

Январь 2013 года

R



منظمة الأغذية
والزراعة للأمم
المتحدة

联合国
粮食及
农业组织

Food and
Agriculture
Organization
of the
United Nations

Organisation des
Nations Unies
pour
l'alimentation
et l'agriculture

Продовольственная и
сельскохозяйственная
организация
Объединенных
Наций

Organización
de las
Naciones Unidas
para la
Alimentación y la
Agricultura

КОМИССИЯ ПО ГЕНЕТИЧЕСКИМ РЕСУРСАМ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДОВОЛЬСТВИЯ И ВЕДЕНИЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

Пункт 7.3 предварительной повестки дня

Четырнадцатая очередная сессия

Рим, 15-19 апреля 2013 года

**ПРОЕКТ СТАНДАРТОВ БАНКОВ ГЕНОВ ГЕНЕТИЧЕСКИХ
РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА
ПРОДОВОЛЬСТВИЯ И ВЕДЕНИЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА**

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
I. ВВЕДЕНИЕ	1
II. ПОДГОТОВКА ПРОЕКТА СТАНДАРТОВ БАНКОВ ГЕНОВ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДОВОЛЬСТВИЯ И ВЕДЕНИЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА.....	2
III. КЛЮЧЕВЫЕ ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ЧЕРТЫ ПРОЕКТА СТАНДАРТОВ БАНКОВ ГЕНОВ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДОВОЛЬСТВИЯ И ВЕДЕНИЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА	3
IV. ВЫПОЛНЕНИЕ СТАНДАРТОВ.....	4
V. ИСПРАШИВАЕМЫЕ УКАЗАНИЯ.....	5
<i>ПРИЛОЖЕНИЕ: ПРОЕКТ СТАНДАРТОВ ГЕННОГО БАНКА ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДОВОЛЬСТВИЯ И ВЕДЕНИЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА</i>	

Настоящий документ издан ограниченным количеством экземпляров, чтобы минимизировать экологические последствия работы ФАО и не оказывать воздействия на климат. Просьба к делегатам и наблюдателям приносить свои экземпляры на заседания и по возможности не обращаться за дополнительными экземплярами. Большинство документов о заседаниях ФАО размещено на вебсайте www.fao.org.

I. Введение

1. Комиссия по генетическим ресурсам для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства (Комиссия) на своей тринадцатой очередной сессии рассмотрела *Проект пересмотренных стандартов банков генов в области сохранения ортодоксальных семян*, подготовленный ФАО в сотрудничестве с Международным договором о генетических ресурсах растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства (Международным договором), Консультативной группой по международным сельскохозяйственным исследованиям (КГМСИ) и другими соответствующими международными учреждениями. Комиссия высоко оценила техническое качество и способ преподнесения проекта стандартов для достижения полного охвата просила ФАО дополнить этот проект стандартами "оценки". Помимо этого, Комиссия просила ФАО подготовить проект стандартов банков генов идиоплазмы, не охваченных *Проектом пересмотренных стандартов банков генов в области сохранения ортодоксальных семян*. Она просила свою Межправительственную техническую рабочую группу по генетическим ресурсам растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства (Рабочую группу) рассмотреть и доработать оба набора стандартов банков генов для утверждения Комиссией на её четырнадцатой очередной сессии¹.
2. Настоящий документ содержит определенную справочную информацию относительно *Проекта стандартов банков генов генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства* (Проекта стандартов банков генов), включающего стандарты в области сохранения ортодоксальных семян, неортодоксальных семян и растений, размножаемых вегетативным путем. Проект стандартов банков генов был подготовлен ФАО в сотрудничестве с партнерами, рассмотрен Рабочей группой и доработан ФАО с учетом комментариев членов Рабочей группы.

II. ПОДГОТОВКА ПРОЕКТА СТАНДАРТОВ БАНКОВ ГЕНОВ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДОВОЛЬСТВИЯ И ВЕДЕНИЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

Подготовка стандартов банков генов ортодоксальных семян

3. В ответ на просьбу Комиссии ФАО подготовила проект стандартов "оценки" для включения в *Проект стандартов банков генов в области сохранения ортодоксальных семян* и разместила его в интернете для внесения комментариев и предложений². Комментарии и предложения, которые были получены от национальных координационных центров, включая координационные центры Международного договора и других соответствующих заинтересованных лиц, были включены в документ.

Подготовка стандартов банков генов неортодоксальных семян и растений, размножаемых вегетативным путем

4. По просьбе Комиссии ФАО в сотрудничестве с Международным договором, КГМСИ и другими соответствующими международными учреждениями подготовили проект стандартов банков генов идиоплазмы, не охваченных *Проектом стандартов банков генов в области сохранения ортодоксальных семян*. Эти стандарты относятся к полевым банкам генов и банкам генов, функционирующим на принципах *in vitro*/криоконсервации, в которых хранятся растения, дающие неортодоксальные семена (известные также как рекальцитрантные или промежуточные семена) и/или размножающиеся вегетативным путем.

¹ CGRFA-13/11/report, пункт 30-31

² <http://www.fao.org/agriculture/crops/core-themes/theme/seeds-pgr/conservation/gbs/en/>

5. Совместно с Биоверсити Интернэшнл, Международным договором, КГМСИ и другими соответствующими международными учреждениями для подготовки этих стандартов банков генов были проведены технические консультации как в режиме он-лайн, так и в виде живого обмена мнениями. Ведущим ученым, руководителям банков генов и исследователям было предложено внести свой технический вклад в разработку этих стандартов в таких областях, как управление полевыми банками генов, выращивание культур в условиях *in vitro* и криоконсервация. Для обеспечения тщательной подготовки этих стандартов национальным координационным центрам, включая координационные центры Международного договора, было предложено представить дополнительные соображения и предложения³.

6. В ходе консультаций были выделены фундаментальные различия между банками генов и различными формами сохранения материала в условиях *ex situ* и подчеркнута необходимость в универсальных и инклюзивных стандартах банков генов. Более того, консультации дали ценный материал, отражающий современный уровень науки и лучшие примеры надлежащей практики сохранения неортодоксальных семян и растений, размножаемых вегетативным путем, в условиях *ex situ*. Были отмечены необходимость в выработке дополнительных подходов и важность активного управления коллекциями в целях достижения соответствующего баланса между имеющимися ресурсами и правилами хранения идиоплазмы.

III. КЛЮЧЕВЫЕ ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ЧЕРТЫ ПРОЕКТА СТАНДАРТОВ БАНКОВ ГЕНОВ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДОВОЛЬСТВИЯ И ВЕДЕНИЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

7. Проект стандартов банков генов в том виде, в котором он представлен в Приложении к настоящему документу, включает стандарты ортодоксальных семян, неортодоксальных семян и растений, размножаемых вегетативным путем. Во введении к документу содержатся определения целей и областей действия стандартов. В главе под названием "Основополагающие принципы" определяются фундаментальные принципы, лежащие в основе стандартов банков генов и представляющие собой всеобъемлющие рамки эффективного и действенного управления различными типами банков генов. Раздел "Стандарты" содержит конкретные стандарты: банков генов ортодоксальных семян; полевых банков генов живых растений; и банков генов неортодоксальных семян и растений, размножаемых вегетативным путем, хранящихся в условиях *in vitro* и криоконсервации.

8. Стандарты, разработанные для ортодоксальных семян, касаются следующих вопросов: приобретение идиоплазмы; сушка и хранение семян; мониторинг жизнеспособности; регенерация; определение параметров; оценка; составление документации; распределение; дублирование в целях сохранности; и безопасность/обслуживающий персонал. Стандарты, разработанные для полевых банков генов, охватывают следующие вопросы: выбор места расположения; приобретение идиоплазмы; создание полевых коллекций; агротехника; регенерация и размножение; определение параметров; оценка; составление документации; распределение; безопасность; и дублирование в целях сохранности. Стандарты, разработанные для культур в условиях *in vitro* и криоконсервации, касаются следующих вопросов: приобретение идиоплазмы; тестирование развития неортодоксальных семян и оценка содержания влаги; сила и жизнеспособность; гидратное хранение рекальцитрантных семян; хранение культур в условиях *in vitro* и в условиях замедленного роста; криоконсервация; составление документации; распределение и обмен; безопасность; и дублирование в целях сохранности.

9. Стандарты представлены открыто и просто. Каждый стандарт сопровождается текстом с описанием конкретных условий его применения, технических аспектов, дополнительных данных и при необходимости отдельными ссылками на, помимо прочего, технические

³ <http://www.fao.org/agriculture/crops/core-themes/theme/seeds-pgr/conservation/gbs/en/>

справочники, протоколы и процедуры. Стандарты являются достаточно универсальными, могут применяться по отношению ко всем банкам генов и должны использоваться в увязке с информацией о конкретном виде культуры. Это особенно относится к растениям, дающим неортодоксальные семена и/или размножающимся вегетативным путем, поскольку трудно установить конкретные стандарты, которые были бы применимы ко всем этим видам вследствие их разных свойств во время хранения, жизненных форм и жизненных циклов. В стандартах подчеркивается важность сохранения материала и соответствующей документации и обмена ими в соответствии с действующими национальными и международными правилами.

10. Стандарты банков генов по своему характеру являются необязательными и добровольными. В них подчеркивается важность активного управления всеми типами банков генов и принятия дополнительного подхода в целях достижения оптимального баланса между соображениями научного характера и имеющимися людскими, инфраструктурными и финансовыми ресурсами в сложившихся условиях.

11. Рабочая группа рассмотрела проект стандартов банков генов на своей шестой сессии и рекомендовала Комиссии утвердить его с внесенными ею изменениями⁴. Проект стандартов банков генов, в который Рабочей группой были внесены исправления и который был пересмотрен в свете комментариев, полученных от её членов, содержится в *Приложении* к настоящему документу.

IV. ВЫПОЛНЕНИЕ СТАНДАРТОВ

12. Проект стандартов банков генов должен стать важным инструментом осуществления приоритетных направлений деятельности 5-7 *Второго глобального плана действий в области генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства*⁵. Он также направлен на содействие развитию эффективной и устойчивой системы сохранения материала в условиях *ex situ*⁶, как это предусмотрено в Международном договоре, и может помочь международным центрам сельскохозяйственных исследований КГМСИ в управлении их коллекциями *ex situ* и их содержании в соответствии с положениями Международного договора, в котором прямо говорится о стандартах банков генов, утвержденных Комиссией⁷.

13. Несмотря на то, что за последнее десятилетие число банков генов и коллекций идиоплазмы увеличилось, вопросы количества обученных сотрудников и объема соответствующих ресурсов, необходимых для устойчивого управления этими коллекциями, продолжают представлять из себя проблему⁸. Для применения этих стандартов необходимы соответствующая финансовая поддержка, а также усилия в области наращивания потенциала. Многие научные открытия, например, криоконсервация, стоят денег, особенно если они связаны с крупномасштабными экспериментами; то же самое относится к рутинной работе банков генов. Полевые банки генов также требуют затрат в виде рабочей силы и финансовых средств. Поэтому выполнение Стандартов банков генов требует серьезных национальных, региональных и глобальных обязательств и постоянной финансовой поддержки.

14. Рабочая группа признала всеобщую ценность и полезность Стандартов банков генов. Она рекомендовала Комиссии подтвердить необходимость во всеобъемлющем наращивании потенциала в деле выполнения Стандартов банков генов и призвать доноров предоставить соответствующие ресурсы, особенно развивающимся странам, в сотрудничестве с

⁴ CGRFA-14/13/20, пункт 22.

⁵ (5) Содействие целенаправленному сбору генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства; (6) Содействие работам в области сохранения идиоплазмы в условиях *ex situ* и их расширение; (7) Регенерация и размножение изолятов в условиях *ex situ*.

⁶ Статья 5.1(e).

⁷ Статья 15.1(d).

⁸ ФАО, 2010 год Второй доклад о Состоянии мировых генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства. Рим.

Международным договором, КГМСИ и другими соответствующими международными учреждениями. Она также рекомендовала Комиссии просить ФАО провести мониторинг и оценку выполнения Стандартов банков генов и доложить о результатах на одном из следующих заседаний⁹.

V. ИСПРАШИВАЕМЫЕ УКАЗАНИЯ

15. Комиссия может пожелать:

- поддержать *Проект стандартов банков генов генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства*;
- просить ФАО опубликовать *Проект стандартов банков генов генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства*, содействовать его широкому распространению и повышать осведомленность о важности их применения среди тех, кто принимает решения, и соответствующих заинтересованных лиц;
- призвать членов предоставить в срочном порядке необходимые бюджетные ресурсы для программы наращивания потенциала в деле выполнения *Стандартов банков генов* в развивающихся странах в сотрудничестве с Международным договором, КГМСИ и другими соответствующими учреждениями;
- просить ФАО провести мониторинг и оценку выполнения Стандартов банков генов и доложить о результатах на одном из следующих заседаний и рассмотреть вопрос о разработке стандартов по конкретным видам в сотрудничестве с другими международными учреждениями.

⁹ CGRFA-14/13/20, пункты 23-25.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ПРОЕКТ СТАНДАРТОВ ГЕННОГО БАНКА ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДОВОЛЬСТВИЯ И ВЕДЕНИЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

СОДЕРЖАНИЕ

	Пункты
I. ВВЕДЕНИЕ	1 - 11
II. ОСНОВОПОЛАГАЮЩИЕ ПРИНЦИПЫ.....	12 - 21
III. СТАНДАРТЫ – СТРУКТУРА И ОПРЕДЕЛЕНИЯ	22
IV. СТАНДАРТЫ ГЕННОГО БАНКА ДЛЯ ОРТОДОКСАЛЬНЫХ СЕМЯН	
4.1 Стандарты приобретения зародышевой плазмы.....	23 - 34
4.2 Стандарты высушивания и хранения	35 - 45
4.3 Стандарты контроля за жизнеспособностью семян	46 - 64
4.4 Стандарты восстановления.....	65 - 76
4.5 Стандарты характеристики.....	77 - 85
4.6 Стандарты оценки.....	86 - 94
4.7 Стандарты документирования.....	95 - 102
4.8 Стандарты распределения.....	103 - 116
4.9 Стандарты изготовления дубликатов для обеспечения сохранности	117 - 130
4.10 Стандарты безопасности/персонала	131 - 142
V. СТАНДАРТЫ ПОЛЕВОГО БАНКА	
5.1 Стандарты выбора месторасположения.....	143 - 151
5.2 Стандарты приобретения зародышевой плазмы.....	152 - 159
5.3 Стандарты создания полевых коллекций	160 - 171
5.4 Стандарты полевого управления.....	172 - 185
5.5 Стандарты восстановления и размножения.....	186 - 193
5.6 Стандарты характеристики.....	194 - 203
5.7 Стандарты оценки.....	204 - 214
5.8 Стандарты документирования.....	215 - 223
5.9 Стандарты распределения	224 - 232
5.10 Стандарты изготовления дубликатов для обеспечения сохранности.....	233 - 244

VI. СТАНДАРТЫ ГЕННОГО БАНКА ДЛЯ КУЛЬТУРЫ <i>IN VITRO</i> И КРИОСОХРАНЕНИЯ.....	245 - 254
6.1 Стандарты приобретения и начальное обращение.....	255 - 270
6.2 Стандарты тестирования поведения неортодоксальных семян и оценки содержания воды, энергии и жизнеспособности.....	271 - 281
6.3 Стандарты для гидратированного хранения рекальцитрантных семян.....	282 - 291
6.4 Стандарты для хранения в условиях замедленного роста <i>in vitro</i>	292 - 305
6.5 Стандарты криосохранения	306 - 332
6.6 Стандарты документирования	333 - 339
6.7 Стандарты распределения и обмена.....	340 - 348
6.8 Стандарты изготовления дубликатов для обеспечения сохранности	349 - 362
ПРИЛОЖЕНИЕ 1: Список сокращений	
ПРИЛОЖЕНИЕ 2: Глоссарий	
БЛАГОДАРНОСТИ	

I. ВВЕДЕНИЕ

1. Во всем мире в генных банках хранятся коллекции обширного круга генетических ресурсов растений в общих целях долговременного сохранения и обеспечения доступности зародышевой плазмы растений для селекционеров растений, исследователей и других пользователей. Генетические ресурсы растений являются сырьевым материалом, который используется для улучшения культур и урожая. Их сохранение и использование является критически важным для глобальной продовольственной безопасности и безопасности питания. Устойчивое сохранение этих генетических ресурсов растений зависит от эффективного и действенного управления генными банками через применение стандартов и процедур, которые обеспечивают выживание и наличие генетических ресурсов растений.

2. Проект *Стандартов генных банков для генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства* стал результатом пересмотра *Стандартов генного банка* ФАО/МИГРР, опубликованных в 1994 году. Пересмотр был осуществлен по просьбе Комиссии по генетическим ресурсам растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства (КГРПСХ) в свете изменений в общей глобальной политике и достижениях в области науки и технологий. Главные перемены в области политики, влияющие на сохранение генетических ресурсов растений в генных банках, лежат в контексте доступности и распределения зародышевой плазмы, ставшим возможным благодаря принятию различных международных инструментов. Это такие инструменты, как Конвенция о биологическом разнообразии (КБР), Международный договор по генетическим ресурсам растений (МД ГРПСХ), Международная конвенция о карантине и защите растений (МККЗР) и соглашения ВТО/СФМ (SPS). В 2010 году КБР был принят Нагойский протокол о регулировании Доступа к Генетическим Ресурсам и Совместном использовании на справедливой и равной основе выгод от их применения, который может влиять на обмен зародышевой плазмой. На научном фронте успехи в технологиях по хранению семян, биотехнологиях и информационных и коммуникационных технологиях дополнили новыми аспектами область сохранения зародышевой плазмы растений.

3. Проект *Стандартов генного банка для генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства* предназначен для всех генных банков для целей сохранения коллекций растений (семена, живые растения и эксплантаты). Они были разработаны на основе серии консультаций с большим кругом мировых экспертов по сохранению семян, криосохранению, сохранению *in vitro* и полевым банкам. Стандарты являются добровольными и не имеют обязательной юридической силы; они не были созданы в рамках формальной процедуры установления стандартов. Их следует рассматривать как целевые ориентиры в создании эффективного, действенного и рационального сохранения в генных банках *ex situ*, которые содействуют оптимальному поддержанию жизнеспособности семян и генетической целостности в генных банках, тем самым обеспечивая доступ к высококачественным семенам сохраняемых генетических ресурсов растений и их использование.

4. Важно, чтобы стандарты не применялись бездумно, так как в методах сохранения постоянно происходят технологические достижения, многие из которых относятся к конкретным видам; также следует учитывать цели и срок сохранения и использования зародышевой плазмы. Поэтому использовать проект *Стандартов генного банка* рекомендуется в сочетании с другими источниками данных, особенно работ с данными по конкретным видам. Это особенно касается растений, дающих неортодоксальные семена и /или вегетативно размножающихся, в которых наблюдается различное поведение семян в хранилище, различные

жизненные формы (травы, кусты, деревья, лианы/виноградные лозы) и различные жизненные циклы (годовой, двухлетний, многолетний), для которых трудно установить конкретные стандарты, подходящие для всех видов.

5. Этот документ состоит из двух частей. В первой части дано описание «Основополагающих принципов», которые лежат в основе стандартов генного банка, и дают сводную рамку для действенного и эффективного управления генными банками. Ключевыми принципами, лежащими в основе работы генного банка, являются сохранение идентичности зародышевой плазмы, поддержание жизнеспособности и генетической интеграции, и продвижение доступа. Это включает связанную информацию для содействия использованию хранимого материала растений в соответствии с национальными и международными нормативными положениями. основополагающие принципы являются общими для всех различных типов генных банков.

6. Во второй части дается подробное описание стандартов для трех типов генных банков, а именно: семенные банки, полевые генные банки и генные банки с хранением *in vitro*/при криосохранении. Стандарты охватывают все основные операции, которые выполняются в генном банке, и для всех стандартов приводится список рекомендуемой литературы. Приводится ключевая техническая информация для всех стандартов, однако важно отметить, что необходимо использовать и технические пособия для процедур и протоколов. Стандарты семенного банка (раздел IV) имеют дело с сохранением ортодоксальных семян, которые хорошо переносят потерю влаги, т.е. могут быть дегидрированы до низкого содержания воды и они реагируют на низкую температуру. Снижение влажности и температур снижает уровень метаболических процессов, таким образом, продлевая долговечность семян. Примеры растений с ортодоксальными семенами включают кукурузу (*Zea mays* L.), пшеницу (*Triticum* spp.), рис (*Oryza* spp.), горох (*Cicer arietinum*), хлопок (*Gossypium* spp.) и подсолнечник (*Helianthus annuus*).

7. Стандарты для полевого генного банка и генных банков для сохранения *in vitro* /криосохранения, известные как сохранение растений, которые дают неортодоксальные семена, рекальцитрантные или промежуточные семена, и/или вегетативно размножающиеся, представлены соответственно в разделе V и VI. Такие растения не могут сохраняться так же, как и ортодоксальные семена, например, при криосохранении и влажности, и требуют других методов сохранения *ex situ*.

8. Полевые генные банки – это обычно самый распространенный метод для сохранения растений, дающих неортодоксальные семена. Они также используются для сохранения растений, которые дают очень мало семян, вегетативно размножаются и /или растений, которым необходим длинный жизненный цикл для скрещивания и /или выращивания материала растений. Хотя используется термин ‘полевой банк’, этот метод также включает сохранение живых растений в горшках или подносах в теплицах или затемненных местах. Имеются технические руководства и учебные пособия для управления коллекций зародышевой плазмы, которая хранится в полевых генных банках (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).

9. Сохранение зародышевой плазмы растений *in vitro* и при криосохранении можно достичь либо посредством создания условий для медленного роста (*in vitro*) для короткой и средней длительности хранения, или криосохранения для длительного хранения. Последний метод включает культуры (особенно черенки, меристемы, соматические эмбрионы, суспензионные клеточные культуры или эмбриогенетический каллус), которые сохраняются в условиях, ограничивающих рост в искусственной питательной среде. Темп роста культур может ограничиваться различными методами, включая снижение температуры, понижение интенсивности света, или манипуляции с культуральной средой путем добавления осмотических агентов или замедлителей (ингибиторов) роста (Engelmann, 1999).

10. Криосохранение – это хранение биологических материалов (семян, эмбрионов растений, черенков/меристем, и /или пыльцы) при ультра-низких температурах, с

использованием жидкого азота при температуре в -196°C (Engelmann and Tagaki, 2000; Reed, 2010). При этих условиях останавливаются биохимические и большинство физических процессов, и материалы в состоянии сохраняться в течение длительного времени. Эти способы сохранения дополняют другие способы, и необходимы для безопасного, эффективного и действенного сохранения растений (Reed, 2010). Например, линии при криосохранении могут поддерживаться резервными полевыми коллекциями, как справочные коллекции для имеющегося генетического разнообразия популяции, и как источник для новых аллелей в будущем.

11. Представлены следующие стандарты соответствующих типов генного банка:

- i) **Стандарты генного банка для ортодоксальных семян:** приобретение зародышевой плазмы, высушивание и хранение семян, контроль жизнеспособности, восстановление, характеристика, оценка, документирование, распределение, изготовления дубликатов для обеспечения сохранности и безопасности/персонала.
- ii) **Стандарты для полевого генного банка:** выбор места, приобретение зародышевой плазмы, создание полевой коллекции, полевое управление, восстановление и размножение, характеристика, оценка, документирование, распределение, изготовления дубликатов для обеспечения сохранности и безопасности.
- iii) **Стандарты генного банка для культуры *in vitro* и криосохранения:** приобретение зародышевой плазмы, испытание неортодоксального поведения и оценка содержания воды, энергия и жизнеспособность, гидратированное хранение рекальцитрантных семян, культура *in vitro* и хранение в условиях для медленного роста, криосохранение, документирование, распределение и обмен, изготовления дубликатов для обеспечения сохранности и безопасности.

Рекомендуемая библиография

Bioersivity International, Food and Fertilizer Technology Center, 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. TARI, Fengshan, Taiwan.

Crop genebank knowledge base:

http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english

Engelmann, F. ed. 1999. Management of field and *in vitro* germplasm collections. Proceedings of a Consultation Meeting, 15-20 January 1996.

Engelmann, F. & Takagi, H. eds. 2000. Cryopreservation of tropical plant germplasm. Current research progress and application. Japan International Research Center for Agricultural Sciences, Tsukuba, Japan/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

Geburek, T. & Turok, J. eds. 2005. Conservation and Management of Forest Genetic Resources in Europe. Arbora Publishers, Zvolen, 693p.

Reed B.M. 2010. *Plant cryopreservation. A practical guide.* Springer, New York, 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. IPGRI Handbooks for Genebanks No. 7, International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

Said Saad, M. & Ramanatha Rao, V. 2001. Establishment and management of field genebank a training manual. IPGR-APO, Serdang.

II. ОСНОВОПОЛАГАЮЩИЕ ПРИНЦИПЫ

12. Генные банки во всем мире ставят перед собой, в целом, одни и те же основные цели, но их задачи, ресурсы и системы, на которые они опираются, нередко различны. В результате, кураторам приходится активно оптимизировать общие системы своих генных банков, - а такая задача требует управленческих решений, которые могут существенно различаться среди учреждений, но это все равно ведет к одним и тем же целям. 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 генного банка. В разделе ниже описываются главные основополагающие принципы сохранения.

Подлинность образцов

13. Необходимо с тщательностью добиваться того, чтобы подлинность образцов семян, сохраняемых в генных банках, сохранялась на протяжении всех процессов, начиная с приобретения до хранения и распределения. Надлежащая идентификация образцов семян, сохраняемых в генных банках, тесным образом связана с тщательным документированием данных и информации о материале. Все начинается с регистрации паспортных данных с указанием информации о сборе и, при необходимости, информации о доноре. Также должна быть учтена информация по более ранним коллекциям в генных банках, по которым паспортные данные не были зарегистрированы, либо зарегистрированы не полностью. Нередко в правильной идентификации образцов важную роль играют контрольные образцы гербариев и справочно-информационный фонд семян. Определение образцов в поле имеет особенно большое значение, поскольку неправильная установка меток может привести к значительной генетической эрозии. Установку меток на полях следует также дополнить полевыми планами, которые требуется правильно задокументировать для того, чтобы обеспечить правильную идентификацию образца в полевых генных банках. Полевые метки могут быть утеряны под воздействием различных внешних факторов, как например, плохие погодные условия. Современные методы, такие как метки образцов с отпечатанным штрих-кодом, метки радиочастотной идентификации (RFID) и молекулярные маркеры, могут существенно помочь управлению зародышевой плазмы посредством снижения вероятности ошибки, что тем самым обеспечит подлинность соответствующего образца.

Поддержание жизнеспособности

14. Поддержание жизнеспособности, генетической целостности и качества образцов семян в генных банках, и предоставление их для использования являются конечной целью осуществления управления генным банком. Поэтому очень важно, чтобы процессы генного банка придерживались стандартов, которые необходимы для обеспечения поддержания приемлемых уровней жизнеспособности. В этом смысле следует уделить особое внимание стандартам приобретения, обработки и хранения зародышевой плазмы. Для рекальцитрантных и других неортодоксальных типов семян это оценивается визуальной проверкой отсутствия повреждений, скоростью и полноты прорастания. Однако появление невидимых под микроскопом грибов и бактерий в семенах могут подорвать качество семян. В целом, образцы семян, принимаемые в генный банк в момент поступления, должны иметь высокую жизнеспособность и в максимальной степени соответствовать стандартам приобретения

зародышевой плазмы. Для достижения максимального физиологического качества семян, необходимо проводить их сбор как можно ближе по времени к естественному разбросу созревания и перед естественным разлетом, во избежание сбора уже рассеянных семян с земли или испачканных, тех, что могут иметь сапрофитные или патогенные грибы/бактерии. Генные банки также должны добиваться того, чтобы собранная зародышевая плазма была генетически репрезентативной для исходной популяции, с учетом числа живых ростков, чтобы не нарушить качество образца. Должна действовать система контроля для проверки уровня жизнеспособности хранящихся образцов через соответствующие временные интервалы, в зависимости от ожидаемой долговечности семян. Можно сократить высокие затраты на восстановление, если уделять надлежащее внимание обработке, сушке и хранению после сбора. В полевом генном банке, более важным является срок способности к размножению (т.е. качество и состояние размножения), а не срок жизнеспособности, который конкретно относится к способности семян прорасти и производить росток. Полевые генные банки уязвимы воздействиям экологических факторов, как погодные условия, случаи нашествия вредителей, и такие воздействия будут различными в зависимости от различных видов и цикла роста, например, годовой, двухлетний или многолетний. Дополнительный фактор в случае видов с семенами неизвестного поведения после хранения (рекальцитрантные, или неортодоксальные, или ортодоксальные) является основным требованием для установления реакции семян (для замедления высыхания) до того, как будет создана какая-либо стратегия по хранению зародышевой плазмы растений.

Поддержание генетической целостности

15. Для сохранения генетической целостности важны все процессы генного банка - от сбора и поступления до хранения, восстановления и распределения. Поддержанию генетической целостности способствует обеспечение жизнеспособности, поддерживаемой в соответствии со стандартами. Необходимо проводить различные молекулярные приемы, включая обследования возможных эпигенетических изменений, которые могут или не могут быть необратимыми, для оценки поддержания геномной стабильности, особенно когда образцы взяты из криохранения. Для растений, требующих длительные интервалы времени от посева до воспроизводительного созревания, восстановление семян в полевых условиях будет крайне непрактичным. Следует предпринять повторное взятие образцов оригинальной популяции, когда имеются признаки снижения силы и жизнеспособности. Поддержание генетической целостности также важно для зародышевой плазмы растений, которая сохраняется *in vitro*, особенно с учетом риска соматического (вегетативного, клеточно размножающегося) варьирования. Это основная причина для избежания косвенного соматического эмбриогенеза (например, через стадию каллуса) для производства форм зародышевой плазмы растений, которую нужно сохранить, кроме случаев, когда нет альтернативы. Во время приобретения необходимо стремиться получить должным образом репрезентативные образцы семян хорошего качества и в достаточном количестве. Тем не менее, следует признать, что когда целью является сбор конкретных признаков, образцу необязательно быть репрезентативным для исходной популяции. Для сведения к минимуму генетической эрозии необходимо придерживаться рекомендуемых протоколов¹⁰ по восстановлению образцов семян, с возможно минимальным количеством циклов восстановления; достаточно большим размером имеющейся популяции, сбалансированным отбором образцов, а также контролем опыления. Особое внимание обращается здесь на значение создания дубликатов в целях обеспечения сохранности

¹⁰ **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. См. также: <http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/>

как меры реагирования на риски, с которыми может сталкиваться генный банк в своей деятельности.

