбанков, а именно: для генбанков семян, полевых генбанков и генбанков, обеспечивающих хранение *in vitro*/криосохранение. Стандарты охватывают все основные операции, выполняемые в генбанках, и для всех стандартов приводится список рекомендуемой литературы. Несмотря на то, что для всех стандартов приводится ключевая техническая информация, следует подчеркнуть необходимость обращаться к техническим руководствам для выяснения процедур и протоколов. Стандарты генбанка семян (Глава 4) относятся к сохранению ортодоксальных семян, хорошо переносящих обезвоживание. То-есть, это семена, которые могут быть высушены до низкого содержания влаги, отзывчивые на низкую температуру. Понижение влажности и температуры замедляет метаболические процессы, таким образом, продлевая долговечность семян. Среди растений с ортодоксальными семенами



кукуруза (*Zea mays* L.), пшеница (*Triticum* spp.), рис (*Oryza* spp.), нут (*Cicer arietinum*), хлопок (*Gossypium* spp.) и подсолнечник (*Helianthus annuus*).

Стандарты полевых генбанков, а также генбанков, обеспечивающих *in vitro*/криосохранение, цель которых – сохранение растений с неортодоксальными семенами (также известными как рекальцитрантные или промежуточные семена), и/или вегетативно размножающихся растений, представлены соответственно в Главе 5 и 6. Такие растения не могут сохраняться так же, как ортодоксальные семена, то-есть при низких температурах и влажности, и требуют других методов сохранения *ex situ*.

Полевые генбанки – это наиболее общепринятый метод сохранения растений с рекальцитрантными семенами. Они также используются для сохранения растений, производящих малое количество семян, размножающихся вегетативным способом и/или растений, которым необходим длинный жизненный цикл для получения гибридного селекционного и/или посадочного материала. Несмотря на использование термина ‘полевой генбанк’, этот метод также включает сохранение живых растений в горшках или кюветах, в теплицах или затененных помещениях. Имеются технические руководства и учебные пособия для управления коллекцией зародышевой плазмы, сохраняемой в полевых генбанках (e.g. Bioversity International *et al.*, 2011; Reed *et al.*, 2004; Said Saad and Rao, 2001; Engelmann, 1999; Engelmann and Takagi, 2000; Geburek and Turok, 2005).

Сохранить зародышевую плазму растений *in vitro* и посредством криосохранения можно либо создавая условия для медленного роста (*in vitro*) и обеспечивая кратко-/среднесрочное хранение, или применяя криоконсервацию для обеспечения длительного хранения. Последний метод предполагает сохранение культур (особенно культур апикальных клеток, меристем, соматических эмбрионов, клеточных суспензий или эмбриогенный каллусов) в условиях, ограничивающих рост на искусственной питательной среде. Темп роста культур может ограничиваться различными методами, включая понижение температуры, снижение интенсивности света, или манипуляции с культуральной средой путем добавления веществ, изменяющих осмотическое давление или ингибирующих рост (Engelmann, 1999).

Криосохранение – это хранение биологических материалов (семян, эмбрионов растений, апикальных концов/меристем, и/или пыльцы) при ультранизких температурах, с использованием жидкого азота при температуре  $-196^{\circ}\text{C}$  (Engelmann and Takagi, 2000; Reed, 2010). При этих условиях останавливаются биохимические и большинство физических процессов, и растительный материал в таком состоянии сохраняется в течение длительного времени. Эти способы сохранения, дополняющие другие, необходимы для безопасного, эффективного и экономичного сохранения растений (Reed, 2010). Например, криосохраненные линии можно использовать как дублетный материал полевой коллекции, как справочную коллекцию по генетическому разнообразию популяции, и как источник для новых аллелей генов в будущем.

Представлены следующие стандарты для соответствующих типов генбанков:

- **Стандарты генбанков для ортодоксальных семян:** поступление зародышевой плазмы, высушивание и хранение семян, контроль жизнеспособности, восстановления всхожести, описание, оценка, документирование, распространение, дублирование для обеспечения надежного сохранения, а также безопасность/персонал.

- **Стандарты для полевых генбанков:** выбор места, поступление зародышевой плазмы, создание полевой коллекции, агротехника, восстановление всхожести и размножение, описание, оценка, документирование, распространение, безопасность, дублирование для обеспечения надежного сохранения.
- **Стандарты генных банков для культуры *in vitro* и криосохранение:** поступление зародышевой плазмы, тестирование поведения рекальцитрантных семян и оценка содержания воды, силы роста и жизнеспособности, хранение рекальцитрантных семян в условиях с повышенной влажностью, культура *in vitro* и хранение в условиях замедленного роста, криосохранение, документирование, распространение и обмен, дублирование для обеспечения надежного сохранения.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

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>).





# Глава 2

## ОСНОВОПОЛАГАЮЩИЕ ПРИНЦИПЫ







Перед генбанками мира стоит много одинаковых основных задач, однако их целевое назначение, ресурсы и системы, в рамках которых они действуют, зачастую отличаются. В результате, кураторам приходится оптимизировать системы своих генбанков, а решение таких задач требует управленческих решений, которые могут существенно различаться среди учреждений, преследующих одни и те же цели. основополагающие принципы объясняют, зачем и с какой целью сохраняются генетические ресурсы растений. Эти принципы закладывают основы для определения норм и стандартов, необходимых для упорядоченной работы генбанка. Главные основополагающие принципы сохранения описаны в разделе ниже.

## Подлинность образцов

Необходимо тщательно заботиться о том, чтобы подлинность хранимых в генбанках образцов, сохранялась на протяжении всех этапов, включая поступление, хранение и распространение. Надлежащая идентификация образцов семян, сохраняемых в генбанках, тесным образом связана с тщательным документированием данных и информации о растительном материале. Все начинается с регистрации паспортных данных с указанием информации о том, кто собрал данный материал, если это возможно. По мере возможности, такая информация должна быть зафиксирована для более ранних сборов в тех генбанках, в которых паспортные данные не были зарегистрированы, либо зарегистрированы не полностью. Нередко для правильной идентификации образцов важную роль играют контрольные гербарные образцы и справочные коллекции семян (оригиналы семян). Идентификация образцов в поле имеет особенно большое значение, поскольку ошибочное этикетирование может привести к значительной генетической эрозии. Расстановку этикеток на полях следует также дополнить планами полевых посадок, которые следует должным образом задокументировать для того, чтобы обеспечить правильную идентификацию образца в полевых генбанках. Это связано с тем, что полевые

этикетки могут быть утеряны под воздействием различных внешних факторов, например, из-за плохой погоды. Такие современные средства как этикетки со штрих-кодом, метки радиочастотной идентификации (RFID) и молекулярные маркеры, могут существенно помочь в работе полевого генбанка при сохранении зародышевой плазмы, снижая вероятность ошибок и дополнительно гарантируя подлинность образца.

## Поддержание жизнеспособности

Поддержание жизнеспособности, генетической целостности и качества образцов семян в генбанках, а также обеспечение возможности их использования являются конечной целью работы генбанка. Поэтому очень важно, чтобы на всех стадиях работы генбанка придерживались стандартов, необходимых для поддержания приемлемых уровней жизнеспособности. Для достижения этой цели следует уделить особое внимание стандартам пополнения коллекций, обработки и хранения зародышевой плазмы. Рекальцитрантные и другие типы неортодоксальных семян оцениваются визуально на предмет отсутствия повреждений, а также тестируются на скорость и полнота всхожести семян. Однако, невидимые под микроскопом грибы и бактерии в семенах могут снизить качество семян. В целом, образцы семян, принимаемые в генный банк в момент поступления, должны иметь высокую жизнеспособность и в максимальной степени соответствовать стандартам поступления зародышевой плазмы. Для достижения максимального физиологического качества семян, необходимо проводить их сбор как можно ближе ко времени созревания, но до начала их естественного осыпания, избегая сбора уже опавших или испачканных землей семян, на которых могут находиться сапрофитные или патогенные грибы или бактерии. Насколько возможно, генбанки должны добиваться того, чтобы собранная зародышевая плазма была генетически репрезентативной для исходной популяции, с учетом количества живого материала, достаточного для того, чтобы качество образца не ухудшалось. Следует организовать систему проверки уровня жизнеспособности хранящихся образцов через соответствующие интервалы времени, в зависимости от ожидаемой жизнеспособности семян. Можно сократить высокие затраты на восстановления всхожести, если уделять надлежащее внимание подрботке, сушке и хранению семян после сбора. В случае с образцами полевого генбанка, большее значение имеет способность к размножению (т.е. качество и наличие условий для ее реализации), а не жизнеспособность, которая относится к способности семян прорасти и давать всходы. Полевые генбанки уязвимы для воздействия таких экологических факторов, как погодные условия или нашествия вредителей, а сила такого воздействия будет разной в зависимости от видовой принадлежности и жизненного цикла (например, однолетний, двухлетний или многолетний). В случае с видами, семена с неизвестным типом поведения после хранения (например, рекальцитрантные, по-иному неортодоксальные или ортодоксальные) обязательным требованием является определение реакции семян (обычно на медленное высушивание) до того, как для них будет выработана какая-либо стратегия хранения.

## Поддержание генетической целостности

Необходимость поддерживать генетическую целостность тесно связана с поддержанием жизнеспособности и разнообразия исходно собранного образца. Для сохранения генетической целостности важны все этапы – от сбора и проступления в генбанк до хранения, восстановления всхожести и рассылки. Обеспечение поддержания жизнеспособности в соответствии со стандартами помогает поддерживать генетическую целостность. Различные молекулярные методы, включая исследование возможных эпигенетических изменений, обратимость которых неизвестна, следует применять для выяснения, была ли сохранена геномная стабильность, особенно после криохранения образцов. Для растений, у которых от посева до достижения репродуктивной стадии развития проходит много времени, восстановление всхожести семян в полевых условиях будет весьма неразумно. Следует предпринять повторный сбор образцов в оригинальной популяции, при появлении признаков снижения силы роста и жизнеспособности семян. Поддержание генетической целостности также важно для зародышевой плазмы растений, сохраняемой *in vitro*, особенно с учетом риска соматональных изменений. Это основная причина, по которой следует избегать непрямого соматического эмбриогенеза (например, на стадии каллуса) для создания форм зародышевой плазмы, которую следует сохранять длительное время. По мере возможности, во время получения образца семян необходимо стремиться к тому, чтобы он был достаточно репрезентативен, хорошего качества и в достаточном количестве. Тем не менее, следует признать, что когда целью является сбор образцов с конкретными признаками, такой образец может и не быть репрезентативным для исходной популяции. Для максимального уменьшения генетической эрозии очень важно придерживаться рекомендуемых протоколов<sup>1</sup> восстановления всхожести образцов семян, максимально уменьшать число пересевов, сохранять достаточно большой размер эффективной популяции, проводить сбалансированный отбор образцов, а также обеспечивать тщательный контроль опыления. Особое внимание обращается здесь на значение дублирования в целях обеспечения надежного сохранения как меры противостояния рискам, которым могут подвергаться генбанки.

## Поддержание здоровья семян

Генным банкам следует стремиться к тому, чтобы семена, которые они сохраняют и рассылают, по мере возможности, не имели переносимых семенами инфекций и регулируемых вредителей (бактерий, вирусов, грибов и насекомых). Внешнюю поверхность можно эффективно очистить с помощью процедур поверхностного обеззараживания. У генбанков часто нет возможностей или необходимых ресурсов для проверки собранных или полученных образцов, а также возвращенных

1 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*. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme (SGRP), Rome, Italy. 6 pp. Also see: <http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/>

с опытных участков после размножения, на наличие переносимых семенами болезней и вредных организмов. Это особо относится к случаям получения зародышевой плазмы от третьей стороны. Проблемы усугубляются при сохранении видов с рекальцитрантными семенами. Скрытые эндогенные инфекции можно выявить только тогда, когда рекальцитрантные семена находятся на кратко- или среднесрочном хранении в условиях повышенной влажности, или когда эксплантаты, полученные из семян, помещаются в культуру ткани. В настоящее время проблема решается неудовлетворительно, поскольку любые инфицированные семена или эксплантаты изымаются из коллекций генбанков, так как это единственный способ обеспечить чистоту зародышевой плазмы. Поэтому необходимо, чтобы при обмене зародышевой плазмой семенной материал сопровождали соответствующие импортные и фитосанитарные сертификаты, гарантирующие незараженность получаемых образцов. Одни зараженные/инфицированные образцы можно обеззаразить без труда, тогда как для других нужны более сложные методы обеззараживания.

### **Физическая сохранность коллекций**

Одним из основополагающих принципов сохранения зародышевой плазмы является то, что физические параметры помещений генбанка, в которых хранится зародышевая плазма, должны отвечать стандартам обеспечения защиты материалов от каких-либо внешних факторов, включая природные стихийные бедствия и антропогенное воздействие. Необходимо наличие соответствующих систем безопасности, гарантирующих то, что холодильное оборудование генбанка, запасные генераторы и оборудование для контроля отключений электроэнергии находятся в хорошем рабочем состоянии, а имеющиеся приборы мониторинга позволяют контролировать во времени наиболее важные параметры. Поскольку для криосохранения требуется жидкий азот, всегда должны быть налажены поставки криогенного вещества. При этом очень важно поддерживать необходимый уровень жидкого азота, независимо от того, вручную или автоматически производится наполнение или долив специальных ёмкостей для хранения или аппаратов с замораживанием при погружении в жидкий азот. Другой важный вопрос безопасности генбанков – обеспечение надежного хранения дублирных образцов в других местах для того, чтобы, если по каким-то причинам коллекция пострадает в одном месте, она могла быть восстановлена из дублетов, хранящихся в другом.

### **Наличие и использование зародышевой плазмы**

Сохраняемый материал должен быть в наличии для использования сейчас и в будущем. Поэтому все процессы в деятельности генбанка и его управлении должны способствовать достижению этой цели. Необходимо сохранять семена в достаточных количествах, вместе с соответствующей информацией об образцах. Хотя в полевых генбанках образец представлен малым числом единиц хранения, и, следовательно, возможности снабжения пользователей ограничены, генбанк должен иметь стратегию быстрого размножения любой зародышевой плазмы для распространения.



## Наличие информации

Для обеспечения передачи информации и учета, следует на всех этапах регистрировать в электронной базе данных всю важную, подробную и новейшую информацию, включая сведения как за прошлые, так и текущие периоды, особенно в том, что касается работы с конкретными образцами после их поступления. Доступ к такой информации, ее наличие и обмен данными должны иметь высокий приоритет, так как это ведет к более надежному и рациональному сохранению коллекций. Интерактивные поисковые базы данных, содержащие фенотипические данные, способны помочь пользователям зародышевой плазмы точнее формулировать свои запросы. В свою очередь, обратная связь в виде присылаемых дополнительных оценочных данных повышает достоинство и полезность коллекций. Наличие информации о сохраняемой зародышевой плазме и легкий доступ к ней будут способствовать ее более активному использованию. Кроме того, это поможет кураторам генного банка совершенствовать планирование деятельности по восстановлению всхожести и размножению, чтобы поддерживать необходимые запасы образцов. Для таких информационных систем, используемых в генбанках, рекомендуется использовать интерактивные поисковые базы данных с. Информационная база данных семян (SID)<sup>2</sup> Семенного банка тысячелетия (MSB) в Кью хорошо демонстрирует ценность такой базы данных. Система управления ботаническими исследованиями и гербарием (BRAHMS)<sup>3</sup> является системой, разработанной в целях управления данными о курировании и зародышевой плазме, а EURISCO<sup>4</sup> является сетевым электронным каталогом, который дает информацию о Европейских *ex situ* коллекциях растений.

## Проактивное управление генными банками

Устойчивое и эффективное сохранение генетических ресурсов растений зависит от активности управления сохраняемой зародышевой плазмой. Проактивное управление имеет решающее значение для того, чтобы зародышевая плазма сохранялась эффективным образом и могла быть своевременно и в достаточных количествах предоставлена для дальнейшего использования селекционерами растений, фермерами, исследователями и другими пользователями. Это подчеркивает важность обеспечения сохранности и обмена материалом, а также связанной с ним информацией, и позволяет внедрить функциональную стратегию для управления кадровыми и финансовыми ресурсами для создания рациональной системы. Такая система включает стратегию управления рисками и поощряет сотрудничество с третьими сторонами в плане оказания генбанкам помощи в их усилиях по сохранению биоразнообразия. Следует отметить, что содержание полевых коллекций является затратным и нужно прилагать

---

<sup>2</sup> Seed Information Database <http://data.kew.org/sid/>

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

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

все усилия по развитию дополнительных типов хранения методами *in vitro* и криоконсервации. Требуется соблюдение правовых и нормативных основ на национальном и международном уровне, в особенности в том, что касается доступности, наличия и рассылки материалов, а также здоровья растений и семян. В подходящих случаях, надлежит использовать Стандартное соглашение о передаче материала (ССПМ) для сельскохозяйственных культур, включенных в Многостороннюю систему МД ГРРПСХ. Нормы Международной конвенции по карантину и защите растений (МККЗР) закладывают основы регулирования в области карантина и здоровья, направленные на предотвращение интродукции и распространения вредителей и болезней растений. Прежде всего, необходимы долговременные и постоянные обязательства со стороны содержащих генбанки учреждений по обеспечению кадровыми и финансовыми ресурсами.

Помимо этого, проактивное управление способствует применению практического опыта и знаний по отношению к новой зародышевой плазме, поступающей в генбанк, и направлено на максимально возможное применение стандартов генного банка в особых местных условиях. Иногда это может означать, что даже если какой-то конкретный стандарт соблюдается не полностью, принимаются упреждающие меры для соответствия основополагающим принципам управления генным банком.











# Глава 3

## СТАНДАРТЫ – СТРУКТУРА И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Описываемые в настоящем документе Стандарты определяют уровень обычного функционирования генбанка, ниже которого возникает большой риск утраты генетической целостности (например, вероятность утраты пяти и более процентов аллелей в образце во время хранения). Каждый раздел включает следующие подразделы:

- Стандарты
- Контекст
- Технические аспекты
- Особые условия
- Рекомендуемая библиография

**КОНТЕКСТ** предоставляет базовую необходимую информацию о том, когда применяются стандарты. Дается краткое описание обычного функционирования генбанка, для которого определяются стандарты, а также их основополагающие принципы.

**ТЕХНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ** объясняют технические и научные принципы, необходимые для понимания стандартов и их применения.

В **ОСОБЫХ УСЛОВИЯХ** описываются случаи, когда стандарты не могут быть применены, например, к конкретному виду. Подраздел также включает исключения, альтернативные пути и возможности управления рисками. Во всех разделах представлены избранные источники **ИНФОРМАЦИИ И БИБЛИОГРАФИЯ**.







# Глава 4

## СТАНДАРТЫ ГЕННЫХ БАНКОВ ДЛЯ ОРТОДОКСАЛЬНЫХ СЕМЯН





## 4.1 СТАНДАРТЫ ПОПОЛНЕНИЯ ГЕННОГО БАНКА ЗАРОДЫШЕВОЙ ПЛАЗМОЙ

### Стандарты

- 4.1.1 Все образцы семян, поступающие в коллекцию генбанка, должны быть получены законным образом и с соответствующей технической документацией.
- 4.1.2 Сбор семян следует проводить максимально близко ко времени созревания и до естественного осыпания семян, во избежание потенциального генетического загрязнения и для обеспечения максимального качества семян.
- 4.1.3 Для обеспечения максимального качества семян, период между их сбором и помещением в контролируемые условия высушивания должен быть от 3 до 5 дней или максимально коротким, принимая во внимание то, что семена не должны подвергаться воздействию высоких температур и интенсивного света, а также то, что некоторые виды нуждаются в послеуборочном дозревании для полного развития зародыша.
- 4.1.4 Все образцы семян должны сопровождаться по крайней мере минимальными данными о них согласно Многофункциональным паспортным дескрипторам по сельскохозяйственным культурам ФАО/МИГРР.
- 4.1.5 Минимальное число растений, из которых должны быть собраны семена, составляет примерно 30–60 растений, в зависимости от системы размножения соответствующего вида.

### Контекст

Пополнение – это процесс сбора или запроса семян для включения в генбанк вместе с соответствующей информацией. Материал должен быть получен на

законных основаниях, иметь высокое качество семян и быть надлежащим образом задокументирован.

Пополнение осуществляется на основе соответствующих международных и национальных положений, например, в соответствии с фитосанитарными/ карантинными законами, регулированием доступа согласно МД ГРРПСХ или КБР, а также национальными законами о доступе к генетическим ресурсам. Соблюдение Стандарта 4.1.1 позволит экспортировать семена из страны происхождения/ донора и импортировать в страну, где располагается генбанк, а также определять режим управления и распространения (например, ССПМ или Соглашения о передаче материала [СПМ]).

Необходимо обеспечить максимально высокое качество семян и избегать хранения незрелых семян или семян, которые слишком долгое время подвергались воздействию неблагоприятных факторов. Решающим для обеспечения качества семян является то, каким образом осуществляется работа с семенами после сбора и прежде, чем они будут помещены в контролируемые условия. Экстремальные неблагоприятные температуры и влажность в период после сбора и во время транспортировки в генбанк, могут привести к быстрой утрате жизнеспособности и сокращению долговечности при хранении. Это также относится к послеуборочному обращению с образцам в самом генбанке. На качество и долговечность семян влияют условия, в которых они находились перед их помещением на хранение в генбанк. Рекомендуется провести проверку на всхожесть сразу после подработки и до помещения их на хранение в качестве теста качества собранных семян.

В процессе пролучения образцов необходимо стремиться к тому, чтобы паспортные данные по каждому образцу были максимально подробны и полностью задокументированы. Особенно это касается географической информации, позволяющей определять местонахождение места сбора образца. Паспортные данные чрезвычайно важны для идентификации и классификации образцов и будут служить отправной точкой при выборе и использовании образца.

## Технические аспекты

Доступ к ГРРПСХ, включенным в Многостороннюю систему Международного договора, должен сопровождаться подписанием ССПМ. Те, кто получает материал, должны выполнять соответствующие положения МД ГРРПСХ или КБР, и соглашение СПМ должно быть подписано уполномоченным лицом в стране сбора и в соответствии с национальными законами, регулирующими доступ к генетическим ресурсам в стране, где будет осуществляться сбор (ENSCONET, 2009). Помимо этого, по требованию предоставляющей страны, доступ должен быть обусловлен предварительным информированным согласием страны. От соответствующего национального органа принимающей страны необходимо получить фитосанитарные правила и иные импортные требования.

Свежесобранные в поле семена могут содержать много влаги и их необходимо проветривать во избежание прорастания. Их следует поместить в соответствующие контейнеры с хорошей циркуляцией воздуха. Это позволит



избежать отсыревания содержимого из-за неправильного воздухообмена, а также смешивания и повреждения растительного материала во время сбора и транспортировки. Мониторинг температуры и относительной влажности (RH), призванный следить за тем, чтобы семена не подвергались воздействию температур выше 30 °C и влажности выше 85% RH после сбора и транспортировки, а также во время послеуборочной обработки, поможет сохранить высокое качество семян. Если полностью созревшие семена должны быть подработаны и высушены в полевых условиях, для уменьшения риска ухудшения качества следует применять технические рекомендации для конкретного или аналогичного вида.

Для регистрации данных по сбору образца следует использовать соответствующие формы. В эти формы следует заносить такие сведения, как первоначальная таксономическая классификация образца, координаты места сбора, определенные с помощью GPS (глобальной системы позиционирования), описание места сбора растений, число собранных растений и иные значимые данные, необходимые для правильного сохранения. По возможности, следует применять Многофункциональные паспортные дескрипторы по сельскохозяйственным культурам ФАО/МИГРР (Alercia *et al.*, 2001). Чрезвычайно полезную дополнительную информацию, например, об агротехнике, более ранней истории образца и происхождении семян, их использовании и т.д., можно получить посредством опроса фермеров, когда сбор семян проводится на фермерских полях/складах. Проводя сбор, следует аккуратно относиться к природной популяции, выбранной для отбора образцов, избегая ее истощения. Выпущенное Европейской сетью по сохранению местных семян (ENSCONET) руководство по сбору рекомендует, чтобы собиралось не более 20 % всех имеющихся в популяции семян (ENSCONET, 2009). Будет также полезно повторить сбор образцов в конкретном месте сбора для максимального охвата генетической изменчивости, которая может проявляться в разные фазы развития растений.

Собранный образец должен включать, как минимум, одну копию 95 % аллелей, встречающихся в пределах целевой популяции с частотой более 0,05 (Brown and Marshall, 1975). Для достижения этой цели достаточно сделать произвольную выборку из 59 несвязанных гамет, и при произвольном видовом скрещивании это будет равно 30 особям, тогда как для строго самоопыляющихся видов нужно иметь 60 особей (Brown and Hardner, 2000). Таким образом, размер образца, охватывающего 95 % аллелей, может колебаться между 30 и 60 растениями в зависимости от системы размножения собираемого вида. На практике, следует собрать такое количество семян, которое будет достаточно для распространения и позволит избежать частого пересева. При этом следует признать, что данная цель не всегда достижима, поскольку зависит от наличия семян, которые можно собрать.

В случае передачи семян (семеноводческой компанией, научной программой или генбанком), в дополнение к имеющимся паспортным данным должны быть обеспечены данные таксономической классификации, название донора, идентификационный номер донора и кто является донором образца. От донора следует получить информацию о том, как передаваемая зародышевая плазма содержалась, в том числе данные о происхождении или родословной, а также



сведения о методах хранения образца, если такая информация имеется. Семенам следует присвоить уникальный идентификационный номер (временный или постоянный, в соответствии с принятой в генбанке практикой), который будет постоянно сопровождать образец и связывать его с паспортными данными и любыми иными собранными сведениями, а также гарантировать подлинность образца семян. По возможности, из той же популяции, из которой взят образец семян, следует взять контрольный гербарный образец и произвести запись о методике и причине сбора.

## Особые условия

Семена, собранные в поле, редко находятся в таком состоянии (физиологическом и фитосанитарном) и количестве, которые автоматически гарантируют длительное сохранение. В этом случае рекомендуется размножение материала в контролируемых условиях специально для целей длительного сохранения.

Когда собранный образец содержит значительную долю (>10%) незрелых семян или плодов, следует принять меры по обеспечению послеуборочного созревания. Обычно для этого материал помещают в условия с хорошей вентиляцией и защитой от осадков. Следует осуществлять мониторинг видимых улучшений в плане созревания, и как только собранные семена можно считать достаточно созревшими, материал необходимо перевести в контролируемые условия для высушивания.

Необходимы послабления с точки зрения применения вышеописанных стандартов (например, размера образца) к дикорастущим и редким видам, для которых сбор семян с оптимальным качеством и в достаточном количестве затруднен

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

**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)).

**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.

**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 СТАНДАРТЫ СУШКИ И ХРАНЕНИЯ

### Стандарты

- 4.2.1 Все образцы семян высушиваются до равновесной влажности в контролируемых условиях при 5–20 °С и 10–25% относительной влажности, в зависимости от вида.
- 4.2.2 После высушивания, все образцы семян необходимо запечатать в герметичные контейнеры, приемлемые для долгосрочного хранения. В тех случаях, когда к образцам коллекции требуется частый доступ, или когда велика вероятность, что запасы семян будут исчерпаны задолго до прогнозируемого времени утраты жизнеспособности, можно хранить семена в негерметичных контейнерах.
- 4.2.3 Наиболее оригинальные образцы, а также дублиеты, созданные для надежности сохранения, помещают на долгосрочное хранение (базовые коллекции) при температуре  $-18 \pm 3$  °С и относительной влажности в  $15 \pm 3\%$ .
- 4.2.4 В условиях среднесрочного хранения (активные коллекции), образцы сохраняются охлажденными при температуре 5–10 °С и относительной влажности в  $15 \pm 3\%$ .

### Контекст

Поддержание жизнеспособности семян является важнейшей функцией генбанка, которая гарантирует, что зародышевая плазма будет предоставлена пользователям и будет генетически репрезентативной для популяции, из которой она была отобрана (т.е. наиболее оригинального образца). Чрезвычайно важной задачей применения стандартов высушивания и хранения семян является сокращение частоты пересева наиболее оригинальных образцов благодаря максимальному сохранению всхожести, что позволит сократить

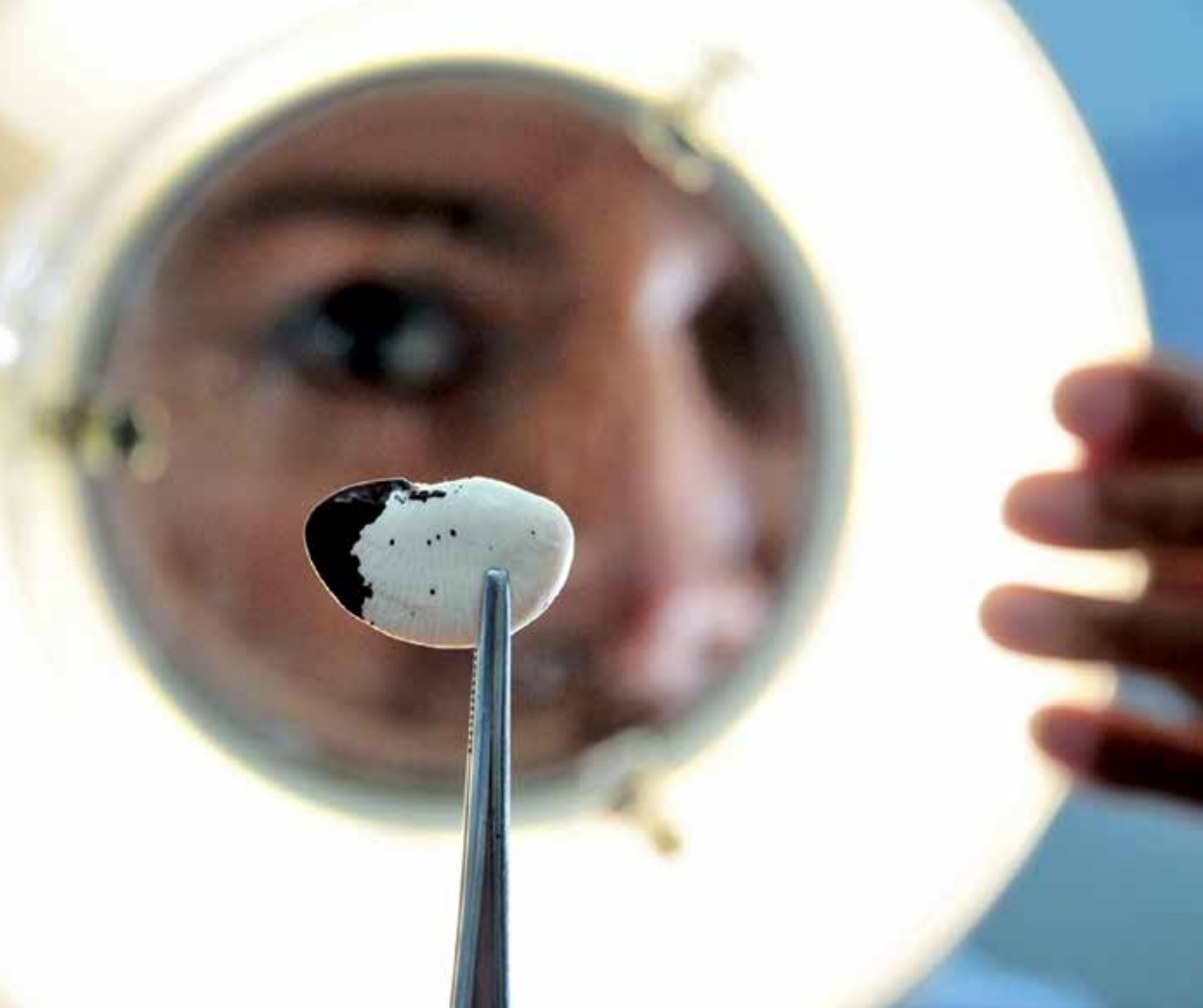
затраты генбанка и уменьшить риск генетической эрозии данных образцов. Для этого большинство наиболее оригинальных образцов и дублетов созданные для надежности сохранения, (см. Стандарты дублирования для надежности сохранения) следует поместить на долгосрочное хранение. Помимо этого, требуется соблюдение стандартов хранения в условиях средне- и краткосрочного хранения семян в живом виде, которое должно быть обеспечено на протяжении времени, требуемого для передачи материала пользователям и оценки зародышевой плазмы. В таких случаях применение стандартов может быть не столь строгим, как в случае долгосрочного хранения.

Перед хранением образцы семян необходимо высушить до приемлемого содержания влаги. Для высушивания семян можно использовать целый ряд способов, самыми распространенными из которых – использование влагопоглотителя или сушильной камеры. Используемые методы зависят от имеющегося оборудования, числа и размера образцов для высушивания, местных климатических условий и финансовых соображений. Однако есть предел, выше которого высушивание не может повысить долговечность. При критическом уровне влажности достигается максимальная долговечность при температуре хранения, и высушивание ниже этого уровня уже не продлевает долговечности семян. Для получения максимальной пользы от хранения в охлажденном или замороженном виде рекомендуется, чтобы генные банки высушивали семена до критического уровня влажности. При высушивании могут использоваться различные сочетания относительной влажности и температуры, и возможно более быстрое высушивание при более высокой температуре, но при этом, при более низких температурах высушивания потенциальная скорость физиологического старения уменьшается.