Поддержание здоровья семян

16. Генным банкам надлежит стремиться к тому, чтобы семена, которые они сохраняют и распространяют, по мере возможности, не имели карантинных переносимых семенами заболеваний и регулируемых вредных организмов (бактерий, вирусов, грибов и насекомых)]. Внешний пласт можно эффективно удалить с использованием процедур дезинфекции пласта. У генных банков часто нет возможностей или необходимых ресурсов, требуемых для самостоятельной проверки, несут ли собранные или приобретенные образцы или образцы, полученные с опытных участков для восстановления/размножения, карантинные переносимые семенами болезни и вредные организмы. Это особенно справедливо в отношении зародышевой плазмы, получаемой от третьих сторон. Проблемы усугубляются при сохранении видов с промежуточными неортодоксальными семенами. Загрязняющее вещества, которые порождаются семенами, можно выявить только тогда, когда рекальцитрантные семена находятся в хранилище с краткой и средне срочной гидратизацией, или когда эксплантаты, полученные из семян, помещаются в ткань культуры. Настоящее неудовлетворительное решение заключается в удалении любых загрязненных семян/эксплантанта, так как это единственный способ обеспечить незагрязненную зародышевую плазму. Поэтому необходимо, чтобы при обмене зародышевой плазмой семенной материал сопровождали соответствующие импортные и фитосанитарные сертификаты для обеспечения требуемого уровня здоровья получаемых образцов. Одни зараженные/инфицированные образцы можно без труда очистить, тогда как для других нужны более сложные методы очистки.

Физическая сохранность коллекций

17. Один из основополагающих принципов сохранения зародышевой плазмы состоит в том, что физические параметры помещений генного банка, в которых хранится зародышевая плазма, должны быть должного качества для защиты материалов от каких-либо внешних факторов. Они могут включать природные стихийные бедствия и техногенный ущерб. Также надлежащие системы безопасности необходимы для того, чтобы охлаждающее оборудование генного банка, генераторы и оборудование для контроля отключений подачи электроэнергии находились в хорошем рабочем состоянии, и были установлены приборы мониторинга, позволяющие следить за наиболее важными параметрами с течением времени. Поскольку для криосохранения требуется жидкий азот, поставки криогенного вещества всегда должны быть доступны. Далее, важно, чтобы уровни жидкого азота поддерживались ручным или автоматическим наполнением специальных цистерн в хранилище, и холодильных установок, которые работают на жидком азоте. Другим важным вопросом безопасности для генных банков является безопасное хранение дубликатов материалов в других местах так, чтобы, если по каким-то причинам коллекция будет уничтожена, она могла быть восстановлена из дубликатов.

Наличие и применение зародышевой плазмы

18. Сохраняемый материал должен быть в наличии для текущего и будущего использования. Поэтому, этой цели должны способствовать все процессы в деятельности генного банка и его управлении. Семена нужно хранить в достаточных количествах, вместе с соответствующей информацией о поступлениях. Генный банк должен иметь стратегию быстрого размножения любой зародышевой плазмы для распространения, хотя в полевые

генные банки поступают несколько конкретных видов, и отсюда потенциал распределения пользователям может быть ограниченным.

Наличие информации

19. Для обеспечения передачи информации и учета, следует на всех этапах регистрировать в электронной базе данных всю важную, детальную и новейшую информацию, включая сведения как за прошлые, так и текущие периоды, особенно в том, что касается работы с конкретными образцами после их приобретения. Следует отдавать высокий приоритет доступности такой информации, ее наличию и обмену ею, так как это ведет к более качественному и рациональному сохранению. Интерактивные базы данных с функцией поиска, содержащие данные по фенотипической оценке, помогут пользователям зародышевой плазмы точнее формулировать свои запросы, и, в свою очередь, поступление от них дополнительных данных об оценке повышает ценность и полезность коллекции. Наличие и доступность информации о сохраняемой зародышевой плазме будет содействовать использованию зародышевой плазмы. Кроме того, это поможет кураторам генного банка совершенствовать планирование деятельности по размножению и восстановлению, чтобы поддерживать необходимые запасы образцов. Для таких информационных систем, основанных на генных банках, рекомендуются интерактивные базы данных с функцией поиска. Информационная база данных семян (SID¹¹) Семенного банка тысячелетия (MSB) Кью представляет хороший пример значения такой базы данных. Система управления ботанического исследования и гербария (BRAHMS)¹² является системой, разработанной в целях курирования и управления данными зародышевой плазмы растений, в то время как EURISCO¹³ является каталогом в вебсайте, который дает информацию о Европейской коллекции растений *ex situ*.

Превентивное управление генными банками

20. Устойчивое и эффективное сохранение генетических ресурсов растений зависит от активности управления сохраняемым материалом с зародышевой плазмой. Чрезвычайно важно превентивное управление, позволяющее добиваться того, чтобы зародышевая плазма сохранялась эффективным образом и предоставлялась своевременно и в достаточных количествах 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. Это включает стратегию управления рисками и поощряет сотрудничество с третьими сторонами для участия генных банков в усилиях по сохранению биоразнообразия. Следует отметить, что поддержание полевых коллекций затратно и нужно предпринять все усилия для разработки дополнительной коллекции *in vitro* или при криосохранении. Требуется соблюдение правовых и нормативных основ на национальном и международном уровне, в особенности в том, что касается доступности, наличия и распределения материалов, а также здоровья растений и семян. Надлежит применять Стандартное Соглашение о Передаче Материала (ССПМ) для сельскохозяйственных культур в рамках Многосторонней системы МД ГРРПСХ. Нормы Международной конвенции по карантину и защите растений (МККЗР) закладывают основы регулирования в области карантина и здоровья, направленные на предотвращение появления и распространения вредителей и заболеваний растений. Прежде всего, необходимы долговременные и постоянные

¹¹ Seed Information Database <http://data.kew.org/sid/>

¹² BRAHMS <http://dps.plants.ox.ac.uk/bol>

¹³ EURISCO <http://eurisco.ecpgr.org/>

обязательства со стороны учреждений, ведущих генные банки, по обеспечению кадровых и финансовых ресурсов.

21. Помимо этого, превентивное управление способствует применению практического опыта и знаний по отношению к новой зародышевой плазме в генном банке и направлено на 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.

III. СТАНДАРТЫ – СТРУКТУРА И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

22. Описываемые в настоящем документе Стандарты определяют уровень проведения обычной операции генного банка, ниже которого возникает риск утраты генетической целостности (например, вероятность в пять или более процентов утраты аллелей в образце на протяжении срока хранения).

Каждый раздел делится на:

- A. Стандарты
- B. Контекст
- C. Технические аспекты
- D. Особые условия
- E. Рекомендуемая библиография

Контекст определяет базовую необходимую информацию о том, когда применяются стандарты. Дается краткое описание обычных операций генного банка, в отношении которых определяются стандарты, а также их основополагающие принципы.

Технические аспекты объясняют технические и научные принципы, необходимые для понимания стандартов и работы с ними.

В **Особых условиях** предлагаются рекомендации в случае, если стандарты не могут быть применены к конкретному виду. Они охватывают исключения, альтернативные пути и альтернативные возможности для управления рисками.

Во всех разделах представлены избранные источники информации и библиография.

IV. СТАНДАРТЫ ГЕННОГО БАНКА ДЛЯ ОРТОДОКСАЛЬНЫХ СЕМЯН

4.1. СТАНДАРТЫ ПРИОБРЕТЕНИЯ ЗАРОДЫШЕВОЙ ПЛАЗМЫ

A. Стандарты

4.1.1. Все образцы семян, добавляемые в коллекцию генного банка, приобретены законным образом и с соответствующей технической документацией.

4.1.2. Сбор семян производится ближе ко времени созревания и до наступления естественного разлета семян, во избежание потенциального генного загрязнения, для обеспечения максимального качества семян.

4.1.3. Для обеспечения максимального качества семян период между сбором и переводом в контролируемую среду высушивания составляет от 3 до 5 дней или наименее возможный срок, принимая во внимание тот факт, что семена не должны подвергаться воздействию высоких температур и интенсивного света, а также что некоторые виды требуют дозревания для достижения вызревания зародыша.

4.1.4. Все образцы семян сопровождаются, по крайней мере, минимумом связанных с ними данных согласно идентификаторам паспортов сельскохозяйственных культур ФАО/МИГРР.

4.1.5. Минимальное число растений, из которых должны быть собраны семена, примерно 30-60 растений в зависимости от системы размножения соответствующего вида.

B. Контекст

23. Приобретение – это процесс сбора или запроса семян для включения в генный банк вместе с соответствующей информацией. Материал должен быть приобретен на законных основаниях, иметь высокое качество семян и быть надлежащим образом задокументирован.

24. Приобретение осуществляется согласно соответствующим международным и национальным положениям, например, в соответствии с фитосанитарными/карантинными законами, регулированием доступа согласно МД ГРПСХ или КБР и национальными законами о доступе к генетическим ресурсам. Соблюдение Стандарта 4.1.1 сделает возможным экспорт семян из страны происхождения/донора и импорт в страну генного банка, а также определение режима управления и распределения (например, ССПМ или Соглашения о передаче материала (СПМ)).

25. Необходимо обеспечить максимальное качество семян и избегать сохранения незрелых семян или семян, которые слишком долго подвергались воздействию

неблагоприятных элементов. Решающим для обеспечения качества семян является то, каким образом осуществляется работа с семенами после сбора и прежде, чем они передаются в контролируемые условия. Экстремальные неблагоприятные температуры и влажность в период после завершения сбора и во время перевозки в генный банк могут привести к быстрой утрате жизнеспособности и сокращению долговечности при хранении. То же справедливо и в отношении работы с образцами после сбора в самом генном банке. Качество и долговечность семян определяются условиями, наблюдаемыми перед помещением на хранение в генный банк. Рекомендуется, чтобы проверка на всхожесть проводилась сразу после обработки и до помещения на хранение, что позволит определить качество собранных семян.

26. В течение этапа приобретения необходимо добиваться того, чтобы паспортные данные по каждому поступлению были как можно более полными и полностью задокументированы, особенно в отношении географической привязки, которая позволяет базировать участки сбора. Паспортные данные чрезвычайно важны для идентификации и классификации поступления и будут отправной точкой при выборе и использовании образца.

С. Технические аспекты

27. Доступ к ГРПСХ, относящийся к многосторонней системе Международного договора, должен сопровождаться ССПМ. Приобретатели должны выполнять соответствующие положения Международного договора по ГРПСХ 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 прочие требования к импорту.

28. Семена, только что собранные с поля, могут иметь высокое содержание влаги и должны быть проветрены, чтобы предупредить ферментацию. Они должны быть помещены в соответствующие контейнеры, допускающие хорошую вентиляцию воздухом, и это позволит добиваться того, чтобы содержимое не стало влажным из-за неправильного воздухообмена, и в то же время не смешивалось и не было повреждено во время сбора и перевозки. Сохранить качество семян позволит контроль за температурой и относительной влажностью (RH), что позволяет добиваться того, чтобы температура семян не превышала 30 C или 85% RH после сбора и перевозки, а также во время переработки после сбора. Если полностью созревшие семена должны быть переработаны и высушены в полевых условиях, для уменьшения риска ухудшения качества следует применять технические рекомендации для конкретного или аналогичного вида.

29. Следует применять соответствующие формуляры для регистрации данных сбора. В этом формуляре должна содержаться информация, как первоначальная таксономическая классификация образца, координаты участка сбора в глобальной системе определения местоположения, описание ареала собранных растений, количество собранных растений и иные соответствующие данные, необходимые для правильного сохранения. По возможности, следует применять идентификаторы паспортов сельскохозяйственных растений ФАО/МИГРР (Alercia *et al.* 2001). Чрезвычайно полезную дополнительную информацию, например культурную практику, более раннюю историю и происхождение семян, использование, т.д., можно получить посредством опроса фермеров, когда семена собираются на фермерских

полях/складах. Во время сбора сборщик также должен помнить об истощении природной популяции, предназначенной для отбора образцов. Руководство ENSCONET по сбору рекомендует, чтобы подбор не превышал 20% всех имеющихся семян в популяции (ENSCONET, 2009). Будет также полезно повторить отбор образцов с конкретного участка для максимального охвата генетической изменчивости, которая может присутствовать в разные моменты времени

30. Собранных образцов должно быть достаточно, чтобы включить, как минимум, один экземпляр 95% аллелей, которые встречаются в пределах целевой популяции с частотой более 0,05 (Brown and Marshall 1975). Для достижения этой цели достаточно сделать произвольную выборку 59 несвязанных гамет, и при произвольном видовом скрещивании это равно 30 особям, тогда как в полностью самооплодотворяющихся видах нужно 60 особей (Brown and Hardner, 2000). Таким образом, размер выборки, охватывающей 95% аллелей, может колебаться между 30 и 60 растениями в зависимости от системы размножения отбираемого вида. На практике для распределения должно быть собрано адекватное количество семян для избежания частого восстановления. Тем не менее, мы должны признать, что эту цель не всегда можно достичь в зависимости от наличия семян для коллекции.

31. В случае дарения семян (семеноводческой компанией, исследовательской программой или генным банком), помимо имеющихся паспортных данных, следует получить таксономическую классификацию, название донора, идентификационный номер донора и имена. От донора следует получить информацию о том, каким образом была получена зародышевая плазма, в том числе информацию о происхождении или линии наследования, а также информацию о цепочке обеспечения сохранности, где такая информация имеется. Семена должны получить уникальный идентификационный номер (временный или постоянный, в соответствии с правилами, используемыми в генном банке), который постоянно сопровождает семена и будет связывать семена с паспортными данными и любыми иными собранными сведениями, а также гарантировать подлинность образца семян. По возможности, необходимо взять контрольный образец гербария, собранный из той же популяции, и произвести запись об использованном методе и причине приобретения.

D. Особые условия

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

33. Когда коллекции содержат значительную долю (>10%) незрелых семян или плодов, следует принять меры к содействию послеуборочному созреванию. Обычно это достигается хранением материала в хорошо проветриваемых условиях внешней среды, защищенных от дождя. Надлежит контролировать видимые улучшения в созреваемости, и как только собранные семена можно считать созревшими, материал необходимо перевести в контролируемые условия высушивания.

34. Необходимо делать некоторые исключения, с точки зрения вышеописанных стандартов (например, размера выборки), для дикорастущих и редких видов, для которых трудно получить семена в оптимальном состоянии или количествах.

E. Рекомендуемая библиография

Alercia, A., Diulgheroff, S. & Metz, T. 2001. FAO/IPGRI. Multi-crop Passport Descriptors [http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=2192](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=2192)

Brown AHD and Hardner (2000). Sampling the genepools of forest trees for *ex situ* conservation. Pp.185-196: IN A. Young, D. Boshier and T. Boyle *Forest conservation genetics. Principles and practice*. CSIRO publishing and CABI.

Brown AHD and Marshall (1975). Optimum sampling strategies in genetic resources conservation. Pp 3-80. IN: O.H. Frankel and J.H. Hawkes (eds.) *Crop genetic resources for today and tomorrow*. Cambridge University press Cambridge.

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

ENSCONET. 2009. *Seed Collecting Manual for Wild Species*, ISBN: 978-84-692-3926-1 (www.ensconet.eu).

Eymann, J., Degreef, J., Huser, 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*. Chapters can be downloaded from: <http://www.abctaxa.be/volumes/volume-8-manual-atbi>

Genebank Standards 1994 FAO/IPGRI, Rome <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: CAB International on behalf of IPGRI. In association with FAO, IUCN and UNEP, 748 pp.

Guerrant, E.O., Havens, K. & Maunder, M. eds. 2004. *Ex Situ Plant Conservation: supporting species survival in the wild*. Island Press, Washington D.C. USA.

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.

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

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.

RBG, Kew, Millennium Seed Bank Technical information sheet 04: post-harvest handling of seed collections: <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/04-Post%20harvest%20handling.pdf>

SGRP. Crop Genebank Knowledge Base (<http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org>)

Smith, R.D., Dickie, J.D., Linington, S.L., Pritchard, H.W. & Probert, R.J. 2003. *Seed Conservation: turning science into practice*: Royal Botanic Gardens, Kew. Chapters can be downloaded from: <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. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 236 pp. Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India.

4.2. СТАНДАРТЫ ВЫСУШИВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

А. Стандарты

4.2.1. Все образцы семян высушиваются до равновесия в контролируемой среде при 5-20°C и 10-25% относительной влажности, в зависимости от вида.

4.2.2. После высушивания все образцы семян необходимо запечатать в подходящий герметический контейнер для длительного хранения; в некоторых случаях, в отношении коллекций, которые нуждаются в частом доступе к семенам или которые будут исчерпаны задолго до прогнозируемого времени утраты жизнеспособности, можно хранить семена в негерметических контейнерах.

4.2.3. Большинство исходных образцов и изготовленных для сохранности дубликатов хранятся в долговременных условиях (основные коллекции) при температуре в $-18 \pm 3^\circ\text{C}$ и относительной влажности в $15\% \pm 3\%$.

4.2.4. Для условий средней продолжительности (активные коллекции) образцы хранятся охлажденными при температуре 5-10° С и относительной влажности в $15\% \pm 3\%$.

В. Контекст

35. Поддержание жизнеспособности семян является важнейшей функцией генного банка, которая гарантирует, что зародышевая плазма будет предоставлена пользователям и будет генетически репрезентативной для популяции, из которой она была отобрана (т.е. самого исходного образца). Чрезвычайно важной задачей стандарта высушивания и хранения семян является сокращение частоты восстановления наиболее первоначальных исходных образцов благодаря максимальному продлению долговечности семян, что позволит сократить затраты генного банка и уменьшить риск генетической эрозии. В этих целях для большинства наиболее первоначальных образцов и для изготовления в целях сохранности дубликатов коллекции (см. Стандарты изготовления дубликатов для обеспечения сохранности) требуется долговременное хранение. Помимо этого, требуется соблюдение стандартов хранения в условиях, когда целью является хранение семян в течение средней или небольшой продолжительности для сохранения их живыми лишь в течение времени, требуемого для передачи пользователям и оценки зародышевой плазмы. В таких случаях стандарт может не соблюдаться столь же строго, как в случае долговременного сохранения.

36. Перед хранением образцы семян необходимо высушить до установленного содержания влаги. Для высушивания семян можно использовать целый ряд способов, самым распространенным из них является использование влагопоглотителя или сушильной камеры. Используемые методы зависят от имеющегося оборудования, количества и размера образцов для высушивания, местных климатических условий и соображений затрат. Однако есть предел, выше которого высушивание уже 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 холодного хранения или заморозок 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 потенциал физиологического старения сокращается.

37. Рекомендуются выше условия длительного хранения должны обеспечивать высокое качество семян для длительных периодов, хотя конкретный срок зависит от вида; условия для среднесрочного хранения подходят для 30 лет и обычно требуют хранения в холодильной камере. Краткосрочное хранение должно обеспечивать высокое качество семян минимум в течение восьми лет и может быть получено при температуре внешней среды (по возможности, при 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 долговечность зрелых высококачественных семян разная у разных видов и даже среди навесок семян одного вида (Probert *et al.* 2009; Nagel and Barner 2009; Crawford *et al.* 2007; Walters *et al.* 2005). Разница между видами и между навесками семян одного вида, особенно если собирать семена различной степени зрелости, требует от куратора генного банка особого внимания к контролю за жизнеспособностью (см. Стандарты по контролю за жизнеспособностью).

38. Поскольку равновесная влажность зависит от масличности, наилучшим измерением для стандарта высушивания является равновесная относительная влажность (eRH), являющаяся постоянной в зависимости от относительной влажности и температуры среды высушивания. Однако необходимо заметить, что если температура хранения ниже или выше температуры высушивания, показатель RH семян в запечатанных контейнерах во время хранения будет расти или падать.

C. Технические аспекты

39. Долговечность семян определяется взаимодействием биологических факторов, присущих семени, а также качеством и постоянством среды хранения, а именно, температуры хранения и контроля за содержанием влаги в семенах (относительная равновесная влажность), также она зависит от вида. Хорошо известно, что долговечность семян, в определенных пределах, растет по мере снижения содержания влаги в семенах и температуры хранения (Ellis and Roberts, 1980; Harrington, 1972). Как показывают исследования, высушивание семян выше определенного критического уровня влажности семян практически не дает преимуществ для долговечности (Ellis *et al.* 1995; Ellis and Hong, 2006) и может даже ускорить темпы старения семян (Vertucci and Roos 1990; Walters, 1998). Предлагаемые стандарты хранения направлены на то, чтобы семена хранились при такой 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, что может существовать опасность пересушивания семян.

40. Условия высушивания, позволяющие достичь критического уровня влажности при температуре хранения, должны определяться с помощью изотерм водопоглощения, которые показывают отношения между количеством воды в семенах, выражаемой обычно в процентах от общего веса семян, и их RH. Для конкретного вида могут быть разные сочетания относительной влажности и температуры высушивания. С изотермическими отношениями, определяемыми в зависимости от масличности семян, можно ознакомиться в Интернете на веб-сайте информационной базы данных Кью о семенах (SID) (см. библиографию). Операторы генных банков должны отчетливо представлять себе отношение между относительной влажностью и температурой хранения, чтобы решить, каким должно быть наилучшее сочетание для высушивания семян.

41. Как только семена достигли желаемой влажности, они должны быть упакованы и помещены 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). Например, считается, что стеклянные контейнеры во влажных условиях могут накапливать влагу, и ламинированные пластиковые пакеты гораздо лучше, чем стекло, при условии, что семена помещаются в контейнер. В любом случае, либо стеклянные контейнеры достаточной толщины, чтобы не биться, либо ламинированная упаковка со слоем металлической фольги достаточной толщины позволяют поддерживать желаемую влажность сроком до 40 лет в зависимости от относительной влажности окружающей среды в месте расположения генного банка и от качества герметизации. Например, в Германии в генном банке используют ламинированную алюминиевую фольгу толщиной 11 μm , тогда как образцы на Свалбарде хранятся в ламинированной алюминиевой фольге толщиной 20 μm .] Необходимо периодически измерять содержание влаги в семенах или RH, чтобы убедиться в поддержании необходимой влажности в хранилище.

42. Температура хранения определяет максимально возможную долговечность образца семян, и для сохранения жизнеспособности чрезвычайно важна стабильная среда хранения. Однако данных о длительном криохраниении мало. В прошлом для длительного хранения рекомендовались -18 C , так как это самая низкая температура, которой можно добиться с помощью обычного одноступенчатого компрессора морозильной камеры. В отношении семян, помещенных на длительное хранение, необходимо прилагать все усилия для поддержания температур хранения в пределах $\pm 3\text{ C}$ от установленной температуры и ограничивать общую продолжительность колебаний за этими пределами одной неделей в году. Генным банкам надлежит вести учет отклонений температуры в хранилище и периодов, когда образцы семян изымаются из среды хранения. При кратковременном хранении семена должны сушиться при той же температуре, что и температура хранения, например, если температура внешней среды 20 C , высушивать семена необходимо при той же температуре.

D. Особые условия

43. Семена на длительном хранении следует извлекать редко и только в случае, если закончились семена на хранении средней продолжительности или семена нуждаются в мониторинге. При механическом отказе датчиков или при неоднократном извлечении семян из контролируемой среды хранения необходимые условия хранения не обеспечиваются. Необходимо наличие в помещении аварийных генераторов с достаточным запасом топлива.

44. Любые контейнеры пропускают воздух, и влажность семян постепенно уравнивается с условиями среды в хранилище. Это происходит быстрее в тех контейнерах, в которых в качестве гидроизоляционной прокладки используется термопластмасса, 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.

45. Если используются прозрачные контейнеры, для контроля за качеством контейнера в период длительного хранения можно использовать перфорированные прозрачные пластиковые пакеты-саше с силикатным гелем с самоиндикацией, находящиеся в равновесии со средой высушивания. Изменение цвета геля внутри пакета-саше (хранящегося вместе с семенами) указывает на поступление влаги, если нарушена герметизация контейнера. Ортодоксальные

семена с небольшим периодом жизни или семена низкого исходного качества в хранилище будут приходить в негодность быстрее, и не будут соответствовать стандартам длительного хранения, если не использовать криогенные условия.

Е. 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. & Roberts, E.H. 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany*, 45: 13-30.

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.

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

Gomez-Campo, C. 2006. Erosion of genetic resources within seedbanks: the role of seed containers. *Seed Science Research* 16:291-294.

Harrington, J.F. 1972. Seed storage longevity. In: T.T. Kozlowski, ed. *Seed biology, Vol. III*. pp. 145-245 Academic Press, New York, USA.

Kew Seed Information Database: predict seed viability module

(<http://data.kew.org/sid/viability/percent1.jsp>) Convert RH to water content

(<http://data.kew.org/sid/viability/mc1.jsp>) and Convert water content to RH

(<http://data.kew.org/sid/viability/rh.jsp>)

Nagel, M. & B?rner A. 2010. The longevity of crop seeds stored under ambient conditions. *Seed Science Research*, 20: 1-12. doi: 10.1017/S0960258509990213

P?rez-Garc?a, F., G?mez-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.

Smith, R.D., Dickie, J.D., Linington, S.L., Pritchard, H.W. & Probert, R.J. 2003. Seed Conservation: turning science into practice: Royal Botanic Gardens, Kew. Chapters can be downloaded from: <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/sctsip.htm> (see chapters 17 and 24).

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., Wheeler, L.J. & Stanwood, P.C. 2004. Longevity of cryogenically-stored seeds. *Cryobiology*, 48: 229-244.

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.

4.3. СТАНДАРТЫ КОНТРОЛЯ ЗА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬЮ СЕМЯН

А. Стандарты

4.3.1. Первая проверка жизнеспособности семян проводится после очистки и высушивания новых поступлений или не позднее 12 месяцев после получения образца генным банком.

4.3.2. Исходный показатель всхожести должен быть не менее 85% для большинства семян видов сельскохозяйственных культур. У некоторых конкретных образцов, а также у дикорастущих и лесных видов, которые обычно не достигают высокого уровня прорастания, подходит и более низкий процент.

4.3.3. Интервалы проверки в рамках контроля за жизнеспособностью должны устанавливаться на уровне в одну треть срока, в течение которого, как ожидается, жизнеспособность упадет до 85%¹⁴ или ниже в зависимости от вида или конкретного образца от исходной жизнеспособности, но не дольше 40 лет. Если этот период ухудшения нельзя определить оценочно, а образцы хранятся в течение длительного периода при -18°C в герметически запечатанных контейнерах, этот интервал должен составлять десять лет для видов с высокой долговечностью и пять или менее лет для видов с невысокой долговечностью.

4.3.4. Порог жизнеспособности для восстановления или иных управленческих решений, например, повторного сбора должен быть на уровне 85% или меньше в зависимости от вида или конкретных образцов от исходной жизнеспособности.

В. Контекст

46. Оптимальные условия хранения семян позволяют сохранить жизнеспособность зародышевой плазмы, но даже в превосходных условиях со временем хранения она сокращается. Поэтому необходимо периодически оценивать жизнеспособность. Проверка исходной жизнеспособности должна проводиться как можно раньше, прежде чем семена распакованы и помещены на хранение, а последующие проверки проводятся через установленные интервалы в течение срока хранения. Если по практическим соображениям, связанным с рабочими операциями и эффективностью, проверка исходной жизнеспособности не может быть проведена до помещения на хранение, она должна быть проведена как можно быстрее, но не позднее, чем через 12 месяцев после получения. Это может происходить в генных банках, хранящих различные виды, в которых существует значительный разброс в режимах всхожести и образцы одного вида проверяются все вместе раз в год.

47. Цель контроля за жизнеспособностью состоит в выявлении утраты жизнеспособности на протяжении длительного хранения прежде, чем жизнеспособность упадет ниже порогового значения для восстановления. Важным определяющим принципом является активное управление коллекцией. Слишком частый мониторинг приведет к ненужному расходу семян и ресурсов. С другой стороны, значительное снижение жизнеспособности не будет выявлено, если контроль проводится с опозданием или слишком редко; сильное старение образца может

¹⁴ 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/>)

привести к генетическим изменениям (произвольной или направленной селекции), непоправимым мутациям в образце или полной утрате образца.

48. Если жизнеспособность может упасть до 85% прежде, чем должна проводиться следующая плановая проверка, необходимо запланировать время повторной проверки, либо образец должен быть направлен непосредственно на восстановление.

49. Риск генетической эрозии в период хранения меньше для однородных образцов, и снижение прорастания до уровня ниже 85% допустимо при условии, что растение в период восстановления остается укорененным. Для неоднородных образцов, например, дикорастущих видов и местных видов, следует придерживаться стандарта в 85%. Для некоторых местных сортов, специфических образцов, дикорастущих видов и лесных видов, жизнеспособность в 85% в семенах нового пополнения редко достигается. В таких случаях куратор может установить для конкретных видов порог стандарта жизнеспособности на более низком уровне, например, в 70% или меньше.

50. Для различных сельскохозяйственных видов имеются модели для прогнозирования долговечности семян в различных условиях - от внешней среды до замораживания. Персонал генных банков должен пользоваться имеющимися инструментами прогнозирования, описанными для конкретных видов и условий хранения, чтобы оценить тот срок, в течение которого семена сохраняют высокую жизнеспособность, и определять направленность других операций генного банка, например, контроль за жизнеспособностью и частоту восстановлений (см. Стандарты контроля жизнеспособности и восстановления). Прогнозы долговечности, основанные на общевидовых особенностях, следует считать оценками с большим доверительным интервалом. Генным банкам рекомендуется разрабатывать и предоставлять новую информацию, в которой описываются и уточняются реакции различных видов на условиях хранения.

С. Технические аспекты

51. Интервалы контроля жизнеспособности следует корректировать в соответствии с данными, полученными при проверке на всхожесть. При значительном снижении, интервалы контроля надлежит сократить, чтобы «подстроить» прогноз срока для выполнения стандарта по жизнеспособности.

52. Образцы с очень высокой исходной жизнеспособностью (> 98%) могут демонстрировать статистически значительное снижение жизнеспособности задолго до прогнозируемого срока снижения жизнеспособности до 85%, когда всхожесть все еще выше 90%. Восстановление или повторный сбор в этот момент будут преждевременными и ненужными. Однако будущие сроки повторных определений необходимо приблизить (например, с десяти до пяти лет), чтобы точнее отслеживать это снижение.