Рекомендуемые выше условия долгосрочного хранения должны обеспечивать высокое качество семян на протяжении длительного периода, хотя конкретный срок зависит от вида растений. Условия среднесрочного хранения позволяют сохранять материал в течение 30 лет, для чего требуется хранение при пониженных температурах. Краткосрочное хранение предполагает поддержание высокого качества семян в течение минимум восьми лет, и это возможно при окружающей температуре воздуха (при максимально прохладной и стабильной температуре, но не выше 25 °C) для долгоживущих видов, при условии контроля относительной влажности согласно Стандарту 4.2.2. Следует отметить, что всхожесть зрелых высококачественных семян может отличаться у разных видов и даже среди партий семян одного и того же вида (Probert *et al.*, 2009; Nagel and Barner, 2009; Crawford *et al.*, 2007; Walters *et al.*, 2005). Разница между видами и между партиями семян одного вида, особенно в случае сбора семян различной степени зрелости, требует от куратора генного банка особого внимания к контролю жизнеспособности (см. Стандарты контроля жизнеспособности).

Поскольку равновесная влажность зависит от содержания масла в семенах, наилучшей мерой стандарта высушивания послужит равновесная относительная влажность (eRH), являющаяся постоянной в зависимости от относительной влажности и температуры сушки. Однако необходимо учитывать, что показатель RH семян в герметичных контейнерах во время





хранения будет расти или уменьшатся, если температура хранения будет ниже или выше температуры сушки.

### Технические аспекты

Долговечность семян определяет взаимодействие биологических факторов, присущих семенам, а также качество и постоянство условий хранения, а именно, температура хранения и контролируемое содержание влаги в семенах (относительная равновесная влажность). Также долговечность зависит от вида растения. Хорошо известно, что долговечность семян растет по мере снижения в определенных пределах содержания влаги в семенах и температуры хранения (Ellis and Roberts, 1980; Harrington, 1972). Исследования показали, что высушивание семян ниже определенного критического уровня влажности семян

практически не дает преимуществ для долговечности (Ellis *et al.*, 1995; Ellis and Hong, 2006) и может даже ускорить темпы потери всхожести семян (Vertucci and Roos, 1990; Walters, 1998). Предлагаемые стандарты хранения направлены на то, чтобы семена хранились при оптимальной влажности. Однако, как было показано, снижение температуры хранения повышает оптимальный уровень содержания влаги в семенах (Walters and Engels, 1998; Ellis and Hong, 2006), что означает потенциальную опасность пересушивания семян.

Условия сушки, позволяющие достичь критического уровня влажности при температуре хранения, должны определяться с помощью изотерм водопоглощения, которые показывают отношения между количеством воды в семенах, выражаемым обычно в процентах от общего веса семян, и их RH. Для конкретного вида могут быть разные сочетания относительной влажности и температуры высушивания. Данные по изотермическим отношениям, предсказанным на основе маслячности семян, можно найти в Интернете на веб-сайте информационной базы данных Кью о семенах (SID) (см. библиографию). Управляющие генбанков должны отчетливо представлять себе отношение между относительной влажностью и температурой хранения, чтобы решить, каким должно быть наилучшее сочетание для высушивания семян.

По достижении семенами желаемой влажности, их следует упаковать и поместить на хранение. После высушивания влажность семян должна поддерживаться в гидроизолированных контейнерах. Можно использовать различные контейнеры, в том числе стеклянные, жестяные, пластиковые контейнеры и алюминиевую фольгу. Различные контейнеры имеют свои преимущества и недостатки (Gomez-Campo, 2006). В любом случае, либо небьющиеся стеклянные контейнеры достаточной толщины, либо ламинированная упаковка со слоем металлической фольги достаточной толщины позволяют поддерживать желаемую влажность до 40 лет в зависимости от относительной влажности окружающей среды в месте расположения генного банка и от качества герметизации. Например, в Германии в генбанке используют ламинированную алюминиевую фольгу толщиной 11µm, а образцы в Свальбарде хранятся в ламинированной алюминиевой фольге толщиной 20µm. Необходимо периодически измерять содержание влаги в семенах или относительную равновесную влажность, чтобы убедиться в поддержании необходимой влажности в хранилище.

Температура хранения определяет максимально возможную долговечность образца семян, и для поддержания жизнеспособности чрезвычайно важны стабильные условия хранения. Однако данных о длительном хранении в определенных температурных пределах мало. В прошлом для долгосрочного хранения была рекомендована температура  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , так как это самая низкая температура, которую обеспечивает обычный одноступенчатый компрессор морозильной камеры. В отношении семян на долгосрочном хранении, необходимо прилагать все усилия, чтобы колебания температуры хранения не превышали  $\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  от установленной температуры и имели общую продолжительность колебаний за этими пределами не более одной недели в году. Генбанкам надлежит вести учет отклонений температуры в хранилище и периодов, когда образцы семян изымаются из среды хранения. При краткосрочном хранении семена следует высушивать при той же температуре, что и температура хранения,



например, если температура окружающей среды 20 °С, то высушивать семена необходимо при той же температуре.

## Особые условия

Семена, находящиеся на долгосрочном хранении, следует извлекать редко и только в том случае, если закончились семена образца на среднесрочном хранении или семена нуждаются в тестировании всхожести. При отказе автоматических датчиков окружающей среды или при неоднократном извлечении семян из контролируемых условий хранения, необходимые условия хранения нарушаются. Хранилище должно быть оборудовано аварийными генераторами с достаточным запасом топлива.

Любые контейнеры не герметичны, и в конечном итоге влажность семян постепенно уравнивается с условиями среды в хранилище. Быстрее всего это происходит в контейнерах, в которых используется термопластик, поскольку они не обеспечивают абсолютной защиты от влаги, либо если в контейнерах из стекла или ламинированной фольги нарушена герметизация или есть дефекты. Время от времени требуется вновь подсушивать семена и в течение 20–40 лет заменять контейнеры или прокладки в них.

При использовании прозрачных контейнеров, контролировать их поведение во время долгосрочного хранения можно при помощи перфорированных прозрачных пластиковых пакетов-саше с индикаторным силикагелем, находящимся в равновесии со средой высушивания. Изменение цвета силикагеля внутри пакета-саше (хранящегося вместе с семенами) указывает на поступление влаги, если нарушена герметизация контейнера. Ортодоксальные семена-микробиотики или семена низкого исходного качества могут быстрее портиться во время хранения и не соответствовать стандартам долгосрочного хранения, если не использовать криоконсервацию.



## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

- 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. Kozłowski, 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 СТАНДАРТЫ МОНИТОРИНГА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ СЕМЯН

### Стандарты

- 4.3.1 Первая проверка жизнеспособности семян проводится после очистки и высушивания новых поступлений, или не позднее 12 месяцев после получения образца генбанком.
- 4.3.2 Исходный показатель всхожести должен быть не менее 85 % для большинства семян видов сельскохозяйственных культур. Для некоторых специфичных образцов, а также дикорастущих и лесных видов, у которых всхожесть обычно не достигает высокого уровня, приемлем и более низкий процент.
- 4.3.3 Интервалы между проверками в рамках мониторинга жизнеспособности должны соответствовать одной трети срока, в течение которого, как ожидается, жизнеспособность упадет до 85 %<sup>1</sup> или ниже в зависимости от вида или конкретного образца от исходной жизнеспособности, но не превышать 40 лет. Если этот период ухудшения нельзя определить расчетным методом, а образцы находятся на долгосрочном хранении при –18 °С в герметически запечатанных контейнерах, этот интервал должен составлять десять лет для видов с высокой долговечностью (макробиотиков) и пять или менее лет для видов с невысокой долговечностью (микробиотиков).
- 4.3.4 Порог жизнеспособности для восстановления всхожести или иных управленческих решений, например, повторного сбора, должен быть на уровне 85 % или ниже, в зависимости от вида или исходной жизнеспособности конкретных образцов.

---

1 Период сокращения жизнеспособности семян для целого ряда видов сельскохозяйственных культур можно спрогнозировать с помощью интернет-приложения, основанного на уравнениях жизнеспособности Эллиса/Робертса (см. <http://data.kew.org/sid/viability/>)

## Контекст

Качественные условия хранения семян способствуют поддержанию жизнеспособности зародышевой плазмы, но даже в превосходных условиях она уменьшается по мере хранения. Поэтому необходимо периодически ее определять. Проверка исходной жизнеспособности должна проводиться как можно раньше, прежде чем семена упакованы и помещены на хранение, а последующие проверки проводятся через установленные интервалы в течение срока хранения. Если по практическим соображениям, связанным с последовательностью рабочих операций и эффективностью, проверка исходной жизнеспособности не может быть определена до помещения на хранение, она должна быть проведена как можно быстрее, но не позднее, чем через 12 месяцев после получения образца. Такая ситуация может иметь место в генбанках, сохраняющих различные виды, которые требуют различных режимов проращивания, и поэтому образцы одного вида проверяются все вместе раз в год.

Цель мониторинга жизнеспособности состоит в выявлении утраты жизнеспособности в процессе долгосрочного хранения прежде, чем она упадет ниже порогового значения для восстановления всхожести. Важным определяющим принципом является активное управление коллекцией. Слишком частые проверки приведут к ненужному расходу семян и ресурсов. С другой стороны, значительное снижение жизнеспособности можно пропустить, если мониторинг проводится с опозданием или слишком редко; прогрессирующеесильное старение образца может привести к генетическим изменениям (случайный или направленный отбор), непоправимым мутациям или полной утрате образца.

Если прогноз показывает, что жизнеспособность упадет до 85 % прежде, чем будет проводиться следующая плановая проверка, необходимо перенести повторную проверку на более ранний период, или образец должен быть немедленно внесен в списки образцов, требующих срочного восстановления всхожести.

Риск генетической эрозии в период хранения меньше для однородных образцов, и снижение всхожести до уровня ниже 85 процентов допустимо при условии, что растение нормально укореняется или дает достаточно семян во время восстановления всхожести. Для неоднородных образцов, например, дикорастущих видов и староместных сортов, следует придерживаться стандарта в 85 процентов. Для некоторых староместных сортов, специфических образцов, дикорастущих видов и лесных видов, жизнеспособность семян нового пополнения редко достигает 85 %. В таких случаях куратор может установить для конкретных видов порог стандарта жизнеспособности на более низком уровне, например, в 70 % или ниже.

Для различных сельскохозяйственных видов имеются модели для прогнозирования долговечности семян в широких пределах – от различных условий хранения до замораживания. Персонал генбанков должен пользоваться имеющимися средствами прогнозирования, описанными для конкретных видов и условий хранения, чтобы оценить тот срок, в течение которого семена сохраняют высокую жизнеспособность, и управлять другими



операциями генбанка, например, мониторингом жизнеспособности и частотой восстановления всхожести (см. Стандарты мониторинга жизнеспособности и восстановления всхожести). Прогнозы долговечности, основанные на показателях вида в целом, следует считать предварительными оценками с большим доверительным интервалом. Генбанкам рекомендуется накапливать и распространять новые данные, описывающие и уточняющие реакцию различных видов на условия хранения.

## Технические аспекты

Интервалы между проверками жизнеспособности следует корректировать в соответствии с данными, полученными при проверке всхожести. При ее значительном снижении, интервалы между проверками следует сократить, чтобы “тонко отрегулировать” по времени осуществление проверки для соблюдения стандарта жизнеспособности.

Образцы с очень высокой исходной жизнеспособностью (>98 %) могут демонстрировать ее статистически значимое снижение задолго до прогнозируемого срока снижения жизнеспособности до 85 %, когда всхожесть все еще выше 90 %. Восстановление всхожести или повторный сбор образца в это время будут преждевременными и ненужными. Однако в будущем интервалы между повторными проверками необходимо сократить (например, с десяти до пяти лет), чтобы точнее отслеживать снижение всхожести.

Образцы более низкого качества могут оказаться в опасной близости от переломного момента, если жизнеспособность будет снижаться сравнительно быстро. Такие образцы требуют особо тщательного обращения, и первые проверки их жизнеспособности должны сначала осуществляться через каждые 3–5 лет хранения. Менее частые (например, раз в десять лет) проверки не позволяют отследить быстрое снижение жизнеспособности, поэтому есть опасность пропустить контрольный показатель в 85 %, что будет иметь негативные последствия для генетической целостности коллекции. В этом отношении, статистические модели могут помочь спрогнозировать наступление переломного момента и предсказать временные рамки для восстановления всхожести.

Проверка жизнеспособности должна показать руководителю генбанка примерный уровень жизнеспособности взятой на проверку пробы. Цель должна заключаться в выявлении отклонения примерно в +5 %, а не отклонения в +0,1 %. Размеры пробы для проверки жизнеспособности будут зависеть от размера образца, но при этом быть максимально большим для обеспечения статистической точности. В то же время, необходимо свести к минимуму размер такой пробы, чтобы избежать пустой траты семян. Семена в генбанке – ценный ресурс, и их не следует тратить расточительно.

Установить жесткий стандарт количества семян для проверки всхожести в генных банках сложно, однако есть стандартные протоколы Международной ассоциации по контролю за качеством семян (ISTA), которые широко используются. В общем и целом, рекомендуется использовать 200 семян для первоначального определения всхожести (ISTA, 2008). Если исходная всхожесть

менее 90 %, то процедура последовательной проверки, предложенная Ellis *et al.* (1985), поможет сохранить семена в последующих проверках на всхожесть во время хранения. Если семян немного, достаточно 100 или даже меньше штук для проверки в нескольких повторностях. Проверка на всхожесть является ориентиром для определения жизнеспособности, и даже небольшие пробы семян могут предоставить управляющему персоналу полезную информацию. На практике фактический размер образца для проращивания будет зависеть от размера коллекционного образца, который обычно невелик (в генбанках, в идеальном случае, рекомендуемый минимальный объем для самоопыляющихся видов – 1500, а для перекрестноопыляющихся – 3000 семян). Следует свести к минимуму количество ценных семян, отбираемых для проращивания. В случае малого размера образца (как это часто бывает с образцами дикорастущих видов), приемлем размер пробы в 50 семян и менее. Однако, следует помнить, что в этом случае вероятность того, что всхожесть будет ниже пороговой, повышается. Куратору генбанка следует оценить последствия такого риска.

Проверка на всхожесть всегда более предпочтительна, чем такие альтернативные варианты, как тетразолиевая проба. Однако в обстоятельствах, когда вывести семена из покоя не удастся, можно провести проверку альтернативными методами. Рекомендуется измерять всхожесть в два разных периода времени, чтобы отобрать быстро и медленно прорастающие семена. Следует также вести учет количества аномально прорастающих семян. Медленное прорастание и увеличение количества аномальных семян нередко оказываются ранними показателями того, что происходит ухудшение всхожести.

Следует прилагать все усилия к тому, чтобы проращивание всех жизнеспособных семян в коллекции проводилось в оптимальных условиях и, в случае необходимости, с использованием соответствующих методов выведения из покоя. Непроросшие семена, по окончании проверки на всхожесть следует препарировать, чтобы установить, погибли эти семена или они находятся в состоянии покоя. Семена с плотной, свежей тканью, скорее всего, находятся в состоянии покоя и их следует считать жизнеспособными.

Все данные и информацию, полученную в ходе мониторинга жизнеспособности, необходимо регистрировать и учитывать в системе документирования.

## Особые условия

Известно, что мониторинг-контроль жизнеспособности требует немалых расходов, и что генбанки ведут поиск менее затратных процедур. Один из способов – проверка качества семян в выборке, взятой из образцов одного и того же вида и одного и того же года урожая (репродукции). Благодаря такой практике можно установить общие тенденции во влиянии условий года выращивания на качество семян, но при этом не будут учитываться взаимодействие генотипа с условиями конкретного года, которые, как известно, важны для качества семян.

Когда есть различия по условиям сбора для образцов, различающихся по времени созревания, то при формировании подгрупп для проверки

жизнеспособности следует учитывать эти характеристики. Еще одна стратегия – сосредоточение на повторной проверке тех образцов, которые показали низший уровень жизнеспособности при первоначальном определении. Повторная проверка этих образцов должна предупредить на раннем этапе о состоянии всей партии в целом.

При сборе образцов твердосемянных видов, нередко встречающихся среди кормовых бобовых и диких родичей культурных растений, первоначально измеренная всхожесть может быть всего 45 %, но затем она возрастает через 10–15 лет до 95 % и выше, и остается такой в течение длительного периода. Если первоначально измеренная всхожесть ниже 90 %, тогда при первом признаке значительной деградации, установленной с помощью соответствующей статистической проверки, следует провести восстановление всхожести или повторный сбор образца.

Однако, с вышеописанными стратегиями связаны риски, которые необходимо учитывать, особенно в случае высокого уровня внутривидовой изменчивости, обнаруженного у большого количества образцов. Мониторинг жизнеспособности образцов дикорастущих видов обычно более проблематичен по сравнению с культурными видами, поскольку у первых вероятность нахождения семян в покое значительно выше, а небольшой размер образцов означает, что для определения всхожести придется использовать меньший объем минимальной пробы, что неизбежно скажется на возможности обнаружить начало деградации семян.

Что касается первоначальной проверки жизнеспособности семян, то иногда генбанки получают их в малых количествах. В таком случае нет необходимости тестировать семена на жизнеспособность, так как их сразу направляют на размножение. Однако затем жизнеспособность размноженных семян следует проверить до помещения на хранение.

Диапазон биологической долговечности также более широк у дикорастущих видов; при этом считается, что некоторые виды из средиземноморских и тропических засушливых мест произрастания чрезвычайно долговечны и, наоборот, некоторые виды из холодных, умеренных регионов недолговечны. В отношении последних рекомендуется проводить проверки всхожести не реже одного раза в три года, а также обеспечить криосохранение дублетов в качестве превентивной меры. Если не будут соблюдены условия хранения (что возможно в случае продолжительного отключения электроэнергии при хранении семян в холодильных камерах), снижение жизнеспособности будет зависеть от вида, длительности отключения энергии и условий во время отключения. В таких ситуациях необходимо ввести в действие план аварийного управления. Например, репрезентативные пробы образцов следует отправить на проверку всхожести сразу после восстановления требуемых условий хранения.

**РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ**

- 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 Pflanzzüchter 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 СТАНДАРТЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ВСХОЖЕСТИ И РАЗМНОЖЕНИЯ

### Стандарты

- 4.4.1 Восстановление всхожести и размножение следует проводить тогда, когда жизнеспособность образца падает ниже 85 % от первоначальной жизнеспособности, или когда оставшееся количество семян меньше, чем требуется для выращивания трех репрезентативных популяций образца. Для восстановления этих образцов следует использовать наиболее оригинальный образец.
- 4.4.2 Восстановление всхожести необходимо проводить таким образом, чтобы не нарушить генетическую целостность конкретного образца. Необходимо предпринимать меры, специфические для конкретного вида, чтобы исключить примеси или генетическое засорение в результате переноса пыльцы от других образцов того же вида или от других видов, растущих вокруг полей, где проводится восстановление всхожести.
- 4.4.3 По возможности, как минимум 50 семян оригинальных и последующих наиболее оригинальных образцов следует помещать на долгосрочное хранение в качестве справочного материала.

### Контекст

Восстановление всхожести – одна из основных операций, составляющей обязанности любого генбанка, сохраняющего ортодоксальные семена. Это процесс, ведущий к увеличению хранимого в генбанке количества семян (также называемый «размножением») и/или повышению жизнеспособности семян до или выше согласованного минимума, который называется порогом восстановления всхожести. Размножение/восстановление всхожести образца проводится, когда в нем недостаточно семян для долгосрочного хранения (т.е., 1500 семян для самоопыляющихся видов и 3000 – для

перекрестноопыляющихся видов), или когда жизнеспособность образца упала ниже установленного минимального уровня (например, ниже 85 % от первоначальной всхожести находящихся на хранении семян). Также эту процедуру необходимо проводить, когда запас семян исчерпан из-за частого использования этого образца. Если образец запрашивается редко и жизнеспособность семян в пределах нормы, тогда семян может быть меньше 1000 до следующего восстановления всхожести. Каждый пересев – особенно перекрестноопыляющихся видов – чреват риском утраты редких аллелей генов или изменения генетического профиля образца, поэтому частоту пересевов необходимо сводить к минимуму. Для редко запрашиваемых образцов или видов большего количества семян не требуется.

Поскольку восстановление всхожести может повлиять на генетический состав образца (а значит и на его генетическую целостность), требуется особая осторожность. Следовательно, сотрудникам генбанка необходимо, с одной стороны, избежать увеличения числа пересевов, а с другой – избежать угрозы утраты образцом жизнеспособности и, как следствие, нарушения его генетической целостности. Активное управление коллекциями поможет решить, в какой момент лучше всего проводить восстановление всхожести.

Эта процедура должна быть проведена так, чтобы возможность изменения генетической целостности соответствующего образца была минимальной. Это означает, что помимо учета требований к отбору пробы из соответствующего образца (см. пункт ниже), нужно уделять внимание окружающей среде, в которой осуществляется пересев, так как она может оказать серьезное селекционное воздействие на образец. Окружающие условия, в которых проводится восстановление всхожести, следует подбирать максимально схожими с условиями места сбора образца, особенно когда речь идет о популяции, собранной в природных условиях, чтобы свести к минимуму генетический дрейф и смещение и получить семена наивысшего качества. Нередко возникают трудности со сбором достаточного количества семян у дикорастущих родичей по причине малого количества семян или растений по сравнению с другими видами, либо из-за механизма распространения семян, например, их осыпания. Поэтому необходимо использовать подходящие средства сбора максимально возможного количества семян (например, сетки для улавливания осыпающихся семян).

Могут также потребоваться повторные циклы размножения, чтобы обеспечить достаточное количество сохраняемых семян. При этом, лучше всего создавать благоприятные для производства семян экологические условия и свести к минимуму конкуренцию между растениями. Условия на участках первоначального сбора зачастую неблагоприятны по тем или иным причинам для максимальной семенной продуктивности. Поэтому нужно найти компромисс между обеспечением общих благоприятных условий и тех особых аспектов (фотопериод, питание или климат), которые являются специфическими для местной адаптации индивидуальных образцов. Это часть искусства кураторства. Если в месте расположения генбанка благоприятные условия не могут быть обеспечены, куратору следует постараться найти возможность провести восстановление в благоприятных условиях; Воспроизводство условий, существовавших в месте сбора образца, не обязательно входит в задачи куратора.

Для сохранения генетической целостности коллекций генбанка во время восстановления всхожести семян необходимо правильно отбирать семена из коллекции. Количество семян для пересева должно быть достаточным, чтобы гарантировать репрезентативность генетического разнообразия образца, а также чтобы с определенной вероятностью обеспечить наличие одного или более редких аллелей генов.

Методология восстановления всхожести может быть разной для разных видов и зависит, помимо прочих факторов, от размера популяции, системы размножения и эффективности опыления. Поэтому особенно важно собрать как можно больше необходимой биологической информации о конкретном виде растений. Кроме того, когда это возможно и целесообразно, процедуру восстановления всхожести рекомендуется использовать также и для описания восстановленных образцов (см. Стандарты описания). Однако для видов с перекрестным опылением использовать данную процедуру для проведения описания не всегда просто по техническим причинам.

## Технические аспекты

В целях сохранения генетической целостности образца для восстановления всхожести рекомендуется использовать семена наиболее оригинального образца. Для увеличения количества семян, в течение пяти циклов рекомендуется брать для размножения семена из рабочей коллекции без привлечения наиболее оригинального образца (МИГРР, 2003).

Следует отметить, что в случаях, когда объем исходно собранного или передаваемого в генбанк образца мал, по получении материала его необходимо немедленно размножить, чтобы получить достаточное для длительного хранения количество семян. Следует вести учет количества пересевов и вносить эту информацию в систему документирования. Рекомендуется всегда сохранять в генбанке-получателе некоторое количество семян исходного образца для справочных целей. Даже если эти оригинальные семена утратят жизнеспособность, их можно использовать для сравнительного анализа морфологических признаков или генотипа последующих поколений соответствующего образца.

Размер выборки семян для восстановления всхожести должен отражать генетический состав образца. Для этого важным параметром является эффективный размер популяции ( $N_e$ ), от которого зависят масштабы генетического дрейфа, связанного с восстановлением всхожести образца. Минимальный размер  $N_e$  для максимального уменьшения утраты аллелей генов в конкретном образце можно рассчитать, исходя из биологии опыления и условий произрастания. Во избежание смешения семян во время посева, сбора урожая и доработки, следует применять передовые методики сбора урожая. Исследования, проведенные Johnson *et al.*, (2002, 2004) по восстановлению всхожести многолетних перекрестноопыляющихся видов (например, злаков) показали, что для сохранения генофонда изучаемых таксонов необходимо как минимум 100 растений. Рекомендуется собирать от 3 до 5 соцветий с каждого растения.

Во избежание переноса генов или засорения образцов, чрезвычайно важно использовать надлежащие методы изоляции участков, на которых проводится восстановление всхожести перекрестноопыляющихся образцов. В зависимости от условий восстановления, это может относиться и к самоопыляющимся видам. Для видов, зависящих от специфических опылителей, следует использовать изодомики и соответствующих опылителей (Dulloo *et al.*, 2008). Загрязнение и генетический дрейф или смещение можно оценить по морфологическим, ферментным или иным отличительным признакам, которых можно использовать в качестве маркеров (например, цвет цветка; цвет семени, т.д.), или с помощью молекулярных маркеров.

Справочно-информационный фонд (гербарные образцы, фотографии и/или описания оригинальных образцов) совершенно необходим для подтверждения типичности образца (Lehmann and Mansfeld, 1957). Для сбора необходимой справочной информации требуется внимательный осмотр семян при их поступлении в генбанк и после их первого посева. Во избежание разницы в зрелости семян одного и того же образца, их следует собирать несколько раз в течение периода плодоношения.

## Особые условия

Управление рисками всегда будет одним из аспектов работы куратора. Основательные биологические знания о соответствующем виде являются определяющим фактором при принятии оптимального решения о восстановлении всхожести в сложных условиях. Планируя это мероприятие, следует уделять необходимое внимание таким аспектам, как размер пробы, расстояние между индивидуальными образцами и иные формы изолирования образцов, соблюдение установленных пороговых значений утраты жизнеспособности, условия произрастания и прочее.

Ввиду всей сложности вышеописанного, нет смысла рассматривать возможные особые ситуации. В случае чрезвычайной ситуации будет целесообразно обратиться за рекомендациями к специалистам и/или установить сотрудничество с другими генбанками, способными предоставить помощь.



## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

**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://cropgenebank.sgrp.cgiar.org>).

## 4.5 СТАНДАРТЫ ОПИСАНИЯ

### Стандарты

- 4.5.1 В течение пяти – семи лет с момента поступления образцов в генбанк или во время первого восстановления их всхожести должно быть проведено описание около 60 % этих образцов.
- 4.5.2 Для описания используются стандарты и шкалы для измерения параметров, а описательные данные, соответствующие принятым международным дескрипторам, предоставляются в открытое пользование.

### Контекст

Описание заключается в составлении характеристики зародышевой плазмы растения, в процессе которой определяется экспрессия признаков с высокой степенью наследования, от морфологических, физиологических или агрономических до содержания белка и масла в семенах или молекулярных маркеров.

Описание можно делать на любом этапе процесса сохранения до тех пор, пока образец содержит достаточное количество семян. О сохраняемой зародышевой плазме должно было собрано как можно больше информации и максимально подробных описаний, чтобы гарантировать ее наилучшее использование селекционерами. Поэтому описание следует проводить как можно раньше, чтобы максимально повысить ценность коллекции. В проведении описания поможет минимальный набор признаков: фенотипических, физиологических и качества семян, а также морфологических дескрипторов и сведений о системе размножения, публикуемых, например, Bioversity International. Полезные дескрипторы можно также найти в публикациях Международного

союза по охране новых сортов растений (UPOV) и Национальной системы гермоплазмы растений Департамента сельского хозяйства США (USDA NPGS). Использование согласованных на международном уровне стандартов описательных данных повышает ценность публикуемых сведений.

Описание позволяет выявить разнообразие между образцами и внутри образца. Для обеспечения сохранения редких аллелей генов или улучшения доступа к определенным аллелям могут потребоваться соответствующие стратегии. Чрезвычайно важно документирование наблюдений и принимаемых мер.

## Технические аспекты

Описание требует большого объема времени и затрат. Можно попытаться объединить проведение описания с размножением или восстановлением всхожести образца. Кураторам надлежит прикладывать все усилия для учета описательных данных. При этом рекомендуется проводить повторные описания высоконаследуемых признаков.

Характеристики и признаки сельскохозяйственных культур выбираются для описания специалистами по культурам и/или кураторами по согласованию с руководством генбанка. Большое количество дескрипторов по культурам создано Bioversity International в качестве примера, а для ряда культур установлены также минимальные наборы ключевых дескрипторов для использования. Помимо этого, существуют региональные и национальные дескрипторы, например, дескрипторы Национальной системы гермоплазмы растений Департамента сельского хозяйства США. Учет данных должен вестись обученным персоналом с использованием стандартов и шкал для измерения параметров в соответствии с рекомендациями и опубликованных дескрипторов по сельскохозяйственным культурам, согласованных на международном уровне. Данные должны проверяться куратором и ответственными за документирование сотрудниками прежде, чем они будут внесены в базу данных генбанка и переданы в открытое пользование. Также известно, что справочные коллекции (гербарные образцы, справочные коллекции семян, фотографии) играют немаловажную роль для определения типичности образца.

Благодаря достижениям в области биотехнологии, для описания все чаще используются технологии молекулярного маркирования и геномики (De Vicente *et al.*, 2004), в сочетании с фенотипическими наблюдениями, потому что они имеют преимущества в плане оценки изменчивости и отборе уникальных образцов. При этом, генотипические данные, полученные в процессе описания зародышевой плазмы с использованием молекулярных методов, имеют преимущества по сравнению с фенотипическими данными, поскольку выявляемая изменчивость не зависит от условий окружающей среды (Bretting and Widrlechner, 1995). Тем не менее, использование молекулярных технологий остается проблемой для некоторых организаций, так как для этого необходимы современная лабораторная база и технические возможности, что требует больших затрат (Kang *et al.*, 1997), особенно в развивающихся странах, а также в ситуациях, когда для

новых объектов необходимо разработать *de novo* геномоспецифичные маркеры (например, микросателлитные маркеры - SSR).

Имеется достаточно много методов и маркеров, например, SSR (микросателлиты или простые повторяющиеся последовательности), EST-SSR (микросателлиты в экспрессирующихся последовательностях), AFLP (метод анализа полиморфизма длин продуктов амплификации), но для целей описания образцов следует использовать только хорошо воспроизводимые маркеры. Для многих сельскохозяйственных культур был разработан широкий спектр праймеров для маркеров, которые можно использовать для описания генетического разнообразия, а также были созданы минимальные наборы наиболее важных (ключевых) маркеров. Для того чтобы обеспечить сопоставимость результатов независимых анализов, определенные образцы генбанка следует включить в качестве рефересных генотипов при анализе каждой выборки. Использование одних и тех же рефересных генотипов в молекулярных исследованиях играет важную роль для сопоставления данных различных генбанков.

## Особые условия

Степень достоверности данных, собранных разными специалистами, может различаться и зависит от подготовки и опыта сотрудников. Поэтому в течение всего вегетационного периода учетом и документированием описательных данных должен заниматься технический персонал, обученный в области генетических ресурсов растений. Проводя описание, желательно также консультироваться с опытными специалистами по таксономии, биологии семян и патологии растений (штатных или из сотрудничающих институтов).

Описание образца – очень трудоемкий процесс, для которого требуется достаточное финансирование, чтобы получать данные высокого качества. Если в ходе восстановления всхожести проводить полное описание образцов, то количество тех, которые можно будет пересеять в рамках одного цикла, уменьшится.

Появление вредителей и болезней мешает получению качественных данных. Определение некоторых признаков, например, содержания масла или белка, требует лабораторных анализов, которые либо не всегда возможны, либо могут оказаться дорогостоящими.



## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

**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. & 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.

**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 СТАНДАРТЫ ОЦЕНКИ

### Стандарты

- 4.6.1 Оценочные данные о сохраняемых в генбанке образцах должны быть получены по признакам, включенным в согласованные на международном уровне перечни дескрипторов по сельскохозяйственным культурам. Формат этих данных должен основываться на применении стандартов и шкал для измерения параметров.
- 4.6.2 Данные по оценке должны быть получены для как можно большего количества образцов посредством проведения в соответствующих случаях лабораторного, тепличного и/или полевого изучения.
- 4.6.3 Оценку следует проводить, по крайней мере, в трех экологически разных местах и собирать данные в течение как минимум трех лет.

### Контекст

Оценка – это регистрация признаков, выражение которых часто находится под воздействием факторов окружающей среды. Она включает методический сбор данных об агрономических и качественных признаках посредством правильно разработанных экспериментальных испытаний. Оценочные данные часто включают информацию об устойчивости к насекомым-вредителям, о патологии растений и оценке качества (например, содержанию масла, белка), а также о признаках взаимодействия с окружающей средой (засухоустойчивость, холодостойкость и др.). Наличие такой дополнительной информации позволяет сделать выбор зародышевой плазмы более сфокусированным для удовлетворения потенциальных потребностей пользователей. Такие данные должны быть включены в систему документации генбанка. Наборы этих данных пользуются большим спросом у пользователей, поскольку позволяют включить признаки в селекционные программы и улучшить использование коллекций. Признаки, по которым следует провести оценку образцов зародышевой плазмы,

определяются экспертами по сельскохозяйственным культурам совместно с кураторами генбанка. Достоверные оценочные данные, поиск которых не представляет проблемы для селекционеров и исследователей, значительно облегчают доступ к образцам зародышевой плазмы растений и их использование. Оценку зародышевой плазмы можно проводить систематически, используя сетевой подход на международном региональном или национальном уровне.

Получение генбанками оценочных данных занимает много времени и является более дорогостоящим, чем получение описательных данных. Кураторы должны предпринять все возможные усилия для получения оценочной информации. Одним из возможных источников являются записи о проведенной оценке, сделанные пользователями, которым были разосланы семена. Генбанкам рекомендуется поощрять пользователей предоставлять оценочные данные хотя бы спустя некоторое время после публикации пользователем результатов оценки. В этом отношении, между генбанком и получателями/пользователями материала должны быть разработаны практические договоренности.

## Технические аспекты

Широкий спектр перечней дескрипторов по культурам был разработан, например, Международным советом по генетическим ресурсам растений (сейчас Bioversity International) и Международным союзом по охране новых сортов растений (UPOV). Кроме того, перечни оценочных дескрипторов разработаны также региональными и национальными организациями, такими, как Национальная система гермоплазмы растений Департамента сельского хозяйства США (USDA-ARS NPGS).

Сбор данных должен проводиться обученным персоналом, с максимальным использованием стандартов и шкал для измерения параметров, достаточно хорошо проверенных (контрольных) образцов и опубликованных перечней дескрипторов по культурам. Результаты тепличных, лабораторных или полевых оценок, согласно стандартизированным протоколам и экспериментальным процедурам, обычно представляют в виде дискретных величин (например, оценка степени заболевания в баллах; результат подсчета) или непрерывных величин (полученных на основе измерений). Кураторы и сотрудники, занимающиеся документированием, должны проверять данные до их внесения в базу данных генбанка и до того, как они станут общественно доступными. Оценку желательно проводить силами групп, включающих различных специалистов, как из самого генбанка, так и из других институтов, и обладающих знаниями по биологии семян и патологии растений, устойчивости к вредителям и устойчивости к окружающей среде. Зачастую генбанки не способны выполнять эти требования, поэтому оценку образцов зародышевой плазмы лучше всего проводить вместе со специалистами селекционерами.

Многие агрономические признаки, представляющие интерес для селекционеров, являются генетически сложными для скрининга в процессе предварительной оценки образцов зародышевой плазмы. Данные по агрономическим признакам обычно получают в ходе оценки зародышевой плазмы



в селекционной программе; многие из этих признаков являются результатом сильного взаимодействия генотипа с окружающей средой (G x E) и, следовательно, зависят от места проведения оценки. Важно проводить оценку желаемых признаков в повторностях в различных условиях окружающей среды, а также четко определить и описать контрольные образцы, которые будут использоваться в последующие годы. Такую оценку следует проводить по меньшей мере в трех местах с экологически различными условиями, в течение трех вегетационных циклов, проводя статистически обоснованное сопоставление полученных данных.

Благодаря достижениям в области биотехнологии, для описания все чаще используются технологии молекулярного маркирования и геномики (De Vicente *et al.*, 2004) (см. Стандарты описания). Молекулярные маркеры, наиболее часто используемые в настоящее время для описания и оценки зародышевой плазмы, включают AFLP, SSR, и маркеры, детектирующие однонуклеотидный

полиморфизм (SNP). Ввиду достаточно высокой воспроизводимости получаемых данных и возможности получения высоконасыщенных хромосомных карт, они заменили более старые типы маркеров, такие как ПДРФ или RFLP (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) и RAPD (маркеры, основанные на ПЦР с применением праймеров с произвольной последовательностью). Также, разработка нового поколения методов секвенирования и одновременное удешевление их стоимости привело к более широкому использованию в оценке зародышевой плазмы методов секвенирования отдельных кодирующих и не кодирующих областей генома и технологий генотипирования посредством тотального секвенирования (GBS). Молекулярные маркеры различаются по уровню выявляемого генетического полиморфизма; по типу получаемых данных; по возможностям их применения на том или ином таксономическом уровне, а также по техническим требованиям их применения и финансовым затратам (Lidder and Sonnino, 2011). В тех случаях, когда возможно проведение маркер-вспомогательного отбора – MAS (т.е. отбор селекционного материала на наличие или отсутствие определенных признаков на молекулярном уровне), такой подход можно применить и для оценки зародышевой плазмы на наличие целевых признаков. Проблема нехватки обученного персонала и ресурсов для внедрения методов молекулярного маркирования продолжает служить препятствием для их широкого применения как предпочтительных методов оценки зародышевой плазмы, особенно в развивающихся странах.

## Особые условия

Оценка зародышевой плазмы растений является очень трудоемкой и требует соответствующего устойчивого финансирования, позволяющего проводить сбор надежных данных высокого качества. В тех случаях, когда проведение полной оценки всех образцов является желательным, но экономически неосуществимо, в качестве первого шага рекомендуется выполнять отбор генетически различных образцов (например, на основе ранее намеченных подгрупп образцов зародышевой плазмы).

Различия по степени распространенности вредителей и заболеваний, сила воздействия абиотических стрессов и колебания экологических и климатических факторов в полевых условиях влияют на точность данных. Эти различия следует сглаживать посредством повторных оценок, которые следует проводить в разных местах, в разное время года и в течение многих лет. К тому же, проведение лабораторной оценки по таким признакам, как содержание масла и белка, качество крахмала, питательность и т.д. требует специализированного оборудования и квалифицированных сотрудников, которые не всегда имеются в наличии или требуют немалых расходов, что опять подчеркивает целесообразность привлечения в случае необходимости многопрофильных групп специалистов из нескольких отделов организации или разных институтов.

Использование оценочных данных, полученных из других источников, может вызвать значительные практические проблемы. Например, данные могут быть представлены в различных форматах, а если они уже опубликованы, может



возникнуть проблема авторских прав и прав интеллектуальной собственности. Для облегчения использования данных из других источников, важно стандартизировать сбор и анализ данных, и унифицировать формат отчетности.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

**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. & 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.

**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 СТАНДАРТЫ ДОКУМЕНТИРОВАНИЯ

### Стандарты

- 4.7.1 Паспортные данные всех без исключения образцов следует документировать, используя Многофункциональные паспортные дескрипторы по сельскохозяйственным культурам ФАО/МИГРР.
- 4.7.2 Все данные и информация, собранные генбанком по всем аспектам сохранения и использования материала, учитываются в базе данных, спроектированной надлежащим образом.

### Контекст

Информация об образцах необходима генному банку для сохранения коллекций и управления ими; она также важна для осуществления информационного обмена и предоставления потенциальным пользователям зародышевой плазмы, и должна прилагаться ко всем распространяемым материалам. Паспортные данные представляют собой минимальный объем данных, которые должны существовать для каждого образца, чтобы гарантировать надлежащее управление им. Для записи паспортных данных следует использовать такие международные стандарты, как Многофункциональные паспортные дескрипторы по сельскохозяйственным культурам ФАО/Байоверсити (Alercia *et al.*, 2012). Применение международно-согласованных стандартов в значительной мере облегчает обмен данными.

За последние десять с небольшим лет появились значительные достижения в области информационных технологий и биоинформатики, и сейчас многое из этого доступно в Интернете. У большинства генбанков имеются компьютеры и доступ к Интернету. Эти новые технологии позволяют эффективно регистрировать и обмениваться данными и информацией. В конечном счете, сохранению зародышевой плазмы и возможности ее использовать способствует хорошо налаженное управление данными и информацией. Все данные и сведения, полученные в процессе пополнения генбанка зародышевой плазмой,

ее регистрации, хранения, мониторинга, восстановления всхожести, описания, оценки и распространения должны вноситься в базу данных, спроектированную надлежащим образом, и способствовать улучшению условий сохранения и использования зародышевой плазмы. Эти данные и сведения охватывают широкий спектр от подробных сведений о генетических признаках конкретных образцов и популяций до информации о сетях распространения и пользователях. Необходимо резервное копирование базы данных и ее хранение вне генбанка.

Документирование описательных и оценочных данных, а также сведений о рассылке материала особенно важно для повышения интенсивности использования соответствующих коллекций и помощи в идентификации отдельных образцов.

Учитывая достижения в области биотехнологии, существует потребность в дополнении данных о фенотипических признаках молекулярными данными. Следует вести сбор молекулярных данных, получаемых благодаря геномике, протеомике и биоинформатике.

## Технические аспекты

которые были специально созданы для удовлетворения потребностей генбанков в документировании и управлении информацией. Другая система управления информацией – платформа Международной информационной системы по культурам (ICIS), которая позволяет хранить данные о зародышевой плазме из одного или нескольких генных банков, обеспечивая доступность и возможность поиска онлайн, благодаря чему пользователи могут устанавливать критерии отбора зародышевой плазмы по одному или нескольким признакам, а также с учетом координат GPS и/или наложением климатических и почвенных карт для целенаправленного отбора зародышевой плазмы.

Зачастую источником оценочных данных являются пользователи, получающие предоставляемые семена. Генбанкам следует поощрять пользователей делиться оценочными данными, которые должны включаться в информационную систему генбанка. Сведения такого рода включают данные об устойчивости к воздействию биотических и абиотических факторов, особенностях образца с точки зрения роста и развития, качественных характеристик урожайности и т.д. Добавление такой информации позволяет более целенаправленно вести поиск зародышевой плазмы с учетом потребностей потенциальных пользователей. При этом, следует признать, что использование информации, авторами которой являются пользователи, может оказаться затруднительным и потребовать решения проблем с авторскими правами, а также институциональных вопросов.

## Особые условия

Отсутствие документации или ее утрата ставит под угрозу оптимальное использование семян или может даже привести к их потере. Кураторам необходимо обеспечить ведение надлежащей регистрации всей информации,

связанной с управлением генным банком, в резервных информационных системах, являющихся компонентом системы управления рисками. В случае отсутствия компьютерной системы, всю важную информацию необходимо надлежащим образом заносить в регистрационные журналы.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

**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 СТАНДАРТЫ РАССЫЛКИ И ОБМЕНА

### Стандарты

- 4.8.1 Рассылка семян должна осуществляться в соответствии с национальным законодательством и соответствующими международными договорами и конвенциями.
- 4.8.2 Образцы семян предоставляются вместе со всеми необходимыми документами, требуемыми страной-получателем.
- 4.8.3 Временной промежуток между получением заявки на семена и их отправкой должен быть минимальным.
- 4.8.4 Для большинства видов, предоставляемый образец включает как минимум 30–50 жизнеспособных семян. Это касается образцов, семена которых имеются в достаточном количестве. Что касается образцов, запас семян которых в момент поступления заявки мал и нет образцов, которые можно было бы предложить в качестве альтернативы, то такие образцы предоставляются после их размножения, по получении повторной заявки. Для некоторых видов растений и типов исследований, предоставляемый образец может содержать меньшее количество семян.

### Контекст

Сохранение зародышевой плазмы должно быть связано с ее использованием. Рассылка зародышевой плазмы представляет собой отправку репрезентативного образца семян из генбанка по заявке, полученной от пользователей зародышевой плазмы растений. Постоянно растет спрос на генетические ресурсы для решения проблем, которые вызваны изменением климата, изменением степени опасности основных вредных организмов и болезней, а также инвазивными чужеродными видами. Растущий спрос помогает еще глубже осознать значение использования





зародышевой плазмы, сохраняемой в генбанках, что в конечном итоге влияет на распространение зародышевой плазмы. Время между получением от пользователя заявки на семена и последующим ответом и отправкой семян (вместе с соответствующей информацией) должно быть по возможности минимальным.

Как известно, законодательные системы различаются в плане процессуальных правил, которые регулируют доступ к судам и к третейскому суду, а также обязательств, вытекающих из международных и региональных конвенций, которые применимы к этим процессуальным правилам. Когда пользователь запрашивает образец из генбанка, он должен указать национальные требования для импорта семян, в частности, карантинные положения в его стране, во избежание распространения карантинных заболеваний, регулируемых вредителей или инвазивных видов, которые могут сильно повлиять на национальное производство.

Два международных акта, регулирующие доступ к генетическим ресурсам – это МД ГРРПСХ и КБР. МД ГРРПСХ содействуют доступу к генетическим ресурсам растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства, а также для совместного использования на справедливой и равноправной основе, выгод, получаемых в результате применения этих ресурсов. Этот Договор установил многостороннюю систему для ГРРПСХ, в рамках которой 64 продовольственные и кормовые культуры (обычно известные как Приложение 1 к Договору) подлежат распространению на основе ССПМ. Данное стандартное соглашение может также использоваться для культур, не входящих в Приложение 1, хотя для этого есть и иные варианты распространения. В соответствии с КБР, доступ и распределение выгод определяются Нагойским протоколом. Как МД ГРРПСХ, так и КБР подчеркивают взаимосвязь между сохранением и устойчивым использованием, наряду с облегченным доступом и совместным и равноправным использованием выгод, получаемых в результате применения этих ресурсов.

Генбанки должны стремиться к тому, чтобы предоставлять в распоряжение пользователей как можно большее количество образцов, включая относящиеся к

ним данные. Когда запасы семян истощаются, образцы надлежит незамедлительно размножить, чтобы удовлетворять спрос со стороны пользователей. Генбанки должны способствовать доступности генетических ресурсов для различных целей, включая исследования, селекцию, образование, фермерскую деятельность и репатриацию. На международном уровне, генбанки могут стать источником зародышевой плазмы староместных сортов для стран, организующих собственный генбанк, либо пострадавших от таких катастроф, как пожар, наводнение или гражданские беспорядки.

Необходимо отметить, что минимальное количество предоставляемых семян зависит как от вида растения, так и от цели использования. Сохраняемые в генбанке образцы используются не только для пребридинга и прикладной селекции, но и для исследовательской деятельности. В последнем случае, нередко достаточно небольшого количества семян.

## Технические аспекты

Рассылка зародышевой плазмы должна осуществляться таким образом, чтобы она приходила в пункт назначения в хорошем состоянии. Условия окружающей среды во время транспортировки могут оказаться негативно влиять на качество семян, поэтому семена необходимо тщательно упаковывать и помещать в герметичные пакеты, чтобы защитить во время перевозки.

Предоставляемые образцы должны соответствовать требованиям стандартов качества, определяемых настоящим документом, а также фитосанитарным требованиям страны получателя. Также распространение зародышевой плазмы должно соответствовать положениям национального законодательства. Пользователь либо национальные фитосанитарные органы должны сообщить о положениях национального законодательства и правил, особенно касающихся требований к фитосанитарному состоянию семян.

Беспрепятственное и быстрое прохождение отправок через таможенные органы и органы защиты растений чаще всего требует наличия документов, предусмотренных страной получателя и запрашивающей стороной.

Документы, которые может потребовать страна получателя, – карантинный сертификат, дополнительные декларации, справка о безвозмездной передаче, свидетельство об отсутствии коммерческой ценности, импортное разрешение и т.д. Поэтому необходимо иметь и обновлять перечень документов, требуемых различными странами. Если для рассылки или обмена семенами требуются дополнительные расходы (карантинные сертификаты, бюллетень Международной ассоциации по контролю за качеством семян (ISTA), специальные конверты и прочее), эти расходы должны оплачиваться за счет пользователя, или сторонами будет найдено другое решение. Серьезная проблема в плане рассылки семян за рубеж заключается в том, что генбанки обязаны декларировать, что та или иная болезнь не обнаружена на поле, где были выращены семена. Генбанки не могут выполнить вышеуказанные требования в отношении семян, выращенных 20–30 лет назад. Ответственность за карантинные процедуры в отношении семян в тех случаях, когда не могут быть выполнены дополнительные требования по декларированию, должны нести страны, получающие семена.

Получателю должен быть предоставлен список материалов и относящейся к ним информации (как минимум, паспортные данные), вместе с юридическим соглашением, связанным с получением доступа к предоставляемым генетическим ресурсам и их использованием.

Настоятельно рекомендуется максимально сократить время между отправкой и доставкой груза. В случае отсутствия семян, в ответ на заявку необходимо подробно описать причину их отсутствия, указать примерную дату, когда образец будет в наличии, а также сообщить об альтернативных образцах, которые могут удовлетворять требованиям запрашивающего.

Получателям образцов генного банка рекомендуется самим создавать запасы семян для своих испытаний и экспериментов. Это особенно актуально в отношении дикорастущих видов, запасы семян которых обычно невелики, а также для полевых опытов, проводимых в повторностях, для которых поставка требуемого количества семян даже теоретически невозможна.

Что касается материала, рассылаемого вне рамок Многосторонней системы Договора, то в соответствии с условиями соглашения о передаче материала (МТА), генбанку, ведущему рассылку материала, следует развивать обратную связь с потребителями, получая от них информацию о пользе предоставляемой зародышевой плазмы.

## Особые условия

Политические решения, кризисные ситуации, либо бюрократическая волокита могут привести к увеличению промежутка времени между получением заявки на семена и отправкой материала. Ограничения, связанные с восстановлением всхожести и/или размножением образцов, также могут повлиять на процесс рассылки и задерживать его.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

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://cropgenebank.sgrp.cgiar.org>).

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

## 4.9 СТАНДАРТЫ ДУБЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ НАДЕЖНОСТИ СОХРАНЕНИЯ

### Стандарты

- 4.9.1 Дублет каждого оригинального образца, созданный в целях обеспечения надежности сохранения, должен храниться в географически удаленном районе, в таких же или лучших условиях, чем в основном генбанке.
- 4.9.2 Каждый дублет, созданный в целях обеспечения надежности сохранения, снабжен соответствующей, связанной с ним, информацией.

### Контекст

Дублирование в целях обеспечения надежности сохранения гарантирует наличие генетически идентичной подвыборки основного образца, предназначенной для снижения риска частичной или полной утраты образца в результате природной или техногенной катастрофы. Созданные для вышеуказанной цели дублиеты генетически идентичны образцам в коллекции, находящейся на долгосрочном хранении, и считаются вторыми по значимости после самого оригинального образца (Engels и Visser, 2003). Дублирование в целях надежности сохранения включает дублирование как материала, так и связанной с ним информации, включая резервную базу данных. Дублированные материалы в целях сохранности помещаются на долгосрочное хранение в ином месте. Место выбирается так, чтобы свести к минимуму возможные риски и обеспечить наилучшие условия хранения. Для сведения к минимуму рисков, которые могут возникнуть в той или иной стране, хранить дублетную коллекцию в целях сохранности лучше за пределами этой страны.

Для хранения дублетов, созданных в целях обеспечения надежности сохранения, обычно применяется принцип «черного ящика». Это означает, что генбанк, которому доверено хранение, не имеет никаких прав на использование и распространение зародышевой плазмы. Депонирующая сторона несет

ответственность за высокое качество депонируемого материала, за мониторинг жизнеспособности семян в процессе хранения и за использование собственной базовой коллекции для восстановления всхожести образцов, когда они начинают терять жизнеспособность. Распоряжаться зародышевой плазмой без разрешения депонирующей стороны нельзя, и возвращается она только по требованию, когда оригинальная коллекция была утрачена или пострадала. Отозвать депонент можно также для его замены зародышевой плазмой с восстановленной всхожестью. Однако, принцип «черного ящика» – не единственный возможный подход. Могут существовать обстоятельства, когда о сохранности коллекции заботится также и генбанк, принявший дублетную коллекцию на хранение.

Дублирование в целях обеспечения надежности сохранения должно распространяться на все оригинальные семена, собранные генбанком, или только взятые на хранение. Однако, генбанк все равно должен сохранять набор оригинальных образцов для облегчения доступа в целях восстановления их всхожести или принятия иных управленческих решений. Семена, поступившие в генбанк как дублиеты из других коллекций, обычно можно снова получить из этих коллекций, и они не нуждаются в дублировании, при условии отсутствия сомнений в надежности их сохранения в тех коллекциях.

Любые приготовления, связанные с размещением дублетной коллекции в целях обеспечения надежности сохранения, требуют официального подписания юридического соглашения между депонирующей и принимающей дублетную коллекцию сторонами, в котором определяется ответственность сторон, а также условия, на которых сохраняется материал.

Дублирование в целях обеспечения надежности сохранения осуществляется в Глобальном хранилище семян на Свалбарде (архипелаг Шпицберген, Норвегия). Учреждения, депонирующие свои семена, сохраняют права собственности, и доступ к образцам, хранящимся на Свалбарде, предоставляется только депонирующей стороне.

## Технические аспекты

При выборе места для размещения дублетной коллекции, созданной в целях обеспечения надежности сохранения, основное внимание следует уделить географическому положению и экологическим условиям места. Помещения должны обеспечивать низкий уровень радиации (радиоактивности) и стабильность (низкую вероятность землетрясений). Хранилище должно находиться на возвышении, так как это гарантирует надлежащий дренаж при сезонных дождях и устраняет риск подтопления в случае поднятия уровня моря вследствие глобального потепления. Не менее важным является экономическая и общественно-политическая стабильность. Коо *et al.* (2004) рекомендуют организовывать дублетное хранение образцов там, где нет риска политического эмбарго, военных действий или террористических актов, которые могут помешать доступу на международном уровне.



Для дублетной коллекции образцы готовятся так же, как для базовой коллекции. Условия должны так же жестко отвечать требованиям, как в случае долгосрочного хранения зародышевой плазмы в генном банке, и важно качество подготовки семян (т.е., сушка). В некоторых случаях прежде, чем отсылать дублиеты на безопасное хранение, полезно отсортировать семена по жизнеспособности, и составить группы микро-, мезо- и макробиотиков.

Размер образца не должен ограничиваться каким-то конкретным минимальным количеством. Размера образца должно быть достаточно для проведения как минимум трех пересевов. Резерв создается не только для восстановления всхожести в будущем, но и для того, чтобы обеспечить минимальный запас семян для восстановления утраченного образца. «Критический» резерв в целях обеспечения надежности сохранения, содержащий минимальное количество семян в каком-то другом месте лучше, чем полное отсутствие резерва вообще. При возможности, создаваемые для обеспечения надежности сохранения дублиеты образцов из генбанка должны содержать не менее 500 жизнеспособных семян перекрестноопыляющихся видов с высокой степенью гетерогенности, и не менее 300 семян для генетически однородных образцов. Образцы семян с низкой жизнеспособностью должны содержать больше семян. Температура хранения должна быть от  $-18^{\circ}\text{C}$  до  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Для упаковки дублиетов требуется трехслойный материал, в котором средний слой выполнен из металлической фольги достаточной толщины. Из этого материала делается пакет, запаянный со всех четырех сторон без усилительных вставок. Таким образом обеспечивается достаточная влагозащита при транспортировке и хранении при  $-18^{\circ}\text{C}$  в течение как минимум 30 лет. Каждый пакет с семенами снабжается внешней и внутренней этикетками для надежной идентификации зародышевой плазмы.

Поскольку условия хранения дублетной коллекции должны быть такими же, как условия хранения базовой коллекции или лучше, жизнеспособность дублиетов можно контролировать, используя пробы семян образца, который находится в генбанке на долгосрочном хранении, и полученные результаты экстраполировать на дублиет, при условии, что для него соблюдаются основные стандарты условий хранения и используются те же контейнеры. В некоторых случаях, вместе с дублиетами, отправляемыми в целях обеспечения надежности сохранения, в отдельной коробке можно отправлять пробы для проверки всхожести и, по согласованию с принимающей дублиетную коллекцию стороной, осуществлять контроль всхожести.

Наилучшим вариантом для транспортировки и хранения семян являются крепкие холодостойкие коробки (из картона или полипропилена). Коробки должны быть соответствующим образом запечатаны. Во избежание ухудшения качества семян во время перевозки, следует выбрать наиболее быстрое средство доставки – либо воздушным грузовым транспортом, курьерской службой, либо наземным транспортом. Образцы дублетной коллекции должны обновляться отправителем, когда жизнеспособность образцов, сохраняемых в аналогичных условиях долгосрочного хранения в основной коллекции отправителя, начинает снижаться.

## Особые условия

Необходима определенная осторожность при экстраполяции данных проверки жизнеспособности образцов базовой коллекции на образцы дублетной коллекции. Семена могут стареть с разной скоростью, если между двумя хранилищами существует разница в плане относительной влажности внешней среды и/или есть отличия по продолжительности или частоте температурных колебаний, даже если средняя температура хранения одинакова.

При отправке образцов на условиях запечатанного «черного ящика» могут возникнуть вопросы ответственности. Один из вопросов касается ответственности за содержимое запечатанного ящика и оформления таможенными сотрудниками и иными органами при ввозе в страну. В некоторых случаях коробки вскрываются и органы власти ставят специальные печати, подтверждающие, что образцы не являются лекарственными или иными запрещенными растениями. Другой вопрос – лежит ли ответственность на учреждении-получателе в случае повреждения материала или утраты им жизнеспособности раньше ожидаемых сроков в результате возможного стресса при перевозке, нарушения упаковки контейнера или отклонения температур от установленных стандартов. Применительно к описываемым здесь условиям, хранитель дублетной коллекции, созданной в целях обеспечения надежности сохранения, должен нести «ответственность» только в том случае, если температура выходит из-под контроля: об этом должно быть незамедлительно сообщено основному учреждению, чтобы оно могло принять решение о принимаемых мерах. Основное учреждение должно нести полную ответственность за аварийные ситуации в процессе транспортировки и отсутствие контроля влажности.

Для некоторых видов стандарты и технические аспекты сложно соблюдать из-за биологических особенностей образцов, например, короткого срока жизни семян, или крупного размера семян в тех случаях, когда пространство и финансовые затраты являются лимитирующими факторами.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

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://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=58&Itemid=207&lang=English](http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=58&Itemid=207&lang=English)).

## 4.10 СТАНДАРТЫ БЕЗОПАСНОСТИ И ПЕРСОНАЛА

### Стандарты

- 4.10.1 У генбанка должна быть стратегия управления рисками, которая, помимо прочего, включает в себя меры на случай отключения электроэнергии, пожара, затопления и землетрясений.
- 4.10.2 Генбанк должен руководствоваться местными требованиями и протоколами в области охраны труда и техники безопасности (ОТТБ) в тех случаях, когда это применимо.
- 4.10.3 Генбанк нанимает необходимый персонал для выполнения всех основных обязанностей, требующихся для того, чтобы генбанк мог пополнять коллекции, сохранять и распространять зародышевую плазму в соответствии со стандартами.

### Контекст

Для достижения целей генного банка в отношении пополнения коллекций, сохранения и распространения зародышевой плазмы требуется не только выполнение надлежащих процедур и наличие оборудования для работы с зародышевой плазмой, но и должным образом обученный персонал для выполнения всей требуемой работы и гарантирования безопасности генбанка.

Для активного управления генным банком требуется хорошо подготовленный персонал; очень важно распределить обязанности между сотрудниками, обладающими необходимой компетенцией. Поэтому у генбанка должен быть действующий план или стратегия в отношении персонала, а также соответствующий бюджет, чтобы гарантировать наличие хотя бы минимального, подготовленного должным образом штата сотрудников для выполнения ими обязанностей, позволяющих генбанку пополнять коллекции, сохранять и распространять зародышевую плазму. Желательно иметь возможность

поддерживать связь со специалистами по ряду предметных областей, в зависимости от мандата и задач каждого конкретного генбанка. При этом комплектация и обучение штата сотрудников будут зависеть от конкретных обстоятельств. Здоровье и полезность семян, хранящихся в генбанке, также зависят от вопросов надежности и безопасности генбанка. Необходимо принять меры для обеспечения аварийного электроснабжения, а также должно быть в наличии оборудование для пожаротушения, которое следует регулярно проверять. Здания генбанка должны быть сейсмоустойчивыми, если они расположены в сейсмоопасной зоне. Таким образом, в генбанке должно быть внедрено и обеспечено систематическое управление рисками, позволяющее решать вопросы противодействия физическим и биологическим факторам окружающей среды, которым подвергается коллекции и связанная с ними информация.

## Технические аспекты

Штатный персонал должен пройти необходимую подготовку, получаемую в рамках сертифицированного обучения и/или обучения без отрыва от производства, а потребности в обучении следует анализировать. Персонал генбанка должен знать правила техники безопасности и быть обучен навыкам их выполнения для сведения к минимуму рисков для зародышевой плазмы.

Помещения генбанка должны быть сооружены таким образом, чтобы противостоять таким природные катастрофам, как ураганы, циклоны, землетрясения или наводнения, которых случаются в месте, где построен генбанк.

Помещения хранилища должны быть оборудованы такими стандартными средствами защиты, как ограда, системы аварийной сигнализации, защитные двери и иные системы, позволяющие обезопасить генбанк от вторжения взломщиков и иных нарушителей. Безопасность коллекций семян в генбанке будет усилена, если доступ непосредственно в помещения хранилища ограничить только уполномоченным персоналом.

На территории хранилища должна выдаваться и использоваться защитная одежда. Следует принимать необходимые меры предосторожности и установить специальное оборудование, включая сигнализацию, и устройства для открытия изнутри дверей сушильных камер и морозильников.

Поскольку охлаждение, скорее всего, будет зависеть от электричества, необходим надежный и достаточный источник энергоснабжения. Авария в электроснабжении может привести к полной утрате образцов генбанка. Следует предусмотреть наличие аварийного генератора, который бы включался автоматически при отключении основной сети электроснабжения. Для этого потребуется создание достаточных запасов топлива для работы генератор во время отключений энергоснабжения.

В помещениях для сушки и хранения должны быть установлены датчики контроля температуры в реальном времени. Следует решить, не лучше ли хранить семена без охлаждения, если охлаждение в принципе ненадежно. Если принимается решение использовать охлаждение для сохранения зародышевой плазмы, необходимо, чтобы оно соответствовало определенным стандартам,

так как ненадежное охлаждение может оказаться гораздо более опасным, чем хранение без охлаждения.

Если охлаждение и/или электроснабжение ненадежны, можно построить помещения в земле на глубине 10–20 м, где температура может быть в среднем 10 °С. Это решение может оказаться привлекательным в ряде тропических регионов, где отсутствует риск подтопления. Однако необходимо организовать тщательную сушку, а семена хранить в полностью герметичной таре.

В генбанке должна быть пожарная сигнализация и оборудование для пожаротушения. Большинство пожаров случаются из-за неисправной электропроводки, поэтому необходимо проводить периодические проверки электрической сети, чтобы обеспечить соблюдение требований безопасности. Оборудование для пожаротушения должно включать огнетушители и противопожарные одеяла. В районах, где часто случаются грозы, генбанк должен быть оборудован громоотводом.

## Особые условия

В случае отсутствия надлежащим образом подготовленного персонала, либо при наличии временных или других ограничений, возможным решением может быть передача части работы генбанка сторонним организациям или обращение за помощью к другим генбанкам. В случае, когда выполнение функций генбанка находится под угрозой, об этом следует сообщить международному сообществу генбанков.

Несанкционированное проникновение на территорию генбанка может не только привести к прямой утрате материала, но и поставить под угрозу коллекцию в результате нечаянного занесения вредителей и болезней, а также нарушения систем управления.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

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)).







# Глава 5

## СТАНДАРТЫ ПОЛЕВЫХ ГЕНБАНКОВ



## 5.1 СТАНДАРТЫ ВЫБОРА МЕСТА ДЛЯ ПОЛЕВЫХ ГЕНБАНКОВ

### Стандарты

- 5.1.1 Агроэкологические условия (климат, высота над уровнем моря, почва, дренаж) участка для полевого генбанка по возможности должны быть такими же, как и условия окружающей среды, в которой собранные растительные материалы произрастали или были собраны.
- 5.1.2 Участок полевого генбанка должен быть расположен таким образом, чтобы свести к минимуму риски природных и техногенных катастроф и опасностей, таких как вредители, болезни, ущерб от животных, наводнения, засухи, пожары, ущерб от снегопадов и заморозков, извержений вулканов, града, кражи или вандализма.
- 5.1.3 Для тех видов, которые используются для производства семян в целях рассылки, участок полевого генбанка должен быть расположен таким образом, чтобы свести к минимуму риски генетического загрязнения от культур или диких популяций того же вида для поддержания генетической целостности.
- 5.1.4 Полевой генбанк должен иметь гарантированные права на использование земли, а участок должен быть достаточно большим, чтобы позволить расширение коллекции в будущем.
- 5.1.5 Участок полевого генного банка должен быть легко доступным для персонала и доставки различных грузов, иметь удобное снабжение водой и надлежащие условия для размножения материала и карантина.

### Контекст

Учитывая долгосрочный характер существования полевого генбанка, выбор подходящего места для его расположения имеет решающее значение для успешного сохранения зародышевой плазмы. Существует много факторов,

которые необходимо учитывать при выборе места для полевого генбанка: в частности, это соответствующие агроэкологические условия для сохранения растений, возможные природные и техногенные катастрофы, обеспеченное длительное землепользование, доступность участка для персонала и наличие водных ресурсов.

## Технические аспекты

Растения будут сильными и здоровыми, если они посажены в соответствующих агроэкологических условиях. Полевой генбанк особенно уязвим в плане потерь, вызываемых плохой адаптацией материала, выращенного в среде, отличной от месторасположения полевого генбанка. Выбранный участок для полевого генбанка должен обеспечивать условия окружающей среды и тип почвы, которые лучше всего подходят для видов растений, чтобы снизить риск плохой адаптации. Одно из решений этой проблемы – децентрализация управления полевым генбанком, т. е. размещение коллекций на различных агроэкологических участках, а не в централизованном генбанке. Образцы со схожей приспособляемостью должны сохраняться вместе на участке, расположенном в агроэкологических условиях, схожих с условиями в местах их происхождения или близких к их естественной среде обитания. Природные условия среды происхождения могут быть смоделированы путем повышения интенсивности затенения или осушения местности, например, для диких родичей культурных растений, которые выросли в естественных лесах, по сравнению с культурными растениями, адаптированными к высокой интенсивности света.