53. Образцы более низкого качества могут оказаться в опасной близости от переломного момента, если жизнеспособность будет снижаться слишком быстро. С такими образцами нужно работать особенно тщательно, и первые проверки жизнеспособности должны сначала осуществляться каждые 3-5 лет хранения. Менее частые (например, раз в десять лет) проверки не позволят обнаружить стремительную деградацию, поэтому можно пропустить контрольный показатель жизнеспособности в 85%, с негативными последствиями для генетической

целостности коллекции. В этом отношении, применение статистических моделей может помочь спрогнозировать переломный момент и предсказать сроки для проведения восстановления.

54. Проверка жизнеспособности должна подсказать руководителю примерный уровень жизнеспособности образца. Цель должна заключаться в выявлении отклонения примерно в +5%, а не отклонения в +0,1%. Размеры пробы для контроля жизнеспособности будут обязательно зависеть от размера поступившего образца, но должны быть максимальными для обеспечения статистической точности. При этом необходимо свести к минимуму размер контрольного образца, чтобы избежать пустой траты семян. Семена в генном банке – ценный ресурс, и их не следует тратить попусту.

55. Установить жесткий стандарт количества семян для контроля всхожести в генных банках сложно, однако широко используются стандартные протоколы, как описано в Международной ассоциации по контролю за качеством семян. В качестве общего указания можно рекомендовать использовать 200 семян для первоначального определения всхожести (ISTA, 2008). Если первоначальная всхожесть во время хранения менее 90%, то последующая процедура проверки, предложенная Ellis *et al.* (1985), может помочь сохранить семена в последующих проверках на всхожесть во время хранения. При этом в случае, если семян немного, достаточно 100 или даже меньше семян, и определение должно проводиться повторно. Проверка на всхожесть является ориентиром для определения жизнеспособности, и даже небольшие навески семян могут дать руководителю полезную информацию. Однако на практике фактический размер образца для проращивания будет зависеть от размера поступившего образца, который обычно невелик (в генных банках, в идеальном случае, рекомендуемый минимальный размер для видов с самоопылением – 1500, а для видов с перекрестным опылением - 3000 семян). Следует свести к минимуму использование ценных семян для проращивания. В случае небольшого размера поступившего образца (как в случае дикорастущих видов) приемлемым был бы размер навески в 50 семян и менее. Однако тогда следует помнить, что в этом случае выше вероятность того, что всхожесть будет ниже пороговой. Куратор генного банка должен оценить вероятность того, что это может произойти.

56. Проверка на всхожесть должна быть всегда более предпочтительной, чем такие альтернативные варианты, как тетразолиевая проба. Однако в обстоятельствах, когда вывести семена из покоя не удастся, можно провести альтернативную проверку. 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.

57. Следует прикладывать все усилия к тому, чтобы прорастить все жизнеспособные семена в коллекции в оптимальных условиях и с использованием, когда нужно, соответствующих методов выведения из покоя. Непроросшие семена по окончании проверки на всхожесть следует препарировать, чтобы установить, мертвые это семена или семена в покое. Семена с плотной, свежей тканью, скорее всего, находятся в состоянии покоя и могут считаться жизнеспособными.

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

D. Особые условия

59. Известно, что контроль жизнеспособности требует немалых расходов, и генным банкам следует стремиться находить пути сокращения расходов. Одной из возможностей могло бы стать измерение качества семян в части поступившего образца одного и того же вида и одного и того же года урожая. Благодаря такой практике можно установить общие тенденции во влиянии сельскохозяйственного года на качество семян, но при этом не будут учитываться взаимодействия генотипа и сельскохозяйственного года, которые, как известно, важны для качества семян.

60. Когда образцы различной степени созревания отличаются различными условиями сбора, пробы можно отбирать из разных полученных при сборе подгрупп. Дополнительно можно было бы заняться повторной проверкой тех образцов, которые дали наименьший результат по жизнеспособности при первоначальном определении. Повторная проверка на этих образцах должна предупредить на раннем этапе о состоянии всей партии в целом.

61. Проверка первоначальной всхожести при сборе известных твердосемянных видов и образцов, нередко встречающихся среди некоторых кормовых видов бобовых и Дикорастущих сородичей Сельскохозяйственных Культур, может оказаться не более 45%, возрасти в последующие 10-15 лет до 95% и более и оставаться такой в течение длительного срока. Если первоначальная всхожесть менее 90%, тогда при первом признаке значительной деградации, установленной с помощью соответствующей статистической проверки, следует провести восстановление / повторный сбор.

62. Тем не менее, как известно, у большого количества образцов наблюдается внутривидовая изменчивость среди образцов, таким образом, с вышеописанными стратегиями связаны риски, которые необходимо учитывать. Контроль жизнеспособности поступлений для дикорастущих видов по сравнению с культурными обычно более проблематичен. Покой (диапауза) семян будет значительно более распространенным, а небольшой размер образцов нередко означает, что для определения всхожести придется использовать меньший размер минимальной навески, что неизбежно скажется на способности обнаружить начало деградации семян.

63. Что касается первоначального определения жизнеспособности семян, генные банки иногда получают небольшие количества семян. В таком случае нет необходимости проводить первоначальное определение жизнеспособности семян, так как семена направляются на восстановление. Однако восстановленные семена до помещения на хранение необходимо проверить на жизнеспособность.

64. Разброс типичной долговечности также больше у дикорастущих видов, при этом считается, что ряд видов из средиземноморских и тропических засушливых условий чрезвычайно долгоживущие и, наоборот, некоторые виды из холодных, умеренных регионов недолговечны. В отношении последних следует рекомендовать проводить проверки не реже одного раза в три года, а также, в качестве превентивной меры, готовить дубликаты для криохранения. Если не будут выдержаны условия хранения (что происходит в случае затянувшегося отключения электричества, при хранении семян в холодильных камерах), снижение жизнеспособности будет зависеть от вида, длительности отключения и условий во время отключения. В таких ситуациях необходимо ввести план действий на случай чрезвычайной ситуации. Например, некоторые репрезентативные образцы следует проверить сразу после восстановления требуемых условий хранения.

E. Рекомендуемая библиография

Association of Official Seed Analysts (AOSA) 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. International Board for Plant Genetic Resources. Rome, Italy.

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

ENSCONET manual: http://www.ensconet.eu/PDF/Curation_protocol_English

Harrington, J.F. 1972. Seed storage longevity. In: T.T. Kozlowski, ed. *Seed biology, Vol III*, pp.145-245, Academic Press, New York, USA.

International Seed Testing Association (ISTA). 2008. *International Rules for Seed Testing*. Bassersdorf, Switzerland.

Nagel, M. and B?rner, 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. and B?rner, A. 2010: Longevity of seeds - intraspecific differences in the Gatersleben genebank collections. *Tagungsband der 60. Jahrestagung der Vereinigung der Pflanzenz?chter und Saatgutkaufleute ?sterreichs 2009*, 179-181.

Royal Botanical Gardens, Kew Seed Information Database (SID):at <http://data.kew.org/sid/>

Smith, R.D., Dickie, J.D., Linington, S.L., Pritchard, H.W. & Probert, R.J. 2003. *Seed Conservation: turning science into practice*. Royal Botanic Gardens, Kew. Chapters can be downloaded from: <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/sctsip.htm> (see chapters 17 and 24).

4.4. СТАНДАРТЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ

A. Стандарты

4.4.1. Восстановление следует проводить тогда, когда жизнеспособность падает ниже 85% от первоначальной жизнеспособности или когда остающееся количество семян меньше, чем требуется для трех посевов репрезентативной популяции образца. Для восстановления этих поступлений следует использовать самый первоначальный образец.

4.4.2. Восстановление необходимо проводить таким образом, чтобы не нарушить генетическую целостность конкретного образца. Необходимо предпринимать специфические для вида меры по восстановлению, чтобы исключить примеси или генетическое засорение в результате потока генов в пыльце, происходящих из других образцов того же вида или из других видов вокруг полей для восстановления].

4.4.3. По возможности, по крайней мере, 50 семян оригинальных и последующих наиболее исходных образцов помещаются на длительное хранение в справочных целях.

B. Контекст

65. Восстановление – важная операция и интегральная обязанность, присущая любому генному банку, хранящему ортодоксальные семена. Это процесс, ведущий к увеличению в генном банке хранимых семян (также называется «размножением») и/или повышению жизнеспособности семян до уровня, не менее согласованного минимума, который называется порогом восстановления. Образец подвергается восстановлению, когда в нем недостаточно семян для длительного хранения (например, 1500 семян для самоопыляющихся видов и 3000 – для видов со случайным скрещиванием) или когда его жизнеспособность упала ниже установленного минимального порога (например, ниже 85% от первоначальной всхожести в находящихся на хранении семенах). Восстановление также необходимо проводить, когда исчерпан запас семян из-за частого использования образца. Если образец редко запрашивается и жизнеспособность семян нормальная, тогда количество семян до восстановления может быть менее 1000. Каждое восстановление – особенно видов со случайным скрещиванием – чревато риском утери редких аллелей или изменения генетического профиля образца. Частоту восстановлений нужно сводить к минимуму. Для редко запрашиваемых образцов или видов большего количества семян не нужно.

66. Поскольку восстановление легко может сказаться на генетическом составе образца (а значит на его генетической целостности), нужна особая осторожность. Следовательно, операторам генного банка необходимо найти тонкий баланс между как можно менее частыми восстановлениями и потенциальной утратой жизнеспособности и, как следствие, нарушением генетической целостности образца. Активная работа с коллекциями поможет решить, когда лучше всего проводить восстановление.

67. Восстановление следует осуществлять с наименьшим изменением генетической целостности соответствующего образца. Это означает, что, помимо учета требований к отбору (см. пункт ниже) соответствующего образца, нужно уделять внимание среде, в которой

осуществляется данная деятельность, так как среда может оказать серьезное селекционное давление на культуру. Считается, что среда восстановления должна быть максимально сходной с участком сбора, особенно когда восстанавливается популяция, собранная в природных условиях, чтобы свести к минимуму генетический дрейф и смещение и также получить наилучшее качество семян. Нередко возникают трудности со сбором у дикорастущих сородичей достаточного количества семян из-за низкого количества семян на растение по сравнению с другими видами, либо из-за механизма рассеивания растения, например, осыпания семян. Поэтому необходимо добиваться использования соответствующих технических приемов для сбора максимально возможного количества семян (например, сетки для улавливания падающих семян). Могут также потребоваться повторные циклы восстановления, чтобы обеспечить достаточное количество семян для сохранения. Для восстановления следует создавать благоприятные для производства семян экологические условия и свести к минимуму конкуренцию между растениями. Условия на участках первоначального сбора обычно неблагоприятны тем или иным образом для максимальной семенной продуктивности. Поэтому нужно найти компромисс между общими благоприятными условиями и теми особыми сигналами (фотопериодическими, питательными или климатическими), которые являются специфическими для местной адаптации индивидуальных образцов. Это часть искусства кураторства. Если опытный участок генного банка не обеспечивает на месте благоприятные условия, куратор должен найти средства провести восстановление в благоприятной среде; целью куратора не обязательно должно быть воспроизведение среды сбора вовсе.

68. Для сохранения генетической целостности коллекций генного банка во время восстановления семян необходимо правильно отбирать семена из коллекции. Количество семян для процесса восстановления должно быть достаточным, чтобы быть репрезентативным для генетического разнообразия в культуре, а также содержать один или более редких аллелей с определенной вероятностью.

69. Методология восстановления 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, связанной с соответствующим видом. Кроме того, когда это возможно и целесообразно, операцию по восстановлению рекомендуется использовать также и для характеристики восстановленных коллекций (см. Стандарты характеристики). Однако для видов с перекрестным опылением, по техническим причинам, использовать процесс восстановления для проведения характеристики не всегда просто.

С. Технические аспекты

70. Для сохранения генетической целостности образца для восстановления рекомендуется использовать семена из наиболее оригинального образца. Для размножения в течение пяти циклов размножения рекомендуется брать семена из рабочей коллекции без привлечения исходного образца (МИГРР, 2003).

71. Следует отметить, что в случаях, когда исходная коллекция или дар представляет собой небольшой образец, восстановить его необходимо немедленно по получении материала, чтобы добиться достаточного количества семян для длительного хранения. Следует вести учет количества восстановительных циклов и вносить эту информацию в систему документирования. Генному банку рекомендуется всегда сохранять несколько семян из исходного образца для последующего использования. Даже если эти исходные семена утратят

свою жизнеспособность, их можно использовать для подтверждения морфологии или генотипа последующих поколений соответствующего образца.

72. Размер выборки семян для восстановления должен отражать генетический состав образца. Для этого важным параметром является фактический размер популяции (N_e), от которой зависят масштабы генетического дрейфа, связанного с восстановлением образца. Этот минимальный размер N_e для сведения к минимуму утрату аллелей в конкретном образце можно рассчитать, исходя из биологии опыления и условий произрастания. Во избежании смешения семян во время посева, сбора урожая и его обработки следует применять передовой опыт в области сбора урожая. Исследования, проведенные Джонсоном и др. (2002, 2004) по восстановлению многолетних перекрестноопыляющихся видов (например, трав) показали, что для сохранения производной линии (таксона) генофонда необходимо как минимум 100 растений. Рекомендуется заготавливать от 3 до 5 соцветий от каждого растения.

73. Во избежание потока генов/засорения чрезвычайно важно пользоваться правильными методами изоляции опытных участков с восстанавливаемыми образцами видов с перекрестным опылением. Это также относится и к самоопыляющимся видам в зависимости от среды восстановления. Для видов, зависимых от специфических опылителей, следует использовать изолирующие клетки и соответствующих опылителей (Dulloo, M.E. *et al.* 2008). Загрязнение и генетический дрейф/смещение можно оценить по морфологическим, энзимным или иным отличительным чертам, которых можно использовать в качестве маркеров (например, цвет соцветия; цвет семени, т.д.), или с помощью молекулярных маркеров.

74. Справочно-информационный фонд (гербарные экземпляры, фотографии и/или описания исходных образцов) совершенно необходим для подтверждения типичности (Lehmann and Mansfeld 1957). Для сбора необходимой справочной информации нужна внимательная оценка полученных семян и после первого восстановления нового поступления в генный банк. Во избежание разницы в зрелости семян в пределах образца семян следует проводить множественный сбор урожая на протяжении периода плодоношения.

D. Особые условия

75. В роли куратора всегда будет аспект, связанный с управлением рисками. Основательные биологические знания соответствующего вида являются определяющим фактором при принятии оптимального решения в сложных условиях. Следует уделять необходимое внимание при планировании деятельности по восстановлению таким аспектам, как размер выборки, расстояние между индивидуальными образцами и иные формы изолирования образцов, соблюдение установленных пороговых значений для утраты жизнеспособности, условия произрастания и прочее.

76. Ввиду всей этой сложности не имеет смысла рассматривать возможные особые ситуации. В случае чрезвычайной ситуации будет целесообразно обратиться за советом к специалистам и/или работать совместно с другими генными банками, которые могли бы предоставить помощь.

E. Рекомендуемая библиография

- Breese, E.L.** 1989. *Regeneration and multiplication of germplasm resources in seed genebanks: the scientific background*. Available online at:
http://www2.bioversityinternational.org/publications/Web_version/209/
- 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. Proceedings of a consultation meeting*, 4-7 December 1995. ICRISAT, Hyderabad, India. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. pp.140–143.
- 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.
- Engels, J.M.M. Rao, R.** editors. 1995. Regeneration of seed crops and their wild relatives. Proceedings of a consultation meeting, 4-7 December 1995. ICRISAT, Hyderabad, India. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. pp.140–143.
- Engels, J.M.M. & Visser, L.** 2003. *A guide to effective management of germplasm collections*. IPGRI Handbooks for Genebanks No. 6. IPGRI, Rome, Italy.
- 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 Sci.* 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. Bioversity International, Rome, Italy.
- Sackville Hamilton, N.R. & Chorlton, K.H.** 1997. *Regeneration of accessions in seed collections: a decision guide*. J. Engels, ed. *Handbook for Genebanks* No. 5. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- SGRP** Crop genebank knowledge base <http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org>

4.5. СТАНДАРТЫ ХАРАКТЕРИСТИКИ

A. Стандарты

4.5.1. Около 60% образцов должны пройти характеристику в течение пяти – семи лет со времени приобретения или при первом восстановительном цикле.

4.5.2. Характеристика основана на стандартных и калиброванных форматах измерения, а данные по характеристике следуют международно-принятым перечням идентификаторов и предоставляются в открытое пользование.

B. Контекст

77. Характеристика – это описание зародышевой плазмы растения. Она определяет экспрессию признаков с высоким наследованием: от морфологических, физиологических или агрономических особенностей до содержания белка и масла в семенах или молекулярных маркерах.

78. Характеристика может проводиться на любом этапе процесса сохранения до тех пор, пока в образце достаточное количество семян. Важно, чтобы сохраняемая зародышевая плазма была известна и описана в максимальной степени, чтобы гарантировать максимальное использование селекционерами растений. Таким образом, чтобы максимально повысить ценность коллекции характеристика должна проводиться как можно раньше. Характеристике способствует использование минимального набора фенотипических физиологических и качественных признаков, а также морфологических идентификаторов и сведений о системе размножения, публикуемых, например, в «Bioversity International». Полезные идентификаторы можно также найти в публикациях Международного Союза по Охране Новых Сортов растений (UPOV), Национальной системы зародышевой плазмы растений Министерства сельского хозяйства США. Использование международно-согласованных стандартов для данных по характеристике повышает ценность публикуемых данных.

79. Характеристика позволяет выявить вариативность между образцами и внутри образца. Для обеспечения сохранения редких аллелей или улучшения доступа к определенным аллелям могут потребоваться правильные стратегии. Чрезвычайно важно документирование наблюдений и принимаемых мер.

C. Технические аспекты

80. Характеристика требует большого объема времени и затрат. Можно попытаться максимально объединить характеристику с размножением или восстановлением. Кураторам надлежит прикладывать все усилия к учету данных характеристики. При этом целесообразно способствовать применению повторения для описания высоконаследуемых признаков.

81. Особенности и признаки сельскохозяйственных культур определяются специалистами по культурам и/или кураторами по согласованию с руководителями генного банка. Большое количество перечней идентификаторов культур создано, в частности, «Bioversity International», а для ряда культур установлены также минимальные наборы основных идентификаторов для

использования. Помимо этого, существуют региональные и национальные перечни идентификаторов, например, идентификаторы Национальной системы зародышевой плазмы растений Министерства сельского хозяйства США. Учет данных должен вестись обученным персоналом с использованием откалиброванных и стандартных форматов измерений в соответствии с рекомендациями международно-согласованных и опубликованных перечней идентификаторов сельскохозяйственных культур. Данные должны проверяться куратором и сотрудниками, ответственными за документирование прежде, чем они будут внесены в базу данных генного банка и переданы в открытое пользование. Также признается, что справочные коллекции (гербарные экземпляры, гербарии семян, фотографии) играют немаловажную роль для определения типичности.

82. С достижениями в биотехнологии, для характеристик все чаще используются технологии молекулярного маркера и геномики (de Vicente, *et al.* 2004), в сочетании с фенотипическими наблюдениями, потому что они лучше всех оценивают уникальность источника изменчивости в самом образце или между образцами. Генотипические данные, полученные от характеристики зародышевой плазмы с использованием молекулярных приемов, имеют преимущества по сравнению с фенотипическими данными. Преимущества заключаются в том, что изменения обнаруженные с их помощью в значительной степени не находятся под влиянием окружающей среды (Bretting and Widrlechner 1995). Тем не менее, использование молекулярных технологий остается проблемой в некоторых институтах, так как для этого необходимы современные лабораторные условия и технические возможности, что может быть дорогостоящим (Karp *et al.*, 1997), особенно в развивающихся странах, а также в ситуациях, когда необходимо разработать заново молекулярные инструменты для конкретного генома, например, маркеры простых повторяющихся последовательностей (SSR). Имеются много маркеров и методик (например, SSR, EST- SSR, AFLP), но для целей характеристики, должны использоваться только устоявшиеся, повторяющиеся маркеры, такие как SSR. Для многих сельскохозяйственных культур был разработан широкий спектр праймеров маркеров, который подходит для их использования в характеристике, а также были созданы минимальные наборы ключевых маркеров. Для того чтобы обеспечить сопоставимость результатов различных партий анализа, некоторые образцы генных банков следует включить в качестве ссылки на каждую партию. Включение образцов ссылки в молекулярные характеристики также играет важную роль для сравнения различных генных банков.

D. Особые условия

83. Надежность данных может оказываться разной у разных специалистов, если они не имеют хорошей подготовки и опыта. Поэтому на весь период растительного цикла должен быть выделен обученный технический персонал в области генетических ресурсов растений для учета и документирования данных по характеристике. Желательно также в течение процесса характеристики советоваться с опытными специалистами по таксономии, биологии семян и патологии растений (собственными или из институтов, с которыми ведется сотрудничество).

84. Характеристика - очень трудоемкий процесс, для которого требуется достаточное финансирование, чтобы получать данные хорошего качества. Проведение полной характеристики образцов в течение циклов восстановления поможет сократить число образцов, подлежащих восстановлению за один цикл.

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

E. Рекомендуемая библиография

Alercia, A., Diulgheroff, S. & Metz, T. 2001. FAO/IPGRI. Multi-crop Passport Descriptors
[http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=2192](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=2192)

Biodiversity Crop Descriptor Lists available online at:
http://www.biodiversityinternational.org/research/conservation/sharing_information/descriptor_listshtml
and from the SGRP Crop Genebank Knowledge Base Biodiversity.

Biodiversity International. 2007. Developing crop descriptor lists, Guidelines for developers. Biodiversity Technical Bulletin No. 13. Biodiversity International, Rome, Italy. 71p. Available online at:
[http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=3070](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=3070)

de Vicente, M.C., Metz, T. & Alercia, A. 2004. *Descriptors for Genetic Marker Technologies*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 30p. Available online at:
[http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=2789](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=2789)

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

Laucou, V., Lacombe, T., Dechesne F. Siret, R., Bruno, J.P., Dessup, M., Dessup, P., Ortigosa, P., Parra, P., Roux, C., Santoni, S., Vares, D., Peros, 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 Test Guidelines - English Index: http://www.upov.int/en/publications/tg_rom/tg_index.html

4.6 СТАНДАРТЫ ОЦЕНКИ

A. Стандарты

4.6.1 Данные по оценке образцов генного банка должны быть получены для признаков, которые включены в перечень идентификаторов сельскохозяйственных культур, согласованном на международном уровне. Они должны соответствовать калиброванным и стандартизированным измерительным форматам.

4.6.2 Данные по оценке должны быть получены для как можно больше образцов, посредством проведения лабораторного, тепличного и/или полевого анализа там, где это возможно.

4.6.3 Испытания оценки должны проводиться, по крайней мере, в трех экологически разнообразных местах и данные должны быть собираться в течение как минимум трех лет.

B. Контекст

86. Оценка – это запись тех характеристик, выражение которых часто находится под воздействием факторов окружающей среды. Она включает методический сбор данных об агрономических и качественных признаках через правильно разработанные экспериментальные испытания. Данные по оценке часто включают информацию об устойчивости к вредителям, о патологии растений и оценку качества (например, содержание масла, белка) и признаки воздействия окружающей среды (засуха / устойчивость к холоду, и др.). Дополнение такой информацией позволяет сделать более сфокусированную идентификацию зародышевой плазмы для удовлетворения потенциальных потребностей клиентов. Такие данные затем должны быть включены в систему документации генного банка. Пользователи очень желают получить такие данные, так как они могут включить признаки в селекционные программы и улучшить использование коллекции. Признаки, по которым анализируются образцы зародышевой плазмы, определяются экспертами сельскохозяйственных культур с кураторами генного банка. Надежные данные по оценке, которые легко восстанавливаются селекционерами растений и исследователями, значительно облегчают доступ и использование образцов зародышевой плазмы растений. Зародышевую плазму можно систематически оценивать, используя сетевой подход на международном региональном или национальном уровне.

87. Получение данных по оценке генными банками занимает много времени и является более дорогостоящим, чем получение данных о характеристике. Кураторы должны предпринять все возможные усилия для получения записей с оценочной информацией. Одним из возможных источников являются записи об оценке, сделанные пользователями, кому были распределены семена. Генный банк должен попросить пользователя обменяться данными по оценке спустя некоторое время после того, как пользователь опубликовал результаты оценки. Следует разработать практические договоренности в этом отношении между генным банком и получателями/пользователями материала.

C. Технические аспекты

88. Широкий ряд перечней идентификаторов культур был разработан, например, Советом Международного института генетических ресурсов растений (сейчас Bioversity International) и Международным Союзом по Охране Новых Сортов Растений (UPOV). Далее, разработаны также перечни оценочных идентификаторов региональными и национальными организациями,

такими как идентификаторы Национальной Системы Зародышевой Плазмы Растений Министерства сельского хозяйства США.

89. Сбор данных должен проводиться обученным персоналом, с использованием как можно больше калиброванных и стандартизованных измерительных форматов и достаточно определенными проверочными образцами (контроли) и опубликованными перечнями идентификаторов культур. Результаты тепличных, лабораторных или полевых оценок, согласно стандартизированным протоколам и экспериментальным процедурам, обычно представлены либо как дискретные значения (например, значения серьезности симптомов заболевания; нумерация) или непрерывные значения (на основе измерения). Кураторы и работники по документации должны проверить данные до их внесения в оперативную память базы данных генного банка, и до того, как они станут общественно доступными. Во время процесса оценки желателен участие многодисциплинарных команд с экспертизой в области биологии семян и патологии растений, устойчивости к вредителям, устойчивости к окружающей среде, как из самого института, так и из других институтов. Маловероятно, что эти генные банки выполнят эти требования, и оценку образцов зародышевой плазмы лучше всего проводить вместе со специалистами селекционерами растений.

90. Многие агрономические признаки, необходимые селекционерам растений, являются генетически сложными для скрининга с целью предварительной оценки образцов зародышевой плазмы. Данные агрономических признаков обычно получаются в ходе оценки зародышевой плазмы в селекционной программе, и многие из этих признаков происходят из сильного генотипа путем взаимодействия в окружающей среде, и отсюда, они зависят от места. Важно использовать повторы для оценки желаемых признаков в различных видах окружающей среды и для четкого определения и выявления контрольных образцов, которые будут использоваться в последующие годы. Это следует проводить, по меньшей мере, в трех экологически различных местах, и в течение трех вегетационных циклов и данные будут статистически сопоставляться по годам.

91. С достижениями в биотехнологии, все чаще используются для оценки также и технологии молекулярного маркера и геномики (de Vicente, *et al.* 2004) (см. стандарты характеристики). Самые наиболее часто используемые молекулярные маркеры в характеристике и оценке зародышевой плазмы включают AFLP, SSR, и однонуклеотидный полиморфизм. Они в основном заменили более старые типы маркеров, RFLP и RAPD, ввиду их относительного избытка геномов, и высокой воспроизводимости данных. Также достижения в области секвенирования следующего поколения и сопровождающегося сокращения расходов привели к повышению использования анализа на основе секвенирования, таких как секвенирование кодирующих и некодирующих областей и генотипирование посредством секвенирования (GBS) в оценке зародышевой плазмы. Молекулярные маркеры различаются по способу выявления генетических различий, по типу данных, которые они производят, по таксономическим уровням, на которых они могут применяться надлежащим образом, и по своим техническим и финансовым требованиям. (Lidder and Sonnino, 2011). Там, где возможно выполнить маркерный отбор, т.е. отбор по наличию или отсутствию признаков селекционных материалов на молекулярном уровне, такой отбор может быть также применен для оценки зародышевой плазмы, ее признаков. Проблема нехватки адекватно обученного персонала и ресурсов в контексте высоких затрат продолжает быть препятствием для широкого принятия молекулярных маркеров как метода выбора оценки зародышевой плазмы, особенно в развивающихся странах.

D. Особые условия

92. Оценка зародышевой плазмы растений является очень трудоемкой и требует адекватных уровней устойчивого финансирования, чтобы позволить сбор надежных данных высокого качества. В ситуациях, когда проведение полной оценки всех образцов является желательным, но экономически нереальным, в качестве начальной точки рекомендуется выполнять отбор генетически различных образцов (на основе, например, предыдущее изображенных наборов коллекции зародышевой плазмы).

93. Варьирование степени распространенности вредителей и заболеваний, серьезность абиотических стрессов и колебания экологических и климатических факторов в полях влияют на точность данных. Их нужно смягчить посредством повторяющихся, многоместных, многосезонных и многолетних оценок. Также, лабораторный анализ измерений некоторых признаков, как содержание масла и белка, качества крахмала, питательные факторы, и т.д. требуют специализированного оборудования, которое не всегда имеется в наличии и может быть дорогостоящим, что опять подчеркивает необходимость участия многодисциплинарных команд из нескольких отделов организации или институтов, как потребуется.

94. Использование данных по оценке, сделанной другими источниками, может вызвать значительные практические проблемы. Например, данные могут быть представлены в различных форматах, и если они уже опубликованы, то могут вызвать проблемы авторских прав и прав на интеллектуальную собственность. Для облегчения использования данных внешних источников, важно стандартизировать сбор и анализ данных, и составить единые отчетные форматы.

E. Рекомендуемая библиография

Alercia, A., Diulgheroff, S. & Metz, T. 2001. FAO/IPGRI. Multi-crop Passport Descriptors [http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=2192](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=2192)

Biodiversity Crop Descriptor Lists available online at:

http://www.biodiversityinternational.org/research/conservation/sharing_information/descriptor_lists.html
Also available from the SGRP Crop Genebank Knowledge Base Biodiversity.

Biodiversity International. 2007. Developing crop descriptor lists, Guidelines for developers. Biodiversity Technical Bulletin No. 13. Biodiversity International, Rome, Italy. 71p. Available online at: [http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=3070](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=3070)

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

de Vicente, M.C., Metz, T. & Alercia, A. 2004. *Descriptors for Genetic Marker Technologies*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 30p. Available online at: [http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=2789](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=2789)

Karp A., Kresovich S., Bhat K.V., Ayad W.G. and Hodgkin T. 1997. Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies. IPGRI Technical Bulletin No. 2. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 47pp.

Lehmann C.O. & Mansfeld R. 1957. Zur Technik der Sortimentserhaltung. *Kulturpflanze* 5: 108-138. NPGS: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/croplist.pl>

Lidder P. and 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. <http://www.fao.org/docrep/meeting/022/mb387e.pdf>

NPGS: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/croplist.pl>

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

UPOV: http://www.upov.int/en/publications/tg_rom/tg_index.html)

4.7. СТАНДАРТЫ ДОКУМЕНТИРОВАНИЯ

А. Стандарты

4.7.1. Паспортные данные 100% образцов документируются при помощи паспортных идентификаторов культур ФАО/МИГРР.

4.7.2. Все данные и информация, которые генный банк получает в связи со всеми аспектами сохранения и использования материала, учитываются в надлежащем образом спроектированной базе данных.

В. Контекст

95. Информация об образцах совершенно необходима генному банку для управления и ведения коллекции; она также важна для осуществления обмена и предоставления потенциальным пользователям зародышевой плазмы и должна прилагаться ко всем распространяемым материалам. Паспортные данные представляют собой минимальный объем данных, которые должны иметься для каждого образца, чтобы гарантировать надлежащее управление, и для записи паспортных данных следует пользоваться такими международными стандартами, как паспортные идентификаторы разнообразных культур ФАО/МИГРР (ФАО/МИГРР, 2001). Применение международно-согласованных стандартов будет в значительной мере способствовать обмену данных.

96. За последние десять лет произошли значительные достижения в информационных технологиях и биоинформатике, и многое теперь можно найти в Интернете. Большинство генных банков также получили компьютеры и доступ к Интернету. Эта новая технология позволяет эффективно учитывать и обмениваться данными и информацией. В конечном счете, сохранению и возможности использования сохраненной зародышевой плазмы способствует правильное управление данными и информацией. Все данные и сведения, полученные в процессе приобретения, регистрации, хранения, мониторинга, восстановления, характеристики, оценки и распределения должны вноситься в надлежащую спроектированную базу данных и использоваться для улучшения сохранения и использования зародышевой плазмы. Эти данные и информация включают в себя от подробных сведений о генетических признаках конкретных образцов и популяций до распределительных сетей и их клиентов. Необходимо обеспечить наличие резервных копий системы базы данных вне генного банка.

97. Документирование данных характеристики и оценки особенно важно для расширения использования соответствующих коллекций и в помощь идентификации индивидуальных образцов.

98. Ввиду развития биотехнологий существует потребность в дополнении данных о фенотипических признаках молекулярными данными. Следует прикладывать усилия для учета молекулярных данных, получаемых благодаря геномике, протеомике и биоинформатике.

С. Технические аспекты

99. Компьютеризированные системы хранения данных и информации позволяют обеспечивать наиболее полное сохранение всей информации, связанной с управлением генным банком. Принятие стандартов данных, существующих сегодня для большинства аспектов работы с данными в генном банке, позволяет упростить управление информацией и совершенствовать использование и обмен данными. Например, для документирования паспортных данных следует использовать паспортные идентификаторы различных культур ФАО/МИГПР, так как это позволяет вести обмен данными среди разных генных банков и стран.

100. Существуют системы управления информацией о зародышевой плазме, например, информационная сеть ресурсов зародышевой плазмы GRIN-Global, GENESYS, База данных Мансфильд (IPK) и SESTO (NordGen),¹⁵ которые были специально созданы для генных банков и их потребностей в документировании и управлении информацией. Другой ИСУ зародышевой плазмы является платформа Международной информационной системы по культурам, в которой могут храниться данные о зародышевой плазме из одного или нескольких генных банков и публиковаться в Интернете с возможностями поиска, благодаря чему пользователи могут устанавливать критерии отбора зародышевой плазмы по одному или нескольким признакам, а также с учетом координат GPS для района и/или с совмещением с климатическими картами и картами почв для целенаправленного отбора зародышевой плазмы.

101. Нередко данные по оценке формируются пользователями, получающими предоставляемые семена. Генному банку следует поощрять пользователей обмениваться данными по оценке, которые затем должны включаться в систему документирования генного банка. Такая информация позволила бы решать вопросы сопротивляемости воздействию биотических и абиотических факторов, особенностей образца с точки зрения роста и развития, качественных характеристик урожайности и т.д. Добавление такого рода информации позволяет более целенаправленно заниматься идентификацией зародышевой плазмы с учетом потребностей потенциальных клиентов. Тем не менее, признается, что использование информации пользователей может оказаться затруднительным и потребовать решения вопросов охраны авторских прав, а также институциональных вопросов

Д. Особые условия

102. Отсутствие документации или ее утрата ставит под угрозу оптимальное использование семян или может даже привести к их потере. Кураторам необходимо обеспечить ведение надлежащих записей всей информации, связанной с управлением генным банком, в резервных системах документации, как часть их системы управления риском. В случае если отсутствует компьютерная система, всю важную информацию необходимо надлежащим образом задокументировать в регистрационных журналах.

¹⁵ GRIN: <http://www.ars-grin.gov/>

GENESYS: <http://www.genesys-pgr.org/>

База данных Мансфильд: http://mansfeld.ipk-gatersleben.de/pls/htmldb_pgrc/f?p=185:3:1644539197326401

SESTO: <http://www.nordgen.org/sesto/>

Е. Рекомендуемая библиография

Alercia, A., Diulgheroff, S. & Metz, T. 2001. FAO/IPGRI. Multi-crop Passport Descriptors
[http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=2192](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=2192)

de Vicente, C., Alercia, A. & Metz, T. 2004. Descriptors for Genetic Marker Technologies. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 30p. Available online at:
[http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=2789](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=2789).

ICIS International Crop Information System. <http://irri.org/knowledge/tools/international-crop-information-system>.

4.8. СТАНДАРТЫ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ И ОБМЕНА

А. Стандарты

4.8.1. Семена распределяются в соответствии с национальным законодательством и соответствующими международными договорами и конвенциями.

4.8.2 Образцы семян предоставляются вместе со всеми необходимыми документами, требуемыми страной получателя.

4.8.3 Временной интервал между получением запроса семян и отправкой семян сводится к минимуму.

4.8.4 По большинству видов предоставляется образец из минимум 30-50 жизнеспособных семян в отношении культур с достаточным количеством семян в запасе. В отношении образцов со слишком небольшим количеством семян в момент обращения с запросом и в отсутствие подходящего альтернативного образца, образец предоставляется после возобновления/размножения в ответ на повторный запрос. Для некоторых видов растений и типов исследований, в предоставляемом образце приемлемо направлять меньшее количество семян.

В. Контекст

103. Сохранение должно быть связано с использованием. Распределение зародышевой плазмы состоит в поставке репрезентативного образца семян из генного банка в ответ на запрос пользователей зародышевой плазмой растений. Постоянно растет спрос на генетические ресурсы для решения проблем, которые вызваны изменением климата, изменением степени вирулентности ведущих вредных организмов и заболеваний, а также инвазивными чужеродными видами. Этот спрос привел к более широкому признанию значения применения зародышевой плазмы из генных банков, что в конечном итоге определяет распределение зародышевой плазмы. Время между получением от пользователя запроса семян и последующим ответом и высылкой семян (вместе с соответствующей информацией) должно быть по возможности минимальным.

104. Признается различие законодательных систем относительно процессуальных правил, которые регулируют доступ к судам и к третейскому суду, и обязательств, вытекающих из международных и региональных конвенций, которые применимы к этим процессуальным правилам. Когда пользователь запрашивает образец из генного банка, он должен указать национальные требования для импорта семян, в частности, карантинные положения в их стране для избегания распространения карантинных заболеваний, обычных вредителей или инвазивных видов, которые могут сильно повлиять на национальное производство.

105. Двумя международными инструментами, которые регулируют доступ к генетическим ресурсам, являются МД ГРПСХ и КБР. МД ГРПСХ 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, с тем, чтобы в его рамках был создан запас из 64 наименований продовольственных и кормовых культур (обычно относится к культурам, указанным в Приложении 1 к Договору), которые при распространении сопровождались ССПМ. При наличии и иных моделей распределения, ССПМ может также использоваться для культур, не входящих в Приложение 1. Доступ и совместное использование выгод происходит в соответствии с Нагойским протоколом. Как МД ГРРПСХ, так и КБР подчеркивают взаимосвязь между сохранением и устойчивым использованием, наряду ускоренным доступом и совместным использованием выгод, получаемых в результате применения этих ресурсов на равноправной основе.

106. Генные банки должны стремиться предоставлять в распоряжение пользователей как можно большее количество образцов, включая связанные с ними данные. Когда запасы исчерпаны, образцы надлежит незамедлительно размножить, чтобы удовлетворять спрос со стороны пользователей. Генные банки должны способствовать доступности генетических ресурсов для различных целей, включая исследования, селекцию, образование, фермерскую деятельность и репатриацию. На международном уровне генные банки могут стать источником зародышевой плазмы местных сортов для стран, организующих собственный генный банк, либо пострадавших от катастроф, таких как пожаров, наводнений или гражданских столкновений.

107. Необходимо отметить, что минимальное количество семян для распределения зависит от вида и цели использования. Коллекции генного банка используются не только для предварительной работы и размножения, но и для исследовательской деятельности. В последнем случае, нередко достаточно всего нескольких семян.

С. Технические аспекты

108. Зародышевую плазму следует распространять таким образом, чтобы эта зародышевая плазма приходила в пункт назначения в неплохом состоянии. Условия окружающей среды во время транспортировки могут оказаться вредными для качества семян, поэтому семена необходимо тщательно упаковать и запечатать в герметичные пакеты, чтобы защитить во время перевозки.

109. Распределяемые образцы должны соответствовать требованиям стандартов качества, определяемых в настоящем документе, а также требованиям к здоровью семян в соответствии с запросом получающей страны. Распределение также должно осуществляться в соответствии с положениями национального законодательства. Пользователь либо национальные фитосанитарные органы должны сообщить о положениях национального законодательства, особенно о требованиях в отношении здоровья семян.

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

111. В числе документов, требуемых страной получателя, карантинное свидетельство, дополнительные декларации, справка о дарении, свидетельство об отсутствии коммерческой

ценности и разрешение на ввоз и прочее. Поэтому необходимо иметь и обновлять перечень документов, требуемых различными странами. Если для распространения или обмена семенами требуются дополнительные расходы (карантинные свидетельства, бюллетень Международной ассоциации по контролю за качеством семян, специальные конверты и прочее), эти расходы должны оплачиваться за счет пользователя, если иного не предусмотрено договоренностью между обеими сторонами. Серьезная проблема в международном распространении семян заключается в том, что генные банки обязаны декларировать, что та или иная болезнь не обнаружена на поле, где были выращены семена. Генные банки не могут выполнить дополнительные 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.

112. Получателю должен быть предоставлен список материалов и связанной с ним информации (как минимум, паспортные данные), вместе с тем или иным юридическим соглашением, связанным с получением доступа и применением направляемых генетических ресурсов.

113. Настоятельно рекомендуется максимально сократить время между отправкой и доставкой отгрузки. В отсутствие семян необходимо предоставить подробное описание причин, указать примерную дату, когда образец будет в наличии, а также альтернативные образцы, которые могут удовлетворять требованиям запрашивающего клиента.

114. Клиенты получатели образцов генного банка должны обеспечивать самостоятельное накопление семян для собственных потребностей в проведении опытов и экспериментов. Это особенно актуально в отношении дикорастущих видов, запасы семян которых обычно невелики, а также для параллельных полевых опытов, когда дополнительные поставки семян требуемого качества невозможны.

115. Для материала, распределяемого вне рамок Многосторонней системы Договора, распределяющему генному банку следует содействовать обратному потоку информации о полезности, поставляемой зародышевой плазмы от получателя поставщику в соответствии с условиями СПМ.

D. Особые условия

116. Политические решения или кризисные ситуации либо бюрократическая волокита могут привести к увеличению временного интервала между получением запроса семян и распределением материала. Ограничения, связанные с восстановлением и/или размножением образцов, также могут влиять на процесс распределения или задерживать его.

Е. Рекомендуемая библиография

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

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

FAO/IPGRI. 1994. Genebank Standards.

International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture (ITPGRFA):
<http://www.itpgrfa.net/International/>

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. Bioversity International, Rome, Italy.

SGRP. Crop Genebank Knowledge Base: <http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org>

Standard Material Transfer Agreement (SMTA): <http://www.itpgrfa.net/International/>

4.9. СТАНДАРТЫ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ДУБЛИКАТОВ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ СОХРАННОСТИ

A. Стандарты

4.9.1. Дубликат образца, изготовленный в целях обеспечения сохранности каждого оригинального образца, хранится в географически удаленном районе в тех же или лучших условиях, чем в основном генном банке.

4.9.2. Каждый дубликат, изготовленный в целях обеспечения сохранности, сопровождается соответствующей связанной с ним информацией.

B. Контекст

117. Изготовление дубликатов состоит в создании генетически аналогичной подвыборки основного образца в целях снижения риска частичной или полной утраты в результате природной или техногенной катастрофы. Дубликаты в целях обеспечения сохранности генетически идентичны коллекции длительного хранения и считаются вторыми после самого исходного образца (Engels and Visser, 2003). Дублирование в целях сохранности состоит из дублирования материала и связанной с ним информации, включая резервную базу данных. Дубликаты материалов в целях сохранности помещаются на длительное хранение в ином месте. Место выбирается с учетом необходимости свести к минимуму возможные риски и возможностей оптимального размещения на хранение. Для сведения к минимуму рисков, могущих возникнуть в той или иной стране, хранить дубликаты, изготовленные в целях сохранности, лучше за пределами этой страны.

118. Изготовление дубликатов в целях сохранности обычно производится по принципу «черного ящика». Это означает, что генный банк – репозиторий не имеет никаких прав на использование и распределение зародышевой плазмы. Депонирующий орган несет ответственность за то, чтобы депонируемый материал был высокого качества, за контроль за сохранением со временем жизнеспособности семян и за использование собственной основной коллекции для восстановления коллекций, когда они начинают терять жизнеспособность. Распоряжаться зародышевой плазмой без разрешения депонирующего органа нельзя, и возвращается она только по требованию, когда коллекция – оригинал была утрачена или погибла. Отозвать депонент можно также в случае замены его заново восстановленной зародышевой плазмой. При этом признается, что принцип «черного ящика» не является единственным подходом. Могут существовать обстоятельства, когда о сохранности коллекции заботится также и генный банк – получатель.

119. Изготовление дубликатов в целях сохранности должно распространяться на все исходные семена, собранные генным банком или только хранящиеся в генном банке. Однако генный банк все равно должен сохранять набор исходных образцов для облегчения доступа в целях восстановления или иных управленческих решений. Семена, являющиеся дубликатами других коллекций, обычно можно получить из таких коллекций, и они не нуждаются в дублировании при условии отсутствия сомнений в их безопасности в этой коллекции.

120. Любой механизм изготовления дубликатов в целях обеспечения сохранности требует официально подписанного юридического соглашения между депонирующим органом и получателем дубликата, в котором определена ответственность сторон и условия, на которых сохраняется материал.

~~121.~~ Такое дублирование в целях сохранности в настоящее время осуществляется в Глобальном хранилище семян на Свалбарде, архипелаг Шпицберген, в Норвегии. Учреждения, депонирующие свои семена, сохраняют права собственности, и доступ к образцам, хранящимся на Свалбарде, предоставляются только депонирующему органу.

С. Технические аспекты

122. При выборе места расположения дубликата, созданного в целях обеспечения сохранности, 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, гарантирующем надлежащий дренаж при сезонных дождях и устраняющем риск подтопления в случае поднятия уровня моря вследствие глобального потепления. Не менее важным является экономическая стабильность и общественно-политическая определенность. Как говорится в Коо *et al.* (2004), дубликаты образцов должны храниться вдали от риска политического эмбарго, военных действий или террористических актов, которые могли бы помешать международному доступу.

123. Образцы для дубликата коллекции готовятся так же, как для основной коллекции. Условия должны быть как минимум столь же строгими, как в случае длительного хранения зародышевой плазмы в генном банке, и важно качество подготовки семян (например, высушивание). В некоторых случаях прежде, чем отсылать дубликаты на безопасное хранение, полезно отсортировать материал по группам с короткоживущими, средней продолжительности и долгоживущими семенами.

124. Размер образца не должен ограничиваться каким-то конкретным минимальным количеством. Размеры образца должны быть достаточно для проведения как минимум трех восстановлений. Резерв создается не только для будущих восстановлений; он может также быть минимальной навеской для восстановления утраченного образца. «Критичный» резерв в целях сохранности с минимальным количеством семян в дополнительном месте лучше, чем всякое отсутствие запасного резерва вообще. При возможности, создаваемый в целях сохранности дубликат образца из генного банка должен содержать не менее 500 жизнеспособных семян видов с неродственным скрещиванием и неоднородных образцов с высокой степенью вариативности, и не менее 300 семян для генетически однородных образцов. В образцах семян с низкой жизнеспособностью должно быть больше семян. Температура хранения должна быть от -18°C до -20°C .

125. Для упаковки дубликатов нужен трехслойный материал, в котором средний слой из металлической фольги должен быть достаточной толщины. Он должен быть сформирован в мешок, запечатанный со всех четырех сторон без ластовицы. Это должно обеспечить достаточный влагозащитный барьер при транспортировке и хранении при -18°C как минимум на 30 лет. На каждый пакет с семенами должна быть прикреплена внешняя и внутренняя бирка для надлежащей идентификации зародышевой плазмы.

126. Поскольку условия хранения резервного дубликата должны быть такими же как условия основной коллекции или лучше, жизнеспособность семян можно контролировать по лотам семян образца, который находится в генном банке на длительном хранении, и результаты экстраполировать на резервный дубликат, при условии, если соблюдаются базовые стандарты для условий хранения и используются те же контейнеры. В некоторых случаях в отдельной коробке вместе с дубликатом можно отправлять пробы для проращивания и контролировать всхожесть по согласованию с депозитарием.

127. Наилучшим вариантом для транспортировки и хранения семян являются крепкие хладоустойчивые коробки (из плотного картона или полипропилена). Коробки должны быть герметически закрыты. Для отправки во избежание ухудшения качества семян во время перевозки следует выбрать наиболее быстрое средство перевозки либо воздушным грузовым транспортом, курьером, либо наземным средством. Образцы должны обновляться отправителем, когда жизнеспособность образцов в аналогичных условиях длительного хранения основной коллекции отправителя начинает снижаться.

D. Особые условия

128. При экстраполяции жизнеспособности запасного дубликата по результатам контроля жизнеспособности образца из основной коллекции надлежит соблюдать определенную осторожность. Семена могут стареть с разной скоростью, если между двумя хранилищами существует разница в относительной влажности внешней среды и/или отличия в степени или частоте температурных колебаний, даже если средняя температура в хранилище одинаковая.

129. При отсылке образцов в условиях запечатанного «черного ящика» могут возникнуть вопросы ответственности. Один из вопросов касается ответственности за содержимое запечатанного ящика и оформление таможенными сотрудниками и иными органами при ввозе в страну. В некоторых случаях коробки вскрываются и органами власти навешиваются специальные печати, подтверждающие, что образцы не являются медицинскими или иными запрещенными растениями. Другой вопрос связан с ответственностью учреждения получателя в случае повреждения материала или утраты им жизнеспособности в результате возможного стресса при перевозке, нарушенной герметичности контейнеров или отклонения температур от установленных стандартов. В описанных здесь условиях репозитарий дубликата, созданного в целях обеспечения безопасности, должен нести «ответственность» только в том случае, если неподконтрольной становится температура; об это должно быть незамедлительно сообщено основному учреждению, чтобы оно могло принять решение о принимаемых мерах. Основное учреждение должно нести полную ответственность за транспортные катастрофы или неконтролируемую влажность.

130. Для некоторых видов стандарты и технические аспекты сложно соблюдать из-за особенностей биологии образцов, например, короткоживущих семян или видов с крупными семенами в случаях ограниченного пространства или затратности.

Е. Рекомендуемая библиография

Engels, J.M.M. & Visser L. 2003. *A guide to effective management of germplasm collections*. IPGRI Handbooks for Genebanks No. 6. IPGRI, Rome, Italy. Available in English (1.4 MB) and Spanish (1.5 MB).

SGRP. Crop Genebank Knowledge Base. The page on safety duplication, available on line at http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=58&Itemid=207&lang=english contains detailed background documents, a list of references and a standard safety deposit agreement template.

4.10. СТАНДАРТЫ БЕЗОПАСНОСТИ И ПЕРСОНАЛА

А. Стандарты

4.10.1 В генном банке должна быть стратегия управления рисками, которая включает в себя, помимо прочего, меры на случай отключения электроэнергии, пожара, затопления и землетрясений.

4.10.2 Генный банк должен следовать местным требованиям и протоколам в области Охраны Труда и Техники Безопасности (ОТТБ), в зависимости от обстоятельств

4.10.3 Генный банк нанимает необходимый штат для выполнения всех основных обязанностей, требующихся для того, чтобы генный банк мог приобретать, сохранять и распространять зародышевую плазму в соответствии со стандартами.

В. Контекст

131. Достижение целей генного банка в отношении приобретения, сохранения и распространения зародышевой плазмы требует наличия на месте не только надлежащих процедур и оборудования для работы с зародышевой плазмой, но и должным образом обученного персонала для выполнения всей требуемой работы и гарантирования безопасности генного банка.

132. Активное управление генным банком требует хорошо подготовленного штата; чрезвычайно важно распределить обязанности среди обладающих достаточной компетентностью сотрудников. Поэтому генный банк должен иметь действующий план или стратегию в отношении персонала, а также соответствующий бюджет, чтобы гарантировать наличие минимума должным образом подготовленного персонала для выполнения ими обязанностей, позволяющих генному банку приобретать, сохранять и распределять зародышевую плазму. Желательно наличие специалистов по ряду предметных областей в зависимости от мандата и задач каждого конкретного генного банка. При этом комплектация и обучение штата будут зависеть от конкретных обстоятельств. Здоровье и полезность семян, хранящихся в генном банке, также зависят от вопросов физической защищенности и безопасности генного банка. В частности, должны быть реализованы процедуры для аварийного электроснабжения; должно быть в наличии оборудование для пожаротушения, и регулярно проверяемые здания генного банка должны быть сейсмоустойчивыми, если они расположены в сейсмически опасной зоне. Таким образом, генный банк должен вести и обеспечивать систематическое управление рисками, позволяющее решать в каждодневных условиях вопросы физических и биологических рисков, которые угрожают коллекциям и связанной с ними информации.

С. Технические аспекты

133. Штатный персонал должен пройти необходимую подготовку, получаемую в рамках сертифицированного обучения и/или обучения без отрыва от производства, и следует анализировать потребности в обучении. Персонал генного банка должен знать и быть обученным правилам техники безопасности для сведения к минимуму рисков для зародышевой плазмы.

134. Помещения генного банка должны быть сооружены таким образом, чтобы противостоять таким природным катастрофам, как ураганы, циклоны, землетрясения или наводнения, которых можно ожидать в месте постройки генного банка.

135. Помещения хранилища должны быть защищены обычными средствами защиты, такими как ограждение, системы сигнализации, защитные двери и иные системы, позволяющие защитить генный банк от взломщиков и иных нарушителей. Безопасность коллекций семян в генном банке будет усилена, если доступ непосредственно в помещения хранилища ограничить только санкционированным персоналом.

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

137. Поскольку охлаждение действительно зависит от электроснабжения, необходим надежный и достаточный источник энергоснабжения. Авария в электроснабжении может привести к полной утрате образцов генного банка. Следует предусмотреть наличие аварийного генератора, который бы включался автоматически при отключении сети основного электроснабжения. Для этого потребуется создание достаточных запасов топлива, на котором будет работать генератор во время отключений энергоснабжения.

138. В помещениях для высушивания и хранения должны быть установлены датчики контроля за температурой для отслеживания во времени фактических параметров. Следует оценить, не будет ли лучше хранить семена без охлаждения, если охлаждение в принципе ненадежно. Если для сохранения зародышевой плазмы необходимо использовать охлаждение, оно должно соответствовать стандартам, так как ненадежное охлаждение может оказаться гораздо более опасным, чем хранение без охлаждения.

139. 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 может оказаться привлекательным в ряде тропических регионов, где отсутствует риск подтопления. Однако необходимо тщательно проводить высушивание, а семена хранить в полностью герметичных ампулах.

140. В генном банке должна быть пожарная сигнализация и оборудования для пожаротушения. Большинство пожаров случаются из-за неисправной электропроводки, поэтому необходимо проводить периодические проверки электрической проводки, чтобы обеспечить соблюдение требований безопасности. В составе оборудования для пожаротушения должны быть огнетушители и противопожарные одеяла. В районах, где часто случаются грозы, генный банк должен быть оборудован громоотводом.

D. Особые условия

141. В отсутствие надлежащим образом подготовленного персонала, либо при наличии временных или других ограничений, возможным решением была бы передача части работы генного банка сторонним организациям или обращение за помощью к другим генным банкам. В случае если функции генного банка находятся под угрозой, об этом следует сообщить международному сообществу генных банков.

142. Несанкционированное проникновение на территорию генного банка может не только привести к прямой утрате материала, но и поставить под угрозу коллекцию в результате нечаянного внедрения вредителей, болезней и нарушения систем управления.

Е. Рекомендуемая библиография

Engels J.M.M. & Visser, L. 2003. *A guide to effective management of germplasm collections*. IPGRI Handbooks for Genebanks No. 6. IPGRI, Rome, Italy. На английском (1.4 MB) и испанском (1.5 MB).

SGRP. Crop Genebank Knowledge Base, Section on risk management:

http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=135&Itemid=236&lang=english.

V. СТАНДАРТЫ ПОЛЕВОГО ГЕННОГО БАНКА

5.1. СТАНДАРТЫ ВЫБОРА МЕСТОРАСПОЛОЖЕНИЯ ПОЛЕВОГО ГЕННОГО БАНКА

A. Стандарты

5.1.1 Агроэкологические условия (климат, высота, почва, дренаж) участка полевого генного банка должны такими же по возможности, как и среда, в которой собранные материалы растений выращивались или были собраны.

5.1.2 Участок полевого генного банка должен быть расположен таким образом, чтобы свести к минимуму риски природных и техногенных катастроф и опасностей, таких как вредители, болезни, ущерб, нанесенный животными, наводнения, засухи, пожары, ущерб снега и заморозков, вулканов, града, кражи или вандализма.

5.1.3 Для тех видов, которые используются для производства семян в целях распространения, участок полевого генного банка должен быть расположен таким образом, чтобы свести к минимуму риски потока генов и смешения с культурами или дикими популяциями того же вида для поддержания генетической целостности.

5.1.4 Участок полевого генного банка должен иметь гарантированную землю и должен быть достаточно большим, чтобы позволить будущее расширение коллекции.

5.1.5 Участок полевого генного банка должен быть доступен для персонала и доставки материалов и иметь легкий доступ к воде и надлежащие условия для размножения и карантина.

B. Контекст

143. Учитывая долгосрочный характер полевого генного банка, 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 генного банка, включая соответствующие агроэкологические условия для сохранения растений, природные и техногенные катастрофы, обеспеченное длительное землепользование, доступность для персонала и наличие водных ресурсов.

C. Технические аспекты

144. Растения будут расти сильными и здоровыми, если они посажены в соответствующих агроэкологических условиях. Полевой генный банк особенно уязвим к потерям, вызванным плохой адаптацией материала, который был выращен в среде, отличной от месторасположения полевого генного банка. Выбранный участок для полевого генного банка должен иметь среду и тип почвы, которые лучше всего подходят для сортов, чтобы снизить риск плохой адаптации. Одно из решений плохой адаптации является принятие децентрализованного подхода к управлению полевым генным банком, т. е. расположение в различных агроэкологических участках, а не в централизованном генном банке. Образцы схожей адаптации должны храниться вместе на участке, расположенном в агроэкологических условиях, похожих и аналогичных условиям их происхождения или близких к их естественной среде обитания. Природные условия среды происхождения могут быть смоделированы путем повышения интенсивности тени или осушения, например, для диких культур, которые выросли в естественных лесах, по сравнению с выращенными растениями, которые адаптированы к высокой интенсивности света.

145. Очень важно избегать вредителей, болезней и насекомых-переносчиков для полевых коллекций. По мере возможности, полевой генный банк должен быть расположен на участке, свободном от основных патогенных болезней и вредителей, или вдали от регионов известных инфицированием грибами и вирусами, чтобы снизить риск и расходы на управление, связанные с защитой растений, и обеспечить чистый источник материала для распространения. Почва должна быть проверена перед посадкой, чтобы убедиться, что в ней нет грибов, термитов или других паразитов, переносимых в почве, и соответствующая обработка должна быть проведена для очистки почвы перед посадкой. Если это не возможно, выбранный участок должен быть расположен на некотором расстоянии от участка одной культуры для снижения риска вызванного насекомыми-вредителями и болезнями, и больные растения должны быть удалены в рамках программы удаления из посева сортовой примеси или инородной культуры. По мере возможности, расположить коллекции в районах с жарким и сухим климатом, которые менее благоприятны для переносчиков инфекции, вредителей и болезней. Кроме того, сосредоточение большого числа растений, восприимчивых к болезням, на одном участке может серьезно поавысить риск вспышки заболеваний. Такое большое сосредоточение одного вида требует особого внимания с точки зрения заболеваний.

146. Оценка риска стихийных бедствий, таких как наводнения, пожары, снег / лед, извержения вулканов, землетрясения и ураганы является важной для обеспечения физической безопасности коллекции. Кроме того, должны учитываться физическая безопасность и потенциальные техногенные угрозы, такие как кража и вандализм. Эти характеристики следует учитывать при размещении и проектировании участка полевого генного банка для снижения потерь зародышевой плазмы (см. также стандарты безопасности).

147. Противомоскитные сетки и клетки могут быть использованы для защиты небольших растений от насекомых или птиц. Виды с перекрестным опылением, такие как фруктовые деревья с рекальцитрантными семенами или трава, которая выращивается для семян, а также растения требуют изоляции от потенциальных опылителей. Выбор места подальше от насаждения культур или диких популяций того же вида в целях избежания потока генов или засорения сорняками, имеет большое значение для обеспечения генетической целостности этих видов. Следует установить рекомендуемое расстояние изоляции, изолирующие клетки или меры контроля опыления, и необходимо их придерживаться для размножения. Информация, относящаяся к культуре и расстоянию изоляции в восстановлении образца доступна в Банке Знаний Генного Банка Растений (см. ссылки).

148. Полевой генный банк должен быть расположен в безопасном месте на основе долгосрочного соглашения, с гарантированным или официально объявленным землепользованием и финансированием, с учетом плана развития площади. История землепользования может дать информацию о вредителях или сорняках и количестве используемых удобрений. Высокое использование удобрений в предыдущие годы может повлиять на разрастание корней и клубней. Высокая остаточность удобрений, например, может препятствовать разрастанию клубней в сладком картофеле. Засуху можно избежать, если достаточное количество дождевых осадков и воды для дополнительного орошения будет включено в критерии отбора. Кроме истории землепользования рекомендуется включать меры, которые могут быть приняты для определения и коррекции физического и питательного состояния почвы. В основном это включает физический и химический анализ почвы с последующими корректирующими мерами. Районы с высоким содержанием использования калия должны быть сбалансированы дополнительным применением кальция и магния, особенно для тропических фруктовых деревьев.