Для полевых коллекций очень важно избегать вредителей, болезней и насекомых-переносчиков. По мере возможности, полевой генбанк должен быть расположен на участке, свободном от основных патогенных болезней и вредителей, или вдали от регионов, где, как известно, распространены грибковые и вирусные инфекции, чтобы снизить риск и расходы на мероприятия, связанные с защитой растений, а также обеспечить источник чистого материала для рассылки. Перед посадкой следует проверить почву, чтобы убедиться, что в ней нет переносимых почвой грибков, термитов или других паразитов, а также провести соответствующую обработку для очистки почвы. Если это невозможно, то выбранный участок должен быть расположен на некотором расстоянии от полей, где выращивается та же культура, чтобы снизить угрозу вреда от насекомых-вредителей и болезней, а больные растения должны быть удалены в рамках программы тщательного удаления из посевов нежелательных элементов. По мере возможности, коллекции следует размещать в районах с жарким и сухим климатом, которые менее благоприятны для переносчиков инфекции, вредителей и болезней. Кроме того, сосредоточение на одном участке большого числа растений, восприимчивых к болезням, может серьезно повысить риск вспышки заболеваний. Большое сосредоточение коллекций растений, относящихся к одному роду, требует особого внимания с точки зрения заболеваний.

Оценка риска таких стихийных бедствий, как наводнения, пожары, снегопады или обледенение, извержения вулканов, землетрясения и ураганы важна для обеспечения физической безопасности коллекции. Кроме того, должны учитываться физическая безопасность и потенциальные техногенные угрозы, такие как кража и вандализм. Эти факторы следует учитывать при размещении и разработке плана территории полевого генбанка для снижения потерь зародышевой плазмы (см. также стандарты безопасности).

Противомоскитные сетки и клетки могут быть использованы для защиты небольших растений от насекомых или птиц. Перекрестноопыляющиеся виды, например, плодовые деревья с рекальцитрантными семенами или злаки, которые выращиваются на семена и сохраняются в виде растений, требуют изоляции от потенциальных опылителей. Выбор места подальше от культурных насаждений или диких популяций того же вида во избежание переноса генов или засорения сорняками, имеет большое значение для обеспечения генетической целостности этих видов. Следует обеспечивать рекомендуемое для изоляции расстояние, применять изодомики или меры контроля опыления, и строго их придерживаться при размножении материала. Информация, о рекомендуемом для конкретной культуры расстоянии для обеспечения изоляции при восстановлении всхожести образцов доступна в Базе знаний о генбанках сельскохозяйственных растений (см. Рекомендуемую библиографию).

Полевой генбанк должен быть размещен в безопасном месте на основе долгосрочного соглашения, при наличии гарантий касательно землепользования (которые могут быть опубликованы в официальной прессе), а также финансирования, с учетом плана развития района. Из истории землепользования можно получить информацию о вредителях, сорняках и количествах использованных удобрений. Использование удобрений в больших количествах в предыдущие годы может повлиять на рост корней и клубней. Например, большие остаточные количества удобрений могут препятствовать развитию клубней батата. Засухи можно избежать, если одним из критериев выбора места будет условие наличия достаточного количества осадков или источников воды для дополнительного орошения. Кроме истории землепользования, рекомендуется учитывать меры, которые могут быть приняты для определения и коррекции физических и питательных свойств почвы. В основном это включает физико-химический анализ почвы с принятием последующих корректирующих мер. В тех районах, где в больших количествах используют калий, его надо уравновесить, дополнительно внося кальций и магний, особенно для тропических плодовых деревьев.

Размер выбранного участка должен обеспечить достаточное пространство для видов, подлежащих сохранению, а также для возможного расширения в будущем, когда коллекция будет расти, особенно в случае с многолетними видами. Для древесных культур может потребоваться значительное пространство. Также достаточно места должно быть выделено для однолетних растений, которые требуют регулярной пересадки и ротации участков во избежание засорения самосевными растениями, оставшимися от предыдущих посадок, а также ротации однолетних и многолетних растений для борьбы с болезнями и управления плодородием почвы. Требуются необходимые и достаточные



условия хранения, если растительный материал надо сохранить после сбора до следующей посадки.

Легкий доступ к зародышевой плазме будет способствовать организации мониторинга и ухода за растениями. Участок должен быть доступным для людей и техники для проведения мульчирования, внесения удобрений и применения пестицидов; должны быть обеспечены достаточное круглогодичное орошение, возможность размножения, а также, по необходимости, *in vitro* или криосохранение. Необходима хорошая система безопасности для предотвращения краж или повреждения зародышевой плазмы и сооружений.

## Особые условия

Когда образцы различного экогеографического происхождения высаживают в одном месте, кураторам полевого банка следует вести наблюдения за репродуктивной фенологией и семеноводством, а также идентифицировать и по возможности пересаживать плохо приспособившиеся образцы на другие участки, в теплицы, или переводить их в культуру *in vitro* во избежание генетических потерь. Некоторым образцам может потребоваться особый уход. Для защиты растений от зверей и птиц могут потребоваться защищенные сеткой участки и сетчатые домики.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

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 СТАНДАРТЫ ПОПОЛНЕНИЯ ГЕННОГО БАНКА ЗАРОДЫШЕВОЙ ПЛАЗМОЙ

### Стандарты

- 5.2.1 Все образцы зародышевой плазмы, пополняющие коллекцию генбанка, должны быть получены законным образом и с соответствующей технической документацией.
- 5.2.2 Все образцы зародышевой плазмы должны сопровождаться по меньшей мере минимальным объемом связанных с ними данных согласно Многофункциональным паспортным дескрипторам по сельскохозяйственным культурам ФАО/Байоверсити.
- 5.2.3 Репродуктивный материал следует брать по возможности от здоровых растений, на соответствующем этапе развития, так чтобы материал был пригоден для размножения.
- 5.2.4 Временной период между сбором материала, доставкой и доработкой, а затем переносом в полевой генбанк должен быть как можно короче, чтобы предотвратить утрату материала или ухудшение его состояния.
- 5.2.5 Образцы, полученные из других стран или регионов внутри страны, подлежат необходимой карантинной проверке и должны удовлетворять соответствующим требованиям до их включения в полевые коллекции.

### Контекст

Пополнение – это процесс сбора или запроса семян для включения в коллекцию полевого генбанка вместе с соответствующей информацией. Природные особенности растений с рекальцитрантными семенами и вегетативно размножаемых растений требуют особого внимания при получении зародышевой плазмы для сохранения в полевом генбанке. Репродуктивный материал, необходимый для создания полевого генбанка, может быть представлен разными

формами, такими, как семена, черенки, клубни, клубнелуковицы, побеги, культура ткани, привой или криосохраненный материал. Растительный материал может быть получен из существующих генбанков, из исследовательских и селекционных коллекций, от фермеров, выращивающих культурные формы и староместные сорта, а также в результате ботанических обследований и экспедиций. Необходимо учитывать соответствующие национальные и международные требования, например фитосанитарные правила, карантинное законодательство, национальные законы о доступе к генетическим ресурсам, нормы Международной системы защиты растений, МД ГРРПСХ, КБР, и другие положения регулирующие перемещение и получение зародышевой плазмы.

## Технические аспекты

Соблюдение стандарта 5.2.1 позволит обеспечить безопасное перемещение зародышевой плазмы с коллекционных участков внутри страны и за ее пределами на участок, где расположен генбанк. Когда осуществляется сбор зародышевой плазмы *in situ*, важно придерживаться национальных правил, которые обычно требуют получения разрешения на сбор от соответствующих национальных органов. Если материал собирается с фермерских или общинных полей, может потребоваться предварительное информированное согласие в соответствии с национальным, региональным или международным законом. Если материал зародышевой плазмы будет экспортирован из страны, необходимо заключить соответствующее соглашение о передаче материала. В случае ГРРПСХ, экспортируемый материал может сопровождаться ССПМ или другими подобными разрешениями в соответствии с национальными правилами доступа и совместного распределения благ. От соответствующего национального органа принимающей страны необходимо получить фитосанитарные правила и иные импортные требования.

На стадии получения важно убедиться в том, что для каждого образца имеются максимально подробные паспортные данные. Особенно полезны географические данные, поскольку они дают точное представление о месте первоначального сбора и помогают определить образцы с адаптивными признаками, соответствующими агроклиматическим условиям места, где исходно собран образец. Паспортные данные играют решающую роль в идентификации и классификации каждого образца и служат отправной точкой в выборе и использовании образцов. Для регистрации подробных данных о месте сбора требуются соответствующие формы. Эти формы должны включать такую информацию, как первоначальная таксономическая классификация образца, широта и долгота места сбора, описание естественной среды собранных растений, количество собранных растений и другие важные для надлежащего сохранения сведения, предусмотренные в Многофункциональных паспортных дескрипторах по сельскохозяйственным культурам ФАО/Байоверсити (Alercia *et al.*, 2001). Чрезвычайно полезную дополнительную информацию, например, об агротехнике, более ранней истории образца и происхождении, использовании и т.д., можно получить посредством опроса фермеров, когда сбор материала



проводится на фермерских полях. По возможности, из той же популяции, из которой взят образец семян, следует взять контрольный гербарный образец и произвести запись о методике и причине сбора.

В случае передачи семян (научной программой или генбанком), в дополнение к имеющимся паспортным данным должны быть обеспечены данные таксономической классификации, название донора, идентификационный номер донора, а также названия зародышевой плазмы. От донора следует получить информацию о том, как передаваемая зародышевая плазма содержалась, в том числе данные о происхождении или родословной, а также сведения о методах хранения образца, если такая информация имеется. Образцу следует присвоить уникальный идентификационный номер (временный или постоянный, в соответствии с принятой в генбанке практикой), который будет постоянно сопровождать образец и связывать его с паспортными данными и любыми иными собранными сведениями, а также гарантировать подлинность образца.

Хотя невозможно гарантировать, что собранный *in situ* растительный материал полностью здоров (не заражен болезнями и насекомыми-вредителями), важно, чтобы репродуктивный материал был собран с растений, которые хотя бы внешне выглядят здоровыми, не поражены болезнями и вредителями и не имеют повреждений. Чистый материал, полученный из сертифицированных источников, следует хранить в изодомиках, чтобы предотвратить нашествие насекомых и распространение ими патогенов. Проводя сбор, следует избегать истощения выбранной для отбора образцов природной популяции. Будет полезно повторить сбор образцов в конкретном месте сбора для максимального охвата генетической изменчивости, которая может проявляться в разные фазы развития растений (Guarino *et al.*, 1995). При сборе образцов многолетних вегетативно размножаемых растений, особенно при сборе побегов подходящих для черенкования и производства привоя, было бы желательно стимулировать формирование соответствующих побегов путем надрезания ствола или ветвей, чтобы эти побеги можно было собрать во время второго посещения.

Необходимо подчеркнуть, что время, затраченное на доставку оригинального образца зародышевой плазмы с места сбора в генбанк, имеет решающее значение. Это особенно актуально для видов с рекальцитрантными семенами и подвоев, не сохраняющих жизнеспособность в течение длительного времени, а также для легкопортящихся вегетативных материалов. В некоторых случаях материал зародышевой плазмы приходится отправлять на дальние расстояния, например, когда материал предстоит получить из-за рубежа. Должное внимание следует обратить на период доставки, включая время перевозки и обработки документов, и принять соответствующие меры для гарантии доставки материала в хорошем состоянии в принимающий генбанк. Важно также правильно подготовить репродуктивный материал (побеги, семена или черенки), чтобы улучшить сохранность жизнеспособности во время пересылки по почте. Например, рекальцитрантные семена и побеги должны быть упакованы в стерильную вату или другой подходящий материал и помещены в перфорированный пластиковый пакет, чтобы обеспечить достаточный воздухообмен. Семена должны быть защищены от повреждения механическим сортировщиком почтовых отправок посредством их помещения в жесткий амортизирующий материал. Два обрезанных конца очищенных побегов должны быть обмотаны парафинированной пленкой для уменьшения потери влаги. При отправке коллекций из тропических районов, необходимо помнить о высоких температурах во время транспортировки.

Учитывая то, что полевые коллекции не могут вместить много образцов (см. стандарты закладки коллекции), объем собираемого образца, как правило, ограничен по сравнению с объемом образца ортодоксальных семян. Тем не менее, необходимо приложить максимум усилий для сбора наиболее широкого генетического разнообразия целевой популяции. К тому же, при сборе образцов для полевого генбанка, необходимо решить, сколько растений из популяции можно практически собрать. Это число во многом будет зависеть от системы размножения, типа растения и собираемой части растения.



## Особые условия

Нельзя проводить сбор без соблюдения юридических требований, особенно если потом зародышевая плазма вывозится из страны. В том случае, если материалы не могут быть вывезены из страны в связи с фитосанитарными требованиями, следует предпринять усилия для создания полевых коллекций в стране происхождения и/или перевода материала в культуру *in vitro*, более пригодную для экспорта. В плане объема образцов дикорастущих или редких видов возможны допущения в тех случаях, когда оптимальное качество или количество репродуктивного материала не может быть обеспечено.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

- 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*, 11: 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://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)).
- 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 СТАНДАРТЫ ЗАКЛАДКИ ПОЛЕВЫХ КОЛЛЕКЦИЙ

### Стандарты

- 5.3.1 В коллекции должно сохраняться достаточное количество растений для охвата генетического разнообразия отдельного образца и для обеспечения безопасности образцов.
- 5.3.2 Необходимо составить четкий план полевого генбанка, на котором будет отмечено точное местоположение каждого образца на участке.
- 5.3.3 Необходимо соблюдать надлежащую агротехнику с учетом микросреды, времени посадки, подвоя, режима полива, борьбы с вредителями, болезнями и сорняками.

### Контекст

Трудно разработать конкретные стандарты для создания коллекции полевого генбанка. В значительной степени это будет зависеть от природы предназначенных для сохранения видов. Стандарты для конкретного вида должны быть разработаны в зависимости от биологических особенностей вида, фенологии, репродуктивных механизмов и структуры популяции. Существуют три основных момента, которые должны быть учтены при создании коллекции полевого генбанка: (а) сколько растений одного образца следует сохранять; (б) как растения расположены в генбанке, и (в), какая должна быть применена агротехника для обеспечения оптимальных условий роста образцов в коллекции.

## Технические аспекты

Решение о том, сколько растений одного образца должно быть посажено в полевого генбанке, зависит от учета таких факторов, как необходимость сохранения генетического разнообразия образцов, наличие территории для этого, необходимость проведения описания коллекции, а также экономические условия полевого генбанка. Это количество будет разным для однолетних и многолетних растений, а также будет зависеть от того, размножаются виды семенами или вегетативно. В случае с видами, размножающимися семенами, объем собираемого материала должен быть достаточно большим, чтобы охватить генетическое разнообразие образца. Стоит отметить, что при сборе неортодоксальных семян, следует выбрать правильную схему сбора, чтобы определить приоритетные для сбора растения, так как в коллекции полевого генбанка будет трудно разместить материал, содержащий большое количество существующего в образце генетического разнообразия. Для вегетативно размножающихся видов требуется небольшое количество растений для того, чтобы было представлено генетическое разнообразие образца и обеспечена его безопасность. Однако, может потребоваться большее количество растений в тех случаях, когда внутривидовое разнообразие больше, чем разнообразие между популяциями. Размер собираемого образца также может зависеть от целей создания коллекции, т.е. проведения оценки и/или рассылки зародышевой плазмы, вследствие чего число растений одного образца будет разным по сравнению с тем, которое используется в целях сохранения образцов.

При закладке коллекции полевого генбанка очень важно знать, где и какие образцы были посажены. Хорошо разработанная схема посадок и качественный план участка повысят эффективность использования пространства и ухода за коллекциями. Расположение отдельных образцов должно быть четко определено. В связи с этим, на стадии создания полевого генбанка следует использовать схемы посадки, планы участка, электронные и печатные карты, а также штрих-коды и полевые этикетки. Необходимо продумать размещение образцов в генбанке в наиболее подходящей среде. Некоторым растениям требуются особые условия окружающей среды, поэтому, возможно, их придется разместить в теплицах для большего контроля окружающей среды (например, чтобы избежать жары или холода), или обеспечения затенения другими растениями.

Тип роста и размер взрослого растения, а также ирригационные сооружения и легкодоступность для ухода за растениями должны учитываться при расчете размера участка. Для многолетних видов, соответствующее расстояние между растениями в пределах участка позволит обеспечить надлежащий рост отдельных растений, например, деревьев, и позволит избежать смешения тех культур, которые образуют клубни на длинных подземных столонах. Кроме того, между участками должны быть физические барьеры, чтобы избежать возникновения примесей (переноса генов), например, путем высаживания на соседних участках разных видов, которые не являются перекрестноопыляющимися. Это поможет избежать конкуренции, которая может привести к ослаблению растений или может способствовать быстрому распространению болезней и насекомых-вредителей. Для инвазивных клонов может потребоваться посадка в сосуды,

горшки или ящики для уменьшения смешивания или конкуренции с образцами, не обладающими такой жизнестойкостью. Образцы с легко различимыми морфологическими признаками можно сажать на соседних участках, в тех случаях, когда существует проблема распространения стелющихся растений, воздушных луковичек или семян с одного участка на другой. Для перекрестноопыляющихся видов необходимо либо достаточное расстояние между участками с различными образцами, либо применение изодомиков для поддержания генетической целостности любых семян, собранных для рассылки.

Следует подчеркнуть, что схема посадок и план участка не являются постоянными и будут меняться в зависимости от планирования посадок. В случае с однолетними растениями необходим оборот, и это требует надлежащего планирования и дополнительного пространства. Также важно разработать схему посадок таким образом, чтобы избежать переноса пестицидов в природу, окружающую территорию генбанка.

Очень важно снабдить полевые коллекции правильно и четко оформленными водостойкими и нестираемыми двусторонними этикетками, которые должны содержать следующую информацию: дату, общепотребимое название образца и номер полевой коллекции. Если возможно, следует использовать этикетки, напечатанные на компьютере, поскольку они снижают количество ошибок при копировании имен и номеров. Схема посадок (бумажная или компьютерная) – необходимый документ для полевого генбанка, поскольку она дублирует информацию на этикетках, которые могут легко потеряться или повредиться. Схема посадок должна быть разработана до посадки растений и регулярно обновляться.

Для успешной закладки коллекции полевого генбанка необходимо применять особую для разных видов агротехнику. Следует тщательно выбирать посадочный материал. Выбор только сильных растений для сохранения в полевом генбанке поможет уменьшить степень генетической изменчивости. Качество исходного посадочного материала с точки зрения фитосанитарии чрезвычайно важно при посадке на новых полях, засаживании пустых участков или обновлении целых коллекций, при условии, что генетический отбор проводится не будет. Следует использовать только здоровый материал и жизнеспособные части растения. Должны соблюдаться такие простые санитарные меры, как использование чистых дезинфицированных инструментов при подготовке посадочного материала. До укоренения нужно по мере возможности постараться индексировать неочевидные заболевания, такие как вирусы и переносимые привоем патогены (т.е., виroidы, фитоплазму и неопределенные организмы).

Растения должны быть посажены в нужное время. Необходимо соблюдать рекомендации по времени посадки, разработанные для различных видов из разных областей. Следует учитывать оптимальные условия для обустройства растений, которые могут включать температуру, уровень влажности, тип почвы и подвоя, и т.д. Для растений, размножаемых путем прививки, необходима стандартизация подвоя, чтобы сделать прививку всех образцов в нужное время. Определенные виды прививаются на подвой одного и того же вида, или близкородственного вида с проверенной хорошей совместимостью. В этих случаях для всех образцов данного вида следует использовать один и тот же





подвой. Выбранный подвой должен быть хорошо адаптирован к почвенным условиям и оказывать минимальное влияние на привой. Деревья следует сажать со своими корнями, не привитыми, за исключением случаев, когда использование подвоя необходимо для предотвращения распространения болезней, или если прививка является обычным способом выращивания вида.

Перекрестноопыляющиеся культуры должны быть сгруппированы по дате цветения. В случае с двудомными видами, должно быть посажено подходящее количество мужских и женских растений. С целью сохранения хорошей полевой коллекции, и гарантии завязываемость плодов или семян, куратор должен знать системы несовместимости (СН), представленные в видах и аллельные комбинации у самонесовместимых видов с бесполом размножением. Важно

также проводить мелиоративные работы и применять необходимую агротехнику во время закладки полевых коллекций.

Некоторые виды требуют дополнительной поддержки (например, кофе) в виде посаженных определенным образом затеняющих деревьев, которые должны быть выбраны в соответствии с местными условиями и требованиями вида. Некоторые виды представляют собой лианы (например, ваниль, многие бобовые, тыквенные и др.) и нуждаются в деревьях, деревянных подпорках, сетке или других приспособлениях, обеспечивающих им нормальные условия роста. Может возникнуть необходимость создания специальных грядок для некоторых видов (в основном, происходящих из засушливых регионов), например, высоко поднятых грядок или укрытий, для защиты от осадков в определенное время года. Это также относится к особым периодам затенения, времени орошения или затопления, применения укрытий от заморозков и т. д. Некоторые виды плодовых деревьев нуждаются в регулярной обрезке, чтобы они имели типичный вид и оставались здоровыми. Для древесных культур следует поощрять использования карликовых подвоев.

## Особые условия

Общие методы размножения определенных видов могут быть плохо применимы к некоторым генотипам, поэтому необходимо проводить исследования для разработки новых методов. В случае размножения растений на подвоях на участках, требующих использования близкородственных видов в качестве подвоя, следует использовать интеркалярную вставку.

Важно продумать сохранение дублетной коллекции, расположенной в другом месте (см. Стандарты безопасности и дублирования для обеспечения надежного сохранения). Некоторые генотипы, например, из лесного подлеска или восприимчивые к болезням, могут плохо адаптироваться к условиям яркого солнечного освещения в поле и, следовательно, должны быть обеспечены надлежащим укрытием. Если это усугубляется нехваткой ресурсов, что может привести к конфликту между предназначениями полевого генбанка (сохранение и улучшение сельскохозяйственных культур) и отразиться, например, на схеме генного банка, управлении и дублировании образцов. Если создание полевой дублетной коллекции проблематично, приемлем вариант дублирования коллекции в виде культуры *in vitro*.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

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 СТАНДАРТЫ АГРОТЕХНИКИ

### Стандарты

- 5.4.1 Растения и почву необходимо регулярно проверять на предмет наличия вредителей и болезней.
- 5.4.2 Для обеспечения удовлетворительного роста растений следует применять соответствующие приемы возделывания, такие как внесение удобрений, орошение, подрезку, подвязывание к опорам, прививку на подвой и прополку.
- 5.4.3 Мониторинг генетической идентичности каждого образца должен осуществляться путем обеспечения надлежащей изоляции образцов там, где это необходимо, предотвращения их взаимопроникновения, нанесения надлежащей маркировки и картирования участков, а также периодической оценки подлинности образца морфологическими и молекулярными методами.

### Контекст

Агротехника подразумевает повседневный уход за полевыми коллекциями, обеспечивающий оздоровление образцов растений, легкий доступ к образцам и их наличие для использования. Сюда входит множество различных мероприятий, в том числе борьба с вредителями и болезнями, правильная подкормка растений, полив, прополка, обрезка и мониторинг образцов для обеспечения генетической целостности коллекций.

### Технические аспекты

Потери зародышевой плазмы из-за болезней могут стать основной причиной генетической эрозии в полевом генбанке. Поддержание здоровых образцов

растений в коллекции зародышевой плазмы является трудоемкой задачей, особенно когда образцы собраны с обширной территории, где имеются различные вредители и болезни. Образцы в коллекциях также могут стать источником/очагом распространения вредителей и болезней, если не будет обеспечен должный уровень агротехники. Поэтому большое значение имеет строгий контроль при помещении растений в полевой генбанк. Кроме того следует учитывать современное состояние популяций насекомых и болезней и их историю. Тщательные проверки и учет очень важны на всех этапах борьбы с вредителями. Своевременность мер по борьбе с болезнями также имеет большое значение, так как после того, как растительный материал инфицирован, ущерб часто становится необратимым. Моделирование климатических сценариев и распространения болезней также может способствовать плановой борьбе с новыми вредителями и болезнями.

В зависимости от конкретной коллекции, насекомые-вредители и болезни могут быть представлены широчайшим диапазоном организмов. Среди наиболее распространенных вредителей зародышевой плазмы растений – насекомые, клещи, грибки, бактерии, нематоды, вирусы, вириды, спироплазма, фитоплазма, слизни, улитки, а также сорняки. Вегетативно размножающиеся растения могут быть заражены вирусом, что помимо всего прочего ведет к снижению жизнеспособности, устойчивости и вызывает несовместимость подвоя и привоя. Во время карантина или в процессе возделывания вредных насекомых и болезни можно выявить различными способами, в том числе путем визуального осмотра, методом посева на агаровых пластинах/штриховых пластинках, с помощью влажной камеры, с использованием прививок, биопроб, электронного микроскопа и наборов для диагностики растений. Последние могут включать в себя все, что нужно для проведения иммуноферментного анализа (ELISA), который прост в использовании и уже применяется для диагностики болезней корнеплодов (маниок, картофель, свекла), плодовых (банан, семечковые, косточковые и сочные плоды) и овощных культур. Для контроля грибковых и бактериальных болезней необходимо использовать профилактические меры или предупреждение. Диагностические наборы на основе ДНК также чрезвычайно эффективны для диагностики болезней путем ПЦР-анализа отдельных генов их возбудителей. Желательно, чтобы фитопатологическую оценку проводили сотрудники, прошедшие подготовку в области агрономии, садоводства, микроразмножения и болезней растений.

При получении образцов, восприимчивых к насекомым-вредителям и болезням, рекомендуется правильно их идентифицировать. Важно, чтобы полевые генбанки имели действующую систему определения всех вредителей и болезней, которые поражают культуры, хранящиеся в их коллекциях. Особенно это относится к тем культурам, для которых уже были описаны карантинные объекты высокого риска. Также в генбанках должны действовать процедуры применения соответствующих диагностических методов, способные гарантированно и однозначно определять статус вредителя или болезни в соответствии с местными, региональными и национальными требованиями. В тех случаях, когда генбанк не имеет таких возможностей, данные задачи



должны быть переданы специализированным учреждениям, занимающимся карантинной проверкой поступающих растений.

Персоналу генбанка следует применять методы управления, снижающие риски распространения болезней в коллекции. Необходимо обеспечивать качественное обеззараживание инструментов и инвентаря, почвы и обуви. Рекомендуется по возможности использовать такой подход, как комплексная борьба с вредителями (КБВ). Эта программа во всех возможных случаях использует биологический контроль, дополняя его пестицидами и механическим контролем. Очень важно проверять клоновый материал на наличие вирусов и других патогенов, передаваемых при прививке, так как за последние десятилетия технологии обнаружения таких объектов значительно усовершенствовались. Если уникальные растения оказались зараженными, их следует очистить с помощью теплового воздействия и/или культуры ткани. Чтобы избежать дорогостоящих оздоровительных процедур, рекомендуется подобрать аналогичный материал из «чистых» или менее инфицированных источников.

Управленческий персонал полевого генбанка должен заблаговременно быть готовым решать любую конкретную проблему, касающуюся разнообразия зародышевой плазмы. После того, как участок засеян, сотрудники должны способствовать росту растений только путем обеспечения благоприятных условий для их развития. Регулярный полив растений в течение засушливого сезона гораздо важнее, чем их подкормка. Система полива должна соответствовать типу растений и экологическим условиям в той местности, где создана полевая коллекция. Использование удобрений в полевой коллекции осложняется тем, что в ней одновременно растет множество различных типов растений. Каждый тип требует специфического режима питания вследствие генетических различий, размеров и возраста. Смеси удобрений можно использовать небольшими дозами в расчете на одно растение, обеспечивая их распределение с помощью надлежащего ухода. Малые дозы, внесенные с небольшими интервалами, могут оказаться более эффективными, чем такой же объем смеси, вносимый с интервалами в несколько месяцев. Большинству растений требуется подрезка, чтобы их размеры на данном участке были в пределах допустимых параметров, а в случае деревьев – для формирования листового полога. Иногда нужно ограничиться только легким прореживанием, чтобы освободить ветвям пространство для нормального развития без лишней конкуренции за свет. Такая работа по формированию и прореживанию должна быть поручена опытному специалисту. Принимая во внимание значимость коллекции зародышевой плазмы, труд должен быть высококачественным, а полевые работы по поддержанию коллекции должны проводиться обученным персоналом.

Конкуренция с сорняками – гораздо более серьезная проблема для молодых растений, чем для старых, по причине неглубокого залегания корневой системы у первых. Борьба с сорняками важна для быстрого и интенсивного роста растений. С сорняками можно бороться механическими способами или при помощи химических веществ (гербицидов). Гербициды применяются, чтобы свести к минимуму необходимость ручного труда и механического возделывания. Для каждого вида должен быть рекомендован свой способ борьбы с сорняками.

Для некоторых образцов необходимы другие методы защиты, такие как защита от мороза и/или града или от насекомых-переносчиков болезней посредством изодомиков. Уборка плодов также является важным методом борьбы с болезнями для предотвращения конкуренции с урожаем следующего года и снижения нагрузки на растение.

Для обеспечения генетической идентичности каждого образца следует избегать любой засоренности образцов, переноса генов от соседних растений и смешения образцов. Образцы в полевых коллекциях могут образовывать цветки, а впоследствии и семена, которые осыпаются и способны прорасти на участке. Такие семена не производят чистых линий по причине гетерозиготности или могут подвергнуться перекрестному опылению. Такие непровольные посеы необходимо предотвращать или удалять. Чтобы гарантировать правильную идентификацию и полевое картирование каждого образца следует использовать мониторинг и периодические проверки. Этикетки чрезвычайно важны, их нужно постоянно сверять на участке, сравнивая с планом участка полевого генбанка. Этикетки должны быть ясными, краткими и по возможности максимально защищенными от погодных явлений. Чтобы избежать ошибок в написании, поощряется использование штрих-кодов или иной компьютерной маркировки. Идентичность каждого образца следует периодически по мере возможности проверять с помощью морфологических и молекулярных маркеров (см. Стандарты описания).

Процесс поддержания всхожести, как правило, зависит от культуры и может варьироваться в зависимости от предполагаемого использования коллекции (сохранение, оценка, рассылка). Мониторинг должен охватывать все образцы зародышевой плазмы, однако частота наблюдений зависит от того, является ли растение травянистым (частота проверок выше) или древесным (частота проверок ниже). Всю зародышевую плазму нужно проверять на наличие новых животных-вредителей, насекомых и болезней, которые могут появиться в коллекциях зародышевой плазмы. Вся зародышевая плазма должна также находиться под наблюдением для защиты от вандализма (см. Стандарты безопасности).

## Особые условия

Недостаток квалификации в борьбе с вредителями и болезнями в генных банках может стать основным фактором, мешающим поддержанию здоровых растений в коллекции, поэтому могут потребоваться квалифицированные фитопатологи. Генбанки должны иметь планы действий по борьбе со вспышками болезней. Им следует поддерживать контакт со специализированными фитопатологическими службами, такими как национальные институты защиты растений, университетские или коммерческие лаборатории, которые все способны предоставлять требуемые услуги.

Еще одна хорошая практика – чередование участков под посадки (там, где это возможно, особенно для однолетних видов и многолетников с высокой восприимчивостью к заражению грунта) для снижения срока жизни обитающих

в почве вредителей и болезней. Другим вариантом является обеззараживание почвы. В некоторых случаях растения можно выращивать в питомнике, где легче поддерживать фитосанитарные условия, а затем пересадить в поле, когда они уже акклиматизируются.

Некоторые образцы могут быть особо ценными и восприимчивыми к патогенам. В таких случаях их необходимо содержать в изодомиках, а дублеты хранить *in vitro* или в условиях криоконсервации для гарантированного их сохранения.

Там, где растения могут быть повреждены гербицидами, может потребоваться ручная прополка. Для восстановления всхожести рекомендуется использовать участки, где условия неблагоприятны для вредителей и развития болезней.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

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*. Basserdorf, Switzerland, ISTA.

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

## 5.5 СТАНДАРТЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ВСХОЖЕСТИ И РАЗМНОЖЕНИЯ

### Стандарты

- 5.5.1 У каждого образца в полевой коллекции должна быть восстановлена всхожесть, если жизнеспособность и/или численность растений снижается до критического уровня. Это делается для того, чтобы вернуть образец в первоначальное состояние, а также обеспечить его разнообразие и генетическую целостность.
- 5.5.2 Для размножения следует использовать типичный и здоровый растительный материал.
- 5.5.3 Информацию о циклах и процедурах восстановления всхожести растений, включая дату, подлинность образцов, этикетки и карты, необходимо надлежащим образом задокументировать и включить в информационную систему генбанка.

### Контекст

В контексте полевых коллекций термины «восстановление всхожести» и «размножение» относятся к воспроизведению выборки зародышевой плазмы, генетически сходной с оригинальной коллекцией, если жизнеспособность или численность растений в ней находится на низком уровне (Dulloo *et al.*, 2008). Стандарты процедур восстановления всхожести и размножения должны быть видоспецифичными. Следует использовать протоколы или методические указания для конкретных видов, если таковые имеются. Восстановление всхожести и размножение призваны, в конечном итоге, обеспечить отсутствие потерь каких-либо растений в коллекции. Тем не менее, потеря хотя бы одного отдельного растения неизбежно повлечет за собой генетическую эрозию образца, потому что каждый образец представлен, как правило, всего лишь несколькими растениями (см. Стандарты закладки полевых коллекций: размер выборки). Восстановление и

размножение – дорогостоящие процедуры, их необходимо тщательно планировать. Для них может потребоваться смена участков в целях обеспечения безопасности или защиты от болезней, вредителей и заражения почвы.