149. Размер выбранного участка должен обеспечить достаточное пространство для видов, подлежащих сохранению, а также для возможного расширения в будущем, когда будет расти коллекция, особенно в случае многолетних видов. Необходимое пространство для древесных культур может быть значительным. Также достаточно места должно быть выделено для

размещения однолетних растений, которые требуют непрерывной пересадки и оборота между участками во избежании любых возможных смешений с предыдущими насаждениями, а также оборота однолетних и многолетних растений для борьбы с болезнями и управления плодородием почвы. Необходимы достаточные и надлежащие условия хранения, если надо сохранить растительный материал после сбора до следующей посадки

150. Легкий доступ к зародышевой плазме будет способствовать мониторингу и управлению растением. Участок должен быть пригодным для проведения работ и техники для мульчирования, применения удобрений и пестицидов и доступа к соответствующему круглогодичному орошению, размножению, и *in vitro* или криосохранению по мере необходимости. Необходима хорошая система безопасности для предотвращения кражи или повреждения зародышевой плазмы и сооружений

D. Особые условия

151. Когда образцы различного эколого-географического происхождения высаживаются в одном месте, кураторам полевого банка следует пристально наблюдать за репродуктивной фенологией и производством семян, определять и перемещать плохо приспособляемые образцы на возможные альтернативные участки, в теплицы, или *in vitro* во избежании генетических потерь. Специальные методы управления могут быть необходимы для некоторых образцов. Охраняемые территории, такие как теплицы, или клетки могут быть необходимы для защиты растений от хищников.

E. Рекомендуемая библиография

Anderson, C.M. 2008. Recursos genéticos y propagación de variedades comerciales de cítricos. XII Simposium Internacional de Citricultura. Tamaulipas, México. En CD.

Anderson, C.M. 2000. Citrus Germplasm Resources and their use in Argentina, Brazil, Chile, Cuba and Uruguay. Proc. IX ISC. Vol I: 123-125, Florida, USA.

Borokini, T.I., Okere, A.U., Giwa, A.O., Daramola, B.O. & Odojin, 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. <http://www.academicjournals.org/ijbc/pdf/pdf%202010/mar/borokini%20et%20al.pdf>

Crop Genebank Knowledge Base – <http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org/>

Davies, F.S. & Albrigo, L.G. 1994. Citrus. CAB International, Wallingford, UK.

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. & Ramanatha Rao, V. 2001. Establishment and management of field genebank a training manual. IPGR-APO, Serdang.

5.2. СТАНДАРТЫ ПРИОБРЕТЕНИЯ ЗАРОДЫШЕВОЙ ПЛАЗМЫ

А. Стандарты

- 5.2.1** Все образцы зародышевой плазмы, добавляемые в коллекцию генного банка, должны быть приобретены законным образом и с соответствующей технической документацией..
- 5.2.2** Все материалы семян сопровождаются, по крайней мере, минимумом связанных с ними данных согласно идентификаторам паспортов сельскохозяйственных культур ФАО/МИГРР
- 5.2.3** Семенной материал должен быть собран от здоровых растений, по мере возможности, и на соответствующем этапе зрелости, так чтобы материал был пригодным для размножения.
- 5.2.4** Период между сбором, доставкой и обработкой, а затем передачей в полевой генный банк должен быть как можно коротким, чтобы предотвратить потери и ухудшение состояния материала.
- 5.2.5** Образцы, приобретенные из других стран или регионов внутри страны, должны подлежать соответствующим карантинным процессам и удовлетворять соответствующим требованиям до их включения в коллекции.

В. Контекст

152. Приобретение - это процесс сбора или запроса таких материалов для включения в полевой генный банк, вместе с соответствующей информацией. Природа растений с рекальцитрантными семенами и растений вегетативного размножения требует особого внимания при приобретении зародышевой плазмы для хранения в полевом генном банке. Ростки, необходимые для создания полевого генного банка, могут быть в различных формах, таких как семена, черенки, клубни, клубнелуковицы, побеги, тканевая культура, привитый саженец или криосохраненный материал. Растительный материал может быть получен из существующих генных банков, научных исследований и коллекций селекционеров растений, местных сортов и культурных форм, выращенных фермерами, и из изучений растений/ экспедиций. Соответствующие национальные и международные требования должны быть учтены, такие как фитосанитарные / карантинные правила и национальные законы о доступе к генетическим ресурсам, нормы Международной системы защиты растений, МД ГРПСХ, КБР, и другие нормы, которые регулируют передвижение и приобретение зародышевой плазмы.

С. Технические аспекты

153. Соблюдение стандарта 5.2.1 позволит обеспечить безопасное передвижение зародышевой плазмы из участков коллекции внутри страны и за ее пределами на участок принимающего генного банка. Когда материал зародышевой плазмы собирается в *in situ*, важно придерживаться национальных правил, которые обычно требуют получения разрешения соответствующих национальных органов. Если материал собирается с фермерских или общинных полей, может потребоваться предварительное согласие в соответствии с национальным, региональным или международным законом. Если материал зародышевой плазмы будет экспортирован из страны, необходимо соответствующее соглашение о перевозке материала. В случае ГРПСХ, экспорт может сопровождаться ССПМ или другими подобными разрешениями в соответствии с национальными правилами доступа и совместными преимуществами. Правила получения разрешения на импорт, которые определяют фитосанитарные и любые другие требования к импорту, должны быть получены от соответствующего национального органа принимающей страны.

154. На стадии приобретения, важно убедиться в том, что паспортные данные для каждого образца являются полными. Особенно полезны географические данные, поскольку они дают точное представление о месте первоначальной коллекции и помогают определить образцы со специфичными адаптивными признаками в соответствии с агроклиматическими условиями первоначальных участков коллекции. Паспортные данные играют решающую роль в идентификации и классификации каждого образца и будут отправной точкой в выборе и использовании образцов. Соответствующие формы коллекции должны быть использованы для охвата всесторонних данных. Эти формы должны включать такую информацию, как первоначальная классификация таксономического образца, широта и долгота участка коллекции, описание ареала собранных растений, количество растений в образце и другие соответствующие данные, которые важны для надлежащего сохранения, как это предусмотрено в паспорте идентификаторе культур FAO/МИГРП (Alercia et al. 2001). Полезную дополнительную информацию как, культурные практики, методы размножения, историю и происхождение семян и использование можно получить при опросе фермеров, когда семена собираются с фермерских полей. По возможности, контрольный образец гербария, собранный из той же популяции как и образцы, должен храниться как справочная коллекция, и следует внести запись о методе и причине приобретения.

155. В случае дарения семян (от исследовательской программы или генного банка), должны быть предоставлены данные таксономической классификации, имя донора, идентификационный номер донора, а также название зародышевой плазмы в дополнение к имеющимся паспортным данным. Соответствующая информация о том, как содержалась полученная зародышевая плазма, в том числе информация о сорте или происхождении, а также информация цепи поставок, если доступна, должна быть получена от донора. Материалы должны иметь уникальный идентификационный номер (временный или постоянный, в соответствии с практикой, применяемой в генном банке), который будет связывать этот материал с паспортными данными и любыми иными собранными сведениями, а также гарантировать подлинность образца семян.

156. Хотя невозможно гарантировать, что растительный материал, собранный *in situ*, полностью здоров (без болезней и насекомых вредителей), важно, чтобы ростки собирались от растений, которые выглядят здоровыми, без болезней и вредителей или повреждения. Чистый материал, полученный из сертифицированных источников, следует хранить в теплице, чтобы предотвратить нашествие насекомых и распространение патогенов. Во время сбора сборщик должен также избегать истощения природных популяций. Не менее полезно повторить отбор образцов с конкретного участка для максимального охвата генетической изменчивости, которая может присутствовать в разные моменты времени. (Guarino et al. 1995). На стадии сбора образцов многолетних растений, размножающихся вегетативно, особенно при сборе побегов подходящих для черенкования, было бы желательно стимулировать формирование соответствующих побегов путем надреза ствола или ветвей; эти побеги могут быть собраны во время второго посещения.

157. Важно подчеркнуть, что время, затраченное на передачу подлинных генетических ресурсов с момента сбора в генный банк, имеет решающее значение. Это особенно верно для видов, которые производят рекальцитрантные семена и вегетативно размножающийся материал, не сохраняющие свою жизнеспособность в течение длительного времени, и для вегетативных побегов, которые легко портятся. В некоторых случаях материал зародышевой плазмы должен отправляться на дальние расстояния, в случаях, когда материал приобретен из других стран. Должное внимание следует обратить на период отправки, включая период транзита и обработки данных, и соответствующие меры должны быть приняты для гарантии доставки материала в хорошем состоянии в генный банк. Важно также правильно подготовить побеги (побеги, семена или черенки), чтобы улучшить жизнеспособность в течение отправки или транспортировки. Например, рекальцитрантные семена и побеги должны быть упакованы в

стерильную вату или другой подходящий материал в перфорированной пластиковой сумке, чтобы обеспечить достаточный воздухообмен. Семена должны быть защищены от повреждения механической сортировки при доставке. Для побегов, два обрезанных конца очищенных побегов должны быть упакованы с помощью пара-пленки для уменьшения потери влаги. Коллекциям, отправленным из тропических районов, нужно обеспечить высокие температуры во время транспортировки.

158. Учитывая, что полевые коллекции не могут вместить много образцов (см. стандарты для создания коллекции), размер выборки для коллекции, как правило, ограничен по сравнению с ортодоксальными семенами. Тем не менее, все попытки должны быть сделаны для максимальной коллекции в целях генетического разнообразия целевых популяций. Тем не менее, в коллекции для полевого генного банка, сборщику необходимо будет решить, как много растений в популяции может быть практически собрано. Фактическое число во многом будет зависеть от системы размножения растений, типа растения и части растений, которая будет собираться.

D. Особые условия

159. Сбор должен происходить с выполнением законодательных требований, особенно если зародышевая плазма вывозится из страны после сбора. В случае если материалы не могут быть вывезены из страны в связи с фитосанитарными нормами, должны быть предприняты усилия для создания полевых коллекций в стране происхождения и / или выращивании культур *in vitro*, которые более пригодны для экспорта. Резерв размера выборки должен быть предусмотрен для диких и редких видов, в случае если посадочный материал не будет доступен в оптимальных условиях или по количеству.

E. Рекомендуемая библиография

Alercia, A., Diulgheroff, S. & Metz, T. 2001. FAO/IPGRI. Multi-crop Passport Descriptors

[http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=2192](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=2192)

Biodiversity International, Food and Fertilizer Technology Center, 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. TARI, Fengshan, Taiwan.

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

Brown, A.H.D. & Marshall. 1975. Optimum sampling strategies in genetic resources conservation. Pp 3-80. IN: O.H. Frankel and J.H. Hawkes (eds.) Crop genetic resources for today and tomorrow. Cambridge University Press.

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

Crop genebank knowledge base. Field genebanks. Available online:

http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english

Engelmann, F. ed. 1999. Management of field and *in vitro* germplasm collections. Proceedings of a Consultation Meeting, 15-20 January 1996. CIAT, Cali, Colombia. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

FAO Forest Resources Division. 1995. Collecting woody perennials. Pp 485-511. IN: L. Guarino, V.R. Rao and R. Reid (eds.) Collecting plant genetic diversity. Technical guidelines. CABI.

- Ferreira, F. R. & Nehra, N.** 2011. Forestry Germplasm Exchange and Quarantine in Brazil. In: National Convention da Society Americam Foresters, realizada no Havai no per?odo de 02 a 06 de Novembro de 2011. <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. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy; International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy.
- Guarino, L., Ramanatha Rao, V. & Reid, R.** eds. 1995 Collecting Plant Genetic Diversity: Technical Guidelines, Wallingford: CAB International on behalf of IPGRI. In association with FAO, IUCN and UNEP, 748 pp.
- 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. IPGRI Handbooks for Genebanks No. 7, International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Said Saad, M. & Ramanatha Rao, V.** 2001. Establishment and management of field genebank a training manual. IPGR-APO, Serdang.
- Veiga, R., Ares, I., Condon, F. & Ferreira, F.R.** 2010. Intercambio seguro de recursos fitogen?ticos. In: Estrategia en los recursos fitogen?ticos para los pa?ses del Cono Sur/IICA. Montevideo: PROCISUR, IICA. p. 75-83 (ISBN 13:978-92-9248-327-2).
- Walter, B.M. & Cavalcanti, T.B.** 2005. Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal. Embrapa Recursos Gen?ticos, D.F. Brasil, 778p.

5.3. СТАНДАРТЫ СОЗДАНИЯ ПОЛЕВЫХ КОЛЛЕКЦИЙ

А. Стандарты

5.3.1 Достаточное количество растений должно храниться для охвата генетического разнообразия в образцах и для обеспечения безопасности образцов.

5.3.2 Полевой генный банк должен иметь точную карту, показывающую точное местоположение каждого образца на участке.

5.3.3 Надлежащая практика выращивания сельскохозяйственных культур должна соблюдаться с учетом микросреды, времени посадки, корневища, режима полива, борьбы с вредителями, болезнями и сорняками.

В. Контекст

160. Трудно предоставить конкретные стандарты для создания коллекции полевого генного банка. Это будет зависеть в значительной степени от характеристик видов, которые предназначены для сохранения. Стандарты для конкретных видов должны быть разработаны в зависимости от биологических особенностей видов, фенологии, репродуктивных механизмов и структуры популяции. Существуют три основных вопроса, которые должны быть приняты во внимание при создании коллекции полевого генного банка: (а) сколько растений должно храниться на образец; (б) как растения располагаются в генном банке, и (с), какая культурная практика должна быть применена для обеспечения оптимальных условий для роста образцов в коллекции.

С. Технические аспекты

161. Решение об определении количества растений на образец в полевом генном банке зависит от баланса необходимости сохранения генетического разнообразия образцов, пространства, необходимости определения характеристики и экономических условий полевого генного банка. Другая ситуация складывается в отношении однолетних и многолетних растений и семенных или вегетативно размножающихся видов. В случае видов семенного размножения, размер выборки должен быть достаточно большим, чтобы охватить генетическое разнообразие образцов. Стоит отметить, что в ходе сбора неортодоксального семенного материала, правильный метод выборки следует выбрать, чтобы определить приоритеты растений для коллекции, так как будет трудно размесить много «в рамках образцов генетического разнообразия» в коллекции полевых генных банков. Для вегетативно размножающихся видов, небольшое количество растений может представлять генетическое разнообразие в образце и обеспечивать безопасность образцов. Тем не менее, больше растений может быть необходимо в некоторых случаях, когда разнообразие в популяции больше, чем разнообразие между популяцией. Размер выборки может также зависеть от целей создания коллекции, т.е. оценки и / или распределения, которые могут определить разное количество растений на образец, по сравнению с целями сохранения.

162. В создании коллекции полевого генного банка очень важно знать, где были посажены образцы. Надлежащий план-схема и хорошо подготовленный план участка повысят эффективность использования пространства и управление коллекцией. Расположение отдельных образцов должно быть четко определено. В связи с этим, схема участка, дизайн, электронные и печатные карты, а также штрих - коды и метки полей должны быть включены на этапе создания полевых генных банков. Необходимо продумать размещение образцов в наиболее подходящей микросреде в генном банке. Некоторые растения требуют особых условий и, возможно, должны быть размещены в теплицах, для большего контроля среды (например, чтобы избежать жары или холода), либо требуют затенения другими растениями.

163. Способ роста и размер взрослого растения, а также ирригационные сооружения и доступные услуги по обслуживанию должны учитываться при расчете размера участков. Для

многолетних видов, соответствующее расстояние между растениями в пределах участка позволит обеспечить надлежащий рост отдельных растений, например, дерева, и позволит избежать смешения тех культур, которые образуют клубни на длинных подземных столонах. Кроме того, между участками должны быть физические барьеры, чтобы избежать примеси (потока генов), например, путем разделения участков с различными видами, которые не имеют перекрестного опыления. Это поможет избежать борьбу за существование, которая может привести к слабости растений или может способствовать быстрому распространению болезней и насекомых-вредителей. Инвазивные клоны могут потребовать посадки в банках, горшках или ящиках для уменьшения смешивания или борьбы за существование с менее энергичными образцами. Образцы с легко различимыми морфологиями могут быть посажены в соседних участках, в случае, когда ползучие, распространяемые луковички или семена в соседних участках могут быть проблемой. Для перекрестных видов необходимо достаточное расстояние между участками различного образца или такие меры, как изолирующие клетки для поддержания генетической целостности любых семян, собранных для распространения.

164. Следует подчеркнуть, что схема и план поля не являются постоянными, и будут меняться в зависимости от графика посадки. В случае однолетних растений необходим оборот, и это требует надлежащего планирования и дополнительного пространства. Важно также разработать схему, чтобы убедиться, что в ближайшем окружении нет никакого дрейфа пестицидов.

165. Правильно и ясно написанные метки с двумя водостойкими нестираемыми метками чрезвычайно важны в участке коллекции. Метки должны содержать следующую информацию: дату, название и номер полевой коллекции. Если возможно, должны быть использованы компьютерные метки, поскольку они снижают количество ошибок в транскрипции имен и номеров. Полевые карты (бумажные или электронный) являются необходимыми документами для полевых генных банков и резервом полевых меток, которые могут быть легко потеряны или уничтожены. Они должны быть разработаны до посадки и регулярно обновляться.

166. Создание коллекции полевого генного банка требует принятия соответствующей практики культивирования, особой для видов для обеспечения успешного роста растения в полевого генного банке. Тщательно должен быть выбран посадочный материал. Выбор только сильных растений для сохранения в полевого генного банке может снизить генетические вариации. Качество исходного посадочного материала с фитосанитарной точки зрения чрезвычайно важно при посадке новых полей или пересадки пустых участков или обновлении целых коллекции, если не будет проводиться генетический отбор. Должны быть использованы только здоровый материал и жизнеспособные части растения. Простые санитарные меры должны соблюдаться, как использование чистых дезинфицированных инструментов в подготовке посадочного материала. Нужно рассмотреть возможность индексации неочевидных заболеваний, таких как вирусы и передаваемые патогены (то есть вириды, фитоплазма и не определенные организмы) до посадки.

167. Растения должны быть посажены в нужное время. Если были разработаны рекомендации по времени посадки для различных видов из разных областей, то они должны быть соблюдены. Они должны учитывать оптимальные условия для выращивания растений, которые могут включать в себя температуру, уровень влажности, тип почвы и корневища и т.д. Для растений, размножающихся путем прививки, необходимо осторожно добраться до корневища в стандартизированной форме, чтобы сделать прививку всех образцов в нужное время. Определенные виды прививаются у корневища того же вида, или тесно связанного вида с проверенной хорошей совместимостью. В этих случаях те же корневища должны быть использованы для всех образцов данного вида. Корневища должны быть выбраны для их адаптации к почвенным характеристикам и минимального влияния на поведение привитого материала. Деревья должны быть посажены с корнями, не привитыми, за исключением случаев, когда использование корневища необходимо для предотвращения болезни или если прививка является нормальной формой выращивания видов.

168. Культуры, которые требуют перекрестного опыления, должны быть посажены в группах в день цветения. В случае раздельнополых видов, должно быть посажено подходящее количество растений мужского / женского поля. Для несовместимых видов с бесполом размножением, куратор должен знать системы несовместимости, представленные в видах и аллельной комбинации с целью сохранения хорошей полевой коллекции, и гарантии появления фруктов или семян. Важно также соблюдать культурную практику во время создания полевых коллекций.

169. Некоторые виды требуют дополнительной поддержки путем посадки теневых деревьев в соответствующем дизайне (например, кофе), которые должны быть выбраны в соответствии с местными условиями и требованиями вида. Некоторые виды растут как лианы (например, ваниль, многие бобы, тыквы и др.) и нуждаются в деревьях, деревянных палочках, проводах или других установках для правильного роста. Может необходимо будет создать специальную грядку для специальных видов (в основном те, которые из засушливого климата), например, "грядка стенд" и укрытие, чтобы укрывать от осадков в определенные периоды года. То же самое может относиться и к особым периодам затенения, орошения или наводнения и заморозок и т. д. Некоторые виды плодовых деревьев нуждаются в регулярной обрезке, чтобы придать им типичный вид и чтобы они оставались здоровыми. Для древесных культур следует поощрять практику использования корневищ остановившихся в развитии.

D. Особые условия

170. Некоторые генотипы могут не реагировать на общие методы размножения, установленные для определенных видов, и нужно провести исследование для разработки новых методов. В случае размножения растения с корневищем на участке посадки, которое требует использования близкородственных видов в качестве корневища, должен быть использован вставочный подвой.

171. Важно сохранить коллекцию, дублируемую в другом месте (см. стандарт безопасности и охрана дублирования). Некоторые генотипы, например, живущие в тени под деревьями в лесу, или восприимчивые к болезни, могут не адаптироваться хорошо к солнечным условиям в поле и, следовательно, должны быть обеспечены надлежащим укрытием. Это усугубляется нехваткой ресурсов, что приводит к двойной роли полевого генного банка (сохранение плюс улучшение сельскохозяйственных культур), что может привести к конфликтам, например, в схеме генного банка, управлении и дублировании образцов. Когда трудно поддерживать дублирование в полевом банке, возможным вариантом будет создание дубликатов в форме культур *in vitro*.

E. Рекомендуемая библиография

Crop genebank knowledge base.

http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english

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. IPGRI Handbooks for Genebanks No. 7, International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

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, n.2, 115-132.

5.4. СТАНДАРТЫ ПОЛЕВОГО УПРАВЛЕНИЯ

А. Стандарты

5.4.1 Растения и почва должны регулярно проверяться на предмет наличия вредителей и болезней.

5.4.2 Соответствующие практики культивирования, такие как внесение удобрений, орошение, подрезка, подвязывание к опорам, подвой и прополка должны быть выполнены для обеспечения удовлетворительного роста растений.

5.4.3 Генетическая идентичность каждого образца должна наблюдаться путем обеспечения надлежащей изоляции образцов, по мере необходимости, предотвращая прорастание образцов, надлежащей маркировки и картирования участков и периодической оценки образца с использованием морфологических и молекулярных методов.

В. Контекст

172. Полевое управление относится к ежедневному курированию полевой коллекции для обеспечения того, чтобы образцы растений были в хорошем состоянии, легко доступны, и имелись в наличии для использования. Это включает множество различных мероприятий, в том числе контроль над вредителями и болезнями, правильное питание растений, полив, прополка, обрезка и мониторинг образцов для обеспечения генетической целостности коллекций.

С. Технические аспекты

173. Потери зародышевой плазмы из-за плохого состояния могут быть основной причиной генетической эрозии на участке генных банков. Поддержание здоровых образцов растений в коллекции зародышевой плазмы является серьезной проблемой, особенно когда образцы собираются с обширной области, где существуют различные вредители и болезни. Образцы в коллекции также могут быть источником / фокусом вредителей и распространения болезней, если не будет должного управления. Таким образом, осуществление строгого контроля очень важно при введении растений в полевые генные банки. Кроме того, должны быть рассмотрены текущие и исторические уровни популяции насекомых и заболеваний. Тщательные проверки и записи очень важны во всех операциях борьбы с вредителями. Сроки борьбы с болезнями также имеют большое значение, так как после инфицирования растительного материала, ущерб часто необратим. Моделирование климатических сценариев и болезней может также помочь в контроле новых вредителей и болезней.

174. Насекомые-вредители и болезни включают широкий диапазон организмов, в зависимости от коллекции. Некоторые из наиболее часто распространенных вредителей зародышевой плазмы растений включают насекомых, клещи, грибки, бактерии, нематоды, вирусы, вироиды, спироплазму, фитоплазму, слизень, улитку, а также сорняки. Вегетативно размножаемые растения могут быть заражены вирусом, что приводит к ухудшению жизнеспособности, выносливости, и несовместимости прививки. Во время карантина или обслуживания, насекомые-вредители и болезни могут быть обнаружены с помощью ряда методов, включая визуальный осмотр, изоляцию чашечным методом на агаре / метод штриховой пластинки, метод с применением влажной камеры, прививки, биопробы, электронный микроскоп и диагностику растений. Последний может включать в себя иммуносорбентный ферментный анализ (ELISA), который прост в использовании, и доступен для определения заболеваний корнеплодов (маниока, картофель, свекла), фруктов (бананы, семечковые, косточковые и мягкие плоды) и овощей. Основные грибковые и бактериальные заболевания растений должны контролироваться профилактикой, или предупреждением. Наборы ДНК диагностики, также очень эффективны в обнаружении заболеваний путем анализа PCR специфических генов патогенных микроорганизмов. Желательно, чтобы сотрудники прошли подготовку в области агрономии, садоводства, вегетативного размножения и оценки патологии болезней.

175. Желательна правильная идентификация на момент поставки образцов, восприимчивых к насекомым-вредителям и болезням. Важно, чтобы участок генных банков имел систему для идентификации всех вредителей и болезней для широкого круга сельскохозяйственных культур в их коллекции. Особенно это относится к тем культурам, для которых были описаны возбудители карантина высокого риска. Генные банки также должны иметь процедуры для применения соответствующих диагностических методик, которые дают гарантии в борьбе с вредителями и болезнями, в соответствии с местными, региональными и национальными требованиями. В случаях, когда генный банк не имеет такого потенциала, эти задачи должны быть переданы в специализированные учреждения для карантина растений.

176. Персонал генного банка должен применять методы управления, которые снизят риски распространения болезней в коллекции. Необходимо, чтобы инструменты и инвентарь, почва и обувь были хорошо продезинфицированы. Комплексная борьба с вредителями является рекомендуемым подходом. Эта программа использует биологический контроль, по мере возможности, дополнив его контролем над пестицидами и механическим контролем. Очень важно проверять вегетативно размножающийся материал на наличие вирусов и других, передаваемых патогенов, так как за последние десятилетия в технологии обнаружения были значительные улучшения. Если растения инфицированы, они должны быть очищены термотерапией и / или тканевой культурой. Для того чтобы избежать дорогостоящей терапии, рекомендуется найти похожий материал из "чистых" или менее инфицированных источников.

177. Управленческий персонал полевого генного банка должен проявлять инициативу для удовлетворения индивидуальных потребностей различной зародышевой плазмы. После посадки растений на участке, сотрудники должны помогать росту растений путем обеспечения благоприятных условий для их роста. Регулярный полив растений во время сухого сезона гораздо более важен, чем их подкормка. Ирригационная система должна соответствовать типу растений и экологическим условиям, когда создана полевая коллекция. Использование удобрение в полевой коллекции осложняется тем, что различные типы растения выращиваются вместе. Каждый вид растений имеет особые потребности в питании ввиду генетических различий, размеров и возраста. Смеси удобрений могут быть использованы в небольшом количестве на одно растение, и правильный уход необходим для распределения. Небольшое количество смеси, применяемое с интервалами может быть более эффективным, чем аналогичное общее количество, применяемое с интервалом в несколько месяцев. Обрезка необходима для большинства растений, чтобы их размер был в пределах допустимых параметров и для формирования деревьев с хорошо развитой кроной. Иногда должно быть только легкое прореживание, для того чтобы ветви имели пространство для роста без чрезмерной борьбы за свет. Эта работа по формированию и прореживанию должна быть поручена опытному человеку. Ввиду важности коллекции зародышевой плазмы, работа должна быть высокого качества и полевое управление должно проводиться специально обученным персоналом.

178. Борьба с сорняками - это гораздо более серьезная проблема для молодых растений, чем для старых, ввиду мелкой корневой системы. Борьба с сорняками важна для быстрого и энергичного роста растений. С сорняками можно бороться механическими способами или использованием химических веществ (гербицидов). Гербициды применяются, чтобы свести к минимуму необходимость ручного труда и механическую обработку. Тип борьбы с сорняками должен быть рекомендован для каждого вида.

179. Для некоторых образцов необходимы другие методы защиты, такие как защита от мороза и / или града или от насекомых-переносчиков заболеваний с использованием тента или теплицы. Сбор фруктов также является важным методом борьбы с болезнями для предотвращения конкуренции с урожаем следующего года и снижения нагрузки на растение.

180. Для обеспечения генетической идентичности каждого образца следует избегать любого смешения образцов, потока генов от соседних растений и прорастание образцов. Образцы в полевой коллекции могут производить цветы и последующие семена, которые опадают, и могут расти на участке. Эти семена не размножаются из-за гетерозиготности, или могут быть

перекрестно опылены. Такие произвольные посева должны быть запрещены или удалены. Должны проводиться мониторинг и периодические проверки для гарантии того, что каждый образец правильно определен и нанесен на карту участка. Метки чрезвычайно важны и их нужно постоянно проверять на участке и сравниваться с планом участка полевого генного банка. Метки должны быть ясными, краткими и не зависеть от погоды, по мере возможности. Использование штрих - кодов или других компьютерных меток поощряется для уменьшения ошибок в написании. Определение каждого образца следует периодически проверять с использованием морфологических и молекулярных маркеров, по мере возможности (см. Стандарты характеристики).

181. Порядок содержания, как правило, связан с конкретными культурами и может варьироваться в зависимости от предполагаемого использования коллекции (сохранение, оценка, распределение). Должны наблюдаться все образцы зародышевой плазмы, однако частота наблюдения зависит от того, является ли растение травянистым (с более высокой частотой мониторинга) или древесным (реже мониторинг). Все зародышевые плазмы должны быть проверены на наличие новых вредных животных, насекомых и заболеваний, которые могут быть в коллекции зародышевой плазмы. Все зародышевые плазмы должны наблюдаться для защиты от возможного вандализма (см. стандарт безопасности).

D. Особые условия

182. Слабый опыт в борьбе с вредителями и болезнями в генных банках может быть основным ограничением для поддержания здоровых растений в коллекции, и могут быть необходимы квалифицированные фитопатологии. Генные банки должны иметь планы действий по борьбе со вспышками заболеваний. Банки должны связываться со специализированными службами по патологии растений, как национальные институты патологии растений, университетские или коммерческие лаборатории, которые могут предоставлять требуемые услуги.

183. Еще одна хорошая практика – это оборот участков посадки (где возможно, особенно для видов ежегодного размножения и многолетних растений, весьма чувствительных к болезням почвы), чтобы уменьшить сохранение вредителей почвы и болезней. Другим вариантом является дезинфекция почвы. В некоторых случаях растения могут быть выращены в питомнике, где фитосанитарные условия могут быть легче соблюдены, а затем высажены в поле, когда растения уже акклиматизированы.

184. Некоторые образцы могут быть очень ценными и уязвимыми для патогенных микроорганизмов. В таких случаях, важно хранить их в теплице, и дубликаты хранить *in vitro* или в условиях криосохранения как дополнительный резерв.

185. Ручная прополка может потребоваться, если растения будут травмированы гербицидами. Рекомендуется использовать участки для восстановления, которые не благоприятны для вредителей и развития болезней.

E. Рекомендуемая библиография

Crop genebank knowledge base.

http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english

Mathur, S.B. & Kongsdal, O. 2003. Common Laboratory Seed Health Testing Methods for Detecting Fungi. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.

Navarro, L., Civerolo, E.L., Juarez J. & Garnsey, S.M. 1989. Improving Therapy Methods for Citrus Germplasm Exchange. XI IOCV Conf: 400-408.

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

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. IPGRI Handbooks for Genebanks No. 7, International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

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* , p. 186-193. In Proc. 7th Conf. IOCV. IOCV, Riverside.

Sheppard, J.W. & Cockerell, V. 1996. ISTA PDC Handbook of Method validation for the detection of Seed-borne Pathogens. ISTA, Basserdorf, Switzerland.

Sutherland, J.R., Diekmann, M. & Berjak, P. 2002. Forest Tree Seed Health. IPGRI Technical Bulletin N° 6. International Plant Genetic Resources Institute, Rome. Available online:
http://www.bioversityinternational.org/fileadmin/bioversity/publications/pdfs/865_Forest_tree_seed_health_for_germplasm_conservation.pdf?cache=1336542152

5.5. СТАНДАРТЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ И РАЗМНОЖЕНИЯ

А. Стандарты

5.5.1 Каждый образец в полевой коллекции должен быть восстановлен, если сильные растения и / или их численность снижается до критического уровня. Восстановление осуществляется с целью достижения первоначального уровня и обеспечения разнообразия и генетической целостности.

5.5.2 Здоровый растительный материал должен быть использован для размножения.

5.5.3 Информация о циклах и процедурах восстановления растений, в том числе дата, подлинность образцов, метки и карты должны быть надлежащим образом документированы и включены в информационную систему генного банка.

В. Контекст

186. В полевой коллекции условия восстановления и размножения относятся к восстановлению образцов зародышевой плазмы, которые генетически похожи на оригинальные коллекции, в ситуациях, когда сильные растения или их численность снижается (Dulloo *et al.*, 2008). Стандарты процедур восстановления и размножения должны быть специфичны для видов. По мере доступности должны быть использованы протоколы или руководства для определенных видов. Восстановление и размножение должны быть направлены на обеспечение того, чтобы не было потерь каких-либо растений в коллекции. Тем не менее, потеря неизбежно повлечет за собой генетическую эрозию в образце, потому что, как правило, в каждом образце лишь несколько растений (см. стандарты для создания полевых коллекций, размер выборки). Восстановление и размножение – дорогостоящие процедуры, и должны быть тщательно спланированы. Они могут потребовать изменения участков для обеспечения безопасности или предотвращения болезней, вредителей и заболевания почвы.

С. Технические аспекты

187. Восстановление и размножение могут быть необходимы по целому ряду причин, в зависимости от типа растения, угроз и потребностей распространения. Вегетативная сила растения может ухудшиться или завянуть по различным причинам в силу климатических, почвенных и / или биотических факторов. Для максимальной эффективности полевой коллекции очень важно, чтобы каждое мертвое растение заменялось. Это особенно важно, так как количество растений на образец низкое в полевой коллекций (см. стандарты создания полевой коллекции).

188. Важным фактором является метод размножения целевого вида. Некоторые виды размножаются семенами, в то время как другие виды размножаются вегетативно. В принципе, семена не должны быть использованы для размножения в полевой коллекции, даже если виды могут размножаться семенами, если достаточно большое количество растений не представляют численность популяции. Цель восстановления заключается в поддержании генетической целостности образца, и, учитывая, что существует лишь ограниченное число растений в образце, размножение путем семян может привести к значительным генетическим дрейфам в образце. Кроме того, в видах поперечного опыления гибридизация между образцами может снижать генетические расхождения между образцами и изменять целостность отдельных образцов. По мере возможности, растения должны размножаться вегетативно и каждое потомство будет являться точной копией родителя и, следовательно, генетическая целостность образца будет сохранена.

189. Время восстановления является еще одним важным фактором, который часто зависит от климата и сезона посева культур. ФАО опубликовала серию календарей

сельскохозяйственных культур для Латинской Америки и Африки (ФАО, 2004, 2012), которые могут быть полезным руководством в определении подходящего времени для посадки и, следовательно, для восстановления. Календари ФАО предоставляют информацию для более 130 культур, в 283 агроэкологических зонах из 44 стран. Опять же сроки будут варьироваться в зависимости от видов и, возможно, участка. Лучше всего начинать размножение тогда, когда ростки начинают прорастать, или основное растение начинает погибать. Другой вопрос состоит в том, будет ли коллекция давать новые ростки, смогут ли побеги производить новый урожай, как в случае с ароидами (Джексон, 2008).

190. В размножении следует использовать здоровый растительный материал. При возможности, новое растение должно быть восстановлено с использованием посадочного материала, хранящегося в специальных помещениях (теплицах, *in vitro*, или морозильной камере) для обеспечения его здорового состояния. Должны быть использованы доступные протоколы или руководства в отношении определенных видов. Восстановление образцов перекрестных видов должно проводиться в изоляции с помощью специальных средств и защиты от сорняков, вредителей и болезней.

191. Важно, чтобы вся информация, относящаяся к восстановлению образцов, была надлежащим образом документирована и включена в систему документации генного банка. Информация должна включать количество образцов и растений в каждом образце, место восстановления, тип размножения и используемый материал (черенки, клубни, клубнелуковицы, луковицы), дату посадки, выживаемость материала для размножения, протокол нарушения покоя семян, используемые методы управления, метод посадки, полевые условия, количество выращенных растений и дату сбора урожая.

D. Особые условия

192. Климатические факторы могут быть более пагубны для молодых растений, чем старых. Поскольку некоторые растения могут быть потеряны в первый год по различным причинам, разумно при посадке сохранить некоторые растения для использования в качестве замены, если потребуется. Это обеспечивает наличие растений одного и того же типа и возраста, как и оригинал, для замены потерянных растений.

193. Полевые коллекции чрезвычайно уязвимы к климатическим и другим экологическим нарушениям, и очень важно для полевых генных банков иметь резервный план для срочного восстановления коллекции. Безопасный резерв может храниться *in vitro* или в условиях криосохранения в качестве дополнительной меры. Непредвиденные обстоятельства могут возникнуть и с дикими родственниками культур и местными видами, для которых протоколы восстановления еще не разработаны. Они могут часто потребовать другие методы ухода, чем культивированные родственники.

E. Рекомендуемая библиография

Costa, N., Plata, M.I. & Anderson, C. 2004. Plantas c?tricas libres de enfermedades. En: Biotecnolog?a y Mejoramiento vegetal. V. Echenique, C. Rubistein; L. Mroginski (eds). Cap 7: 317-318. Ediciones INTA. Argentina.

Crop genebank knowledge base.

http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english

Dulloo, M.E., Thormann, I., Jorge, A.M. & Hanson J. eds. 2008. Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme (SGRP), Rome, Italy. (CD-ROM)

- ICRISAT.** Online. Germplasm regeneration. <http://www.icrisat.org/what-we-do/genebank/genebank-manual/germplasm-regeneration-9.pdf>
- FAO.** 2004. Calendario de cultivos. Am?rica Latina y el Caribe. Estudio FAO producci?n y protecci?n vegetal, No 186.
- FAO.** 2012. Crop calenders. <http://www.fao.org/agriculture/seed/cropcalendar/welcome.do>
- Jackson G.V.H.** 2008. Regeneration guidelines: major aroids. In: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M.A. and Hanson J., editors. Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme, Rome, Italy. 16 pp.
- Plata, M.I. & Anderson, C.M. 2008. *In vitro* Blueberry (*Vaccinium* spp.) Germplasm management in Argentina. 9th International Vaccinium Symposium, ISHS, Corvallis, OR, USA.
- Sackville Hamilton, H.R. & Chorlton, K.H.** 1997. Regeneration of accessions in seed collection: a decision guide. Handbook for genebanks No 5. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

5.6. СТАНДАРТЫ ХАРАКТЕРИСТИКИ

А. Стандарты

5.6.1 Все образцы должны быть охарактеризованы.

5.6.2 Для каждого образца представительное число растений должно быть использовано для характеристики.

5.6.3 Образцы должны быть охарактеризованы морфологически с использованием международно-принятого перечня идентификаторов, где это возможно. Молекулярные инструменты также важны для подтверждения идентификации образца и чистоты вида.

5.6.4 Характеристика основана на форматах записи, как это предусмотрено в международно-принятых идентификаторах.

В. Контекст

194. Характеристика – это описание зародышевой плазмы растения, а также инструмент для описания и отпечатка образцов, подтверждение их чистоты вида, и идентификация дубликатов в коллекции. Она определяет экспрессию признаков с высоким наследованием: от морфологических, физиологических или агрономических особенностей, включая агроботанические признаки, такие как высота растений, морфология листьев, окраской цветков, характеристики семян, фенология, и зимующие способности многолетних растений. Это важная информация для кураторов в проведении различия между образцами в коллекции.

195. Для полевых коллекций, характеристика может проводиться на любом этапе процесса сохранения. Тем не менее, важно, чтобы образцы, подлежащие сохранению, были известны и описаны в максимальной степени, чтобы гарантировать максимальное использование клиентами и заинтересованными сторонами. Таким образом, чтобы максимально повысить ценность коллекции характеристика должна проводиться как можно раньше. Время будет меняться в зависимости от вида и их жизненного цикла. Использование минимального набора фенотипических физиологических и морфологических идентификаторов и сведений о системе размножения, выбранные из международно-согласованного перечня идентификаторов, (например, публикуемых в «Biodiversity International», UPOV или в Национальной системе зародышевой плазмы растений США) повышает ценность данных по характеристике.

196. С достижениями в области биотехнологий, для характеристики все чаще используется технологии молекулярных маркеров и геномики (de Vicente, *et al.* 2004). Характеристика позволит провести характеристику соответствия типу, выявить дрейф генов и установить профиль ссылки, определяя неправильные маркировки и дублирование, выявляя многообразие внутри образца и среди образцов и коэффициент родства. Для обеспечения сохранения редких аллелей или улучшения доступа к определенным аллелям могут потребоваться такие средства, как дробление образцов. Чрезвычайно важно документирование наблюдений и принимаемых мер

С. Технические аспекты

197. В отличие от коллекций семян, фенотипическая характеристика полевых коллекций легче в выполнении, учитывая, что растения находятся в поле, учет соответствующих признаков для определения характеристик может быть осуществлен в надлежащее время и повторен через определенное количество лет.

198. Некоторые соответствующие данные характеристик могут быть получены при сборе в поле, так что время для сбора экспедиции должно быть тщательно спланировано, по мере возможности. Образцы могут быть охарактеризованы в поле, во время коллекции. Историческая и культурная информация, полученная от фермеров, ботаников, садоводов, или местных людей во время экспедиций по коллекции, как правило, ценная. Местные знания о происхождении образца и болезнях и сопротивление насекомым могут уменьшить затраты характеристики и ограничить дублирование.

199. Идентификаторы для сельскохозяйственных культур определяются экспертами и / или кураторами в консультации с экспертами и менеджерами генного банка для соответствия, чтобы расширить использование коллекции. Широкий диапазон перечня идентификаторов культур был разработан (например, «Biodiversity International», UPOV, OIV или в Национальной системе зародышевой плазмы растений США), а также, минимальный набор ключевых идентификаторов для использования был создан для нескольких культур. Учет данных должен вестись обученным персоналом с использованием стандартных и калиброванных форматов измерений, как указано в списках идентификаторов. Данные должны проверяться куратором и сотрудниками, ответственными за документирование прежде, чем они будут внесены в базу данных генного банка и переданы в открытое пользование для содействия использованию коллекции. Также признается, что справочные коллекции, посаженные в той же области должны учитывать свойства. Справочные коллекции (образцы гербариев, изображения высокого качества) играют немаловажную роль для подлинной идентификации типа.

200. Число растений, характеризующихся в образцах, должно быть репрезентативной выборкой, которая, в свою очередь зависит от ее разнообразия. В общем, должно быть не менее 3 растения для различных образцов, в то время как для клонируемых культур 1-2 достаточно¹⁶ для надежных статистически измерений. Для видов, склонных к мутации (например, цитрусовые), годовые характеристики для ключевых свойств нужно осуществлять для проверки типичности.

201. С достижениями в области биотехнологий, технологии молекулярных маркеров и геномики все чаще используются для характеристики (de Vicente, *et al.* 2004), в сочетании с фенотипическими технологиями, потому что они имеют преимущества по обеспечению идентичности клонируемых культур, выявлению неправильной маркировки и дублирование, выявлению генетического разнообразия и родства внутри и между образцами. Генотипические данные, полученные от характеристики зародышевой плазмы, с использованием молекулярных методов, имеют преимущество перед фенотипическими данными, в которых изменения, обнаруженные с помощью предыдущих, в значительной степени лишены влияния окружающей среды (Bretting и Widrechner 1995). Технологии развиваются быстро и затраты также быстро снижаются, что позволяет более широко применять их в области коллекций, и должны быть использованы когда ресурсы смогут это позволить. Тем не менее, нехватка адекватного квалифицированного персонала и нехватка ресурсов для относительно высоких затрат установки продолжают препятствовать широкому распространению молекулярных маркеров в качестве выбранного метода для характеристики зародышевой плазмы особенно в развивающихся странах. Существует много маркеров и доступных методов (например, SSR, EST- SSR, AFLP), но для целей характеристики, только надежные, проверенные маркеры, такие как SSR, должны быть использованы. Для многих культур был разработан широкий спектр маркеров праймеров, подходящих для их использования в характеристике, также был создан минимальный набор ключевых маркеров. Для того чтобы убедиться, что результаты анализов различных серий проб являются сопоставимыми, некоторые образцы генных банков должны быть включены в качестве ссылки на каждую пробу. Включение справочных образцов

16

http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=47&Itemid=205&lang=en
[glish](#)

в молекулярную характеристику также играет важную роль для сравнения различных генных банков.

202. Один из самых современных методов, используемых в улучшении видов деревьев, это полногеномный отбор (Grattapaglia and Resende, 2011; Fonseca *et al.*, 2010). Этот отбор требует использования молекулярных маркеров, которые позволяют широкий охват генома и высокую плотность генотипирования. Хотя этот метод применяется для улучшения, полученная информация может быть использована для характеристики и сохранения новых образцов или высококачественных генотипов.

D. Особые условия

203. Надежность данных может оказываться разной в зависимости от сборщиков данных, и зависит от подготовки и опыта. Таким образом, обученные и опытные специалисты в области генетических ресурсов растений должны быть доступны в течение всего цикла роста для учета и документирования данных характеристики. В процессе характеристики желательно получить доступ к специалистам в области таксономии, биологии семян, патологии растений и молекулярной характеристики (штатных или из числа сотрудничающих институтов). Если для каких-либо культур не существуют никаких международно-согласованных перечней идентификаторов, необходимо будет их разработать, используя доступные перечни идентификаторов для соответствующих культур или видов, как ссылки.

E. Рекомендуемая библиография

Alercia, A., Diulgheroff, S. & Metz, T. 2001. FAO/IPGRI. Multi-crop Passport Descriptors

[http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=2192](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=2192)

Biodiversity International. 2007 List of crop descriptors published.

http://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/biodiversityDocs/Research/Conservation/Sharing%20Plant%20Information/Descriptor_lists/LIST_OF_CROP_DESCRIPTOR_PUBLISHED.pdf

Biodiversity International. 2007. Developing crop descriptor lists, guidelines for developers.

Biodiversity Technical Bulletin no. 13. Available online:

[http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=3070](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=3070)

Biodiversity International. Descriptor lists and derived standards.

<http://www.biodiversityinternational.org/?id=3737>

Crop genebank knowledge base.

http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=97&Itemid=203&lang=english

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

International Plant Genetic Resources Institute, Rome Italy.

Engels, J.M.M. & Visser, L. eds. 2003. *A guide to effective management of germplasm collections.*

IPGRI Handbooks for Genebanks No. 6. IPGRI, Rome, Italy.

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., Guimar?es, L.M.S., Assis, T.F. & Grattapaglia, D. 2010, Manual pr?tico de melhoramento gen?tico do eucalipto, UFV, Vi?osa, MG.

Grattapaglia, D. & Resende, M.D.V. 2011, Genomic selection in forest tree breeding. *Tree Genetics & Genomes* (Print), 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. Bioversity International, Rome, Italy.

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

OIV. 2009: OIV descriptor list for grape varieties and *Vitis* species (2nd edition). Organisation International de la Vigne et du Vin, 18 rue d'Aguesseau, 75008 Paris, France.

UPOV Descriptor lists. http://www.upov.int/test_guidelines/en/list.jsp

USDA/ARS/GRIN. Evaluation/characterization Data Queries <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/croplist.pl>

5.7. СТАНДАРТЫ ОЦЕНКИ

А. Стандарты

5.7.1 Данные по оценке образцов генного банка должны быть получены по представляющим интерес признакам, в соответствии с международным идентификатором паспортов культур, если таковые имеются.

5.7.2 Методы/протоколы, форматы и статистические измерения оценки должны быть задокументированы должным образом с прилагаемым списком материалов. Сбор данных должен производиться в соответствии со стандартом хранения данных.

5.7.3 Данные оценки должны быть соответствующим образом продублированы (своевременно на месте) на основе точных статистических расчетов.

В. Контекст

204. Оценка – это запись тех характеристик, выражение которых часто находится под воздействием факторов окружающей среды. Она включает методический сбор данных об агрономических и качественных признаках через правильно разработанные экспериментальные испытания. Данные по оценке часто включают информацию об устойчивости к вредителям, о патологии растений и оценку качества (например, содержание масла, белка и сахара, мм. плотность) и признаки воздействия окружающей среды (засуха / устойчивость к холоду, и др.). Пользователи желают получить такие данные, так как они могут включить признаки в селекционные программы и улучшить использование коллекции. Признаки, по которым анализируются образцы зародышевой плазмы, определяются экспертами сельскохозяйственных культур с кураторами генного банка. Надежные данные по оценке, которые легко восстанавливаются селекционерами растений и исследователями, значительно облегчают доступ и использование образцов зародышевой плазмы растений. Зародышевую плазму можно систематически оценивать, используя сетевой подход на международном региональном или национальном уровне

205. Получение данных по оценке генными банками занимает много времени и является более дорогостоящим, чем получение данных о характеристике. Таким образом, приоритет в проведении оценки следует отдавать образцам, обладающим выдающимися характеристиками, и при проведении оценки рекомендуется сотрудничество с селекционерами растений и другими специалистами (вирусологами, энтомологами, микологами). Кураторы должны предпринять все возможные усилия для получения, по крайней мере, минимальных записей с оценочной информацией. Одним из возможных источников являются записи об оценке, сделанные пользователями, кому были распределены семена. Генный банк должен попросить пользователя обменяться данными по оценке, для чего должны быть выработаны практические мероприятия по обмену между генным банком и получателями/пользователями материала. Такая информация могла бы решить вопросы устойчивости к биотическим и абиотическим факторам стресса, особенности роста и развития зародышевой плазмы, характеристики качества урожая и т.д. Включение такого рода информации в базу данных генных банков позволяет более целенаправленно идентифицировать зародышевую плазму для удовлетворения потенциальных потребностей клиентов. Такие данные должны быть включены в документацию системы генного банка после соответствующей проверки и подтверждения.

C. Технические аспекты

206. Широкий ряд перечней идентификаторов культур был разработан, например, Советом Международного института генетических ресурсов растений, например, Bioversity International и Международным Союзом по Охране Новых Сортов Растений (UPOV). Далее, разработаны также перечни оценочных идентификаторов региональными и национальными организациями, такими как идентификаторы Национальной Системы Зародышевой Плазмы Растений США

207. Сбор данных должен проводиться обученным персоналом, с использованием как можно больше калиброванных и стандартизованных измерительных форматов и достаточно определенными проверочными образцами и опубликованными перечнями идентификаторов культур. Результаты тепличных, лабораторных или полевых оценок, согласно стандартизированным протоколам и экспериментальным процедурам, обычно представлены либо как дискретные значения (например, значения серьезности симптомов заболевания; нумерация) или непрерывные значения (на основе измерения). Кураторы и работники по документации должны проверить данные до их внесения в оперативную память базы данных генного банка, и до того, как они станут общественно доступными.

208. Многие агрономические признаки, необходимые селекционерам растений, являются генетически сложными для скрининга с целью получения предварительной оценки образцов зародышевой плазмы. Данные агрономических признаков обычно получаются в ходе оценки зародышевой плазмы в селекционной программе, и многие из этих признаков происходят из сильного генотипа путем взаимодействия в окружающей среде, и отсюда, они зависят от места. Важно использовать повторы для оценки желаемых признаков в различных видах окружающей среды и для четкого определения и выявления контрольных образцов, которые будут использоваться в последующие годы. Контрольные образцы облегчают сравнительный анализ через несколько лет после сбора данных.

209. С достижениями в биотехнологии, все чаще используются для оценки также и технологии молекулярного маркера и геномики (de Vicente, *et al.* 2004) (см. стандарты характеристики). Самые наиболее часто используемые молекулярные маркеры в характеристике и оценке зародышевой плазмы включают AFLP, SSR, и однонуклеотидный полиморфизм. Они в основном заменили более старые типы маркеров, RFLP и RAPD, ввиду их относительного избытка геномов, и высокой воспроизводимости данных. Также достижения в области секвенирования следующего поколения и сопровождающегося сокращения расходов привели к более широкому использованию количественного анализа *in vitro* на основе секвенирования, как например секвенирование маркированных и не маркированных участков и генотипирование методом секвенирования (GBS) при оценке зародышевой плазмы. Молекулярные маркеры различаются по способу выявления генетических различий, по типу данных, которые они производят, по таксономическим уровням, на которых они могут применяться надлежащим образом, и по своим техническим и финансовым требованиям. (Lidder and Sonnino, 2011). Для оценки интересующих признаков зародышевой плазмы при возможности также может применяться Отбор при помощи маркеров, то есть отбор наличия или отсутствия признаков в селекционном материале на молекулярном уровне. Недостаток квалифицированного персонала и отсутствие ресурсов для покрытия относительно высоких расходов на подготовительные операции по-прежнему не позволяет широкое внедрение молекулярных маркеров в качестве метода выбора оценки зародышевой плазмы, особенно в развивающихся странах.

D. Особые условия

210. Надежность данных может различаться между сборщиками данных в случае отсутствия у них подготовки и опыта, а также при отсутствии согласованных процедур сбора данных.

Следовательно, в области генетических ресурсов растений необходимо наличие квалифицированного технического персонала для сбора и документирования данных оценки. В процессе оценки желателен участие многодисциплинарных групп с опытом работы в области патологии растений, энтомологии и экологической (абиотической) устойчивости к стрессу, как из своих, так и из сотрудничающих институтов.

211. Оценка зародышевой плазмы растений является очень трудоемкой и требует адекватных уровней устойчивого финансирования, чтобы позволить сбор надежных данных высокого качества. В ситуациях, когда проведение полной оценки всех образцов желателен, но экономически нереально, в качестве начальной точки рекомендуется отбор генетически различных образцов (на основе, например, ранее изображенных наборов коллекции зародышевой плазмы).

212. Варьирование степени распространенности вредителей и заболеваний, серьезность абиотических стрессов и колебания экологических и климатических факторов в полях влияют на точность данных. Их нужно смягчить посредством повторяющихся, многоместных многосезонных и многолетних оценок на многих участках. Также, лабораторный анализ измерений некоторых признаков, как содержание масла и белка, качества крахмала, питательные факторы, требуют специализированного оборудования и квалифицированных сотрудников, которые не всегда имеются в наличии или могут быть дорогостоящими. Это еще раз подчеркивает необходимость в некоторых случаях участия многодисциплинарных команд из нескольких отделов организации или институтов. Оценка санитарного статуса (вирусов) образцов может показывать частоту заболеваемости и также морфологические описания.

213. Использование данных по оценке, сделанной другими источниками, может вызвать значительные практические проблемы. Например, данные могут быть представлены в различных форматах, и если они уже опубликованы, то могут вызвать проблемы авторских прав и прав на интеллектуальную собственность. Для облегчения использования данных внешних источников, важно стандартизировать сбор и анализ данных, и составить единые отчетные форматы.

214. Следует отметить, что многие признаки могут соответствующим образом оцениваться в рамках самого генного банка на образцах, посаженных на полях. Однако, стрессы, представляющие риск для коллекции и которые могут привести к потере образцов, если их не контролировать, должны оцениваться по отдельным, специально разработанным признакам. Например, серьезные насекомые - вредители и заболевания или проблемы почвы. Часто, полевые коллекции не являются подходящим местом для оценки урожайности или качества ввиду несоответствующего плана земельного участка или ввиду необходимости оставлять растения в грунте после сбора урожая

Е. 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. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 137pp.

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

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

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. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 47pp.

5.8. СТАНДАРТЫ ДОКУМЕНТИРОВАНИЯ

A. Стандарты

5.8.1 Паспортные данные всех образцов документируются при помощи паспортных идентификаторов культур ФАО/МИГРР. Кроме того, информация об образцах должна также включать данные инвентаризации, карту и план земельного участка, обновления, характеристику, оценку, заказы, данные о распространении и отзывы пользователей.

5.8.2 Процессы полевого управления и практики культивирования следует записывать и документировать.

5.8.3 Данные, указанные в пунктах 5.8.1. и 5.8.2, должны сохраняться и изменения вноситься в соответствующую базу данных системы и принятые международные стандарты данных.

B. Контекст

215. Полная информация об образцах, включая регулярно обновляемые и подробные полевые карты, а также информация об агротехнических приемах имеют большое значение для полевых генных банков в управлении и поддержании своих полевых коллекций. Документация по характеристикам и данным оценки имеет особое значение для расширения использования соответствующих коллекций и помощи в идентификации отдельных образцов.

C. Технические аспекты

216. Все данные и информацию, получаемые на протяжении всего процесса приобретения, создания коллекции, полевого управления, восстановления, а также характеристики, оценки и распространение следует внести в отчет. Такие данные и информация варьируется от деталей генетических характеристик индивидуальных образцов и популяций до сетей распределения, клиентов и обратной связи с пользователями. Виды данных, зарегистрированных в генных банках, помимо паспортных данных и стандартных идентификаторов паспортов культур, включают каталоги растений, визуальные свидетельства (фотографии, рисунки), даты посадки и сбора урожая и примечания по истории проверки (идентификации).

217. При документировании паспортных данных следует применять перечень идентификаторов паспортов сельскохозяйственных культур ФАО/МИГРР (Alercia *et al.*, 2011), поскольку они являются действенными средствами обмена данными между различными генными банками и странами. Следует использовать стандарты документирования характеристик данных, таких как идентификаторы культур «Bioversity International», а также идентификаторы генетических маркеров (de Vicente *et al.*, 2004). С прогрессом в области биотехнологии существует необходимость дополнения данных фенотипических признаков молекулярными данными. Следует направить усилия на регистрацию молекулярных данных, полученных методами геномики, протеомики, метаболомики и биоинформатики.

218. Для хорошего управления полевыми коллекциями огромное значение имеет ведение записей об агротехнических приемах, включающие ежедневные мероприятия. Для правильно составленной документации чрезвычайно важны записи полевых карт хорошего качества (в печатной и электронной форме). Старые карты следует сохранить и проставить на них дату и использовать для справочной работы

219. Для качественного управления образцами различных видов необходимо применение различных практик культивирования, которые следует тщательно документировать для обеспечения их постоянного применения с течением времени и соответствующего обращения с образцами.

220. Большинство генных банков имеют теперь доступ к компьютеру и Интернету. Компьютерные системы для хранения данных и информации позволяют объемное хранение всей информации, связанной с управлением полевых коллекций. Системы управления информацией о зародышевой плазме, такая как GRIN-Global, разработаны специально для универсального управления документацией и информацией генных банков. Принятие стандартов данных, которые сегодня существуют для большинства аспектов управления данными генных банков, облегчает управление информацией и улучшает использование данных и обмена ими. Обмен информацией об образцах и ее общедоступность для потенциальных пользователей зародышевой плазмы имеет большое значение для облегчения и поддержки использования коллекций. И, наконец, качественное управление данными и информацией содействует хранению и удобству использования сохраненной зародышевой плазмы.

221. Все данные должны быть сохранены. Они должны также регулярно дублироваться и храниться в отдаленном месте для защиты от пожаров, сбоя компьютера и т.д. (см. Стандарты сохранности и безопасности). Полезно вести письменные записи основных паспортных данных и распечатанные копии полевых карт.

D. Особые условия

222. Отсутствие документации или ее утрата, потеря полевых карт или меток ставит под угрозу оптимальное использование зародышевой плазмы или может даже привести к ее потере, если это препятствует надлежащему управлению и восстановлению.

223. Отсутствие надлежащей идентификации видов не позволяет записывать всю необходимую информацию, необходимую для надлежащего управления образцами, и определить соответствующую практику культивирования.

E. Рекомендуемая библиография

Alicia, A., Diulgheroff, S. & Metz, T. 2001. FAO/IPGRI. Multi-crop Passport Descriptors

[http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=2192](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=2192)

de Vicente, M.C., Metz, T. & Alercia, A. 2004. Descriptors for genetic markers technologies. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.30p.

Lipman, E., Jongen, M.W.M, van Hintum, Th.J.L., Gass, T. & Maggioni L. compilers. 1997. Central Crop databases: Tool for plant genetic resources management. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. CGN, Wageningen, The Netherlands.

Fabiani, A., Anderson, C. & Tilleria J. 1996. Desarrollo de una Base de datos para la evaluaci3n de Germoplasma c3trico. (Abstr.). VIII Congreso latinoamericano y VI Nacional de Horticultura. Soc.Urug. Hortic. Montevideo, Uruguay.

GRIN GLOBAL- (http://www.grin-global.org/index.php/Main_Page)

Painting, K.A, Perry, M.C, Denning, R.A. & Ayad, W.G. 1993 Guidebook for Genetic Resources Documentation. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

Tiller3a, J., Andrade, R. & Zamuz, J. 2011. Documentaci3n de la colecci3n de chirimoya (*Annona cherimola* Mill) del INIAP con la herramienta curatorial DBGERMOWeb, VIII SIRGEALC, Quito, Ecuador.