## Технические аспекты

Необходимость восстановления всхожести и размножения может возникнуть по целому ряду причин, обусловленных типом растения, угрозами и потребностями в распространении. Растение может частично утратить вегетативную силу или даже умереть в силу множества разных обстоятельств под действием климатических, почвенных и/или биотических факторов. Для максимальной эффективности участка полевой коллекции крайне необходимо, чтобы каждое погибшее растение было заменено. Это особенно важно из-за того, что в полевых коллекциях один образец, как правило, состоит из небольшого числа отдельных растений (см. Стандарты закладки полевых коллекций).

Важным фактором является метод размножения целевого вида. Некоторые виды размножаются семенами, в то время как для других характерен вегетативный способ размножения. В принципе, в полевой коллекции не следует использовать для размножения семена, даже если данный вид может воспроизводиться семенами, кроме тех случаев, когда популяция представлена достаточно большим количеством растений. Так как целью восстановления является поддержание генетической целостности образца, а данный образец, к примеру, представлен лишь ограниченным числом растений, размножение семенами может привести к значительному генетическому дрейфу в образце. Кроме того, в случае перекрестноопыляющихся видов, гибридизация среди образцов фактически может нанести ущерб генетической изменчивости между образцами и нарушить целостность отдельных образцов. Всегда, когда есть такая возможность, следует применять вегетативный способ размножения, так как в этом случае каждое потомство будет точной копией родительской формы, и генетическая целостность образца, таким образом, сохранится.

Время, оптимальное для восстановления всхожести образцов, является еще одним важным фактором, который зачастую зависит от климатических условий и сезона посева той или иной культуры. ФАО опубликовала серию сельскохозяйственных календарей по культурам для Латинской Америки и Африки (FAO, 2004, 2012), которые могут служить полезным руководством для определения подходящих сроков посадки и, следовательно, восстановления всхожести. Сельскохозяйственные календари ФАО предоставляют информацию по более чем 130 культурам, произрастающим в 283 агроэкологических зонах 44 стран. Опять же, сроки будут зависеть от вида и, возможно, от местонахождения участка. Хорошим показателем, когда нужно начинать размножение, является тот момент, когда репродуктивный материал начинает прорастать или когда материнские растения начинают непрерывно погибать. Другой вопрос состоит в том, нужно ли дать коллекции возможность прорастать, т. е. позволять корневым побегам развиваться в новые растения, как в случае с ароидами (Jackson, 2008).

В размножении следует использовать типичный и здоровый растительный материал. Чтобы новое растение было здоровым, его следует получить из



посадочного материала, хранящегося в специальных условиях (в теплице, *in vitro* или в морозильной камере), если таковой имеется. Необходимо пользоваться имеющимися протоколами или методическими указаниями для конкретного вида. Восстановление всхожести перекрестноопыляющихся и гибридных форм следует проводить изолированно, используя специальные условия, предусматривающие защиту от сорняков, вредителей и болезней.

Важно, чтобы вся информация, относящаяся к восстановлению всхожести образцов, была надлежащим образом задокументирована и внесена в систему документации генбанка. Помимо прочего, в нее следует включить данные о номере образца и порядковом номере растения в каждом образце, участке, где проводилось восстановление всхожести, типе размножения и использованных материалах (черенки, клубни, клубнелуковицы, луковицы), дате посадки, проценте выживания у посадочного материала, протоколе выхода семян из состояния покоя, использованных агротехнических методах, методике посадки, полевых условиях, количестве укоренившихся растений и датах сбора урожая.

## Особые условия

Климатические факторы могут оказаться более пагубными для молодых растений, чем для старых. Поскольку в первый год по различным причинам некоторые растения, как правило, погибают, в случае необходимости целесообразно сохранить часть растений для использования в качестве замены при посадке. Это обеспечит наличие растений того же типа и возраста, что и первоначальная форма, для замены утраченных экземпляров.

Полевые коллекции чрезвычайно уязвимы для климатических и иных экологических стрессов, поэтому полевым генбанкам очень важно иметь резервный план срочного восстановления коллекции. Дубликаты образцов в качестве резервного материала для гарантированного сохранения могут храниться *in vitro* или в жидком азоте. Непредвиденные обстоятельства могут также воздействовать на диких родичей культурных растений и на местные виды, для которых протоколы восстановления еще не разработаны. Для них зачастую могут потребоваться другие методики, чем принятые для культурных родичей.



## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

**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 СТАНДАРТЫ ОПИСАНИЯ

### Стандарты

- 5.6.1 Все образцы должны быть описаны.
- 5.6.2 Для описания каждого образца следует использовать репрезентативное количество растений.
- 5.6.3 Образцы должны быть описаны морфологически на основании согласованных международных перечней дескрипторов в тех случаях, когда таковые имеются. Для подтверждения подлинности и чистоты образца также важны молекулярные методы.
- 5.6.4 Описание основывается на форматах записи, предусмотренных международными дескрипторами.

### Контекст

Описание представляет собой составление характеристики зародышевой плазмы растения, а также является средством фингерпринтинга образцов, подтверждения их типичности и идентификации дублетов в коллекции. Оно определяет выраженность признаков с высокой степенью наследуемости, начиная с морфологических, физиологических или агрономических особенностей, включая такие агроботанические признаки, как высота растения, морфология листа, окраска цветков, характеристики семян, фенология и способность многолетних растений к перезимовке. Эти данные имеют большое значение для кураторов, помогая им различать имеющиеся в коллекции образцы.

Для полевых коллекций описание можно проводить на любом этапе сохранения. Необходимо, тем не менее, чтобы сохраняемые образцы были известны и описаны в максимально возможном объеме, так как это позволит гарантировать максимально полное их использование пользователями и заинтересованными сторонами. В этой связи описание следует составлять

как можно раньше, повышая тем самым ценность коллекции. Сроки будут разными для различных видов в зависимости от их жизненного цикла. Использование минимального набора фенотипических, физиологических и морфологических дескрипторов и сведений о репродуктивной системе, выбранные из существующих международных перечней дескрипторов (например, опубликованных Bioversity International, Международным союзом по охране новых сортов растений [UPOV] или Национальной системой гермоплазмы растений США [USDA-ARS NPGS]), повышает ценность описательных данных и облегчает использование перекрестных ссылок.

Благодаря достижениям в области биотехнологии, для описания все чаще используются технологии молекулярного маркирования и геномики (de Vicente *et al.*, 2004). Описание дает возможность определять типичность образца, выявлять дрейф генов и устанавливать генетическую подлинность образца, идентифицировать неправильные маркировки и дублиеты, выявлять разнообразие внутри образца и среди образцов, а также определять коэффициент родства. Чтобы гарантированно сохранить редкие аллели генов или облегчить доступ к определенным аллелям могут потребоваться такие меры, как разделение образца. Чрезвычайно важно проводить документирование наблюдений и принимаемых мер.

## Технические аспекты

В отличие от коллекций семян, фенотипическое описание полевых коллекций проводить легче с учетом того, что растения находятся в поле, а регистрацию соответствующих признаков по балльной системе для составления описания можно осуществлять в оптимальное время и повторять через определенное количество лет.

Некоторые важные описательные данные можно получить во время сборов в поле, так что сроки проведения экспедиций по сбору образцов должны по возможности тщательно планироваться. В таком случае образцы могут быть описаны непосредственно в поле во время их сбора. Как правило, ценны исторические и культурные сведения, предоставленные фермерами, ботаниками, садоводами или местными жителями в период проведения экспедиций по сбору. Местные знания о происхождении образца, его устойчивости к болезням и насекомым могут снизить затраты на описание и ограничить количество дублиетов.

Дескрипторы для культурных растений определяют эксперты по культурам и/или кураторы, согласовывая их с экспертами по культурам и менеджерами генбанка для соответствия критериям с тем, чтобы интенсифицировать использование коллекции. Разработан широкий диапазон перечней дескрипторов по культурам (например, силами Biodiversity International, UPOV, Международной организации виноградарства и виноделия [OIV] или Национальной системы гермоплазмы растений США); кроме того по ряду культур подготовлены минимальные наборы ключевых дескрипторов для их использования. Запись данных должен проводить обученный персонал,

используя стандарты и шкалы для измерения параметров, приведенные в перечнях дескрипторов. Данные должны проверяться куратором и ответственными за документирование сотрудниками прежде, чем они будут внесены в базу данных генбанка и переданы в открытое пользование для содействия использованию коллекции. Посаженные на том же поле контрольные образцы нужны для сравнительного определения в баллах степени проявления признаков у описываемых образцов. Немаловажную роль в определении чистоты образца играют справочные коллекции (гербарные образцы, контрольные изображения высокого качества).

Количество описанных растений в одном образце должно представлять собой репрезентативную выборку, величина которой в свою очередь зависит от ее разнообразия. В целом, различные образцы должны быть представлены, как минимум, тремя растениями, в то время как для клоновых растений достаточно 1–2 экземпляров, чтобы обеспечить статистическую достоверность измерений. Что касается видов, предрасположенных к мутациям (например, цитрусовые), то для проверки их типичности следует проводить ежегодные описания по ключевым признакам.

Благодаря достижениям в области биотехнологии, для описания все чаще используются технологии молекулярного маркирования и геномики (De Vicente *et al.*, 2004) в сочетании с фенотипическими подходами, потому что они обладают преимуществами в определении идентичности клоновых растений, выявлении неправильной маркировки и дублирования, определении генетического разнообразия и родства внутри образцов и между ними. Генотипические данные, полученные в процессе описания зародышевой плазмы с использованием молекулярных методов, имеют преимущества по сравнению с фенотипическими данными, поскольку выявляемая изменчивость не зависит от условий окружающей среды (Bretting и Widrechner<sup>1</sup>, 1995). Технологии развиваются быстро, столь же быстро снижается их стоимость, что позволяет расширять их применение в полевых коллекциях, поэтому, если позволяют средства, их необходимо использовать. Однако нехватка персонала с соответствующей квалификацией и дефицит средств при относительно высоких затратах на внедрение продолжают препятствовать широкому распространению молекулярных маркеров в качестве общепринятого метода оценки зародышевой плазмы, особенно в развивающихся странах. Имеется достаточно много методов и маркеров, например, SSR (микросателлиты или простые повторяющиеся последовательности), EST-SSR (микросателлиты в экспрессирующихся последовательностях), AFLP (метод анализа полиморфизма длин продуктов амплификации), но для целей описания образцов следует использовать только хорошо воспроизводимые маркеры.

Для многих сельскохозяйственных культур был разработан широкий спектр праймеров для маркеров, которые можно использовать для описания генетического разнообразия, а также были созданы минимальные наборы

<sup>1</sup> [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)



наиболее важных (ключевых) маркеров. Для того чтобы обеспечить сопоставимость результатов независимых анализов, определенные образцы генбанка следует использовать в качестве рефересных генотипов при анализе каждой выборки. Использование одних и тех же рефересных генотипов в молекулярных исследованиях играет важную роль для сопоставления данных различных генбанков.

Одной из самых передовых технологий, используемых в улучшении древесных растений, является отбор, основанный на методах полногеномного анализа (genome-wide selection - GWS) (Grattapaglia and Resende, 2011; Fonseca *et al.*, 2010). Этот подход требует использования большого количества молекулярных маркеров с высокой плотностью покрытия всего генома и проведения широкомасштабного генотипирования. Хотя эта технология позволяет кардинально повысить эффективность генотипирования и отбора, одновременно полученная информация может быть использована для описания и сохранения новых образцов или лучших генотипов.

## Особые условия

Степень достоверности данных, собранных разными специалистами, может различаться и зависит от подготовки и опыта сотрудников. Поэтому в течение всего вегетационного периода учетом и документированием описательных данных должен заниматься технический персонал, обученный в области генетических ресурсов растений. В процессе описания желательно иметь выход на специалистов в области таксономии, биологии семян, фитопатологии и молекулярного описания (штатных или из сотрудничающих институтов). Если для каких-либо культур нет согласованных международных перечней дескрипторов, их необходимо разработать, используя в качестве образца имеющиеся перечни дескрипторов для родственных культур или видов.

**РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ**

**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://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)).

**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 СТАНДАРТЫ ОЦЕНКИ

### Стандарты

- 5.7.1 Оценочные данные образцов полевого генбанка следует получить по представляющим интерес признакам на основании согласованных международных перечней дескрипторов в тех случаях, когда таковые имеются.
- 5.7.2 Методы/протоколы, форматы и измерения, использованные в оценке, должны быть должным образом задокументированы вместе со ссылками. Сбор данных необходимо проводить в соответствии со стандартом хранения данных.
- 5.7.3 Оценочные испытания должны быть повторены (в другое время и в другом месте) по мере целесообразности и основаны на точном статистическом расчете.

### Контекст

Оценка – это запись тех характеристик, выраженность которых часто зависит от факторов окружающей среды. Она включает систематический сбор данных по агрономическим и качественным признакам путем разработанных надлежащим образом экспериментальных испытаний. В оценочные данные часто включают устойчивость к вредителям и болезням, оценку качества (например, содержание или плотность масел, белков, сахаров), продуктивность (древесина, зерно, плоды, семена, листья и т. д.) и абиотические признаки (засухоустойчивость, холодостойкость и др.). Пользователи крайне заинтересованы в получении таких данных, чтобы внедрять ценные признаки в селекционные программы и содействовать повышению уровня использования коллекций. Признаки, по которым анализируют образцы зародышевой плазмы, заранее определяются экспертами по культурам совместно с кураторами генбанка. Достоверные

оценочные данные, которые легко получить селекционерам и научным работникам, значительно облегчают использование образцов зародышевой плазмы растений. Систематическую оценку зародышевой плазмы можно проводить, используя сетевой подход как на международном, так и на национальном уровнях.

Процесс получения оценочных данных генбанками занимает много времени и зачастую оказывается более дорогостоящим, чем получение описательных данных. Таким образом, приоритет в проведении оценки следует отдавать образцам, обладающим особо ценными характеристиками: при этом оценку рекомендуется проводить в сотрудничестве с селекционерами и другими специалистами (вирусологами, энтомологами, микологами). Кураторы должны делать все возможное для того, чтобы получить хотя бы минимальную запротоколированную оценочную информацию. Одним из возможных источников могут стать отчеты по оценке, проведенной пользователями, которым материалы зародышевой плазмы были переданы раньше. Генбанку следует поощрять пользователей делиться оценочными данными, для чего между генбанком и получателями/пользователями материала необходимо выработать практические договоренности. Такая информация могла бы содержать сведения об устойчивости к биотическим и абиотическим стресс-факторам, особенностях роста и развития зародышевой плазмы, характеристиках качества урожая и т. д. Включение такого рода информации в базу данных генбанка позволяет осуществлять более целенаправленную идентификацию зародышевой плазмы для удовлетворения потенциальных потребностей клиентов. После соответствующей проверки и подтверждения достоверности таких данных их необходимо включить в систему документации генного банка.

## Технические аспекты

Целый ряд перечней дескрипторов по культурам разработан, к примеру, в Bioversity International и UPOV. Кроме того, имеются перечни оценочных дескрипторов, подготовленные региональными и национальными организациями, такими как Национальная система гермоплазмы растений США.

Сбор данных должен проводиться обученным персоналом, с максимальным использованием стандартов и шкал для измерения параметров, достаточно хорошо проверенных (контрольных) образцов и опубликованных перечней дескрипторов по культурам. Результаты тепличных, лабораторных или полевых оценок, согласно стандартизированным протоколам и экспериментальным процедурам, обычно представляют в виде дискретных величин (например, оценка степени заболевания в баллах; результат подсчета) или непрерывных величин (полученных на основе измерений). Кураторы и сотрудники, занимающиеся документированием, должны проверять данные до их внесения в базу данных генбанка и до того, как они станут общественно доступными.

Многие агрономические признаки, представляющие интерес для селекционеров, являются генетически сложными для скрининга в процессе предварительной оценки образцов зародышевой плазмы. Данные по

агрономическим признакам обычно получают в ходе оценки зародышевой плазмы в селекционной программе; многие из этих признаков являются результатом сильного взаимодействия генотипа с окружающей средой (G x E) и, следовательно, зависят от места проведения оценки. Важно проводить оценку желаемых признаков в повторностях в различных условиях окружающей среды, а также четко определить и описать контрольные образцы, которые будут использоваться в последующие годы. Контрольные образцы облегчают сравнительный анализ результатов спустя несколько лет после сбора данных.

Благодаря достижениям в области биотехнологии, для описания все чаще используются технологии молекулярного маркирования и геномики (De Vicente *et al.*, 2004) (см. Стандарты описания). Молекулярные маркеры, наиболее часто используемые в настоящее время для описания и оценки зародышевой плазмы, включают AFLP, SSR, и маркеры, детектирующие однонуклеотидный полиморфизм (SNP). Ввиду достаточно высокой воспроизводимости получаемых данных и возможности получения высоконасыщенных хромосомных карт, они заменили более старые типы маркеров, такие как ПДРФ или RFLP (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) и RAPD (маркеры, основанные на ПЦР с применением праймеров с произвольной последовательностью). Также, разработка нового поколения методов секвенирования и одновременное удешевление их стоимости привело к более широкому использованию в оценке зародышевой плазмы методов секвенирования отдельных кодирующих и некодирующих областей генома и технологий генотипирования посредством тотального секвенирования (GBS). Молекулярные маркеры различаются по уровню выявляемого генетического полиморфизма; по типу получаемых данных; по возможностям их применения на том или ином таксономическом уровне, а также по техническим требованиям их применения и финансовым затратам (Lidder and Sonnino, 2011). В тех случаях, когда возможно проведение маркер-вспомогательного отбора – MAS (т.е. отбор селекционного материала на наличие или отсутствие определенных признаков на молекулярном уровне), такой подход можно применить и для оценки зародышевой плазмы на наличие целевых признаков. Однако нехватка персонала с соответствующей квалификацией и дефицит средств при относительно высоких затратах на внедрение продолжают препятствовать широкому распространению молекулярных маркеров в качестве общепринятого метода оценки зародышевой плазмы, особенно в развивающихся странах.

## Особые условия

Достоверность данных, собранных разными специалистами, может различаться в случае отсутствия у них надлежащей подготовки и опыта, а также если процедуры сбора данных не согласованы. Поэтому для сбора и документирования оценочных данных требуется квалифицированный технический персонал, прошедший подготовку в области генетических ресурсов растений. Весьма желательно, чтобы в проведении оценки участвовали многопрофильные группы специалистов в области фитопатологии растений, энтомологии и устойчивости





к экологическим (абиотическим) стрессам – как штатных, так и приглашенных из сотрудничающих институтов.

Оценка зародышевой плазмы растений – очень трудоемкий процесс. Чтобы иметь возможность собрать достоверные и качественные данные необходимо соответствующее стабильное финансирование. В ситуациях, когда проведение всесторонней оценки всех образцов желательно, но экономически неосуществимо, для начала рекомендуется провести отбор генетически разнообразных образцов (например, на основе заранее намеченных подгрупп образцов зародышевой плазмы).

Различия по степени распространенности вредителей и заболеваний, сила воздействия абиотических стрессов и колебания экологических и климатических факторов в полевых условиях влияют на точность данных. Эти различия следует сглаживать посредством повторных оценок, которые следует проводить в разных местах, в разное время года и в течение многих лет. Кроме того, лабораторные анализы измерений некоторых признаков, таких как содержание масла или белка, качество крахмала, пищевая ценность, требуют специализированного оборудования и квалифицированных сотрудников, которые не всегда имеются в наличии или требуют немалых расходов, что еще раз указывает на целесообразность привлечения в случае необходимости многопрофильных групп специалистов из нескольких отделов организации или разных институтов. Как и

морфологические описания, оценка может включать определение санитарного состояния образца (наличие вирусов).

Использование оценочных данных, поступивших из других источников, на практике может быть сопряжено с серьезными трудностями. Например, данные могут быть представлены в различных форматах, а в случаях, когда они уже опубликованы, может возникнуть проблема авторских прав и прав интеллектуальной собственности. Для того чтобы упростить использование данных из внешних источников, важно провести стандартизацию сбора и анализа данных, унифицировать форматы отчетности и ввода информации.

Следует отметить, что оценку по многим признакам можно надлежащим образом провести непосредственно в самом полевом генбанке. Однако стрессы, подвергающие коллекцию риску и способные при отсутствии контроля привести к потере образцов, должны оцениваться в рамках отдельных, специально разработанных испытаний. Среди них – злостные насекомые-вредители и заболевания, серьезные проблемы почвы. Зачастую полевая коллекция непригодна для оценки урожайности или качества из-за того, что план схема посадок на участке не соответствует требованиям, или же приходится оставлять растения в грунте после того, как обычные сроки уборки уже давно прошли.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

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 СТАНДАРТЫ ДОКУМЕНТИРОВАНИЯ

### Стандарты

- 5.8.1 Паспортные данные всех образцов необходимо документировать на основе многофункциональных паспортных дескрипторов по сельскохозяйственным культурам ФАО/Bioversity. Кроме того, информация по образцам должна также включать данные инвентаризации, карту и координаты земельного участка, данные по восстановлению всхожести, описание, оценку, заявки на семена, сведения о распространении и отзывы пользователей.
- 5.8.2 Агротехнические процессы и методы культивирования необходимо протоколировать и документировать.
- 5.8.3 Данные, указанные в пунктах 5.8.1. и 5.8.2, должны храниться вместе с внесенными в них изменениями в соответствующей системе баз данных по утвержденным международным стандартам формата данных.

### Контекст

Всесторонняя информация об образцах, включающая регулярно обновляемые подробные полевые карты, а также сведения об агротехнических приемах, имеет важное значение, так как помогает полевому генбанку управлять своими полевыми коллекциями и поддерживать их. Документирование описательных и оценочных данных особенно важно для повышения интенсивности использования соответствующих коллекций и помощи в идентификации отдельных образцов.

## Технические аспекты

Необходимо протоколировать все данные и сведения, получаемые на протяжении всего процесса получения материала, создания коллекции, землепользования, восстановления всхожести, описания, оценки и рассылки. Охват таких данных и сведений простирается от подробностей генетических характеристик отдельных образцов и популяций до сетей распространения, клиентской базы и обратной связи с пользователями. Помимо паспортных данных и стандартных дескрипторов по культурам, полевые генбанки ведут учет таких видов информации, как каталоги растений, визуальные свидетельства (фотографии, рисунки), даты посева и уборки, хроника проверок подлинности (идентификации).

При документировании паспортных данных следует применять Перечень паспортных дескрипторов сельскохозяйственных культур ФАО/Байоверсити (Alercia *et al.*, 2012), поскольку они способствуют эффективному обмену данными между разными генбанками и странами. Следует пользоваться стандартами документирования описательных данных, таким как Международные дескрипторы сельскохозяйственных культур Bioversity International, а также дескрипторы генетических маркеров (de Vicente *et al.*, 2004). Учитывая достижения в области биотехнологии, существует потребность в дополнении данных о фенотипических признаках молекулярными данными. Следует вести сбор молекулярных данных, получаемых благодаря геномике, протеомике и биоинформатике.

Для эффективного управления полевой коллекцией огромное значение имеет учет агротехнических процессов, в том числе ежедневных процедур. Правильно составленная документация не может обойтись без качественного учета полевых карт (в печатном виде и электронном формате). Следует хранить и старые карты, датировать их и использовать как справочный материал.

Правильный уход за образцами разных видовых групп требует применять различных приемов культивирования, которые необходимо тщательно документировать, обеспечивая тем самым их последовательное использование на перспективу и надлежащее обращение с образцами.

В настоящее время большинство генбанков имеет доступ к компьютерной технике и интернету. Компьютеризированные системы хранения данных и информации позволяют комплексно сохранять весь объем информации, связанной с управлением полевыми коллекциями. Системы управления информацией о зародышевой плазме, такие как GRIN-Global, были разработаны специально для универсального управления документацией и информацией генбанков. Введение стандартов данных, которые на сегодняшний день охватывают большинство аспектов управления данными генбанков, облегчает управление информацией, повышает эффективность использования данных и обмена ими. Большое значение имеет обмен информацией об образцах, а также ее общедоступность для потенциальных пользователей зародышевой плазмы, так как это облегчает и стимулирует использование коллекций. Наконец, качественное управление данными и информацией способствует хранению и удобству использования сохраняемой зародышевой плазмы.

Необходимо сохранять все данные вплоть до самых последних. Их также необходимо регулярно дублировать и хранить в удаленном месте, чтобы защитить от пожара, сбоя компьютерной техники и т.п. (см. Стандарты сохранности и безопасности). Полезно также иметь в распоряжении письменные записи основных паспортных данных и распечатанные копии полевых карт.

## Особые условия

Отсутствие или частичная утрата документации, полевых карт или этикеток ставит под угрозу оптимальное использование зародышевой плазмы и даже может привести к ее утрате, если послужит препятствием для надлежащего управления и восстановления всхожести.

Отсутствие надлежащей идентификации видовой принадлежности не позволяет учитывать всю информацию, необходимую для правильного содержания образца и определения необходимых агроприемов.



## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

**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)).

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

**USDA, ARS, Bioersity 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)).

## 5.9 СТАНДАРТЫ РАССЫЛКИ

### Стандарты

- 5.9.1 Вся зародышевая плазма должна распространяться в соответствии с национальными законами и соответствующими международными договорами и конвенциями.
- 5.9.2 Любая отправка образцов должна сопровождаться всеми надлежащими документами согласно требованиям страны-донора и страны-получателя.
- 5.9.3 Любая распространяемая зародышевая плазма должна сопровождаться относящейся к ней информацией. Минимальная информация должна включать описание с названием образца, числом и/или весом пакетобразцов и ключевые паспортные данные.

### Контекст

Рассылка зародышевой плазмы означает поставку репрезентативной выборки образца из генбанка в ответ на заявки пользователей зародышевой плазмы. Постоянно растет спрос на генетические ресурсы для решения проблем, вызванных изменением климата, изменением степени опасности основных насекомых-вредителей и болезней, инвазией чужеродных видов или же для иных нужд конечных пользователей. Благодаря такому спросу расширилось осознание важности использования зародышевой плазмы из генбанков, что в конечном итоге и определяет ее распространение. Важно, чтобы распространение зародышевой плазмы через границы соответствовало международным нормам и стандартам, относящимся к фитосанитарным правилам, а также положениям международных договоров и конвенций о биологическом разнообразии и генетических ресурсах растений.



## Технические аспекты

Два международных акта, регулирующие доступ к генетическим ресурсам – это МД ГРПСХ и КБР. МД ГРПСХ облегчает доступ к ГРПСХ и предусматривает распределение выгод от их использования. Этот Договор установил многостороннюю систему для ГРПСХ, в рамках которой 64 продовольственные и кормовые культуры (обычно известные как Приложение 1 к Договору) подлежат распространению на основе ССПМ. Данное стандартное соглашение может также использоваться для культур, не входящих в Приложение 1, хотя для этого есть и иные варианты распространения. Согласно КБР, доступ и распределение выгод определяются Нагойским протоколом. Как МД ГРПСХ, так и КБР придают особое значение последовательной взаимосвязи между сохранением

и устойчивым использованием наряду с облегченным доступом и равноправным распределением выгод от использования.

Кроме того, все образцы должны сопровождаться необходимой документацией, в частности фитосанитарными сертификатами и разрешениями на импорт, как предусмотрено МКЗР. Перед каждой отправкой необходимо проверить конечный пункт назначения и ознакомиться с последними фитосанитарными требованиями страны-импортера (во многих странах правила часто меняются). Передачу зародышевой плазмы следует тщательно планировать, согласовывая все вопросы с национальной организацией по защите растений или официально уполномоченным учреждением, от которых требуется выдать надлежащие документы, такие как официальный фитосанитарный сертификат, соответствующий требованиям страны-импортера. Получатель зародышевой плазмы должен проинформировать генбанк-отправитель о требованиях к документам, необходимым для импорта растительного материала, в том числе и о фитосанитарных правилах.

Вегетативный материал полевого генбанка перед передачей пользователям зародышевой плазмы должен пройти процедуры оздоровления и индикации. Индикация трудноопределимых патогенных объектов, например вирусов, необходима для того, чтобы ограничить их распространение. Когда нет возможности провести индикацию вирусов, особенно если известно, что материал поступил из зараженной вирусом местности, информацию о санитарном состоянии следует присовокупить к паспортным данным, а материал отправить получателю при условии, что у него имеется карантинная база, или если это не противоречит критериям разрешения на импорт, выданного в стране или регионе, откуда поступила заявка.

Тип транспортной тары, упаковочных материалов и выбор транспортной компании будет во многом зависеть от той части растения, которое подлежит отправке. В фитосанитарных сертификатах, карантинных свидетельствах и разрешениях на импорт часто указано, как должна быть упакована и отправлена та или иная зародышевая плазма. Органы в состоянии покоя и запасующие органы требуют меньших мер предосторожности и могут находиться в пути без ущерба для себя более длительное время, чем активно растущие побеги. В процессе транспортировки образцы должны быть изолированы друг от друга. Стандартные операционные процедуры (СОП), действующие во многих генбанках, призваны решать технические вопросы, такие как упаковка, обработка, способ транспортировки, размер пакетобразца и т.п. На них и нужно ссылаться.

Чтобы повысить вероятность того, что растение будут доставлены в хорошем состоянии, планировать сроки отправки следует так, чтобы избежать аномальных погодных условий (жары или холода), а также заранее, до прибытия растительного материала, уведомлять получателя или представителя таможни. Для ломких репродуктивных органов могут потребоваться услуги экспресс-доставки. Для упрощения международных перевозок необходимые документы целесообразно прикреплять снаружи контейнера, обеспечивая должностным лицам легкий доступ к ним без воздействия на растения, а копии для получателя оставить внутри контейнера. Запрашивающей стороне может потребоваться оплата услуг курьера для перевозки зародышевой плазмы через таможню в страну.

Все образцы должны сопровождаться минимальной информацией, которая нужна запрашивающей стороне для того, чтобы использовать материал надлежащим образом. Такая информация должна включать, по меньшей мере, подробный список с перечислением названий всех образцов, указанием количества и/или веса материала, а также ключевых паспортных данных. Кроме того, полезно включить результаты проверок на наличие патогенов. Следует вести учет рассылки образцов (дата заявки, запрашиваемые растения, форма растения, название/фамилия и адрес запрашивающей стороны, дата отправки, стоимость отправки) и вводить эту информацию в систему документации генбанка (см. Стандарты документирования). Разосланный растительный материал может стать источником репродуктивного материала в случае катастрофических потерь оригинального материала у генбанка-поставщика.

## Особые условия

Одновременное хранение образцов *in vitro* обеспечивает защиту от вредителей, возбудителей болезней и климатических рисков, а также повышает доступность их для распространения, если поддерживается безвирусный статус материала. В некоторых случаях, как, например, с маниоком (*Manihot esculenta* L.) и какао (*Theobroma cacao* L.), черенки из полевых генбанков можно распространять только внутри страны, а иногда вообще только в определенных районах страны, потому что таковы правила карантинного надзора за вредителями и болезнями. Обмен зародышевой плазмой между странами или карантинными зонами требует использования иных форм, например, в виде культуры *in vitro* или семян. Что касается культур, зараженных вирусами, переносчиками которых служат насекомые и клещи, для рассылки может потребоваться материал из теплиц или изодомиков, а также культура *in vitro*.

Политические решения, кризисные ситуации, либо бюрократическая волокита могут привести к увеличению промежутка времени между получением заявки на семена и отправкой материала. Ограничения, связанные с восстановлением всхожести и/или размножением образцов, также могут повлиять на процесс рассылки и задержать его. Задержка в ходе проверки карантинных правил до того момента, когда материал будет готов к отправке, приведет к лишним расходам. Отправка зародышевой плазмы, зараженной вредителями, или при отсутствии надлежащей документации приведет к тому, что ввоз материала в страну, куда он был направлен, будет запрещен, а материал может быть уничтожен.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

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



## 5.10 СТАНДАРТЫ БЕЗОПАСНОСТИ И ДУБЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ НАДЕЖНОГО СОХРАНЕНИЯ

### Стандарты

- 5.10.1 Для контроля физических и биологических рисков, определенных стандартами, следует внедрить и по мере необходимости обновлять стратегию управления рисками.
- 5.10.2 Генбанк должен руководствоваться местными требованиями и протоколами в области охраны труда и техники безопасности (ОТТБ).
- 5.10.3 Генбанк нанимает необходимый персонал для выполнения всех основных обязанностей, требующихся для того, чтобы генбанк мог пополнять коллекции, сохранять и распространять зародышевую плазму в соответствии со стандартами.
- 5.10.4 Для обеспечения надежного сохранения каждый образец полевого генбанка должен быть продублирован по крайней мере еще на одном участке и/или с использованием методик/стратегии альтернативного сохранения, такой как *in vitro* или криоконсервация, в тех случаях, когда это возможно.

### Контекст

Учитывая, что полевой генбанк представляет собой совокупность живых растений из разных регионов, которые на протяжении многих лет будут оставаться в одном месте, он чрезвычайно уязвим для целого ряда негативных факторов, связанных, в том числе, с условиями окружающей среды, вредителями и болезнями, землепользованием и землеустройством. Содержание полевого генбанка обходится дорого и, в отличие от других форм хранения, требует постоянного обслуживания. Для контроля физических и биологических рисков в процессе повседневной работы генбанка нужно систематически проводить в жизнь и поощрять управление рисками. Данный стандарт определяет меры, которые должен принять генбанк, чтобы

обеспечить безопасность коллекции при таких угрозах и предотвратить утрату генетического разнообразия.

## Технические аспекты

Полевой генбанк должен иметь действующую стратегию управления рисками, оформленную в письменном виде, с описанием мероприятий, которые следует провести при возникновении в генбанке чрезвычайной ситуации, угрожающей зародышевой плазме или информации о ней. Такую стратегию и относящийся к ней план действий следует регулярно пересматривать и обновлять в связи с меняющимися обстоятельствами и новыми технологиями, широко распространяя эту информацию среди работников генбанка.

Полевые генбанки подвергаются воздействию многих угроз. К ним относятся такие экстремальные погодные условия, как засуха, заморозки, град, циклоны, тайфуны, ураганы, которые отчасти можно предсказать и принять меры предосторожности, обеспечив растения дополнительной защитой в неблагоприятные периоды. Если растения высажены в горшках, их можно перенести в укрытие. Мало что можно сделать для защиты мелких растений в открытом поле в зависимости от типа растений; разве только укрепить их колышками или, если это целесообразно, укрыть защитным покрытием. У плодовых деревьев можно сделать обрезку ветвей, чтобы снизить воздействие сильных ветров, способных повалить деревья.

Другие экстремальные явления, такие как пожары или землетрясения, труднопредсказуемы, и в таких случаях необходимо заранее принимать меры для предотвращения повреждения растений в полевом генбанке. Необходимо провести на всей территории полевого генбанка противопожарную опашку и постоянно ее поддерживать. Кроме того, необходимо предусмотреть наличие работающего противопожарного оборудования и регулярно его проверять. К противопожарному оборудованию относятся огнетушители и огнезащитные покрытия. Если генбанк находится в сейсмоопасной зоне, его постройки, в том числе теплицы и питомники, должны быть сейсмостойкими.

Другие угрозы для полевых коллекций связаны с биотическими факторами, к которым относятся вредители и болезни, хищники, чужеродные виды, грызуны-вредители и местный одичавший материал того же вида, способный проникнуть на поле как сорняк. Для устранения этих угроз следует принимать меры предосторожности. Пестициды нужно использовать с осторожностью, поскольку они оказывают негативное воздействие не только на окружающую среду, но и на здоровье и безопасность персонала, который их применяет. При необходимости, экологически оправданным бывает использование ловушек для хищников или рвов, предотвращающих доступ к участкам. Борьба с проникновением животных на территорию полевых генбанков следует гуманными методами на основании кодексов гуманного отношения, принятых соответствующими обществами.

Вандализм или кража посадочного материала также могут стать серьезной проблемой для безопасности коллекций. Полевые генбанки должны быть



обнесены надежной оградой и иметь систему контроля доступа в помещения генбанка. В некоторых местах может потребоваться дополнительная охрана или защитное ограждение. Учитывая долгосрочный характер полевых генбанков, особенно для плодовых и иных деревьев, гарантии права землепользования и план развития имеют большое значение, так как вероятность перебазирования на новый участок снижается, а возможность расширения площадей остается.

Следует также учитывать вопросы охраны труда и техники безопасности персонала. Необходимо обеспечить работников действующим защитным оборудованием и спецодеждой для использования на полевых работах, особенно при применении химических пестицидов и удобрений. Для снижения рисков важен и выбор агрохимикатов. Следует составить список химических веществ, в целом безопасных для различных культур, а также «черный список» опасных и запрещенных к использованию химикатов. Необходимо инструктировать работников на предмет правильной и безопасной эксплуатации оборудования, регулярно проводить с ними занятия по вопросам здоровья и безопасности работ в полевых условиях.

Для активного управления генбанком нужен хорошо подготовленный персонал; очень важно распределить обязанности среди работников, обладающих необходимой компетенцией. Поэтому у генбанка должен быть действующий план или стратегия в отношении персонала, а также соответствующий бюджет, чтобы

гарантировать наличие хотя бы минимального, подготовленного должным образом штата сотрудников для выполнения ими обязанностей, позволяющих генбанку пополнять коллекции, сохранять и распространять зародышевую плазму. Желательно иметь в распоряжении отраслевых и технических специалистов в различных областях в зависимости от профиля и задач каждого конкретного генбанка. При этом комплектация и обучение персонала будут определяться конкретными обстоятельствами. Штатный персонал должен пройти необходимую подготовку в рамках сертифицированных учебных курсов и/или обучения без отрыва от производства, а проблемы в подготовке работников решаются по мере их возникновения.

Применение дополнительных методов хранения дублетов образцов полевых генбанков для обеспечения их надежной сохранности является важной стратегией снижения вышеупомянутых рисков; кроме того, такие методы могут оказаться более экономичными. Можно заложить резервные дублеты образцов в виде культуры *in vitro* в условиях замедленного роста, либо сохранять их криогенным методом в жидком азоте в тех случаях, когда имеются протоколы по целевым образцам. Для видов с короткоживущими или рекальцитрантными семенами целесообразно и экономически эффективно использовать метод краткосрочного хранения дублетов, когда семена пересеваются до того, как теряют жизнеспособность. Для обеспечения надежной сохранности образцов можно также создать дублетный полевой генбанк в другой местности с подходящими климатическими и агроэкологическими условиями, в которых растения будут хорошо развиваться, не подвергаясь тем рискам, которые представляют угрозу основному генбанку. Такой участок станет дополнительным источником материала для рассылки, а его размещение в местности, где риски связаны с другими болезнями и вредителями, благоприятно скажется на безопасности коллекции и снизит карантинные ограничения при распространении материала в пределах регионов. Хранилища пыльцы и ДНК также дополняют полевые генбанки, обеспечивая экономически эффективное резервное поддержание более широкого разнообразия образца по сравнению с тем, которое сохраняется в виде растений в полевом генбанке.

Любая договоренность о дублировании образцов для их надежного сохранения должна быть оформлена в виде недвусмысленного юридического соглашения, подписанного стороной, предоставившей дублетный материал на хранение, и его получателем, в котором установлены обязанности сторон и условия хранения материала. Это особенно важно для полевых генбанков, где уход за растениями должен быть ежедневным.

## Особые условия

В случае отсутствия надлежащим образом подготовленного персонала, либо при наличии временных или других ограничений, возможным решением была бы передача части функций генбанка сторонним организациям или обращение за помощью к другим генбанкам. Важной задачей является развитие сетевого

взаимодействия и сотрудничества с другими генбанками. В случае, когда выполнение функций генбанка находится под угрозой, об этом следует сообщить международному сообществу генбанков.

Несанкционированное проникновение людей на территорию генбанка, нашествие животных, птиц и других представителей дикой флоры и фауны может не только привести к прямой утрате материала, но и поставить коллекции под угрозу из-за случайного заражения вредителями и болезнями или нарушения систем управления. Тесное взаимодействие с местными сообществами с целью повышения их информированности в плане осознания миссии и значения коллекции может воспитать отношение к ней, как к собственному имуществу, и таким образом укрепить защиту полей.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

**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://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=58&Itemid=207&lang=english](http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=58&Itemid=207&lang=english)).







# Глава 6

## СТАНДАРТЫ ГЕННЫХ БАНКОВ ДЛЯ КУЛЬТУРЫ *IN VITRO* И КРИОСОХРАНЕНИЯ





Стандарты для культуры *in vitro* и криосохранения имеют широкий и обобщенный характер вследствие заметной вариативности между неортодоксальными семенами и вегетативно размножающимися растениями. Будучи функцией внутренне присущих биологических свойств и метаболического статуса соответствующих растений, данная изменчивость обуславливает их дифференцированные реакции на различные манипуляции и нередко требует модификации базовых подходов на видоспецифичной основе. Ввиду таких многообразных особенностей, целесообразно сказать вступительное слово о феномене неортодоксальности и поведении неортодоксальных семян при хранении для лучшего понимания научной основы этих стандартов.

## Феномен неортодоксальности

Основополагающее значение для криосохранения имеет понимание толерантности и чувствительности ортодоксальных семян к высушиванию в сравнении с неортодоксальными (промежуточными и рекальцитрантными) семенами. На стадии зрелости оводненность ортодоксальных семян обычно находится в пределах  $0.05\text{--}0.16 \text{ г г}^{-1}$  (5%–14% [wmb]), хотя некоторые виды опадают при гораздо более высоком содержании воды, после чего подвергаются сильному обезвоживанию. В отличие от рекальцитрантных семян, все ортодоксальные семена приобретают устойчивость к высушиванию, которая является генетически запрограммированной и проявляет себя до или в самом начале обезвоживания

1 В этом документе термин содержание воды (wmb – основа мокрой массы) используется относительно касательно влаги, так как неортодоксальные семена гидратизированы (мокрые) а не влажные (чуть мокрые). Данные выражены по основе сухой массы ( $\text{g H}_2\text{O g}^{-1}$  сухое вещество [ $\text{g g}^{-1}$ ]), это более очевидно, чем выражение в проценте от мокрой массы.



при созревании. Рекальцитрантные семена не сохнут на более поздних стадиях развития и опадают при содержании влаги в пределах 0.3–0.4 → 4.0 г г<sup>-1</sup>. Поскольку они чувствительны к высушиванию, потеря влаги быстро приводит к снижению их жизненной энергии и жизнеспособности, а затем и к гибели семян при относительно высоком водосодержании. Это объясняется их метаболической активностью (Berjak and Pammenter, 2004) при низкой внутриклеточной дифференциации или вообще при ее отсутствии, когда мембраны становятся беззащитными перед пагубным влиянием такого стресс-фактора, как обезвоживание (Walters *et al.*, 2001; Varghese *et al.*, 2011). У промежуточных семян тоже можно наблюдать определенный диапазон физиологических различий после опадания. Семена, демонстрирующие промежуточное поведение, могут выдержать потерю воды от ~0.11 до ~0.14 г г<sup>-1</sup> (Berjak and Pammenter, 2004). В них есть потенциал, позволяющий работать некоторым важным механизмам и процессам, регулирующим устойчивость к высушиванию. Однако они не способны долго жить в обезвоженном состоянии, особенно при температурах заморозания, как это свойственно ряду видов.

Изменчивость в физиологии рекальцитрантных семян часто проявляется также и внутри вида. Содержание воды в семенах или зародышах/зародышевых осях от года к году может существенно варьироваться в коллекциях, поддерживаемых на одном и том же участке, а также и у материала с одного участка в течение одного сезона. Это означает, что для каждого вида необходимо дать оценку соответствующим параметрам (содержание воды, реакция на подсушивание). Кроме того, качество семян, собранных в конце сезона, как правило, значительно ниже, чем у тех, которые были убраны ранее (Berjak and Pammenter, 2004). Важным фактором, определяющим свойства и реакции рекальцитрантных семян, также является происхождение популяции, в которой семена были собраны. Таким образом, даже у семян одного и того же вида, сформировавшихся вдоль одного широтного градиента, могут быть совершенно разные характеристики (Daws *et al.*, 2006; Daws *et al.*, 2004).

При закладке рекальцитрантной зародышевой плазмы на криосохранение необходимо в обязательном порядке учитывать статус развития семян. На ранней стадии онтогенеза всем семенам свойственна высокая чувствительность к высушиванию. По мере того, как при прорастании проявляются процессы метаболизма, чувствительность неортодоксальных семян к высушиванию увеличивается (Berjak and Pammenter, 2004). Раннее прорастание рекальцитрантных семян может начаться практически сразу после их опадения, без акцентированной «паузы» между окончанием развития и началом прорастания, как это бывает у ортодоксальных семян по причине обезвоживания при созревании.

В зависимости от вида, метаболизм зародышей в рекальцитрантных семенах начинается после опадания. Такие виды, обладая при опадании полностью развитыми зародышами, начинают прорастать практически сразу, повышая при этом чувствительность к высушиванию. Семена некоторых других видов осыпаются с недоразвитыми зародышами, поэтому, прежде чем начнется метаболизм при прорастании, они должны завершить процесс развития. Такая дифференциация в развитии определяет продолжительность срока,

в течение которого рекальцитрантные семена могут храниться во влажном состоянии (т. е. хранение оводненных семян с тем же содержанием воды, что и при осыпани). Теперь уже известно, что рекальцитрантные семена нельзя высушивать до такого водосодержания, при котором прорастание исключено (так называемое сохранение с частичным подсушиванием), так как в этом случае срок жизни семян при влажном хранении сократится. Небольшое обезвоживание фактически стимулирует проклевывание зародыша/процесс прорастания, приближая таким образом тот момент, когда для поддержания процесса потребуется водоснабжение извне (Drew *et al.*, 2000; Eggers *et al.*, 2007). В целом, рекальцитрантным семенам, происходящим из зон с умеренным климатом, свойственна холодостойкость, в то время как семена тропических и субтропических растений скорее всего будут чувствительны к низким температурам. Чувствительность к охлаждению также представляет собой проблему при сохранении промежуточных семян, особенно тропических и субтропических растений. При подсушивании до уровня оводненности, который сам по себе не наносит вреда материалу, срок хранения таких семян сокращается при температурном режиме  $\leq 10\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Hong *et al.*, 1996).

Связанная с семенами микрофлора (грибки и бактерии), особенно живущая на внутренних поверхностях, например, семядолей или на зародышевой оси, как правило, представляет серьезную проблему для рекальцитрантных семян, в частности у растений тропического и субтропического происхождения (Sutherland *et al.*, 2002). Условия хранения оводненных семян, характеризующиеся влажностью и нередко требующие умеренного температурного режима, способствуют массовому размножению грибков, гифы которых могут проникнуть в ткани зародыша. Это оказывает пагубное воздействие на семена и значительно сокращает срок их жизни при хранении в оводненном состоянии. В полевых условиях, если укоренение проростков не происходит быстрыми темпами, рекальцитрантные семена постепенно будут терять воду со скоростью, зависящей от их видоспецифичной природы и морфологии. В условиях медленной потери воды (от нескольких дней до недели и дольше) обезвоживание наносит все больший урон, так что семена большинства видов потеряют жизнеспособность, как только оводненность зародышей/зародышевых осей достигнет примерно  $0.8\text{ г г}^{-1}$  (Pammenter *et al.*, 1993). Таким образом, при работе с рекальцитрантными семенами и их хранении, как правило, требуется особая аккуратность, чтобы их оводненность не падала ниже уровня, характерного для опадания.

Реакция эксплантов на обезвоживание зависит от интенсивности сушки и размера эксплантов. Часто рекальцитрантные семена слишком крупные как для того, чтобы быстро их высушить, так и для того, чтобы быстро охладить криогенным веществом (что требуется для успешного криосохранения). Поэтому предпочтительнее выбирать в качестве экспланта отделенный зародыш или зародышевую ось, поскольку они могут быть обезвожены до такого уровня, когда кристаллизация льда будет сведена к минимуму, то есть до  $\leq 0.4\text{ г г}^{-1}$ . Зародыши/оси можно сушить потоком воздуха (мгновенная сушка) (Pammenter *et al.*, 2002), что значительно сокращает время, в течение которого материалу может быть нанесен ущерб от обезвоживания, связанный с метаболизмом. Это не значит,



что зародыши/зародышевые оси обрели устойчивость к высыханию; просто они подсушиваются до того, как будет нанесен губительный урон, обеспечивая время, необходимое для помещения их под воздействие криогенных температур. В случаях, когда подготовить зародыши/оси для успешного криосохранения не представляется возможным, можно использовать альтернативные экспланты, такие как апикальные меристемы побегов, которые отделяют от ростков, взшедших из пророщенных *in vitro* семян.

Помимо криосохранения есть и другие способы сохранения видов с рекальцитрантными или иными неортодоксальными семенами, такие как хранение культуры *in vitro*, которое может предусматривать условия замедленного роста рассады/всходов/проростков. В некоторых случаях условия замедленного роста можно создать *ex vitro*. Например, проростки могут быть получены из эмбрионного каллуса (который и сам по себе поддается криогенному хранению) и сохранены *in vitro*, возможно, в условиях замедленного роста.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

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 СТАНДАРТЫ ПОПОЛНЕНИЯ ГЕНБАНКА ЗАРОДЫШЕВОЙ ПЛАЗМОЙ

### Стандарты

- 6.1.1 Все образцы зародышевой плазмы, поступающие в коллекцию генбанка, должны быть получены законным образом и с соответствующей технической документацией.
- 6.1.2 Все материалы должны сопровождаться по крайней мере минимальными данными о них согласно Многофункциональным паспортным дескрипторам по сельскохозяйственным культурам ФАО/Bioversity.
- 6.1.3 Сбирать следует только материал в хорошем состоянии и на приемлемой стадии зрелости, а выборка должна быть достаточно большой, чтобы успешно сохранить ее в генном банке.
- 6.1.4 Материал следует отправить в генный банк как можно скорее и транспортировать по возможности в максимально благоприятных условиях.
- 6.1.5 Весь поступающий материал следует подвергнуть наружному обеззараживанию в месте, предназначенном для его приемки, с целью удаления всех паразитирующих микроорганизмов таким образом, чтобы физиологический статус материала остался неизменным.

### Контекст

Пополнение – это процесс сбора зародышевой плазмы (семян и другого репродуктивного материала)<sup>1</sup> или получение ее по заявке для закладки в генбанк вместе с сопутствующей информацией. При этом большое значение

---

1 В этом контексте, росток относится к вегетативной части растения, как семена, почки, клубнедуковицы, обрезки и другие отрезки, используемые для размножения растения.

имеет соблюдение юридических норм, а также выполнение соответствующих национальных и международных требований. На этапе пополнения важно обеспечить максимальную полноту паспортных данных для каждого образца и их документирование в полном объеме (Alercia *et al.*, 2001).

Необходимо обеспечить максимально высокое качество зародышевой плазмы и избегать закладки на хранение незрелых семян, а также таких, которые слишком долго находились в неблагоприятных погодных условиях. Для качества решающее значение имеет то, как обращаются с семенами и другим репродуктивным материалом в период после сбора вплоть до помещения в контролируемые условия. Неблагоприятные экстремальные температуры и влажность в период после того, как материал был собран, и во время транспортировки в генбанки могут стать причиной быстрой потери жизнеспособности и уменьшить срок хранения материала. То же самое касается работы с собранным материалом после его доставки в генбанк. Качество и долголетие семян зависят от условий содержания материала до его закладки в генбанк на хранение. Так как рекальцитрантные семена метаболически активны и при созревании имеют высокую степень оводненности, методика послеуборочной работы с ними имеет решающее значение для их успешного долгосрочного хранения. Поскольку выращенный в поле материал часто заражен грибами или бактериями, необходимо иметь действенный план мероприятий, направленных на снижение рисков, связанных с ухудшением состояния материала на послеуборочной стадии.

Материал должен быть чистым, насколько это возможно. Поэтому рекомендуется пересаживать полевой материал в горшки и в течение короткого периода выращивать его в теплицах. В таких случаях следует применять нижний полив, а если материал очень сильно заражен, то пестициды повысят эффективность последующего обеззараживания эксплантов. Когда сразу заметно, что материал поражен болезнью, его с самого начала следует выбраковывать или уничтожать во время сбора.

## Технические аспекты

Генетические ресурсы растений в рамках Многосторонней системы МД ГРПСХ должны сопровождаться стандартным соглашением о передаче материалов (ССПМ). Для материала, присланного из-за границы или собранного за пределами страны, где находится генбанк, получатели должны соблюдать требования соответствующего национального, а также международного законодательства. По поводу фитосанитарных норм и любых других требованиях к ввозу материала следует обращаться с запросом в соответствующие национальные органы страны-получателя.

Паспортные данные необходимы для определения и классификации образцов. Многие образцы относятся к дикорастущим видам, поэтому сбор точных полевых данных должен стать абсолютно необходимым условием. В этой связи в многофункциональные паспортные дескрипторы следует включить контрольный гербарный образец, координаты GPS, а также как можно больше фотографических изображений габитуса, местообитания и субстрата. Если

собирается уже опавший материал, этот факт следует зафиксировать в записях, а сам материал хранить отдельно от собранного с исходного растения. Выборка должна включать достаточное количество экземпляров/образцов, численность которых позволит подготовить необходимый протокол для криоконсервации и/или поместить материал на долгосрочное криосохранение.

Необходимо предусмотреть, чтобы качество семян и репродуктивного материала было максимально высоким, и избегать сохранения незрелого или перезревшего материала (в случае семян), который слишком долго подвергался воздействию неблагоприятных погодных условий. Сбор высококачественного репродуктивного материала в фазе оптимальной зрелости обеспечит максимальную длительность его хранения. Нецелесообразно собирать опавший материал и плоды (семена) с заметными повреждениями или следами воздействия погодных аномалий. Позднеспелые семена зачастую ниже качеством, чем более ранние (Berjak and Pammenter, 2004). Не рекомендуется собирать позднеспелые рекальцитрантные семена любых видов. Сезонность нужно также учитывать при использовании луковиц и клубней, которые дают новые побеги далеко не каждый сезон, в случае с древесными растениями, почки которых находятся в состоянии покоя только зимой, а также при работе с эксплантами молодых соцветий или пыльцой, которые имеются в наличии только в период цветения.

Многие плоды с рекальцитрантными семенами содержат возбудителей грибковых болезней, даже когда их присутствие невозможно определить визуально. Проблема эта серьезная, поэтому перед транспортировкой нужно обязательно провести поверхностное обеззараживание, чтобы избавиться от любых наружных патогенов. Высокие температуры и влажность в период после сбора материала и во время его транспортировки в генбанк усугубляют данную проблему и могут привести к быстрой потере жизнеспособности и сокращению сроков хранения материала. При этом семена и другие репродуктивные органы могут быть чувствительными к холоду, а повышенные температуры способны либо ускорить прорастание, либо повредить семена. Таким образом, температура при транспортировке не должна быть ни слишком низкой, ни слишком высокой, в большинстве случаев не опускаясь ниже  $\sim 16^{\circ}\text{C}$  и не поднимаясь выше  $\sim 25^{\circ}\text{C}$ .

Проблема заражения грибковыми болезнями также актуальна для послеуборочной работы с материалом в генбанке, поэтому поверхность плодов нужно тщательно продезинфицировать перед тем, как извлечь семена. Аналогичным образом любые ввезенные из-за границы образцы могут быть заражены в результате контакта с тарой и упаковкой, которые следует сжигать в соответствии с общими положениями национальных правил оздоровления растений и семян. Необходимо полностью освободить наружную поверхность семян от мякоти плода, волокон и т.п., но не использовать при этом воду, которая путем впитывания способна (еще более) повысить оводненность семян, нарушив оптимальное содержание влаги. Важно также собрать данные по массе плодов и семян, прежде чем определять содержание воды (см. Стандарт б.2).

Всегда, когда это возможно (как в случае плодов с твердой кожурой), семена следует транспортировать, не извлекая из плодов, что обеспечит им защиту и предотвратит влагопотерю. Обезвоживание стимулирует метаболизм и



сокращает сроки хранения, поэтому нужно стабилизировать содержание воды при сборе и транспортировке материала, поддерживая высокую относительную влажность (RH) в таре для его хранения. Предпочтение следует отдавать специальным пластиковым пакетам, которые не столь хрупкие, как стеклянные пробирки. Изоляционная упаковка помогает поддерживать стабильную температуру, а при длительной транспортировке целесообразность ее использования возрастает многократно.

Рекальцитрантные семена, оставаясь в плодах с жесткой кожурой, как правило, сохраняются лучше и в течение более продолжительного времени, чем когда их извлекают из плодов. Мягкие плоды, а также поврежденные и растрескавшиеся плоды следует сразу же подвергнуть поверхностному обеззараживанию, извлечь из них семена, а сами плоды изъять и уничтожить. Если транспортировка займет длительное время, перед отправкой рекомендуется извлечь семена, вручную их очистить и провести поверхностное обеззараживание. В идеале участникам полевых экспедиций следует иметь с собой дезинфекционный комплект, куда входят таблетки для обеззараживания воды или гипохлорит натрия (NaOCl), вода (по возможности дистиллированная или прокипяченная на месте) и стерильные бумажные полотенца.

В тропических условиях можно применять другие меры, такие как хранение проростков в тени (Marzalina and Krishnapillay, 1999) или полевые сборы с помощью технологии *in vitro* (Pence *et al.*, 2002; Pence and Engelmann, 2011). Материалу, собранному *in vitro*, требуются минимальные сроки транспортировки.

Для эксплантов в культуре *in vitro* поверхностное обеззараживание часто начинается с примерно 70% этилового спирта, после чего применяют гипохлорит натрия (NaOCl), разведенный в чистом маточном растворе или содержащийся в бытовом отбеливателе с приблизительно 3% концентрацией активного хлора. Капли моющего средства способны дать дополнительный эффект. Можно использовать и другие вещества (например, гипохлорит кальция) в соответствующих концентрациях. После поверхностного обеззараживания эксплант необходимо обрезать до требуемого размера. Следует учесть, что дезинфицирующее средство впитывается в поверхности разрезов, в результате чего образуются мертвые зоны, которые нужно удалить при обрезке.

## Особые условия

В случае заражения или порчи груза, весь материал и его упаковку необходимо сжечь, невзирая на материальный ущерб.

Известный риск представляют задержки с отправкой материала, которые может вызвать национальная карантинная служба. В этих случаях необходимо предпринять шаги, чтобы свести к минимуму такие задержки, включая использование курьерских услуг.

В тех случаях, когда сезон характеризуется «плохим» плодоношением, желательно перенести сборы на следующий период плодоношения. Если обстоятельства диктуют необходимость сбора падалицы, обращать внимание следует только на недавно опавшие плоды.

Случается, что семена определенных видов плохо реагируют на NaOCl и/или популярные фунгициды. В этом случае следует использовать безопасные альтернативные вещества (Sutherland *et al.*, 2002). Обратите внимание на то, что можно использовать 70% объемный раствор (v/v) этилового спирта в дистиллированной/кипяченой воде.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

- 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. Benesh-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 СТАНДАРТЫ ТЕСТИРОВАНИЯ НЕОРТОДОКСАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ СЕМЯН И ОЦЕНКИ СОДЕРЖАНИЯ ВОДЫ, ЭНЕРГИИ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ

### Стандарты

- 6.2.1 Категорию хранения образца семян необходимо определять немедленно путем оценки его реакции на обезвоживание.
- 6.2.2 Содержание воды следует определять индивидуально на отдельных компонентах репродуктивного материала и на достаточном количестве растений.
- 6.2.3 Оценку силы роста и жизнеспособности следует проводить путем тестов на всхожесть на достаточном количестве объектов.
- 6.2.4 В ходе экспериментов очищенные выборки семян необходимо хранить в таких условиях, чтобы не допустить ни обезвоживания, ни оводнения.

### Контекст

Поддержание жизнеспособности семян является ключевой функцией генбанка, гарантирующей доступ к зародышевой плазме для пользователей и генетическую репрезентативность популяции, из которой она была взята. В качестве первого шага к сохранению важно определить категорию хранения семян путем оценки реакции репродуктивного материала растения на обезвоживание. Реакция на высушивание в свою очередь определит, каким способом следует готовить материал к криогенному хранению. Интенсивность сушки обусловлена рядом факторов, таких как относительная влажность (RH), размер семян, характер покрытия семян, расход воздействующего на семена воздушного потока и глубина слоя семян (Pammenter *et al.*, 2002).

Скорость и однородность прорастания семян в выборке или полученных из семян эксплантов является надежным показателем силы их роста, в то время как полнота всхожести семян (т.е. доля/процент взошедших семян

или эксплантов из числа тестируемых) показывает общую жизнеспособность выборки. Жизнеспособность выборки не должна быть ниже 80%.

## Технические аспекты

Замеры содержания воды и оценку силы роста и жизнеспособности следует проводить в один прием, причем до того, как будет выбран способ подсушивания. Количество процедур для анализа определяется количеством имеющихся в наличии семян. Скрининг семян для распределения их по категориям может проводиться тремя способами. Первый метод позволяет выделить группы промежуточных и рекальцитрантных семян (Hong and Ellis, 1996), второй предназначен для малого количества семян (Pritchard *et al.*, 2004), а третий определяет содержания воды в осевых органах, а не во всем семени. Независимо от выбранного метода, в процессе скрининга категорически нельзя сушить материал при слишком высоких температурах, так как семена могут погибнуть. Температуры, рекомендованные для тропических/субтропических видов и для тех, которые произрастают в умеренном климате, составляют 25 °С и 15 °С соответственно (Pritchard *et al.*, 2004). Для каждого нового образца следует рассчитать время подсушивания путем оценки потерь жизнеспособности по мере уменьшения водосодержания.

Содержание воды в различных частях рекальцитрантных семян имеет решающее значение для их успешной криоконсервации. Когда измеряется водосодержание во всем рекальцитрантном семени, это не несет никакой информации о содержании воды в оси. Поэтому следует определять водосодержание отдельно в осях, зародышах, мясистой семядольной ткани или эндосперме (Berjak and Pammenter, 2004), а измерения проводить индивидуально (а не в объединенной выборке). Во многих случаях сухая масса осей рекальцитрантных семян может составлять всего лишь несколько миллиграммов, то есть неизбежно потребуются весы с точностью до 6-го знака после запятой.

Чтобы избежать дальнейшего подсушивания, необходимо определить содержание воды для каждого только что поступившего образца сразу же после очистки репродуктивных органов растения. Даже если были собраны другие образцы того же вида, нельзя рассчитывать на то, что водосодержание будет одинаковым. В связи с тем, что структура осей и тканей рекальцитрантных и иных неортодоксальных семян дикорастущих видов, в общем, не изучена, рекомендуется проводить сушку при температуре 80 °С, пока не будет достигнут постоянный вес. Когда ткани подсушиваются при 80 °С, время, требующееся для достижения постоянного веса, обычно составляет от 24 до 48 часов. После подсушивания и перед повторным взвешиванием выборки в обязательном порядке нужно охладить до комнатной температуры без водопоглощения.

Рекомендуется протестировать на содержание воды как минимум 10 семян (определять отдельно для каждого семени/зародыша/оси). Проведение

любых биохимических анализов потребует использования дополнительного количества семян.

Только что собранные семена и выделенные из них зародыши/оси должны находиться в самой активной фазе развития. Цельные семена лучше всего прорастают на 0,8–1,0% водном растворе агара в закрытых пластиковых контейнерах или чашках Петри, что обеспечит обычные условия для проведения таких оценок. Важно провести обеззараживание поверхности семян до начала их прорастивания или до выделения из них зародышей или зародышевых осей. Состояние покоя не является общим свойством всех рекальцитрантных семян – как правило, семена должны начинать прорастать спустя относительно непродолжительное время после посева. Однако для каждого вида время будет меняться в зависимости от степени развития зародыша. Важно, чтобы все испытания на всхожесть/жизнеспособность проводились в одинаковых контролируемых условиях для каждого вида. Необходимо запротokolировать появление морфологически аномальных проростков/всходов (Pammenter *et al.*, 2011) и подсчитать их количество, так как аномалия может произойти в результате искусственного стресса (например, обезвоживания рекальцитрантных семян, зародышей или зародышевых осей). Для проверки жизнеспособности следует протестировать как минимум 20 семян.

Работа с рекальцитрантными семенами требует особой тщательности, так как содержание воды необходимо поддерживать на уровне, характерном для фазы опадания семян. Однако цельные рекальцитрантные семена почти всегда слишком велики для охлаждения до криогенных температур. Поэтому необходимо извлечь из семян экспланты, зародыши или зародышевые оси и подвергнуть их обезвоживанию. Помимо этого, основная часть очищенной выборки семян должна храниться в условиях, исключающих изменения водного статуса. Если ее какое-то время продержать на открытом воздухе, оводненность семян изменится, а семена, опадающие при относительно высоком водосодержании, окажутся несколько обезвоженными.

## Особые условия

Если у генбанка нет сушильной камеры с контролируемыми режимами температуры и влажности, то цельные семена можно подсушивать на столах под стеклянными колпаками или просто в тени, разложив их в один слой. Образцы в любой чашке Петри, не закрытые до извлечения из сушильного шкафа, придется заменить прямо в сушилке, поскольку сухие ткани быстро поглощают водяной пар, особенно во влажной среде.

Выделенные зародыши и зародышевые оси, как правило, не прорастают так же быстро, как цельные семена. При работе с выделенными зародышевыми осями развития проростков часто не происходит. В таких случаях критерием оценки силы роста и жизнеспособности станет появление корня.

В тех случаях, когда зародыши/оси не поддаются манипуляциям, направленным на обеспечение успешного криосохранения, можно использовать



альтернативные экспланты. Они могут быть различных типов, однако наиболее подходящими являются апикальные меристемы побегов, отделенные от проростков, образовавшихся из семян, которые проросли *in vitro*.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

**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.

**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, CAB.

**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 СТАНДАРТЫ ХРАНЕНИЯ РЕКАЛЬЦИТРАНТНЫХ СЕМЯН В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕННОЙ ВЛАЖНОСТИ

### Стандарты

- 6.3.1 Рекальцитрантные семена следует хранить в условиях насыщенной относительной влажности в воздухонепроницаемых контейнерах при самой низкой температуре, какую они способны выдержать без ущерба для жизнеспособности.
- 6.3.2 Перед закладкой на хранение в условиях повышенной влажности все семена необходимо продезинфицировать, а инфицированный материал уничтожить.
- 6.3.3 Заложенные на хранение семена необходимо периодически осматривать и отбирать пробы для проверки на предмет заражения грибковой или бактериальной болезнью, а также для контроля оводненности и/или потери силы роста и жизнеспособности.