Tiller3a, J., Paniego, N., Zamuz, J. & Luj3n, M. 2009. El Sistema DBGERMO Web para la Documentaci3n de Colecciones Vegetales, VII SIRGEALC, Pucon, Chile.

Tiller3a, J. & Zamuz, J. 2011. La Herramienta Curatorial DBGERMOWeb para la Documentaci3n de Colecciones Vegetales. Demostraci3n de la aplicaci3n web en tiempo real con colecciones documentadas, VIII SIRGEALC, Quito, Ecuador.

Tilleria, J. 2001. Sistema DBGERMO para la Documentaci3n de Bancos Activos de Germoplasma, Memoria, Reuni3n T3cnica para Latinoam3rica y el Caribe del Sistema Mundial de la FAO de Informaci3n y Alerta para los Recursos Filogen3ticos:85-115. Turrialba, Costa Rica.

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

5.9. СТАНДАРТЫ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ

А. Стандарты

5.9.1 Вся зародышевая плазма должна распространяться в соответствии с национальными законами и соответствующими международными договорами и конвенциями.

5.9.2 Все образцы должны сопровождаться всеми соответствующими документами, требуемыми донором и страной-получателем.

5.9.3 Любое распространение зародышевой плазмы должно сопровождаться сводной информацией. Минимальная информация должна включать детализированный список с идентификацией образца, число и/или вес образцов и ключевые паспортные данные.

В. Контекст

224. Распределение зародышевой плазмы состоит в поставке репрезентативного образца семян из генного банка в ответ на запрос пользователей зародышевой плазмой растений.. Постоянно растет спрос на генетические ресурсы для решения проблем, которые вызваны изменением климата, изменением степени вирулентности ведущих вредных организмов и заболеваний, а также инвазивными чужеродными видами и на удовлетворение других потребностей конечных пользователей. Этот спрос привел к более широкому признанию значения применения зародышевой плазмы из генных банков, что в конечном итоге определяет распределение зародышевой плазмы. Важно, чтобы распределение зародышевой плазмы за границу соблюдало международные нормы и стандарты в области фитосанитарных правил и выполнялось в соответствии с положениями международных договоров и конвенций о биологическом разнообразии и генетических ресурсов растений.

С. Технические аспекты

225. Двумя международными инструментами, которые регулируют доступ к генетическим ресурсам, являются 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 с тем, чтобы в его рамках был создан запас из 64 наименований продовольственных и кормовых культур (обычно относится к культурам в Приложении 1 к Договору), которые при распространении сопровождалась ССПМ. ССПМ может также использоваться для культур, не перечисленных в Приложении 1, однако доступны и другие модели. Доступ и совместное использование выгод происходит в соответствии с Нагойским протоколом. МД ГРРПСХ и КБР подчеркивают взаимосвязь между сохранением и устойчивым использованием, наряду ускоренным доступом и совместным использованием выгод, получаемых в результате применения этих ресурсов на равноправной основе.

226. Кроме того, все образцы генных банков должны сопровождаться необходимой документацией, как фитосанитарным сертификатом и разрешением на импорт, которые соответствуют МККЗР. Требования конечного пункта назначения и последние фитосанитарные требования стран-импортеров (во многих странах правила часто меняются) должны быть проверены перед каждой отправкой. Передачу зародышевой плазмы следует тщательно спланировать по согласованию с национальным институтом по защите растений или

уполномоченным институтом, которые должны выдать документации, как фитосанитарный сертификат, который соответствует требованиям страны-импортера. Получатель зародышевой плазмы должен предоставить генному банку поставщику информацию о документах, необходимых для импорта растительного материала, в том числе фитосанитарные требования.

227. Растительный материал полевых образцов генных банков должен подвергаться процедурам терапии и индексации перед передачей пользователям зародышевой плазмы. Индексация трудноопределимых патогенов, например вирусов, имеет большое значение в ограничении их распространения. При отсутствии возможности индексации вирусов, в частности для материала, о котором известно, что он поступил из районов, инфицированных вирусом, документ о санитарном состоянии должен быть приложен к паспортным данным и передаваемому материалу, если у получателя имеется карантинная база или при удовлетворении критериев разрешений на импорт запрашивающей страны или региона.

228. Тип грузового контейнера, упаковочных материалов и выбор транспортной компании будет в основном зависеть от отправляемого растения. Часто в фитосанитарных сертификатах и разрешениях на карантин и импорт указывается типы упаковки и отправки определенных видов зародышевой плазмы. Органы в покое или органы накопления запасных питательных веществ требуют меньших мер предосторожности, и на их перевозку без повреждения может потребоваться меньше времени, в отличие от активно растущих побегов. Во время перевозки образцы должны содержаться отдельно, их нельзя смешивать. Стандартные операционные процедуры многих генных банков охватывает такие технические вопросы, как упаковка, обращение, метод транспортировки, размер партии и т.д., и их следует соблюдать.

229. Сроки отправки не должны совпадать с суровыми условиями погоды (жара или холод), и уведомление получателя или должностных лиц таможенной службы до прибытия растений повысит вероятность поступления растений в хорошем состоянии. Для доставки хрупких побегов могут потребоваться услуги экспресс-доставки. Международные перевозки будут осуществляться быстрее, если необходимые документы будут прикреплены к внешней стороне контейнера, обеспечивая должностным лицам легкий доступ к ним без воздействия на растения, с копиями для получателя внутри контейнера. Запрашивающему объекту могут потребоваться услуги курьера для перевозки зародышевой плазмы через таможню в страну

230. Все образцы должны сопровождаться минимальной информацией, необходимой для запрашивающей стороны для соответствующего использования материала. Эта информация должна включать, по крайней мере, подробный перечень с идентификацией образца, указанием количества и/или веса образцов и ключевых паспортных данных. Кроме того, полезно включить результаты тестирования на возбудителей. Следует вести и включить в систему документации генных банков (см. Стандарты документации) записи о распределении (регистрация даты запроса, запрашиваемое растение, наименование и адрес запрашиваемой стороны, дата отгрузки и стоимость доставки). Распределенный растительный материал может стать источником репродуктивного материала в случае катастрофических потерь исходного материала в поставщиках - генных банках.

D. Особые условия

231. Если материалы не содержат вирусов, то совместное хранение образцов *in vitro* в лабораторных условиях обеспечивает защиту от вредителей, возбудителей болезней и климатических опасностей и увеличивает их доступность для распределения. В некоторых случаях, например черенки маниока (*Manihot esculenta* L.) и какао (*Theobroma cacao* L.) могут

распространяться полевыми генными банками только внутри страны, а иногда только в определенных регионах страны согласно требованиям карантинного надзора за вредителями и заболеваниями. Для обмена зародышевой плазмой между странами или карантинными зонами должны использоваться другие формы распространения, например, в виде культур или семян *in vitro*. Распределение материалов из оранжерей или теплиц может потребоваться для культур с вирусами, переносимых насекомыми или клещами и культур *in vitro*

232. Политические решения или кризисные ситуации либо бюрократическая волокита могут привести к увеличению временного интервала между получением запроса семян и распределением материала. Ограничения, связанные с восстановлением и/или размножением образцов, также могут влиять на процесс распределения или задерживать его. Задержка с проверкой карантинных правил до тех пор, пока груз будет готов к отправке, приведет к порче ресурсов. Поставка зародышевой плазмы, зараженной вредителями или без надлежащей документации в страну-импортера будет запрещена или уничтожена.

Е. Рекомендуемая библиография

Crop Genebank Knowledge Base

http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=59&Itemid=208&lang=english

5.10. СТАНДАРТЫ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ДУБЛИКАТОВ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ СОХРАННОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ

А. Стандарты

5.10.1 Должна внедряться и по мере необходимости и обновляться стратегия управления рисками, которая, по мере необходимости, предотвращает физические и биологические риски, определенные в стандартах

5.10.2 Генный банк должен следовать местным требованиям и протоколам в области охраны труда и техники безопасности (ОТТБ)

5.10.3 Генный банк нанимает необходимый штат для выполнения всех основных обязанностей, требующихся для того, чтобы генный банк мог приобретать, сохранять и распространять зародышевую плазму в соответствии со стандартами.

5.10.4 Каждый полевой образец генного банка должен быть надежно продублирован, по меньшей мере, еще на одном участке и/или продублирован методом/стратегией альтернативного сохранения, таким как методом *in vitro* или при возможности криосохранением.

В. Контекст

233. Учитывая, что полевые генные банки являются живой совокупностью растений, собранных из разных областей, которые будут оставаться в одном месте на протяжении многих лет, они легко уязвимы для целого ряда угроз, в том числе экологических факторов, вредителей и заболеваний, условиям землевладения и землеустройства. Затраты на содержание полевых генных банков очень высокие, кроме того генные банки требуют постоянного ухода, по сравнению с другими средствами хранения. Следует осуществлять и поощрять систематическое управление рисками, рассматривающее физические и биологические риски в повседневной обстановке. Данный стандарт определяет элементы, которые генные банки должны осуществлять для обеспечения безопасности коллекции при этих угрозах и предотвращения потерь генетического разнообразия.

С. Технические аспекты

234. Полевые генные банки должны иметь разработанные стратегии управления рисками с описанием мероприятий, проводимых при возникновении чрезвычайных ситуаций в генных банках, касающихся зародышевой плазмы или соответствующих данных. Такую стратегию и соответствующий план мероприятий следует регулярно пересматривать и обновлять в соответствии с меняющимися обстоятельствами и новыми технологиями и постоянно распространять среди сотрудников генных банков.

235. Полевые генные банки подвергаются воздействию ряда угроз. К ним относятся экстремальные погодные условия, такие как засуха, заморозки, град, циклоны, тайфуны, ураганы, которые являются частично предсказуемыми и можно провести меры предосторожности для обеспечения растениям дополнительной защиты в неблагоприятные периоды. Если растения хранятся в горшках, их можно перенести в защищенное место. Мало что можно сделать для небольших растений на открытых участках, в зависимости от типа растений при возможности можно укрепить их опоры или укрыть защитным покрытием. Для

фруктовых деревьев можно выполнить обрезку ветвей для смягчения воздействия сильных ветров, способных повалить деревья.

236. Другие экстремальные явления, такие как пожары или землетрясения, мало предсказуемы, в таких случаях необходимо принять меры предосторожности для предотвращения повреждения растений в полевых генных банках. На участках генных банков необходимо устроить и постоянно поддерживать противопожарные преграды. Кроме того, необходимо предусмотреть на местах и регулярно проверять противопожарное оборудование. К противопожарному оборудованию относятся огнетушители и огнезащитные покрытия. Находящиеся в зоне сейсмичности здания генных банков, включая оранжереи и питомники, должны быть сейсмостойкими.

237. Другие угрозы для полевых коллекций связаны с биотическими факторами, к которым относятся вредители и заболевания, хищники, чужеродные виды, грызуны-вредители и родной материал того же вида, являющийся дикорастущим и который может войти в поля как сорняк. Для устранения этих угроз следует принять меры предосторожности. Следует с осторожностью использовать пестициды, поскольку они оказывают негативное воздействие не только на окружающую среду, но и на здоровье и безопасность персонала, применяющих их. При необходимости, экологически целесообразней использовать ловушки для хищников или предусмотреть устройство канав для предотвращения доступа к участкам. Вторжение животных в полевые генные банки следует предотвращать с помощью гуманных методов, утвержденных соответствующими сообществами.

238. Акты вандализма или кражи посадочного материала также может стать серьезной проблемой для безопасности коллекции. Полевые генные банки должны иметь соответствующее ограждение и иметь систему управления доступом в помещения генных банков. В некоторых местах могут потребоваться дополнительная охрана или защитные ограждения. Учитывая долгосрочный характер генных банков, особенно для фруктовых и других пород деревьев, большое значение имеет план землепользования и землеустройства для снижения необходимости переезда на новый участок и для расширения.

239. Следует рассмотреть вопросы охраны труда и техники безопасности персонала. При использовании химических пестицидов и удобрений необходимо предусмотреть и использовать специальное защитное снаряжение и спецодежду. Для уменьшения рисков большое значение имеет выбор агрохимикатов. Следует составить список химических веществ, безопасных для различных культур и «черный список» опасных и запрещенных к использованию химических веществ. Необходимо проинструктировать сотрудников о правильной и безопасной эксплуатации оборудования и проводить постоянную профессиональную подготовку по вопросам охраны труда и техники безопасности работ в полевых условиях.

240. Активное управление генным банком требует хорошо подготовленного штата; чрезвычайно важно распределить обязанности среди обладающих достаточной компетентностью сотрудников. Поэтому генный банк должен иметь действующий план или стратегию в отношении персонала, а также соответствующий бюджет, чтобы гарантировать наличие должным образом подготовленного персонала для выполнения ими обязанностей, позволяющих генному банку приобретать, сохранять и распределять зародышевую плазму. Желательно наличие административных и технических специалистов по ряду предметных областей в зависимости от мандата и задач каждого конкретного генного банка. При этом комплектация и обучение штата будут зависеть от конкретных обстоятельств. Штатный

персонал должен пройти необходимую подготовку, получаемую в рамках сертифицированного обучения и/или обучения без отрыва от производства, при необходимости следует проводить профессиональные тренинги

241. Применение дополнительных методов хранения в целях изготовления дубликатов образцов для обеспечения сохранности в полевых генных банках является важной стратегией для уменьшения упомянутых выше рисков и, кроме того, может быть экономически более выгодным. Можно создать резервный дубликат образцов в качестве культур *in vitro* замедленного роста или методом криосохранения в жидком азоте, в случае наличия протоколов по целевым образцам. Для видов, производящих семена кратковременного хранения или рекальцитрантные семена, где семена обновляются раньше потери жизнеспособности, реальным и экономически эффективным методом является резервное дублирование. Для надежного дублирования могут использоваться аналогичный полевой генный банк, расположенный в другом районе с подходящим климатом и агроэкологией, позволяющей растениям хорошо размножаться, но которым не угрожают риски главных генных банков. Можно предусмотреть дополнительный участок, с которого может быть распределен материал, расположенный в районе с рисками иных вредителей и болезней для обеспечения безопасности коллекции и упрощения карантинных ограничений распространения в регионах. Хранилища пыльцы и ДНК также дополняют полевые генные банки, обеспечивая экономически эффективный способ поддержания большего разнообразия в рамках образца, по сравнению с хранением в виде растений в полевых генных банках.

242. Любой механизм изготовления дубликатов для обеспечения сохранности требует ясного подписанного юридического соглашения между вкладчиком и получателем дубликатов, устанавливающего обязанности сторон и условия хранения материала. Это особенно важно для полевых генных банков, где растения должны контролироваться ежедневно.

D. Особые условия

243. В отсутствие надлежащим образом подготовленного персонала, либо при наличии ограниченного времени или иных препятствий, возможным решением была бы передача части работы генного банка сторонним организациям или обращение за помощью к другим генным банкам. В случае если функции генного банка находятся под угрозой, об этом следует сообщить международному сообществу генных банков.

244. Несанкционированное проникновение на территорию генного банка людей или вторжение животных, включая птиц и других диких животных, может не только привести к прямой утрате материала, но и угрожать коллекциям в результате нечаянного внедрения вредителей и болезней и нарушения систем управления. Тесное сотрудничество с местными сообществами в целях повышения осведомленности о целях и значении коллекции может дать чувство приверженности и усиленной охраны на полевых участках.

E. Рекомендуемая библиография

Crop genebank knowledge base. Safety duplication.

http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=58&Itemid=207&lang=english

Engels, J.M.M. & Visser, L. eds. 2003. A guide to effective management of germplasm collections. IPGRI Handbooks for Genebanks No. 6. IPGRI, Rome, Italy. Доступно на английском и испанском языках

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. [online] The Nordic Genetic Resource Centre, ALNARP. Available from: 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. IPGRI Handbooks for genebanks No. 7. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. Доступно на http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/images/file/learning_space/genebankmanual7.pdf

VI. СТАНДАРТЫ ГЕННОГО БАНКА ДЛЯ КУЛЬТУРЫ *IN VITRO* И КРИОСОХРАНЕНИЯ

245. Стандарты для культуры *In vitro* и криосохранения имеют широкий и общий характер вследствие заметного различия между неортодоксальными семенами и вегетативно размножающимися растениями. Эта изменчивость является функцией биологии наследственности и метаболического состояния соответствующих растений, что ведет к различным ответным реакциям на разные манипуляции и часто требует изменения основных подходов, в зависимости от видов семян. Эти различные особенности вызывают необходимость во введении явления неортодоксальности и поведения неортодоксальных семян при хранении для лучшего понимания научной основы этих стандартов.

Явление неортодоксальности

246. Понимание устойчивости к высушиванию и чувствительности ортодоксальных семян, по сравнению с неортодоксальными (промежуточными и рекальцитрантными семенами) имеет основополагающее значение для криосохранения. При достижении зрелости, содержание воды в ортодоксальных семенах обычно находится в пределах $0,05 - 0,16 \text{ g g}^{-1}$ ¹⁷ (5% - 14% [wmb]), хотя некоторые виды теряют большое количество воды при созревании и опадении, после чего испытывают сильную дегидратацию. В отличие от рекальцитрантных семян, все ортодоксальные семена обладают устойчивостью к высушиванию, являющейся генетически запрограммированной и выявляемой до или в начале высушивания. Рекальцитрантные семена не усыхают на более поздних этапах развития и теряют воду в пределах $0,3-0,4 - >4.0 \text{ g g}^{-1}$. Поскольку они чувствительны к высушиванию, потеря воды немедленно приводит к снижению энергии, жизнеспособности и гибели семян при относительно высоком содержании воды. Это объясняется их метаболической активностью (Berjak and Pammenter, 2004) с низкой или вообще без внутриклеточной дифференциации, тем самым, подвергая мембраны пагубным последствиям стресса дегидратации (Walters *et al.* 2001; Varghese *et al.* 2011). Спектр различий в физиологии после созревания и опадения наблюдается также у промежуточных семян. Семена, демонстрирующие промежуточное поведение, могут выдержать потерю воды от $\sim 0,11$ до $\sim 0,14 \text{ g g}^{-1}$ (Berjak and Pammenter, 2004). Они обладают способностью выполнять некоторые важные механизмы и процессы, регулирующие устойчивость к усыханию. Однако они не живут долго в обезвоженном состоянии, в особенности при температурах замерзания для некоторых видов растений.

247. Изменчивость в физиологии рекальцитрантных семян часто является внутривидовой. Содержание воды в семенах или эмбрионах/эмбриональных осях может существенно различаться в коллекциях одной местности из года в год, а также для материалов из одной и той же местности в течение одного сезона. Это означает, что для каждого вида должны быть оценены параметры (содержание воды, реакции на сушку). Кроме того, собранные в конце сезона семена, как правило, значительно более низкого качества по сравнению с заготовленными ранее (Berjak and Pammenter, 2004). Происхождение популяции, дающей семена, также является важным фактором, определяющим свойства и реакцию рекальцитрантных семян. Таким образом, даже если семена относятся к одному виду, разница в

¹⁷В 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 [g g^{-1}]), это более очевидно, чем выражение в проценте от мокрой массы.

широтных градиентах может привести к чрезвычайно разным характеристикам. (Daws *et al.* 2006; Daws *et al.* 2004).

248. Состояние роста семян является критическим моментом при подготовке рекальцитрантной зародышевой плазмы к криогенному хранению. В ранний период онтогенеза все семена высокочувствительны к усыханию. Чувствительность неортодоксальных семян к усушке увеличивается в процессе проявления зародышевого метаболизма (Berjak and Pammenter, 2004). Ранние прорастания в рекальцитрантных семенах начинаются вскоре после их сбора, без «пунктуации» между концом развития и начала прорастания, свойственной для сухого созревания ортодоксальных семян.

249. В зависимости от вида в рекальцитрантных семенах после созревания и опадения начинается зародышевый метаболизм. В таких видах с полностью развитыми эмбрионами при созревании и опадении обычно прорастание начинается практически сразу же с сопутствующего роста чувствительности к усыханию. Семена некоторых других видов созревают и опадают с недостаточно развитыми эмбрионами, что обуславливает необходимость завершения развития до начала зародышевого метаболизма. Эти различия в развитии определяют продолжительность влажного хранения семян (то есть гидратированный метод хранения с содержанием воды на момент созревания и опадения семян). Теперь известно, что рекальцитрантные семена не могут быть обезвожены до такого содержания воды, которое исключает прорастание (так называемое полу-впитывающее сохранение), сокращающее продолжительность гидратного сохранения. Небольшое обезвоживание фактически стимулирует начало/прогрессию прорастания, таким образом, для поддержания процесса требуется сокращение времени до момента внешней подпитки водой (Drew *et al.* 2000; Eggers *et al.* 2007).

250. В целом, рекальцитрантные семена, происходящие из умеренных зон, устойчивы к температуре заморзания, в то время как семена тропических и субтропических растений того же вида чаще всего чувствительны к охлаждению. Чувствительность к охлаждению также является проблемой сохранения промежуточных семян, особенно тропических и субтропических растений. При усушке до степени, когда содержание воды не наносит вред, срок хранения семян сокращается до температур $\leq 10^{\circ}\text{C}$ (Hong *et al.* 1996).

251. Сопутствующая семенам микрофлора (грибки и бактерии), в частности связанные с внутренней поверхностью, например семядоли или эмбриональные оси, как правило, представляет серьезную проблему для рекальцитрантных семян растений тропического и субтропического происхождения (Sutherland *et al.* 2002). Условия гидратированного сохранения, проходящего в условиях влажности и благоприятных температурах, способствуют размножению грибков с вероятностью проникновения нитей грибницы в ткани эмбриона. Это оказывает пагубное воздействие и значительно сокращает продолжительность гидратированного сохранения.

252. В полевых условиях, если высев не происходит быстро, рекальцитрантные семена постепенно теряют воду со скоростью, зависящей от вида и морфологии. В условиях медленной потери воды (от нескольких дней до недели или больше) накапливается ущерб от усушки, и семена большинства видов теряют жизнеспособность при содержании воды в эмбрионах/эмбриональной оси в пределах $0,8\text{ g g}^{-1}$ (Pammenter *et al.* 1993). Таким образом, при обработке или сохранении рекальцитрантных семян следует соблюдать особую осторожность для поддержания содержания воды на том же уровне, как при созревании и опадении.

253. Реакция эксплантов на обезвоживание зависит от скорости усушки и размера эксплантов. Часто рекальцитрантные семена бывают слишком крупными для быстрой усушки и для быстрой криогенной заморозки (что требуется для успешного криосохранения). Таким образом, отделенные эмбрионы или эмбриональные оси являются выборными эксплантами, поскольку они могут быть дегидратированы до такого содержания воды, которая сведет к минимуму кристаллизацию льда, и составляет $\leq 0.4 \text{ g g}^{-1}$. Эмбрионы/оси могут быть высушены в потоке воздуха (флеш-сушка) (Pammenter *et al.* 2002), что значительно ограничивает время, в течение которого может произойти метаболизм, связанный с повреждениями усыхания. Это не означает, что эмбриональные оси стали устойчивыми к усыханию, просто они стали сухими, прежде чем был получен летальный ущерб, обеспечивая время, необходимое для обработки их под действием криогенных температур. В случаях, когда эмбрионы/оси демонстрируют невозможность успешного криогенного сохранения, могут быть использованы альтернативные экспланты, такие как апикальные меристемы побегов, отсеченных от саженцев, проросших из семян *in vitro*

254. В дополнение к криосохранению включаются другие средства сохранения *in vitro* видов с рекальцитрантными или иными неортодоксальными семенами, к которым может относиться замедление роста саженцев/молодых растений/проростков. В некоторых случаях могут вводиться условия медленного роста *ex vitro*. В последнем случае, саженцы могут быть получены от эмбрионного каллуса (который поддается криосохранению) 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. System-wide Genetic Resources Programme, Rome, Italy.

Berjak, P. & Pammenter, N.W. 2004. Recalcitrant Seeds. pp. 305-345 in Benech-Arnold, R.L., Sanchez, R.A. (eds) *Handbook of seed physiology: applications to agriculture*. Haworth Press, New York.

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.

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.

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 Adkins, S., Ashmore, S., Navie, S.C. (eds) *Seeds: Biology, Development and Ecology*. CABI, Wallingford, UK.

Engelmann F. & Takagi H. (eds). 2000. *Cryopreservation of tropical plant germplasm*. Current research progress and application. Japan International Research Centre for Agricultural Sciences, Tsukuba Japan/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome Italy.

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

- 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. pp. 867-872 in C?me, D, Corbineau, F. (eds) *Proceedings of the Fourth International Workshop on Seeds: Basic and Applied Aspects of Seed Biology*, Angers, France. ASFIS, Paris. Vol. 3.
- Pammenter, N.W., Berjak, P., Wesley-Smith, & Vander Willigen, C.** 2002. Experimental aspects of drying and recovery. pp. 93-110 in Black, M, Pritchard, H.W. (eds) *Desiccation and survival in plants: drying without dying*. CABI, Wallingford, UK.
- Reed B.M.** 2010. *Plant cryopreservation. A practical guide*. Springer, New York, USA.
- Reed B., Engelmann F., Dulloo M.E. & Engels J.M.M.** 2004. *Technical Guidelines on management of field and in vitro germplasm collections*. Handbook for genebanks No.7, IPGRI, Rome, Italy
- Sutherland, J.R., Diekmann, & Berjak, P.** (eds). 2002. *Forest Tree Seed Health*. IPGRI Technical Bulletin No. 6, International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Varghese, B., Sershen, Berjak, P., Varghese, & 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, & Crane, J.** 2001. Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation-tolerant and sensitive seeds. *Seed Science Research* (11): 135-148.

6.1. СТАНДАРТЫ ПРИОБРЕТЕНИЯ ЗАРОДЫШЕВОЙ ПЛАЗМЫ

А. Стандарты

6.1.1 Все образцы зародышевой плазмы, добавляемые в коллекцию генного банка, должны приобретаться законным образом и с соответствующей технической документацией

6.1.2 Все материалы должны сопровождаться, по крайней мере, минимумом связанных с ними данных согласно идентификаторами паспортов сельскохозяйственных культур ФАО/МИГРР.

6.1.3 Следует собирать только материал, находящийся в хорошем состоянии и обладающий соответствующей зрелостью, а размер выборки должен быть достаточно большим, чтобы обеспечить эффективную сохранность в генных банках.

6.1.4 Материал должен доставляться в генные банки в самые кратчайшие сроки и в наилучших возможных условиях.

6.1.5 Весь поступающий материал следует поверхностно обработать дезинфицирующим средством для удаления всех прилипших микроорганизмов, избегая изменения его физиологического статуса, в предназначенном месте для приема материала.

В. Контекст

255. Приобретение – это процесс сбора или запроса зародышевой плазмы (семян и других ростков¹⁸) для включения зародышевой плазмы в генные банки вместе с соответствующей информацией. Большое значение имеет соблюдение юридических требований, кроме того, должны соблюдаться национальные и международные требования. На этапе приобретения важно обеспечить полноту паспортных данных для каждого образца (Alercia *et al.* 2001).

256. Необходимо обеспечить высокое качество зародышевой плазмы и избегать сохранения незрелых семян и семян, долго подвергавшихся воздействию химических веществ. Решающее значение для качества имеет способ обработки семян и других частей растения для вегетативного размножения после сбора и перед переводом в контролируемые условия. Неблагоприятные экстремальные температуры и влажность после сбора и во время транспортировки в генные банки могут привести к быстрой потере жизнеспособности и сокращению долголетия во время хранения. То же самое применимо для послеуборочной обработки в генных банках. Качество семян и их долголетие зависят от условий, существовавших до хранения в генных банках. Поскольку рекальцитрантные семена метаболически активны и имеют высокое содержание воды при созревании, для успешного длительного сохранения материала имеет решающее значение методы его обработки после сбора. Поскольку выращенный в поле материал часто заражен грибами или бактериями необходимо проводить ряд мер в целях снижения риска ухудшения состояния материала после его сбора.

¹⁸ В этом контексте, росток относится к вегетативной части растения, как семена, почки, клубнелуковицы, обрезки и другие отростки, используемые для размножения растения.

257. Материал должен быть чистым насколько это возможно. Поэтому рекомендуется пересаживать полевой материал в горшки и проводить короткие периоды роста в теплицах. В таких случаях следует поливать растения со дна, для очень зараженного материала позднее можно провести дезинфекцию эксплантов пестицидами. Явно зараженный материал следует исключить с самого начала или уничтожить при обнаружении заражения.

С. Технические аспекты

258. Генетические ресурсы растений в рамках многосторонней системы МД ГРПСХ сопровождаются Соглашением о стандартах передачи материалов. Для материалов, приобретенных или собранных за пределами страны расположения генных банков, приобретатель должен соблюдать требования национального и международного законодательства. От соответствующего национального органа принимающей страны следует запросить фитосанитарные правила и любые иные требования импорта. .

259. Паспортные данные необходимы для определения и классификации образцов. Многие образцы являются дикими, что делает сбор точных полевых данных абсолютно необходимым. Идентификаторы паспортов сельскохозяйственных культур должны включать контрольные образцы гербариев, координаты GPS, фотографии зоны распространения, максимальную информацию о естественной среде и нижнем слое почвы. При сборе материала после опадения, следует зарегистрировать этот факт и хранить такой материал отдельно от материала, собранного непосредственно с материнского растения. Размер выборки должен включать элементы/образцы в количестве, достаточном для создания соответствующего протокола криосохранения, и/или размещения образцов на долгосрочное криогенное сохранение.

260. Существует необходимость обеспечения максимального качества семян и черенков, и предотвращения хранения незрелого или перезрелого материала (в случае семян), который подвергся долгому воздействию химических элементов. Сбор хорошо созревших, чистых и высококачественных вегетативных частей растений обеспечит максимальную долговечность хранения. Следует избегать сбора опавшего материала и плодов (семян), на которых имеются признаки механического повреждения или выветривания. Семена, собранные в конце сезона часто имеют более низкого качества по сравнению с семенами, полученными ранее (Berjak and Pammenter 2004). Рекомендуется не собирать в конце сезона рекальцитрантные семена любых видов растений. Необходимо учитывать сезонные потребности в случае использования луковиц и клубней, которые дают новые побеги только в некоторые сезоны, в случае древесных растений, имеющих спящие почки только зимой, и в случае молодых соцветий эксплантов или пыльцы только в период цветения.