### Контекст

Чтобы обеспечить наличие посадочного материала для программ по реинтродукции и восстановлению всхожести, либо просто с целью поддержания коллекции, при проведении опытов, время от времени необходимо закладывать рекальцитрантные семена на краткосрочное или среднесрочное хранение (от нескольких недель до нескольких месяцев). Максимально увеличить сроки хранения рекальцитрантных семян можно лишь при условии, что их оводненность сохраняется практически на том же уровне, что и в период сбора. Таким образом, семена не должны терять влагу ни до, ни после закладки на хранение. Даже совсем незначительное обезвоживание способно вызвать прорастание, а дальнейшая влагопотеря может привести к нежелательным изменениям, негативно влияющим на силу роста и жизнеспособность семян, сокращая срок из хранения. Содержание рекальцитрантных семян в условиях,

когда уровень их оводненности остается неизменным, называется хранением при повышенной влажности, для чего необходимо обеспечить герметичность хранения и насыщенную RH.

## Технические аспекты

Чтобы предохранить рекальцитрантные семена от влагопотери, необходимо обеспечить повышенную относительную влажность (RH), то-есть в контейнерах, где они хранятся, должна поддерживаться насыщенная влагой атмосфера. Идеальным вариантом было бы поместить бумажный пакет в запаянный полиэтиленовый мешок («мешок в мешке») или использовать герметичные пластиковые ведра, размер которых соответствовал бы количеству семян (Pasquini *et al.*, 2011). В качестве важной меры предосторожности необходима стерилизация контейнеров для хранения, таких как ведра с герметичной крышкой, а также внутренних решетчатых полок до закладки семян на хранение. Независимо от выбора тары, в контейнер нужно поместить средства для поглощения конденсата и менять их по мере того, как они пропитываются влагой.

Температура хранения должна быть максимально низкой, какую только могут выдержать семена отдельных видов без негативных последствий для силы их роста и жизнеспособности. Тенденция семян к прорастанию и распространение грибковых болезней при этом замедляются. В хранилище необходимо поддерживать постоянную температуру, чтобы свести к минимуму образование конденсата на внутренних поверхностях контейнеров. Для хранения рекальцитрантных семян, собранных в зоне умеренного климата, как правило, подходит температурный режим  $6 \pm 2$  °C, в то время как для большинства семян тропического/субтропического происхождения оптимальным будет режим в диапазоне  $16 \pm 2$  °C. Встречаются и исключения, особенно среди семян некоторых экваториальных видов (Sacandé *et al.*, 2004; Pritchard *et al.*, 2004).

При хранении в условиях повышенной влажности возрастает вероятность размножения грибов (или, реже, бактерий), поэтому необходима бдительность, а также принятие соответствующих мер для предотвращения передачи инфекции от одного семени к другому. Если зараженные семена не будут отбракованы, они заразят все содержимое контейнера, предназначенного для хранения. В этом случае хранение семян становится бессмысленным, а их потенциал как источника эксплантов для криоконсервации исчезает. Поэтому с самого начала нужно проводить регулярные проверки и принимать надлежащие меры, такие как применение фунгицидов, для устранения поверхностных и внутренних патогенов из семенного материала при первой же возможности (Calistru *et al.*, 2000).

Следует провести поверхностное обеззараживание семян, высушить любые остатки стерилизаторов и посыпать фунгицидом широкого спектра действия. Грибки, имеющие внутреннее происхождение и живущие, главным образом, непосредственно под семенной кожурой, с наибольшей эффективностью устраняются путем обработки семян соответствующими системными фунгицидами. Однако это может негативно сказаться на состоянии семян.

Другой возможностью является термическая обработка, которую применяют, например, к инфицированным желудям (Sutherland *et al.*, 2002), но этот метод можно использовать только в том случае, когда семена нормально переносят временное повышение температуры, что бывает не всегда. Чтобы непосредственно дезинфицировать внутренние поверхности, после удаления оболочки необходимо убедиться в том, что семена хорошо выживают в условиях хранения при повышенной влажности и что присутствие системных фунгицидов в ткани семян не представляет для них опасности.

В зависимости от продолжительности хранения в условиях повышенной влажности контейнеры нужно периодически недолго проветривать, чтобы в них не увеличивался дефицит кислорода. Одновременно следует проверить содержание контейнеров и отбраковать любые зараженные семена. В идеале семена лучше хранить в один слой, однако если они хранятся в несколько слоев, их следует перемешивать во время проветривания. После удаления семян с признаками заражения необходимо изъять из контейнера все содержимое, продезинфицировать все предположительно незараженные семена и переместить эту партию семян в стерилизованный контейнер.

Необходимо периодически брать пробы заложенных на хранение семян для того, чтобы проверить, не снизилась ли их оводненность, сила роста и жизнеспособность. Если содержание воды в целом осталось на том же уровне, что и во время закладки семян на хранение при повышенной влажности, и на них нет очевидных признаков грибкового (или бактериального) заражения, но жизнеспособность семян снизилась, это означает, что оптимальный срок хранения материала истек. Точно так же, если заметны признаки того, что многие семена начинают прорастать, это значит, что оптимальный срок хранения подошел к концу. Снижение жизнеспособности семян без существенной влагопотери или появление признаков прорастающего корешка на большинстве семян дает представление о сроке, в течение которого можно хранить семена в условиях повышенной влажности и конкретного температурного режима.

## Особые условия

Снижение оводненности семян означает, что высокая относительная влажность не поддерживалась, вероятно, из-за того, что контейнеры для хранения не были герметично закрыты. В этом случае результаты анализа данной пробы оказываются неопределенными, и такую выборку следует отбраковать. Семена могут терять жизнеспособность в процессе хранения также по причине неверно выбранного температурного режима. Этот параметр следует определять путем испытаний, в ходе которых проверяется реакция семян на различные температуры. Кроме того, семена могут терять жизнеспособность, потому что они изначально были плохого качества или не достигли требуемой зрелости во время сбора.

В тех случаях, когда в образце обнаружено слишком много семян с внутренним заражением, необходимо выделить и идентифицировать патогенные объекты, чтобы в перспективе разработать эффективные пути их устранения из будущих

коллекций. Идентификация грибков с обязательным определением их родовой принадлежности может помочь в выборе фунгицидов, которые способны стать более эффективными в смесях («коктейлях»), созданных специально для борьбы именно с этими грибками. Иногда в семенах присутствуют вирусы, которые невозможно устранить никакими методами обработки. Если они способны вызвать серьезные болезни, растения нужно отбраковать сразу же, как только будут замечены симптомы вирусного заражения.

Может случиться так, что заражение невозможно устранить никакими оздоравливающими методами. Это означает, что семена нельзя хранить данным способом, то есть необходимо искать альтернативные формы хранения. В таких случаях следует прорастить такие семена, а всходы, полученные из неинфицированных семян, поддерживать в условиях замедленного роста и/или использовать для получения альтернативных эксплантов для сохранения *ex situ*, например, путем передачи в полевой генбанк или, в зависимости от обстоятельств, в садовое хозяйство для посадки.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

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 СТАНДАРТЫ ХРАНЕНИЯ КУЛЬТУРЫ *IN VITRO* И В УСЛОВИЯХ ЗАМЕДЛЕННОГО РОСТА

### Стандарты

- 6.4.1 Необходимо определить оптимальные условия хранения для культуры *in vitro* в зависимости от видовой принадлежности материала.
- 6.4.2 Материал для хранения культуры *in vitro* следует поддерживать либо в виде целых ростков или побегов, либо в виде запасающих органов для тех видов, где они формируются естественным путем.
- 6.4.3 Необходимо ввести в эксплуатацию систему регулярного мониторинга для контроля качества культуры *in vitro* при хранении в условиях замедленного роста, а также ее возможного заражения.

### Контекст

Сохранение *in vitro* используется для среднесрочного (от нескольких месяцев до нескольких лет) хранения органов растений или целых проростков в безвредных для них условиях, лимитирующих их рост. Для долгосрочного хранения такой способ, в целом, не целесообразен (Engelmann, 2011). Культура *in vitro* применяется преимущественно для хранения клоновой зародышевой плазмы сельскохозяйственных культур, так как дает возможность безопасно перемещать зародышевую плазму при фитосанитарном контроле. В технической документации содержится подробная информация о тех возможностях, которые предоставляет хранение материала *in vitro*, основных параметрах, которые следует учитывать, взаимосвязях и взаимодополняемости с другими технологиями хранения, такими как полевые генбанки (Reed *et al.*, 2004; Engelmann, 1999a).

Культура *in vitro* служит источником оздоровленного материала для рассылки и размножения, а также источником экплантов для криосохранения. Большое значение имеет безопасное устранение и утилизация зараженных материалов, так как это служит гарантией того, что болезнетворный организм или вредитель

не попадут в окружающую среду. Необходим непрерывный систематический мониторинг, помогающий избежать аккумуляции заражения, которая может иметь место при перемещении материала – либо по воздуху от сосуда к сосуду, либо активными переносчиками, такими как клещи и трипсы. Угрозу также представляет гипергидратация, однако она обычно начинается в одних сосудах немного раньше, чем в других, поэтому есть шанс спасти остальной материал, если достаточно своевременно ее распознать.

## Технические аспекты

Оптимальные условия для замедленного роста следует определить до закладки материала на хранение. Это можно сделать, оперируя такими переменными, как световой режим, температура, состав среды, по отдельности или в комбинации (Engelmann, 1991), но для достижения оптимальных результатов, как правило, требуются опыты.

Залогом успешного или неудачного сохранения культуры *in vitro* в условиях замедленного роста являются тип эксплантов и их физиологическое состояние. Культура *in vitro* также используется как подготовительный этап к криоконсервации, а также на стадиях восстановления материала после криосохранения. Таким образом, в качестве первого шага необходимо создать подходящие среды и условия для развития эксплантов *in vitro*. Сюда входят соответствующие процедуры обеззараживания поверхности и выбор среды прорастания (начиная со стандартной среды [Murashige and Skoog 1962], которую, может быть, придется усовершенствовать). Базальную среду можно найти в литературе, посвященной культуре сходных видов. В качестве руководства можно воспользоваться стандартными протоколами, которые уже были опубликованы (в том числе George, 1993; Hartmann *et al.*, 2002; Chandel *et al.*, 1995), однако во многих случаях требуется провести обстоятельные испытания, помещая экспланты в разные питательные среды и используя разные условия для их роста, после чего разработать для каждого отдельного случая специальные протоколы с указанием питательных сред и условий роста, даже если виды и находятся в близком родстве.

Обеспечив поддержание материалов в виде целых ростков или побегов, можно избежать витрификации («стеклования»). Для эксплантов тех видов растений, которые и в естественных условиях растут медленно, могут и не потребоваться манипуляции с питательными средами или условиями культивирования.

Впервые начав работать с эксплантами какого-либо вида, нужно обязательно поэкспериментировать с разными вариантами и сочетаниями средств, обеспечивающих удовлетворительный замедленный рост. Например, у различных видов одного рода зарегистрированы самые разнообразные реакции на факторы, обеспечивающие замедленный рост. Необходимо в обязательном порядке поддерживать долгосрочную генетическую стабильность материала, хранящегося в условиях замедленного роста (Engelmann, 2011). Оптимальными для хранения холодостойких видов могут быть температуры от 0 до 5 °C или несколько выше; для материалов тропического происхождения самыми низкими

температурами, которые они способны выдержать, будут температуры от от 15 до 20 °С, в зависимости от вида (Normah *et al.*, 2011; INIBAP, 2011; Engelmann, 1999a; Engelmann, 1991).

Как правило, готовятся различные варианты питательной среды, в частности с пониженным содержанием минералов, а также сахарозы, и/или с применением разных регуляторов роста в различных концентрациях; эффективным также может стать включение осмотически активных веществ (например, маннитола) (Engelmann, 2011; Engelmann, 1999a). Добавленный в питательную среду активированный уголь способен адсорбировать выделяемые полифенолы (Engelmann, 1991).

Важными параметрами являются тип и объем сосуда для хранения культуры, способ, каким он закрывается, и поддерживаемая внутри атмосфера (Engelmann, 2011; Engelmann, 1991), но их можно определить только опытным путем при работе с новым материалом.

Хотя хранение в условиях замедленного роста традиционно используется для материала *in vitro*, проростки можно также содержать *ex vitro* в условиях, сдерживающих рост. Недорогим альтернативным методом является замедленный рост саженцев в тени под естественными навесами, где освещение ограничено (Chin, 1996). Кроме того, помещение запасующих органов в условия *in vitro* можно использовать для эффективного увеличения срока хранения в естественных условиях культур, формирующих запасующие органы (например, имбиря [Engels *et al.*, 2011], таро, ямса, картофеля и пр.).

## Особые условия

Специфические трудности могут возникнуть с поддержанием в культуре *in vitro* эксплантов древесных пород, особенно в связи с выделением полифенолов (Engelmann, 1999b). Этому сопутствуют такие проблемы, как слабое укоренение и гипергидратация эксплантов. Гипергидратация и некроз листьев, развивающиеся при замедленном росте, могут резко понизить качество репродуктивного растительного материала, а в некоторых случаях привести к его гибели.

Длительное хранение некоторых материалов в условиях замедленного роста может быть осложнено постепенным накоплением скрытых бактерий. Противостоять этому можно путем временного удаления витаминов из питательной среды или добавления антибиотиков, но такие меры редко обеспечивают неизменно положительный результат. Таким образом, может быть, придется отказаться от сохранения такой культуры (Abreu-Tarazi *et al.*, 2010; Leifert and Cassels, 2001; Senula and Keller, 2011; Van den Houwe, 2000; Van den Houwe, 1998).

В пределах генофонда могут наблюдаться большие различия в реакции на хранение *in vitro* со стороны разных видов/сортов: некоторые хорошо реагируют, а другие не получается сохранить с использованием этой технологии, что делает ее применение невозможным (например, кофе [Dussert, 1997]). У некоторых видов (например, ямс) запасующие органы могут быть сформированы *in vitro*, но добиться их прорастания трудно. Это также относится и к полученным *in vitro* воздушным луковичкам в образцах некоторых видов (например, чеснок [Keller, 2005]).

У некоторых видов (например, сахарного тростника) технология культуры *in vitro* может усугубить внутреннюю генетическую нестабильность, в то время как другие виды (например, маниок) продемонстрировали стабильность в течение длительных сроков хранения (МИГРР/СИАТ, 1994). Для последнего случая характерна повышенная частота соматоклональной изменчивости. В большинстве случаев соматоклональная изменчивость минимизируется последующим применением методик, позволяющих избежать индукции развития адвентивных побегов или любых образований базального каллуса после обрезки. Участок, где сформировался каллус, необходимо отрезать при переходе к следующему этапу работы с культурой *in vitro*. Чтобы избежать путаницы в вопросах, связанных с причинами генетических отклонений, необходимо пристально следить за однородностью исходных эксплантов и исключить химеры из донорского материала (либо, если это требуется для растений, отличающихся широкой изменчивостью, тщательно их поддерживать). Так как регулярный скрининг с помощью молекулярных маркеров представляется слишком дорогой процедурой, можно проводить систематический отбор в тех случаях, когда ожидается рост соматоклональной изменчивости.

Проблему может представлять и состояние покоя органов, когда побеги перестают развиваться (часто встречается у видов, формирующих запасные органы в условиях *in vitro*). Состояние покоя можно прервать с помощью дополнительной подрезки или применения цитокининов. Если это не удастся, то следует некоторое время подождать, пока единственным (хоть и неоднозначным) выходом не станет спонтанное прорастание.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

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 СТАНДАРТЫ КРИОСОХРАНЕНИЯ

### Стандарты

- 6.5.1 Качество предназначенных для криосохранения эксплантов должно быть как можно выше и обеспечивать поступательное развитие как после отделения, так и после криоконсервации.
- 6.5.2 Необходимо отдельно протестировать каждый этап криопротокола и оптимизировать его по показателям силы роста и жизнеспособности в процессе хранения эксплантов.
- 6.5.3 Необходимо разработать средства для противодействия разрушающему воздействию активных форм кислорода (АФК), во время отделения эксплантов и при всех последующих манипуляциях.
- 6.5.4 После вывода эксплантов из состояния криоконсервации их следует продезинфицировать с использованием стандартных процедур стерилизации.

### Контекст

Криоконсервация позволяет хранить клетки или ткани в течение неограниченного времени в жидком азоте ( $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), где приостанавливается всякая метаболическая деятельность. Любой протокол криосохранения включает пять необходимых компонентов: (i) выбор, (ii) прекультура<sup>1</sup>, (iii) методика криоконсервации, (iv) вывод из состояния глубокого охлаждения и (v) укоренение проростков или саженцев.

Для предотвращения ущерба от криоконсервации следует разработать криопротоколы, которые могут включать возможное применение криопротекторов, частичное подсушивание, охлаждение, хранение при криогенных температурах,

---

1 Обработка для медленной акклиматизации эксплантов к дегидратизации/холоду/замерзанию.



оттаивание и регидратацию. Есть два основных типа процедур криосохранения: обычное медленное замораживание, основанное на вызванном заморозкой обезвоживании, и экспресс-замораживание (витрификация), при котором перед охлаждением проводится обезвоживание (Engelmann, 2011a).

## Технические аспекты

### *Отбор эксплантов*

Степень обезвоживания и равномерность высушивания клеток и тканей зависят от размеров объекта, а так как подавляющее большинство рекальцитрантных семян слишком крупные, чтобы их можно было быстро и равномерно подсушить, их нельзя подвергать криоконсервации в исходном виде. Кроме того, клетки с содержанием воды  $\geq 1,0 \text{ г г}^{-1}$  не выживают под воздействием криогенных температур. Специально для целей криосохранения должна быть разработана процедура получения подходящих эксплантов и их культивирования. Размеры экспланта должны быть минимальными, но все же достаточными для того, чтобы обеспечить его поступательное развитие после отделения и после криоконсервации. Чем выше клеточно-тканевая однородность экспланта, тем больше вероятность успешной криозащиты всех (или большинства) его клеток и их регенерационной способности без пролиферации каллусной ткани. Экспланты для криоконсервации можно получить из зародышевых осей, верхушек побегов, меристемных и эмбриогенных тканей. Что касается рекальцитрантных семян, то лучшим вариантом для криосохранения являются изолированные зародыши/оси. Если они слишком крупные, не выдерживают требуемого уровня обезвоживания, чувствительны ко всем принятым режимам поверхностного обеззараживания и/или с трудом переносят условия культивирования, целесообразно выбрать в качестве экспланта апикальную меристему побега.

Для вегетативно размножающихся видов лучшими эксплантами служат почки, верхушки побегов, меристемные и эмбриогенные ткани. Одинаковые приемы криозащиты применимы не ко всем типам эксплантов, даже если с таксономической точки зрения их исходные виды сравнительно близки между собой (Sershen *et al.*, 2007), поэтому реакцию на криопротекторы следует проверять как для каждого вида, так и для каждого генотипа. Недостаточно развившийся материал, как правило, в большей степени подвержен повреждениям при выделении экспланта; точно так же не рекомендуется отбирать семена, которые развились/проросли до той стадии, когда стал заметен корневой бугорок (или другие части зародыша) (Goveia *et al.*, 2004.).

Можно также использовать для криосохранения цельные пыльники или изолированные пыльцевые зерна. Так же, как и семена, они представляют наследственный генофонд, но будучи носителями мужских гаметофитов, они обычно имеют только гаплоидный набор хромосом (см. Ganeshan, 2008; Rajashekar, 1994; Weatherhead *et al.*, 1978). При хранении пыльцы, ее следует заложить в желатиновые капсулы или бумажные пакетики, либо завернуть в полоску бумаги, причем пыльцу некоторых видов требуется обезвоживать перед закладкой на хранение.

Чтобы вывести материал из состояния заморозки, пыльники или пыльцу высыпают из капсул, пакетиков или бумажных полосок при комнатной температуре. Оценку всхожести пыльцы лучше всего проводить на среде для прорастания. Жизнеспособность можно проверять методом окрашивания пыльцы, а результаты проверки сравнить с оценкой всхожести, хотя всхожесть почти всегда будет ниже. Когда поведение того или иного вида еще не изучено, для подтверждения фертильности пыльцы по числу завязавшихся семян проводится контрольное опыление (Ganeshan, 2008; Rajashekar, 1994; Weatherhead *et al.*, 1978).

Существуют вероятностные модели, облегчающие расчет количества репродуктивных органов, подлежащих закладке на хранение и выводу из заморозки, в зависимости от целей, выживаемости после криоконсервации и других параметров (Dussert *et al.*, 2003).

### *Методы криосохранения*

Важно определить расчетное время подсушивания выделенных зародышей/осей, чтобы выяснить, сколько времени потребуется для снижения содержания воды в материале до нужного уровня. После любой обработки, проведенной до начала роста или после применения криопротекторов, необходимо провести дополнительный расчет времени подсушивания.

Скорость охлаждения до температуры жидкого азота является важным фактором, который нужно учитывать в связи с оводненностью эксплантов. Необходимо выбрать такой криопротокол, чтобы содержание воды гарантированно не выходило за пределы диапазона, препятствующего формированию кристаллов льда в межклеточном пространстве во время охлаждения и оттаивания, а также исключаяющего ущерб от пересушивания субклеточной структуры. На верхней границе диапазона значений содержания воды, до которого подсушивают оси, чем быстрее происходит охлаждение, тем лучше, так как максимально ускоренное охлаждение небольших образцов происходит почти равномерно и сводит к минимуму период действия температурного режима, при котором возможна кристаллизация льда. Зародыши/оси, обычно составляющие лишь незначительную часть массы и объема семян, подходят для экспресс-подсушивания, позволяя таким образом избежать повреждений, связанных с метаболизмом. С другой стороны, скорость охлаждения не столь критична для рекальцитрантных осей, подвергающихся экспресс-подсушиванию (с использованием испарительного метода обезвоживания) ближе к нижним пределам их толерантности.

Методы, основанные на обезвоживании материала во время его охлаждения с контролируемой скоростью, применяются, когда подлежащий криоконсервации материал состоит из эмбрионных культур и верхушек побегов, представляющих виды растений умеренного климата (Engelmann, 2011a). Для вегетативного материала существует множество протоколов и примеров криосохранения целого ряда эксплантов различных видов с использованием одной или нескольких процедур (Benson *et al.*, 2007). Кроме того, существует огромное количество публикаций, посвященных криосохранению верхушек побегов, других меристемных тканей, эмбрионных тканей и спящих почек. Хорошим источником является журнал «CryoLetters», где можно найти много подобной

информации. В случае успешной разработки протокола для какого-либо вида, потребуется периодическое тестирование проб, выведенных из криозаморозки – для начала спустя короткий промежуток времени пребывания в хранилище.

В большинстве протоколов витрификации используются криопротекторы (обычно смеси проникающего и непроникающего типов). Испарительный метод подсушивания использовали, в основном, с зиготными зародышами/зародышевыми осями. Первоначально разработанные для верхушек побегов и соматических зародышей, метод инкапсуляции-дегидратации и процедура, называемая витрификацией (использующая для растений различные витрификационные растворы [PVS]), также применялись в процессах криосохранения полученных из семян зародышей и зародышевых осей. Как свидетельствует недавно проведенный обзор (Engelmann, 2011b), все протоколы витрификации, разработанные для соматических зародышей, используют PVS2. Витрификация с использованием PVS2 также применялась для криоконсервации верхушек побегов, принадлежащих к широкому спектру видов из регионов с тропическим и умеренным климатом, причем в первом случае участвовали виды с рекальцитрантными семенами и вегетативным способом размножения. Другим распространенным витрификационным раствором является PVS3 (Nishizawa, 1993). В нем не используется диметилсульфоксид (ДМСО), поэтому он предпочтителен для видов, для которых воздействие ДМСО может быть губительным. В последнее время разработан ряд альтернативных загрузочных и витрификационных растворов, которые могут быть эффективно использованы для криосохранения материалов, негативно реагирующих на PVS2 и PVS3 (Kim *et al.*, 2009a; Kim *et al.*, 2009b).

На нижней границе значений обезвоживания, которое способны вынести рекальцитрантные зародыши и оси, обычно удерживается некоторая доля воды, способной замерзнуть. Как при медленном охлаждении, так и при оттаивании, в замерзающей фракции воды при температурах между  $-40$  и  $-80$  °C может произойти кристаллизация льда. Оттаивание при температурном режиме от  $\sim 37$  до  $40$  °C помогает этого избежать; при этом нужно следить, чтобы переход от криогенных температур был очень быстрым.

Ниже приведены основные методы криосохранения и требования к их ключевым параметрам:

- охлаждение с контролируемой скоростью: выбор криопротектора (в редких случаях – смеси криопротекторов); выбор скорости охлаждения (для предотвращения кристаллизации внутриклеточной воды);
- инкапсуляция-дегидратация: определение времени осмотического обезвоживания и интенсивности воздействия, определение времени осушения воздуха;
- витрификация: определение вида витрификационного раствора и времени обработки в нем (оценка их токсичности); PVS2 следует использовать, когда есть лед;
- капельная заморозка: определение вида витрификационного раствора и времени обработки в нем (оценка их токсичности).

#### *Вывод из состояния глубокого охлаждения*

Оттаивание витрифицированной зародышевой плазмы часто проводится в два

этапа. Первый – медленный, способствующий релаксации стекла – протекает обычно при комнатной температуре. За ним следует более быстрое нагревание при температуре около 45°C с тем, чтобы воспрепятствовать льдообразованию (Benson *et al.*, 2011).

Образцы, обработанные методом инкапсуляции-дегидратации<sup>2</sup>, можно прямо пересадить на среду восстановления/прорастания для быстрого оттаивания, или же поместить криопробирки, содержащие альгинатные гранулы, в водяную баню на 2 – 3 мин. при температуре 40 °C. В качестве альтернативы, можно провести регидратацию гранул, переместив их на ~10 мин. в жидкую среду. Удаление капсулы тоже оказалось эффективным (Engelmann *et al.*, 2008). Инкапсуляция-дегидратация доказала свою состоятельность и успешность для верхушек побегов многих видов (Gonzalez and Engelmann, 2006), соматических зародышей хвойных пород (Engelmann, 2011b), ряда видов и сортов цитрусовых и плодовых видов умеренного климата (Damiano *et al.*, 2003; 2007).

Для восстановления внутриклеточной метаболической активности после оттаивания необходимо удалить из клетки токсичные криопротекторы и постепенно восстановить нормальный водный баланс по мере того, как клетка возвращается к нормальной функциональной температуре. После того, как экспланты подверглись дегидратации или криогенному воздействию, может возникнуть необходимость слегка модифицировать первоначальный состав восстановительной среды. При использовании витрификационных растворов для растений (ВРР) после быстрого оттаивания нужен этап обезвреживания или разгрузки (удаление токсичных ВВР) (Sakai *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2004).

Все этапы процесса криосохранения могут поставить под угрозу выживание материала, в частности оттаивание и регидратация могут сопровождаться всплеском реактивных видов кислорода (РВК)<sup>3</sup> (Whitaker *et al.*, 2010; Berjak *et al.*, 2011). Среды для оттаивания и регидратации в идеале должны также противодействовать пагубным последствиям РВК, но очень важно принять меры для уменьшения таких всплесков (РВК), сопровождающих отделение тканей (Whitaker *et al.*, 2010; Berjak *et al.*, 2011; Engelmann, 2011a; Goveia *et al.*, 2004). Мощный антиоксидантный потенциал продемонстрировала обработка катодной водой (электролизованый разбавленный раствор хлорида кальция и хлорида магния), которая противодействовала последствиям всплесков РВК на всех этапах протокола криоконсервации рекальцитрантных зародышевых осей *Strychnos gerrardii* и способствовала развитию побегов (Berjak *et al.*, 2011). Благоприятное действие такой обработки еще заметнее, когда развитие зародышей/осей происходит во время хранения в условиях повышенной влажности, что показывает, насколько важен статус развития семян. Похоже, что обработка осей нетоксичной антиоксидантной катодной водой не

2 Инкапсуляция –дегидратация приводит к тому, что экспланты герметизированы в шариках алигината и выращены в обогащенной сахарозой среде на период до 7 дней. После этого они подвержены дегидратации, используя ламинарный поток воздуха или термическую сушку, или покрываются активированным силикатным гелем для высушки эксплантов до содержания воды ~0.25 g g<sup>-1</sup> (20% wmb), и затем быстро охлаждаются.

3 ROS/АФК – это высоко реактивные молекулы, часто свободные радикалы, которые наносят вред белкам, липидам и нуклеиновым кислотам.

только объясняет, почему раньше не удавалось получить проростки из осей, но и представляет собой прогрессивный метод противодействия стрессу, вызванному всплесками РВК. Более того, инструменты, используемые для отделения зародыша/оси, способны усилить процесс выделения РВК. В этой связи игла для подкожных инъекций, скорее всего, будет менее травмоопасна, чем скальпель (Benson *et al.*, 2007). Показано, что использование ДМСО, поглотителя гидроксильных радикалов, на этапе прекультуры (до полного отсечения семядольных остатков) и в качестве обрабатывающего средства после их удаления способствует развитию побегов. Для противодействия выделению РВК используются и другие антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота и токоферол (Chua and Normah, 2011; Johnston *et al.*, 2007; Uchendu *et al.*, 2010). Дать оценку выживаемости растительного материала можно также на основе ферментативной деятельности живых растительных клеток (Mikula, 2006).

### *Укоренение всходов и проростков*

Как только изолированные зародыши/зародышевые оси оттаяли, следующим этапом будет получение всходов или проростков и их укоренение для завершения регенерационного цикла. Укоренение всхода/проростка происходит в два этапа: (I) укоренение его *in vitro* и (II) укоренение *ex vitro* и закаливание или акклиматизация. Возвращенный из криохранилища материал необходимо поместить в восстановительную среду, первоначально без освещения. Для введения в культуру *in vitro* требуется продезинфицировать поверхность эксплантов, пользоваться стерилизованными инструментами и проводить все процедуры в ламинарном потоке воздуха. В условиях, когда отсутствует ламинарная камера («чистый стенд»), можно выполнять работы в закрытых чистых помещениях, причем как сами помещения, так и воздух в них необходимо тщательно продезинфицировать. Зародыши и зародышевые оси должны пройти процесс регидратации в течение 30 мин. в темноте и при комнатной температуре. Там, где они непосредственно находятся в оттаивающей среде, регидратацию следует проводить в растворе такого же состава. Свидетельством успешно проведенной криоконсервации станут появившиеся в результате всходы с корнем и побегом. Для вегетативно размножающихся материалов процедура криосохранения считается успешной, когда появляются побеги, которые можно либо укоренить, либо подвергнуть дальнейшему микроразмножению.

После профилактического выдерживания в темноте (Touchell and Walters, 2000) экспланты, как правило, помещают в обычную климатическую камеру, освещение и температурный режим которой предустановлены с учетом видовой принадлежности материала и его географического происхождения. Световой и температурный режимы для проращивания *in vitro* и развития всходов/проростков – это параметры, которые, возможно, будет необходимо отрегулировать, а экспланты провести через несколько этапов микроразмножения. Очень важно, чтобы всходы и проростки, полученные *in vitro*, сначала содержались в условиях высокой относительной влажности, которую следует постепенно снижать.

Укоренение *ex vitro* и закаливание, по сути, предполагают, что всходы/проростки, полученные из культуры, хранившейся в условиях замедленного роста или в условиях криосохранения растительного материала, выйдут из

гетеротрофного состояния *in vitro* и будут перенесены на стерильную грунтовую среду, в которой будет развиваться автотрофное состояние. Восстановительная среда должна содержать питательные макро- и микроэлементы, важнейшие минеральные вещества и источник углерода, но может оказаться так, что в нее понадобится добавить регуляторы роста. В процессе подготовки среда должна пройти обработку в автоклаве, а уже затем в нее добавляют термолабильные компоненты (если потребуется), стерилизованные посредством фильтрации. Среда, подходящие для проращивания зародышей/осей ряда видов, созданы на основе MS (Murashige and Skoog, 1962), однако питательную среду MS можно использовать как в полной, так и в половинной или четвертной концентрации, в зависимости от того, какую реакцию покажут экспланты на начальном этапе работы с семенами тех или иных видов. В зависимости от поставленной задачи, восстановившиеся после криоконсервации экспланты либо сразу проращивают, чтобы получить всходы/проростки для акклиматизации, либо перед акклиматизацией проводят размножение, что дает возможность получить нужное количество экземпляров восстановленного образца.

### Особые условия

Следует отметить, что для разработки протокола может потребоваться не одна коллекция, а из-за того, что наличие семян обусловлено сезонностью, этот процесс может растянуться на два года и более.

Также нужно отметить, что материал можно сохранять как непосредственно в жидком азоте, так и вне его в парах жидкого азота. Хранение в парообразной фазе – гораздо более дорогостоящий и менее безопасный процесс, чем хранение непосредственно в жидком азоте. Даже если некоторые микробы законсервируются в жидком азоте, это еще не значит, что впоследствии произойдет заражение растительного материала, потому что после оттаивания его в любом случае промывают в стерильных условиях. Даже если споры удержатся на поверхности эксплантов, микробы, находясь в жидком азоте, не смогут проникнуть внутрь, потому что все подобные процессы при настолько низких температурах прекращаются.

Изолированные оси могут не прорасти из-за степени своей зрелости. Поэтому собранный репродуктивный материал необходимо поместить на сохранение в условиях повышенной влажности и периодически тестировать на всхожесть и на жизнеспособность изолированных осей. В том случае, если ни семена/репродуктивные органы, ни изолированные зародыши/оси не прорастут, материал может быть мертв или находиться в состоянии покоя. Тетразольная проба поможет определить жизнеспособность семян. Если они жизнеспособны, то резонно сделать вывод о нахождении материала в состоянии покоя и принять научно обоснованные меры к тому, чтобы вывести его из этого состояния.

Для большинства видов с рекальцитрантными семенами не подходят восстановительные процедуры, применяемые к ортодоксальным семенам. Если налицо недопустимое снижение качества зародышей/осей при криосохранении, единственным вариантом станет повторный отбор семян из родительской популяции (популяций) и усовершенствование процедур. В том случае, когда зародыши/зародышевые оси по-прежнему не поддаются криосохранению,





нужно сосредоточить все внимание на создании подходящих альтернативных эксплантов, источником которых в идеале могли бы стать всходы/проростки, укоренившихся *in vitro*.

Материал, в течение длительного времени культивировавшийся или хранившийся в условиях *in vitro*, уже не может быть донором верхушек побегов для криосохранения, так как в нем могут содержаться или появляться скрытые бактерии (эндофиты), которые активизируются в процессе восстановления после криоконсервации и таким образом неминуемо поставят под угрозу криосохранение материала. Бывают случаи, когда экспланты (например, узловые сегменты), полученные из исходного материала, который долгое время культивировался *in vitro*, имели избыточную оводненность. В таких случаях рекомендуется заново культивировать исходный материал.

Зараженную культуру нужно немедленно изъять из климатической камеры и уничтожить. Самым разрушительным форс-мажорным обстоятельством для любой климатической камеры является заражение клещами. После того, как все культуры со «следами клещей» изъяты, требуется немедленная дезинфекция объекта. После этого каждую емкость с культурой осматривают, удаляют любой оставшийся материал, имеющий признаки поражения клещами (которые прогрызают парафиновую пленку Parafilm™ и разносят грибковые споры от зараженной культуры на остальные) и уничтожают его.

Если в криогенном хранилище или морозильной камере закончится жидкий азот, это может привести к безвозвратной потере всех образцов. Вовремя не обнаруженное отключение электропитания или иной сбой системы контроля температурного режима в климатической камере может привести к перегреву, а затем и к гибели материала *in vitro*.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

- 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., 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., Sershen, 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.
- Mikuła, 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.). *CryoLetters*, 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 СТАНДАРТЫ ДОКУМЕНТИРОВАНИЯ

### Стандарты

- 6.6.1 Паспортные данные всех образцов необходимо документировать на основе многофункциональных паспортных дескрипторов по сельскохозяйственным культурам ФАО/Bioversity. Кроме того, информация по образцам должна также включать данные инвентаризации, заявки на образцы, сведения о рассылке и отзывы пользователей.
- 6.6.2 Данные по управлению и информация о работе генбанка должны содержаться в соответствующей базе данных, куда следует вводить описательные и оценочные данные (O/O данные) по мере их регистрации.
- 6.6.3 Данные, указанные в пунктах 6.6.1 и 6.6.2, должны храниться вместе с внесенными в них изменениями в соответствующей системе баз данных по утвержденным международным стандартам формата данных.

### Контекст

Всесторонняя информация об образцах играет важную роль в управлении генбанком. Паспортные данные – это необходимый минимум, однако большую пользу приносит и дополнительная информация, в том числе о географии (координаты GPS), окружающей среде (наложение климатических и почвенных карт), месте сбора и истории, а также данные описания и оценки материала.

### Технические аспекты

Благодаря достижениям в области информационных технологий, записывать информацию об образцах, управлять и обмениваться ею стало относительно

просто. Всем генбанкам следует пользоваться совместимыми системами хранения данных и информационного поиска. Всем генбанкам рекомендуется использовать Перечень паспортных дескрипторов сельскохозяйственных культур ФАО/Bioversity (Alercia *et al.*, 2012), поскольку это упрощает обмен данными.

Описательные и оценочные данные производятся пользователями. Такие данные помогают генбанку управлять своими коллекциями (Filer, 2012) и облегчают их последующее использование. Генбанкам рекомендуется запрашивать такие данные у пользователей.

Данные по управлению должны быть как можно более полными, чтобы способствовать эффективной работе с коллекцией. Наибольшая часть данных по управлению предназначена только для внутреннего пользования и представляет интерес лишь для куратора, а для всех остальных пользователей и/или генбанков-получателей она имеет лишь ограниченную ценность, или совсем бесполезна. Поэтому доступ к данным по управлению следует ограничить, предоставив его только самому держателю коллекции, а информационный блок по истории образца, его жизненным формам и его наличию можно открыть для общего доступа. Помимо ключевых данных об образце (паспортных и описательных), этот информационный блок должен включать:

- Историю образца (дата поступления в генбанк; предварительные номера; даты изменения номеров; таксономическое определение; фамилия специалиста, определившего материал; полевые или тепличные условия возделывания любого донорского материала; способ получения материала *in vitro* и криоматериала из такого донорского материала);
- Тип хранения (*in vitro*, криоконсервация или хранение в условиях повышенной влажности для рекальцитрантных семян);
- Место, где хранится материал (климатическая камера, криокамера с конкретным указанием полки и криобокса);
- Разделение образца на несколько партий (когда материал расщеплен на субклоны, несколько криоконсервационных выборок, несколько пробирок на хранении);
- Дублирование для надежного сохранения (дата дублирования; организация/ страна, где проводили дублирование; ответственное лицо; ссылка на документацию договора о дублировании);
- Ссылка на протокол, использованный для культуры *in vitro* и/или криосохранения;
- Маркировку сосудов для культивирования (цветовые коды, штрих-коды). Существуют устойчивые к жидкому азоту этикетки, которые при необходимости можно обернуть вокруг уже замороженных криопробирок.

Дальнейшие достижения биотехнологии позволят дополнить фенотипические данные молекулярными. Штрихкодирование образца будет способствовать управлению информацией и материалом, снижая вероятность ошибок.

В настоящее время большинство генбанков имеет доступ к компьютерной технике и интернету. Компьютерные системы хранения данных и информации позволяют комплексно сохранять весь объем информации, связанной с управлением коллекциями *in vitro* и криохранилищами. Системы управления

информацией о зародышевой плазме, такие как GRIN-Global (2011), были разработаны специально для универсального управления документацией и информацией генбанков. Введение стандартов данных, которые на сегодняшний день охватывают большинство аспектов управления данными генбанков, облегчает управление информацией, повышает эффективность использования данных и обмена ими. Большое значение имеет обмен информацией об образцах, а также ее общедоступность для потенциальных пользователей зародышевой плазмы, так как это облегчает и стимулирует использование коллекций. Наконец, качественное управление данными и информацией способствует сохранности и удобству использования заложенной на хранение зародышевой плазмы.

## Особые условия

Утрата документации или недостаточная ее полнота снижают ценность образца вплоть до того, что он может стать непригодным к использованию. Использование материалов, непригодных для хранения материала (например, этикетки, неустойчивые к жидкому азоту) может привести к потере данных. В случае с большими коллекциями очень важен такой фактор, как квалификация работников. Необходимо четко обозначить риск, связанный с неправильно введенными данными. В сложных коллекциях оперативный доступ к данным по управлению должен быть разрешен только ответственным лицам.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

**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 СТАНДАРТЫ РАССЫЛКИ И ОБМЕНА

### Стандарты

- 6.7.1 Рассылка всей зародышевой плазмы должна осуществляться в соответствии с национальными законами и соответствующими международными конвенциями.
- 6.7.2 Любая отправка образцов должна сопровождаться всеми надлежащими документами согласно требованиям страны-донора и страны-получателя.
- 6.7.3 Поставщик и получатель должны создать условия для передачи материала и надлежащим образом обеспечить повторное укоренение растений, полученных из материала *in vitro*/криоматериала.

### Контекст

Рассылка зародышевой плазмы означает поставку репрезентативной выборки образца из генбанка в ответ на заявки пользователей зародышевой плазмы. Постоянно растет спрос на генетические ресурсы для решения проблем, вызванных изменением климата, изменением степени опасности основных насекомых-вредителей и болезней, инвазией чужеродных видов или же для иных нужд конечных пользователей. Благодаря такому спросу расширилось осознание важности использования зародышевой плазмы из генбанков, что в конечном итоге и определяет ее распространение. Важно, чтобы распространение зародышевой плазмы через границы соответствовало международным нормам и стандартам, относящимся к фитосанитарным правилам, а также положениям международных договоров и конвенций о биологическом разнообразии и генетических ресурсах растений.

## Технические аспекты

Два международных акта, регулирующие доступ к генетическим ресурсам – это МД ГРРПСХ и КБР. МД ГРРПСХ облегчает доступ к ГРРПСХ и предусматривает распределение выгод от их использования. Договор установил многостороннюю систему для ГРРПСХ, в рамках которой 64 продовольственные и кормовые культуры (обычно именуется в ссылках Приложение 1 к Договору), которые при распространении сопровождаются ССПМ. Можно также использовать ССПМ для культур, не перечисленных в Приложении 1, хотя для этого есть и иные варианты. Согласно КБД, доступ и распределение выгод определяются Нагойским протоколом. Как МД ГРРПСХ, так и КБР придают особое значение последовательной взаимосвязи между сохранением и устойчивым использованием наряду с облегченным доступом и равноправным распределением выгод от использования.

Все образцы должны сопровождаться необходимой документацией, в частности фитосанитарными сертификатами и разрешениями на импорт, а также паспортной информацией. Перед каждой отправкой необходимо проверить конечный пункт назначения и ознакомиться с последними фитосанитарными требованиями страны-импортера (во многих странах правила часто меняются). Передачу зародышевой плазмы следует тщательно планировать, согласовывая все вопросы с уполномоченным национальным учреждением, от которого требуется выдать надлежащие документы, такие как официальный фитосанитарный сертификат, который соответствовал бы требованиям страны-импортера. Получатель зародышевой плазмы должен проинформировать генбанк-поставщик о требованиях к документам, необходимым для импорта растительного материала, в том числе и о фитосанитарных правилах.

Большинство видов с рекальцитрантными семенами являются многолетними долгожителями, которые не воспроизводятся до тех пор, пока их возраст не достигнет нескольких лет. Таким образом, размножение не может считаться быстрым способом увеличения численного состава такого образца для удовлетворения спроса. Если материал хранится в форме резервного экспланта *in vitro*, то его можно размножить до того, как появятся самостоятельные проростки, однако для этого нужно заблаговременно сделать заявку.

Чтобы зародышевая плазма была доставлена до пункта назначения в хорошем состоянии, необходимо минимизировать воздействие неблагоприятных факторов окружающей среды в процессе транспортировки и таможенного оформления. Рекомендуется воспользоваться услугами надежной курьерской службы, имеющей опыт работы с таможенными органами. Чтобы генбанк функционировал максимально эффективно, интервал между получением заявки на зародышевую плазму и отправкой материалов должен быть минимальным. Если материал, находящийся в состоянии криогенной заморозки, передается в другой генбанк, где его продолжат содержать в криохранилище, такой образец следует отправить в контейнере «сухого» типа, предназначенном для транспортировки жидкого азота.

Если сразу по получении материал планируется высадить и прорастить, перед отправкой его можно разморозить, регидратировать и заключить в гранулы

альгината кальция. Такие синтетические семена были первоначально разработаны для соматических зародышей, но могут успешно поддерживать в хорошем состоянии изолированные зародыши/оси, которых подвергли оттаиванию и регидратации после криоконсервации, в течение не менее 10 дней при температуре 16 °С без прорастания (корневой бугорок). Прорастание и укоренение всходов/проростков из синтетических семян возможно так же и в условиях *in vitro*, и может успешно осуществиться в стерильной смеси для рассады. Этот вариант подходит также для других мелких эксплантов, выведенных из криосостояния, но такая методика применяется лишь в редких случаях.

Проростки, полученные после сохранения *in vitro* в условиях замедленного роста или после криоконсервации, перевозят в соответствующих контейнерах. Получатели материалов, хранившихся *in vitro* или в криохранилище, должны иметь возможность самостоятельно пересадить материал в горшки или на поле, либо договориться о проведении таких работ.

Для пересылки проростков *in vitro* рекомендуется использовать стерильные пластиковые пакеты, которые могут содержать специальные зоны аэрации. Если используется стеклянная тара, необходимо обеспечить достаточное заполнение емкостей и декларировать хрупкость груза. В случае использования стеклянной и пластиковой тары, следует также указать ее правильную пространственную ориентацию.

## Особые условия

Нарушения при транспортировке, в том числе неподходящая тара или задержка отправки, могут привести к потере жизнеспособности материала и его гибели. В этой связи очень важно, чтобы поставщик и получатель договорились об условиях передачи материала и обеспечили все возможности для правильной пересадки растений.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

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 СТАНДАРТЫ БЕЗОПАСНОСТИ И ДУБЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ НАДЕЖНОГО СОХРАНЕНИЯ

### Стандарты

- 6.8.1 Для контроля физических и биологических рисков, определенных стандартами, следует внедрить и по мере необходимости обновлять стратегию управления рисками, включая такие угрозы, как пожар, наводнение и отключение электроснабжения.
- 6.8.2 Генбанк должен руководствоваться местными требованиями и протоколами в области охраны труда и техники безопасности (ОТТБ). Криогенный отдел генбанка должен соблюдать все меры предосторожности, предусмотренные для работ с жидким азотом.
- 6.8.3 Для того чтобы генбанк мог получать, сохранять и распространять зародышевую плазму, он должен располагать необходимым персоналом для выполнения всех основных обязанностей.
- 6.8.4 Для обеспечения надежной сохранности дублет каждого образца должен храниться в географически удаленном генбанке в максимально благоприятных условиях.
- 6.8.5 Каждый дублет, помещенный для надежности в другой генбанк, должен сопровождаться соответствующей документацией.

### Контекст

Крайне важно, чтобы физическая инфраструктура любого генбанка, а также безопасность его сотрудников были организованы таким образом, чтобы обеспечить сохранность находящейся на хранении зародышевой плазмы от любых представляющих угрозу внешних факторов. Для успешного управления коллекцией зародышевой плазмы генбанку также требуется квалифицированный и обученный персонал. Управление предполагает не только поддержание коллекции и данных о ней, но и оценку рисков – как антропогенных, так и естественной природы. Особо опасный фактор риска связан с использованием жидкого азота.



Физическая безопасность коллекции также требует, чтобы дублиты образцов ради их сохранности хранились в географически удаленном месте в тех же условиях. В случае природного/физического катаклизма (пожар, наводнение) такие дублиты могут быть использованы для возрождения коллекций. Помимо сохранности самого материала, такие меры по надежному сохранению включают и дублирование информации, то есть создание резервной копии базы данных.

## Технические аспекты

Генбанк должен реализовывать и развивать системное управление рисками, направленное на контроль физических и биологических рисков в повседневном режиме. У него должна быть действующая стратегия управления рисками, оформленная в письменном виде, с описанием мероприятий, которые следует провести при возникновении в генбанке чрезвычайной ситуации, угрожающей зародышевой плазме или информации о ней. Такую стратегию и относящийся к ней план действий следует регулярно пересматривать и обновлять в связи с меняющимися обстоятельствами и новыми технологиями, широко распространяя эту информацию среди работников генбанка.

Следует также учитывать вопросы охраны труда и техники безопасности персонала. Помещения криохранилища необходимо хорошо проветривать с помощью принудительной вентиляции и оборудовать кислородными датчиками. Потенциальную опасность представляет протечка жидкого азота в криобирки, поэтому следует использовать надежные, специально предназначенные для этой цели сосуды и строго соблюдать инструкции производителей. Чтобы снизить травмоопасность, операторы должны пользоваться защитной одеждой, перчатками и масками.

Во всех случаях поставки жидкого азота должны осуществляться бесперебойно, так как поддержание уровня жидкого азота крайне важно. Криогенные резервуары для хранения должны быть установлены в местах, где имеются подходящие для них условия: вентилирование и температура ниже 50 °С. Обязательным условием является поддержание уровня жидкого азота в контейнерах для хранения; если весь жидкий азот испарится, то все содержимое контейнера необходимо отбраковать.

Для поддержания жизнеспособности образцов температура ткани постоянно должна быть ниже температуры стеклования<sup>1</sup>. Необходимо соблюдать крайнюю осторожность с тем, чтобы при снятии пробирки с криодержателя или извлечения ее из криобокса температура оставшихся пробирок не повысилась до температуры стеклования. Нельзя маркировать пробирки обычными самоклеющимися этикетками, так как они отклеиваются при температуре жидкого азота. Использование специализированного, подключаемого к компьютеру принтера для печати этикеток позволяет производить специальные криоустойчивые наклейки на пробирки с необходимой информацией и уникальным штрих-кодом. Необходимо соблюдать рекомендации производителя о том, какие пробирки и для каких целей следует использовать.

Для активного управления генбанком нужен хорошо подготовленный персонал; очень важно распределить обязанности среди достаточно компетентных работников. Поэтому у генбанка должен быть действующий план или стратегия в отношении персонала, а также соответствующий бюджет, чтобы гарантировать наличие хотя бы минимального, подготовленного должным образом штата сотрудников для выполнения ими обязанностей, позволяющих генбанку пополнять коллекции, сохранять и распространять зародышевую плазму. Желательно иметь в распоряжении отраслевых и технических специалистов в различных областях. При этом комплектация и обучение персонала будут определяться конкретными обстоятельствами. Штатный персонал должен пройти необходимую подготовку в рамках сертифицированных учебных курсов и/или обучения без отрыва от производства, а проблемы в подготовке работников решаются по мере их возникновения.

Залогом физической безопасности коллекций считается их дублирование для обеспечения надежного сохранения материала в географически удаленных местах, где созданы аналогичные условия хранения. В случае природного/физического

1 В PVS2, одно из самых обычно используемых крио-защитных решений, переход в стекло, происходит при температуре -115 °С.



катаклизма (пожар, наводнение) такие дублиеты могут быть использованы для возрождения коллекций. Дублиетный банк должен находиться в политически и геологически стабильном регионе и располагаться на такой высоте над уровнем моря, чтобы исключить затопление при повышении этого уровня. Условия хранения дублиетов должны быть не хуже, чем в оригинальной коллекции.

Дублирование образцов для обеспечения их сохранности требует подписания юридического соглашения между генбанком, предоставляющим материал, и генбанком, принимающим дублиеты на постоянное или временное хранение. Последний не имеет права использовать и распространять такую зародышевую плазму. Необходимо контролировать доступ к коллекции, чтобы избежать несанкционированного использования.

Материал для дублирования с целью обеспечения его сохранности должен быть подготовлен так же, как при создании оригинальной коллекции. Сторона, предоставляющая дублиеты, обязана гарантировать хорошее качество каждого дублированного образца. Чтобы предотвратить порчу материала в процессе транспортировки в генбанк-получатель, образцы, находящиеся на криогенном хранении, следует отправлять в контейнере «сухого» типа, предназначенном для транспортировки жидкого азота, а их доставка должна быть осуществлена как можно скорее.

## Особые условия

В случае отсутствия надлежащим образом подготовленного персонала, а также в случае временных и других ограничений, решением может стать передача части работы генбанка сторонним организациям или обращение за помощью к другим генбанкам.

Несанкционированное проникновение на территорию генбанка может привести к прямой утрате материала и поставить коллекции под угрозу из-за возможного занесения вредителей и болезней.

Контейнеры для жидкого азота часто заражены грибами или бактериями. Если материал хранится непосредственно в жидком азоте, может произойти заражение образца.

Если при транспортировке произойдет порча материала, могут возникнуть обязательства по ответственности за ущерб. В этом случае все вопросы необходимо решать в соответствии с консигнационным договором.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ БИБЛИОГРАФИЯ

**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.



## ПРИЛОЖЕНИЕ 1: Список сокращений

ВТО/СФС	Соглашение Всемирной торговой организации по применению санитарных и фитосанитарных мер
ГРРПСХ	Генетические ресурсы растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства
ДМСО	Диметилсульфоксид
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
КБР	Конвенция о биологическом разнообразии
КГРПСХ	Комиссия по генетическим ресурсам для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства
МД ГРРПСХ	Международный договор по генетическим ресурсам растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства
МИГРР	Международный институт генетических ресурсов растений (ныне называется «Bioversity International»)
МККЗР	Международная конвенция по карантину и защите растений
ОТТБ	Охрана труда и техника безопасности
ССПМ	Стандартное соглашение о передаче материала
РВК	Реактивные виды кислорода
СОП	Стандартные операционные процедуры
СПМ	Соглашение о передаче материала
ССПМ	Стандартное соглашение о передаче материала
ФАО	Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН

AFLP	Полиморфизм длин амплифицированных фрагментов
BRAHMS	Система управления ботаническими исследованиями и гербарием
ELISA	Иммуноферментный анализ
ENSCONET	Европейская сеть по сохранению семян
EST-SSR	Микросателлиты в экспрессирующихся последовательностях
GBS	Генотипирование посредством тотального секвенирования
GPS	Глобальная система позиционирования
GRIN	Информационная система генетических ресурсов
GWS	Полногеномный отбор
ICIS	Международная информационная система по культурам
ISTA	Международная ассоциация по контролю качества семян
LN	Жидкий азот
MS	Питательная среда Мурасиге-Скуга
MSB Kew	Семенной банк тысячелетия в Кью Гарденс
NaOCl	Гипохлорит натрия
Ne	Эффективный размер популяции
NPGS	Национальная система гермоплазмы растений при Департаменте сельского хозяйства США
PVS	Витрификационные растворы для растений
OIV	Международная организация виноградарства и виноделия
RAPD	Случайно амплифицированные полиморфные ДНК
RFID	Радиочастотная идентификация
RFLP	Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов
RH	Относительная влажность
SID	Информационная база данных семян
SNP	Однонуклеотидный полиморфизм
SSR	Простые повторяющиеся последовательности
UPOV	Международный союз по охране новых сортов растений
USDA	Департамент сельского хозяйства США

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2: Глоссарий

**Активная коллекция:** Образец зародышевой плазмы, который используется для восстановления, размножения, распространения, описания и оценки. Активные коллекции поддерживаются в режимах хранения от краткосрочного до среднесрочного и обычно дублируются в базовой коллекции, где хранятся в режимах от среднесрочного до долгосрочного.

**База данных:** Организованный массив взаимосвязанных данных, собранных для определенной цели и хранящийся на одном или нескольких носителях информации.

**Восстановление всхожести:** Выращивание образца семян с целью получения свежего материала, отличающегося высокой жизнеспособностью и большим количеством семян.

**Выборка (проба):** Часть популяции, используемая для оценки характеристик всей популяции.

**Генетический дрейф:** Изменения в генетическом составе популяции, когда численность отдельных ее представителей становится ниже частоты некоторых аллелей внутри нее.

**Генетическое разнообразие:** Многообразие генетических признаков, выражающееся в различных характеристиках.

**Генный банк (генбанк):** Комплекс для сохранения генетических ресурсов в подходящих для этого условиях с целью продления их жизни.

**Генотип:** Генетическое строение отдельного растения или организма.

**Дескриптор:** Идентифицируемый и измеримый признак, отличительная черта или свойство образца, которые используют для облегчения классификации данных по образцу, его хранения, поиска и использования.

**Долгосрочное сохранение:** Хранение зародышевой плазмы в течение длительного периода, как в базовых, так и в дублетных коллекциях. Срок хранения до того момента, когда потребуется посеять семена, может быть разным, но длится не менее нескольких десятилетий, а может достигать ста и более лет. Долгосрочное сохранение происходит при минусовых температурах.

**Документация:** Организованное собрание записей, описывающих структуру, цель, операцию, поддержание и требования к данным.

**Донор:** Юридическое или физическое лицо, отвечающее за предоставление зародышевой плазмы.

**Дублирование для надежного сохранения:** Дублиеты базовой коллекции, заложенные на долгосрочное хранение в аналогичных условиях, но в другом месте, на случай непредвиденной гибели материала из базовой коллекции.

**Жизнеспособность семян:** Способность семян прорасти при благоприятных условиях.

**Зародышевая плазма:** Генетический материал, образующий физическую основу наследственности и передающийся посредством зародышевых клеток от одного поколения другому.

**Изотерма:** Кривая, отражающая взаимосвязь между содержанием влаги в семенах и уровнем относительной влажности в процентах.

**Интервал мониторинга:** Период хранения между мониторинговыми проверками.

**Карантин:** Официальное задержание ввозимой зародышевой плазмы, подлежащей фитосанитарному контролю, с тем, чтобы гарантировать, что в ней не обнаружено болезней и вредителей, способных нанести ущерб стране-импортеру.

**Коллекция:** Группа образцов зародышевой плазмы, которая поддерживается для определенной цели в заданных условиях.

**Криоконсервация или Криосохранение:** Хранение органов растений в жидком азоте ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) или над ним в его парообразной фазе (максимум  $-140^{\circ}\text{C}$ ). В случае генбанков этот метод используют для хранения почек, верхушек побегов, других меристемных и эмбриогенных тканей, эксплантов рекальцитрантных и (в особых случаях) цельных ортодоксальных семян, пыльцы и соматических зародышей. В большинстве случаев до и/или после этого этапа хранения применяют сохранение материала *in vitro*.

**Криоконсервация пыльцы:** В некоторых ботанических семействах объектом сохранения являются пыльцевые зерна. Как и в случае семян, имеются виды растений с «ортодоксальной» пыльцой и виды, характеризующиеся



«рекальцитрантным» поведением. Может потребоваться обезвоживание пыльцы перед криоконсервацией, однако у некоторых видов пыльца легко сохраняется без предварительной обработки. Восстановление растения из находящегося на хранении образца пыльцы требует наличия партнера для скрещивания, чтобы в соответствии с запросом воспроизвести конечный растительный материал посредством завязывания и прорастания семян.

**Культура *in vitro*:** Культивирование органов растений или целых растений на искусственной питательной среде в стеклянных или пластиковых емкостях. Есть несколько вариантов использования культуры *in vitro* вегетативно размножающихся культур, в том числе микроразмножение, уничтожение вирусов через культуру меристем и хранение в условиях замедленного роста. Культура *in vitro* также используется в качестве подготовительного этапа к криосохранению, а также на этапах восстановления после криоконсервации (см. тж. хранение в условиях замедленного роста).

**Мониторинг:** Периодическая проверка образцов на жизнеспособность и на количество.

**Наиболее оригинальный образец:** Подборка семян, претерпевшая наименьшее число пересевов с того момента, когда материал был получен генбанком, и рекомендуемая для хранения в качестве базовой коллекции. Это может быть часть серии исходных семян или проба семян от первого цикла восстановления, если для серии исходных семян требовался пересев перед закладкой на хранение.

**Номер образца:** Уникальный идентификатор, присваиваемый куратором образцу при его поступлении в коллекцию. Этот номер ни при каких обстоятельствах нельзя присваивать другому образцу.

**Образец:** Отчетливо выраженная, однозначно идентифицируемая выборка семян, представляющая культурный сорт, селекционную линию или популяцию, которая хранится в живом виде с целью ее сохранения и использования.

**Описание:** Регистрация признаков, характеризующихся высокой наследуемостью, которые можно легко распознать и выраженность которых не зависит от условий окружающей среды.

**Опыление:** Процесс, при котором пыльца переносится от пыльника к рыльцу пестика такими опылителями, как ветер, насекомые, птицы, летучие мыши, либо через посредство раскрытия самого цветка.

**Ортодоксальные семена:** Семена, которые могут быть подсушены до низкого содержания влаги и храниться при низких температурах без ущерба для долговечности семян.

**Относительная влажность (RH):** Процентная доля воды в воздухе по отношению к максимально возможному количеству воды в воздухе при данной температуре. Она отличается от абсолютной влажности, которая представляет собой количество водяного пара, содержащегося в единице объема воздуха, и измеряется, как правило, в килограммах на кубический метр.

**Оценка:** Регистрация тех свойств, выраженность которых часто зависит от факторов окружающей среды.

**Паспортные данные:** Основная информация о происхождении образца, включая подробности о месте сбора, родословную или иные значимые сведения, способствующие идентификации образца.

**Патоген:** Живой микроорганизм, такой как вирус, бактерия или грибок, который вызывает болезнь в другом организме.

**Перечень дескрипторов:** Собрание всех отдельных дескрипторов конкретной сельскохозяйственной культуры или вида.

**Поле:** Земельный участок с заданными границами в пределах растениеводческого комплекса, на территории которого выращивается материал.

**Популяция:** Группа отдельных растений или животных, населяющих один географический район или регион и обладающих общими признаками.

**Признак:** Распознаваемое качество или свойство, возникающее вследствие взаимодействия гена или группы генов с окружающей средой.

**Проверка жизнеспособности:** Тест, проводимый на выборке семян образца и призванный дать оценку жизнеспособности всего образца.

**Проверка на всхожесть:** Процедура определения процентной доли семян, способных прорасти в заданных условиях.

**Прорастание:** Биологический процесс, приводящий к развитию саженца из семени. Появление корешка является первым видимым признаком прорастания, однако после этого он может перестать расти или начать развиваться аномально. Согласно правилам ISTA, считаются проросшими только те саженцы, которые демонстрируют нормальную морфологию.

**Равновесная влажность:** Содержание влаги в семенах, при котором они находятся в равновесии с относительной влажностью окружающего воздуха.

**Размножение:** Репрезентативная выборка образца, выращенная для увеличения количества сохраняемого материала с целью распространения.

**Разновидность:** Признанное подразделение ботанического вида, следующее по рангу после подвида; среди его отличительных характеристик – окраска

цветка, цвет листа и размер зрелого растения. Этот термин считается синонимом понятию сорт.

**Распространение:** Процесс предоставления образцов зародышевой плазмы селекционерам и другим пользователям.

**Рекальцитрантные семена:** Семена, не обладающие устойчивостью к подсушиванию; они не высыхают на более поздних стадиях развития и опадают при уровнях оводненности в диапазоне 0,3–4,0 г г<sup>-1</sup>. Потеря воды быстро приводит к снижению силы роста и жизнеспособности, а затем и к гибели семян при относительно высокой оводненности.

**Репродуктивный материал:** Любая структура, способная воспроизвести новое растение путем либо полового, либо бесполого (вегетативного) размножения. К ним относятся семена, споры и любая часть вегетативного органа, способная самостоятельно развиваться после того, как ее отделили от материнского растения.

**Родословная:** Регистрация происхождения генетической линии или сорта.

**Случайная выборка:** Выборка, взятая произвольно из более многочисленной группы.

**Силикагель:** Инертный химикат, поглощающий воду из окружающей среды и выделяющий эту воду в процессе испарения при нагревании.

**Содержание влаги (в расчете на сырую массу):** Вес свободной влаги, разделенный на вес воды, плюс сухой вес, выраженный в процентах.

**Сорбционная изотерма:** См. изотерма.

**Состояние покоя:** Состояние, в котором некоторые живые семена не прорастают, даже во вполне подходящих для этого условиях.

**Сохранение *ex situ*:** Сохранение биологического разнообразия вне его естественного ареала. Для генетических ресурсов растений оно может осуществляться в семенных генбанках, генбанках *in vitro* или в полевых генбанках в виде живых коллекций.

**Среднесрочное сохранение:** Хранение зародышевой плазмы в среднесрочном режиме, как в активной и в рабочей коллекциях; обычно предполагается, что примерно через десять лет произойдет незначительная потеря жизнеспособности. Среднесрочное хранение проводится при температурах от 0°C до 10°C. **19j- Староместный сорт:** Сорт сельскохозяйственной культуры, эволюционировавший на протяжении многих лет в результате проводимого фермерами отбора и специально адаптированный к местным условиям; староместные сорта, как правило, генетически гетерогенны.

**Срок хранения:** Количество лет, в течение которых семя может храниться до полной потери жизнеспособности.

**Стандарт восстановления всхожести:** Процентный уровень жизнеспособности семян, при котором или ниже которого образец должен быть пересеян для получения свежих семян.

**Тетразольная проба:** Тест на жизнеспособность, в ходе которого влажные семена замачивают в растворе хлористого трифенилтетразола.

**Фенотип:** Внешний вид растения, являющийся результатом взаимодействия его генетической структуры (генотипа) с окружающей средой.

**Фитосанитария:** Все, что относится к карантинным проблемам растения.

**Фитосанитарный сертификат:** Свидетельство, предоставляемое сотрудниками государственного органа, занимающегося охраной здоровья растений, согласно которому в семенном материале практически не обнаружено ни вредителей, ни болезней.

**Хранение *in vitro* в условиях замедленного роста:** Поддержание органов растений или целых растений в условиях, замедляющих темпы развития растения, с целью снижения затрат труда и частоты перемещений, которые могут сопровождаться риском заражения и стрессовыми условиями, создающими в конечном итоге угрозу для генетической стабильности. Основным методом замедления роста – снижение температуры до определенного уровня, зависящего от таксона. В конце фазы субкультивирования необходим перенос на новую среду либо через размножение, либо без него, а в некоторых случаях – с культивированием при температуре, оптимальной для повторного укоренения.

**Штрих-код:** Компьютеризированная система кодирования, использующая отпечатанное графическое или штриховое изображение на этикетках с целью идентификации образцов зародышевой плазмы. Штрих-коды считываются методом оптического сканирования отпечатанного изображения с помощью компьютерной программы, декодирующей это изображение.

# Фотографии

## Обложка:

Использованы материалы медиа-базы ФАО и других интернет-источников.

## Внутренние страницы:

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



Эффективно управляемые генбанки обеспечивают сохранность генетического разнообразия и делают его доступным для селекционеров. Стандарты генбанков для генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства определяют процедуры сохранения генетических ресурсов растений. Эти разработанные на добровольной основе Стандарты устанавливают критерии, позволяющие повысить качество научно-технической работы до максимального на сегодняшний день уровня, и согласуются с ключевыми международными нормативными актами в области сохранения и использования генетических ресурсов растений.