261. Многие фрукты, дающие рекальцитрантные семена, подвержены невидимыми грибковыми заражениями. Это является серьезной проблемой, и поверхностная дезинфекция перед транспортировкой имеет большое значение для удаления любых поверхностных загрязнений. Высокие температуры и влажность в период после сбора и во время транспортировки в генные банки обостряют данную проблему, и могут привести к быстрой потере жизнеспособности и сокращению продолжительности жизни во время хранения. Однако семена и другие вегетативные части растений могут быть чувствительными к охлаждению, повышенные температуры могут ускорить прорастание или повредить семена. Таким образом, температура транспортировки не должна быть слишком низкой или слишком высокой, как правило, не ниже $\sim 16^{\circ}\text{C}$ и не выше $\sim 25^{\circ}\text{C}$.

262. Проблема грибкового заражения требует послеуборочной обработки в генных банках, а поверхность фруктов должна тщательно дезинфицироваться перед извлечением семян.

Аналогично, при импорте любого образца, может произойти заражение от контейнеров и упаковок, которые должны сжигаться согласно предусмотренным национальным требованиям здоровья растений и семян. Мякоть плодов, волокон и т.д. должна быть полностью удалена с наружной поверхности семян, но без использования воды, так как семена (в дальнейшем) начинают поглощать воду, что влияет на содержание воды в семенах. Важно также собрать информацию о весе фруктов и семян для определения содержания воды (см. Стандарт 2)

263. При возможности (в случае с плодами с жесткой кожурой) семена следует перевозить в плодах для защиты и предотвращения обезвоживания. Потеря воды стимулирует зародышевый метаболизм и сокращает продолжительность хранения, поэтому важно поддержание содержания воды при сборе и во время перевозки путем поддержания высокой относительной влажности в контейнерах для хранения. Следует предпочесть специальные пластиковые мешки, которые не являются ломкими, как стеклянные пробирки. Изоляционная упаковка поможет сохранить стабильную температуру и может быть особенно актуальной во время долгой транспортировки.

264. Рекальцитрантные семена в плодах с жесткой кожурой обычно остаются более длительное время в лучшем состоянии, чем при извлечении семян из плодов. Поверхность мягких, поврежденных или растрескавшихся плодов следует сразу обеззаразить, извлечь семена, а плоды изъять и уничтожить. При длительных сроках транспортировки перед отправкой рекомендуется извлечь, вручную очистить и продезинфицировать поверхность семян. В идеальном случае на полевых участках следует держать комплект для дезинфекции, состоящий из таблетки для обеззараживания воды или гипохлорита натрия (NaOCl), воды (стерильной, при возможности, подготовленной на участке) и стерильных бумажных полотенец.

265. В тропических условиях могут применяться другие меры, такие как хранения проростков в тени (Marzalina and Krishnapillay 1999) или *in vitro* на местах сбора (Pence *et al.* 2002; Pence and Engelmann 2011). При использовании коллекций, собранных *in vitro*, требуются минимальные сроки транспортировки

266. Для культивируемых *in vitro* эксплантов поверхностное обеззараживание часто начинается с 70% этилового спирта, затем гипохлорита натрия (NaOCl), растворенного в чистом основном растворе, или схожего бытового отбеливателя с 3%-ной концентрацией активного хлора. Малое количество стирального порошка может оказать эффект. Могут быть использованы другие вещества в соответствующих концентрациях (например, гипохлорит кальция). После дезинфекции поверхности экспланты необходимо обрезать до конечного размера. Обратите внимание, что дезинфицирующее вещество проникнет в обрезанные зоны и приведет к образованию мертвых зон, которые должны быть удалены после обрезки.

D. Особые условия

267. При заражении или порчи груза, все материалы и их упаковку следует сжигать, несмотря на финансовые последствия.

268. Известную опасность представляет задержка груза на национальных карантинных базах. В таких случаях необходимо предпринять шаги для сведения к минимуму таких задержек, включая использование услуг курьеров.

269. В условиях сезона низкой урожайности желательнее отложить сбор до следующего сезона плодоношения. Если обстоятельства требуют сбор упавших плодов, следует рассмотреть сбор только недавно опавших плодов.

270. Иногда семена отдельных видов плохо реагируют на NaOCl и/или часто используемые фунгициды, в этом случае следует использовать безопасные альтернативы. (Sutherland *et al.*, 2002). Обратите внимание на то, что можно использовать 70% -ный (v/v) этиловый спирт в стерильной/кипяченой воде.

Е. Рекомендуемая библиография

Alercia, A., Diulgheroff, S. & Metz, T. 2001. FAO/IPGRI. Multi-crop Passport Descriptors

[http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1\[showUid\]=2192](http://www.biodiversityinternational.org/index.php?id=19&user_biodiversitypublications_pi1[showUid]=2192)

Berjak, P. & Pammenter, N.W. 2004. Recalcitrant Seeds. pp. 305-345 in Benech-Arnold, R.L., Sanchez, R.A. (eds) *Handbook of seed physiology: applications to agriculture*. Haworth Press, New York.

Engelmann, F. 1997. *In vitro* conservation methods. pp. 119-161 in Callow, J.A., Ford-Lloyd, B.V., Newbury, H.J. (eds) *Biotechnology and plant genetic resources*. CABI, Wallingford, Oxon, UK.

ENSCONET. 2009. *Seed collecting manual for wild species*. ISBN 978-84-692-3926-1 (www.ensconet.eu).

Marzalina, M. & Krishnapillay, B. 1999. Recalcitrant seed biotechnology applications to rainforest conservation. In: Benson, E.E. (ed.) *Plant conservation biotechnology*. Taylor & Francis, London, UK. pp. 265-276.

Pence, V.C. 1996. *In vitro* collection (IVC) method. pp. 181-190 in Normah, M.N., Narimah, M.K., Clyde, M.M. (eds) *In vitro conservation of plant genetic resources*. Percetakan Watan Sdn.Bdh, Kuala Lumpur, Malaysia.

Pence V. C., Sandoval J., Villalobos V. & Engelmann F. (eds.). 2002. *In vitro collecting techniques for germplasm conservation*. IPGRI Technical Bulletin N°7. IPGRI, Rome. Available online: http://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/biodiversity/publications/pdfs/866_In_vitro_collecting_techniques_for_germplasm_conservation.pdf?cache=1322754009

Pence V.C. & F. Engelmann. 2011. Chapter 24: Collecting *in vitro* for genetic resources conservation. In Guarino L., Ramanatha Rao V., Goldberg E. 2011. *Collecting Plant Genetic Diversity: Technical Guidelines*. 2011 update. Biodiversity International, Rome. Available online: http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=661

Sutherland, J.R., Diekmann, M. & Berjak, P. (eds). 2002. Forest Tree Seed Health. IPGRI Technical Bulletin No. 6, International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. Available online:

http://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/biodiversity/publications/pdfs/865_Forest_tree_seed_health_for_germplasm_conservation.pdf?cache=1336542152

6.2. СТАНДАРТЫ ТЕСТИРОВАНИЯ ПОВЕДЕНИЯ НЕОРТОДОКСАЛЬНЫХ СЕМЯН И ОЦЕНКИ СОДЕРЖАНИЯ ВОДЫ, ЭНЕРГИИ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ

А. Стандарты

6.2.1 Категория хранения семян должна определяться немедленно через оценку реакции на дегидратацию.

6.2.2 Содержание воды должно определяться индивидуально по отдельным компонентам вегетативной части растения и при наличии достаточного количества растений.

6.2.3 Энергия и жизнеспособность должны оцениваться испытаниями на всхожесть при наличии достаточного количества объектов.

6.2.4 В ходе экспериментов очищенные семена должны храниться в условиях, не допускающих обезвоживание или увлажнение.

В. Контекст

271. Поддержание жизнеспособности семян является ключевой функцией генных банков, обеспечивающей доступ зародышевой плазмы для пользователей и её генетическую презентацию популяции, из которой она была приобретена. В качестве первого шага к сохранению важно определить категорию хранения семян путем оценки реакции вегетативных частей растений на обезвоживание. Реакция на усушку в свою очередь определит метод обращения, необходимый для криогенного хранения. На скорость усушки влияет ряд факторов, как относительная влажность, размер семян, характер покрытия семян, скорость проникания воздуха через семена и глубина слоя семян (Pammenter *et al.*, 2002).

272. Скорость и единообразие всхожести образцов семян или полученных из семян эксплантов, является надежным показателем энергии, в то время как совокупность прорастания (т.е. доля проросших протестированных семян или эксплантов) раскрывает общую жизнеспособность образца. Жизнеспособность должна составлять не менее 80% выборки.

С. Технические аспекты

273. Определение содержания воды и оценки энергии и жизнеспособности должно проводиться как одна операция и является вопросом, который необходимо решить перед определением типа техники сушения. Количество процедур, которые могут быть проведены, определяется количеством имеющихся в наличии семян. Для классификации семян могут применяться три метода отбора семян. К ним относится метод, по которому можно распознать промежуточные и рекальцитрантные семена (Hong и Ellis 1996), другой предназначен для случаев ограниченного количества семян (Pritchard *et al.*, 2004) и третий для оценки содержания воды в оси, а не во всем семени. Независимо от выбранного метода, обезвоживание, проводимое при тестировании, никогда не будет осуществляться при повышенных температурах, ведущих к порче. Рекомендуемая температура для тропических и субтропических видов и видов, происходящих из умеренных зон, составляет 25 °C и 15 °C соответственно (Pritchard *et al.*, 2004). Для каждого нового образца следует проводить оценку потери жизнеспособности с уменьшением содержания воды через усушку.

274. Содержание воды в различных элементах рекальцитрантных семенах имеет решающее значение для успешной криоконсервации. Содержание воды определяется во всем

рекальцитрантном семени, не давая никакой информации о содержании воды в оси. Таким образом, определение содержания воды нужно проводить и измерять отдельно (не для объединенной выборки) для осей, эмбрионов, семядольных тканей или эндоспермы (Berjak and Pammenter 2004). Во многих случаях сухая масса осей рекальцитрантных семян может составлять всего несколько миллиграммов, требующий 6-местный баланс.

275. Важно определить содержание воды каждого вновь поступившего образца сразу же после очистки вегетативных частей растения для предотвращения дальнейшей усушки. Даже если были собраны другие образцы того же вида, нельзя предполагать, что содержание воды будет одинаковым. Поскольку состав осей и тканей рекальцитрантных или иных неортодоксальных семян диких видов растений в целом неизвестен, рекомендуется проводить сушку при температуре 80 °C до достижения постоянного веса. При сушке тканей при 80 °C, время, необходимое для достижения постоянного веса, обычно составляет от 24 до 48 часов. После периода сушки важно, чтобы образцы достигли комнатной температуры без поглощения воды до повторного взвешивания.

276. Рекомендуется протестировать как минимум 10 семян для проверки содержания воды (определяется отдельно для семян/эмбрионов/осей). Для любого проводимого биохимического анализа потребуются дополнительные семена.

277. Семена и отсеченные от них эмбрионы/оси должны быть в стадии развития и быть только что собранными. Целые семена лучше всего прорастают в 0,8-1% -ном водном растворе агара в закрытых пластиковых контейнерах или чашках Петри, обеспечивающих общие условия для проведения таких оценок. Важно провести дезинфекцию поверхности семян до их проращивания или до иссечения эмбрионов или эмбриональных осей. Покой не является общей чертой всех рекальцитрантных семян, обычно следует начинать проращивание семени в течение относительно короткого периода после высаживания. Однако для каждого вида время будет меняться в зависимости от степени развития эмбриона. Важно, чтобы все испытания на всхожесть и жизнеспособность проводились в одинаковых контролируемых условиях контролируемых для каждого вида. Следует отметить производство морфологически аномальных рассад и ростков (Pammenter *et al.*, 2011) и количественно измерить, так как аномалия может произойти в результате произведенного стресса (например, обезвоживания рекальцитрантных семян, эмбрионов или эмбриональных осей). Для проверки жизнеспособности следует испытать как минимум 20 семян.

278. При обработке рекальцитрантных семян следует соблюдать большую осторожность с тем, чтобы сохранить содержание воды на уровнях, соответствующих периоду созревания и опадения семян. Однако целые рекальцитрантные семена почти всегда слишком велики для охлаждения до криогенных температур. Поэтому экспланты, эмбрионы или эмбриональные оси следует иссечь из семян и подвергнуть обезвоживанию. Помимо этого важно, чтобы основная часть образцов очищенных семян хранилась в условиях, исключающих изменения водного состояния. Если под воздействием атмосферы в течение любого отрезка времени содержание воды в семенах будет меняться, семена, собранные с относительно высоким содержанием воды следует немного подсушить.

D. Особые условия

279. Если генные банки не имеют сушильных помещений с контролем температуры и влажности, для цельных семян можно использовать стеновые сушилки под стеклянными колпаками или однослойную сушку в тени. Образцы в любой чашке Петри, не закрытые до извлечения из сушильной печи, придется заменить на духовки, поскольку сухие ткани быстро поглощают водяной пар, особенно во влажной среде.

280. Иссеченные эмбрионы и эмбриональные оси, как правило, не прорастают так же быстро, как целые семена. При работе с иссеченными эмбриональными осями часто не происходит рост всходов. В таких случаях рост корня будет критерием для оценки энергии и жизнеспособности.

281. В случаях, когда эмбрионы/оси показывают невозможность успешного криогенного сохранения, могут быть использованы альтернативные экспланты. Они могут включать различные виды, но наиболее подходящими являются апикальные меристемы побегов, отсеченные от саженцев, проросших из семян *in vitro*.

Е. Рекомендуемая библиография

Berjak, P. & Pammenter, N.W. 2004. Recalcitrant Seeds. pp. 305-345 in Benech-Arnold, R.L., Sanchez, R.A. (eds) *Handbook of seed physiology: applications to agriculture*. Haworth Press, New York.

Hong, T.D. & Ellis, R.H. 1996. *A protocol to determine seed storage behaviour*. IPGRI Technical Bulletin No. 1. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy.

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

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 ГИДРАТИРОВАННОГО ХРАНЕНИЯ РЕКАЛЬЦИТРАНТНЫХ СЕМЯН

А. Стандарты

6.3.1 Гидратированное хранение должно осуществляться в условиях повышенной относительной влажности, и семена должны храниться в герметичных контейнерах при самой низкой температуре, которую семена смогут выдержать без получения повреждений.

6.3.2 Перед гидратированным хранением все семена должны быть продезинфицированы, и инфицированный материал должен быть устранин

6.3.3 Необходимо периодически осматривать и отбирать пробы хранящихся семян для проверки на предмет возникновения какого либо грибкового или бактериального заражения, и на предмет снижения содержания воды и / или энергии прорастания и жизнеспособности семян.

В. Контекст

282. С целью обеспечения посадочным материалом для программ повторного введения и восстановления, или просто для поддержания семян во время проведения экспериментов, иногда необходимо обеспечить кратковременное или среднесрочное хранение рекальцитрантных семян (от недель до месяцев). Основным принципом для увеличения срока хранения рекальцитрантных семян является то, что содержание воды должно удерживаться практически на тех же уровнях, как и для вновь собранных семян. Таким образом, семена не должны терять воду до или после помещения в хранилища. Даже небольшая степень обезвоживания может стимулировать начало прорастания, и дальнейшее обезвоживание может инициировать вредные изменения, которые влияют на энергию прорастания и жизнеспособность семян и могут сократить срок хранения семян. Хранение рекальцитрантных семян в условиях, которые поддерживают содержания в них воды, называется гидратированным хранением, и достигается оно за счет хранения семян в закрытых условиях при повышенной относительной влажности.

С. Технические аспекты

283. Во избежание потери воды семенами, гидратированное хранение должно осуществляться в условиях повышенной RH, достигнутое путем поддержания насыщенной атмосферы в контейнерах для хранения. В идеале предпочтительным для хранения являются закрытые полиэтиленовые мешки с расположенным внутри бумажным мешком («мешок в мешке») или закрытые пластиковые ведра соответствующего размера для количества семян (Pasquini *et al.* 2011). В качестве важной меры предосторожности, контейнеры для хранения, такие как ведра с крышкой, а также внутренней сеткой, должны быть простерилизованы до того, как в них будут помещены семена. Независимо от выбранного контейнера, средства для поглощения конденсата должны быть помещены в контейнер, и заменяться, по мере того как они будут становиться влажными.

284. Температура хранения должна быть самой низкой, которую отдельные виды семян смогут выдержать без вредного воздействия на энергию прорастания и жизнеспособность семян. Это замедлит как прогресс прорастания, так и распространение грибов. Температура в хранилище должна поддерживаться на одном уровне, чтобы минимизировать образование конденсата на внутренних поверхностях контейнеров для хранения. Для умеренно рекальцитрантных семян, как правило, температура 6 ± 2 °C подходит для хранения, в то время

как для большинства семян тропического / субтропического происхождения, нормальным диапазоном температуры хранения семян является 16 ± 2 °C. Исключения встречаются, в частности, для семян некоторых экваториальных видов (Sacand? et al. 2004; Pritchard et al. 2004).

285. В условиях гидратированного хранения имеется вероятность размножения грибков (или реже бактерий), и поэтому необходимо соблюдать бдительность и соответствующие меры для предотвращения передачи инфекции от семян к семенам. Если зараженные семена не будут удалены, они заразят все содержимое контейнера для хранения. Это делает хранящиеся семена бесполезными и устраняет их потенциал для подачи эксплантов для криосохранения. Таким образом, регулярные инспекции с самого начала и соответствующие меры, такие как применение фунгицидов, должны быть предприняты для устранения поверхностных и внутренних заражений из семян при первой же возможности (Calistru *et al.* 2000).

286. Поверхность семян необходимо продезинфицировать, осушить от любых остатков стерилизующих препаратов и посыпать фунгицидом широкого спектра действия. Грибы, имеющие внутреннее происхождение, в основном, расположенные непосредственно под покрытием семян, могут быть эффективно устранены путем поглощения семенами соответствующих системных фунгицидов. Тем не менее, это может отрицательно сказаться на семенах. Другой возможностью является термотерапия, которая применяется, например, к инфицированным желудям (Sutherland *et al.* 2002), но это может быть использовано только тогда, когда семена устойчивы к временному повышению температур - что не всегда так. Для дезинфекции внутренних поверхностей напрямую, после удаления покрытия необходимо убедиться в том, что семена хорошо выживают в условиях гидратированного хранения, и что наличие системных фунгицидов в ткани семян не является разрушительным.

287. В зависимости от продолжительности гидратированного хранения, контейнеры должны периодически и в течение небольшого времени вентилироваться, чтобы избежать развития состояния недостатка кислорода, и в это время необходимо также проверить содержимое контейнеров и удалить любые зараженные семена. Монослойное хранение семян является идеальным, но если семена хранятся в несколько слоев, они должны смешиваться во время аэрации. После удаления любых семян с признаками заражения, необходимо выложить все содержимое контейнера, подвергнуть дезинфекции все предполагаемые чистые семена и переместить эту партию семян в стерилизованный контейнер.

288. Необходимо периодически брать пробы хранимых семян с тем, чтобы проверять, имело ли место какое либо снижение содержания воды, а также энергии прорастания и жизнеспособности. Если содержание воды осталось в пределах того, как было, когда семена были помещены в условия гидратированного хранения, и нет никакого очевидного грибкового (или бактериального) поражения, но жизнеспособность снизилась, это означает конец полезного срока хранения. Аналогично, если на лицо видимые признаки прорастания многих семян, это значит, что достигнут конец полезного срока хранения. Снижение жизнеспособности семян, которые не потеряли значительного количества воды, или появление корневого выступа на большинстве семян, дает нам представление о количестве времени, в течение которого возможно гидратированное хранение семян в условиях используемого температурного режима.

D. Особые условия

289. Потеря воды из семян показывает, что высокая относительная влажность не поддерживалась, вероятно, по причине того, что контейнеры для хранения не были закрыты должным образом. Для такого образца семян результаты хранения будут неопределенными, и такой образец должен быть отброшен. Снижение жизнеспособности семян во время хранения может также быть результатом хранения в условиях ненадлежащей температуры. Этот параметр должен быть определен тестированием реакции семян на диапазон температур. Жизнеспособность семян могла снизиться, потому что они изначально были плохого качества, или не достигли достаточного уровня зрелости на момент сбора урожая.

290. В случаях, когда имеются большое количество внутренне зараженных семян, такие семена должны быть выявлены и выделены, с целью разработки эффективных средств для устранения их от будущих коллекций. Идентификация грибов, а именно на родовом уровне, может помочь в выборе фунгицидов, которые могут быть более эффективными в комбинации («коктейли»), действуя против определенных грибов. Иногда в семенах присутствуют вирусы, которые не могут быть устранены какими либо обработками. Если они могут привести к серьезным заболеваниям, растения должны быть уничтожены, как только проявятся вирусные симптомы.

291. Заражение может не поддаваться устранению какими либо методами обработки, в этом случае семена не могут храниться таким образом, и следует искать альтернативные методы сохранения генетических ресурсов. В таких случаях, семенам нужно дать возможность прорасти, и рассада, появившаяся от незараженных семян, должна содержаться в условиях медленного роста, и / или использована для альтернативных эксплантов для сохранения ex-situ, например, передана и посажена на полях генных банков или других садах, по мере необходимости.

Е. 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.
- Sacand? M., J?ker D., Dulloo M. E. & Thomsen K. A.** (eds.). 2004. *Comparative storage biology of tropical tree seeds*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 363 pp.
- Sutherland, J.R., Diekmann, M. & Berjak, P.** (eds). 2002. *Forest Tree Seed Health*. IPGRI Technical Bulletin No. 6, International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. Available online:
http://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/biodiversity/publications/pdfs/865_Forest_tree_seed_health_for_germplasm_conservation.pdf?cache=1336542152

6.4. СТАНДАРТЫ ХРАНЕНИЯ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ЗАМЕДЛЕННОГО РОСТА *IN VITRO*

А. Стандарты

6.4.1 Оптимальные условия для хранения культур *in vitro* должны быть определены в зависимости от вида.

6.4.2 Материал для хранения *in vitro* должен храниться в виде целых ростков или побегов, или необходимо хранить органы для видов, где они естественно формируются.

6.4.3 Должны существовать системы регулярного мониторинга для контроля качества культуры *in vitro* при хранении в условиях анабиоза, а также возможного заражения.

В. Контекст

292. Хранение *in vitro* используется для сохранения органов растений или ростков в течение среднесрочного периода (от нескольких месяцев до нескольких лет) в условиях, не наносящих ущерб, и в условиях замедленного роста. В целом, такой вид хранения не желателен для длительного хранения (Engelmann 2011). Хранение *in vitro* преимущественно применяется для клонирования зародышевой плазмы сельскохозяйственных культур т.к. оно также обеспечивает безопасный переход зародышевой плазмы по регулируемому фитосанитарному контролю. Технические документы дают детальную информацию о возможностях, имеющихся при хранении *in vitro*, по основным рассматриваемым параметрам и взаимодополняемости с другими технологиями хранения, такие как полевые генные банки (Reed *et al.* 2004; Engelmann 1999a).

293. Культуры *in vitro* служат источником свободных от болезней материалов для распространения, размножения и источником эксплантов для криоконсервации. Важным является безопасное удаление и утилизация зараженных материалов, так как это гарантирует, что патоген или вредитель не выбрасывается в окружающую среду. Необходим постоянный регулярный мониторинг, чтобы избежать накопления заражения, которое может произойти во время передачи, передаться воздушным путем от контейнера к контейнеру или активно передаваться переносчиками, как клещи и трипсы. Разбивка по гипергидратации - это еще одна опасность, которая обычно начинается в некоторых контейнерах немного раньше, таким образом можно спасти другую часть материала, если заметить это раньше.

С. Технические аспекты

294. Оптимальные условия для медленного роста должны быть определены перед хранением. Это может быть достигнуто путем манипулирования переменными по отдельности или в комбинации, в том числе световой режим, температура и состав среды (Engelmann 1991), но для достижения оптимальных результатов, как правило, необходимо экспериментирование.

295. Тип и физиологическое состояние эксплантов является основой успеха или неудачи для *in vitro* анабиоза. Культура *in vitro* также используется в качестве подготовительного этапа к криосохранению, а также для фазы восстановления после криосохранения. Таким образом, следует создать подходящую среду и условия для выращивания *in vitro* эксплантов в первую очередь. Это включает в себя соответствующие процедуры дезинфекции поверхности и среды прорастания (начиная со стандартной среды (Murashige and Skoog 1962), которая может нуждаться в переработке). Базальная среда может быть определена из литературы по культуре

подобных видов. Стандартные протоколы были опубликованы и могут быть использованы для руководства (в том числе George 1993; Hartmann *et al.* 2002; Chandel *et al.* 1995). Во многих случаях необходимы подробные тесты с использованием среды эксплантов и условий роста, и необходимы изготовленные по заказу протоколы с использованием сред эксплантов и условий роста, даже если виды находятся в близком родстве.

296. Если материалы содержатся в виде целых ростков и побегов, то можно избежать витрификации. Для эксплантов видов, которые в природе растут медленно, возможно не потребуются манипуляция средой или условиями культивирования.

297. Во время начала работы с эксплантами, важным является проведение экспериментов с различными перестановками и комбинациями средств для достижения удовлетворительного замедленного роста. Например, достаточное число различных реакции на манипуляцию для замедленного роста были зафиксированы для различных видов одного рода. Необходимым является поддержание длительной стабильности материала, хранящегося в условиях замедленного роста (Engelmann 2011). Оптимальной температурой для хранения видов, устойчивых к холоду, может быть от 0 до 5 ° C или несколько выше, для материалов тропического происхождения самые низкие переносимые температуры могут быть в диапазоне от 15 до 20 ° C, в зависимости от вида (Normah *et al.* 2011; INIBAP 2011; Engelmann 1999a; Engelmann 1991).

298. Как правило, готовятся различные варианты питательной среды, в частности со сниженным уровнем минералов, сниженным содержанием сахарозы и / или манипуляции типа и концентрации регуляторов роста, в то время как включение осмотически-активных веществ (например, маннит) также может быть эффективным (Engelmann 2011, Engelmann 1999a). Активированный уголь, добавленный в среду, может адсорбировать выделяемые полифенолы (Engelmann 1991).

299. Тип, объем, способы закрытия и атмосфера в емкости для содержания культуры являются важными параметрами (Engelmann 2011; Engelmann 1991), которые могут быть определены только экспериментальным путем при работе с новым материалом.

300. Хотя традиционно, хранение в условиях замедленного роста используется для материала *in vitro*, проростки могут также содержаться *ex vitro* в условиях, сдерживающих рост. Недорогой альтернативой является замедленный рост саженцев в тени в условиях недостатка света под естественными навесами (Chin, 1996). Кроме того, индукция хранения органов *in vitro* может быть использована для эффективного увеличения срока консервации в естественных условиях хранения органов формирующих урожай (например, имбирь [Engels *et al.* 2011], таро, ямс, картофель и т.д.).

D. Особые условия

301. Культура *in vitro* эксплантов древесных пород может представить особые проблемы, особенно в отношении экссудации полифенолов (Engelmann 1999b). Также проблемой является слабое укоренение, и экспланты становятся гипергидратированными. Гипергидратация и некроз листьев, развивающихся в период замедленного роста, может привести к ухудшению качества и, в некоторых случаях, к гибели всего побега.

302. В некоторых материалах накопление скрытых бактерии постепенно может стать препятствием для длительного хранения в условиях замедленного роста. Данную проблему можно избежать путем временного удаления витаминов из питательной среды или путем добавления антибиотиков, но редко эти меры будут иметь постоянный успех. Таким образом, возможно будет необходимо отказаться от этих культур при хранении (Abreu-Tarazi *et al.* 2010; Leifert and Cassels 2001; Senula and Keller 2011; Van den Houwe 2000; Van den Houwe 1998).

303. В генофонде могут наблюдаться большие различия в реакции на хранение *in vitro* со стороны разных видов / сортов, некоторые реагирует хорошо, а другие не могут быть сохранены с использованием этой технологии, что делает её применение невозможным (например, для кофе (Dussert 1997)). У некоторых видов (например, батат), органы могут быть сформированы *in vitro*, но их всхожесть трудно достичь. Это верно также и для полученных при помощи технологии *in vitro* луковичек в образцах некоторых видов (например, чеснок (Keller 2005)).

304. Внутренняя генетическая нестабильность некоторых видов (например, сахарного тростника) может возрасти из-за технологии *in vitro*, в то время как другие виды (например, маниока) продемонстрировали стабильность в течение длительного периода хранения (МИГРР / CIAT 1994). В последнем случае соматональные изменения могут происходить чаще всего. В большинстве случаев соматональные изменения сводят к минимуму последующее использование методов, которые позволяют избежать индукции адвентивных побегов или любое образование базального каллуса после резки. Место формирования каллуса должно быть отрезано при переходе к следующему периоду культуры. Во избежании путаницы о причинах генетических отклонений, необходимо проводить тщательное наблюдение однородности источника эксплантов, и необходимо исключить химеризм из донорского материала (или тщательно поддерживать, если это необходимо, в пестрых растениях). Так как регулярное обследование с помощью молекулярных маркеров кажется слишком дорогой процедурой, регулярный отбор проб может осуществляться в случаях, когда ожидается возникновение соматональных изменений

305. Состояние покоя органов может стать проблемой, когда побеги прекращают развиваться (часто встречается у видов, которые образуют орган в условиях хранения *in vitro*). Дополнительная обрезка или применение цитокининов может нарушить состояние покоя. Если это не удастся, то необходимо подождать некоторое время, пока спонтанное прорастание не окажется единственным (хотя и неопределенным) решением.

Е. 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. pp. 163-184 in Day, J.G., Stacey, G. (eds) *Methods in molecular biology* vol. 368. Cryopreservation and freeze drying protocols 2nd edition. Humana Press, Totowa, NJ.

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 *In vitro Conservation of Plant Genetic Resources*, eds Normah, M.N., M.K. Narimah and M.M. Clyde, Kuala Lumpur, Malaysia: Percetakan Watan Sdn. Bhd, pp. 203-215.

- Dussert S., N. Chabrilange, F. Anthony, F. Engelmann, C. Recalt & S. Hamon.** 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.** 1999a. (ed.) *Management of field and in vitro germplasm collections*. Proceedings of a consultation meeting, 15-20 January 1996, CIAT, Cali, Colombia. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, 165 pages.
- Engelmann, F.** 1999b. Alternative methods for the storage of recalcitrant seeds – an update. pp. 159-170 in Marzalina, M., Khoo, K.C., Jayanthi, N., Tsan, F.Y.M Krishnapillay, B. (eds) *Recalcitrant seeds*. FRIM, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Engelmann, F.** 2011. Biotechnologies for conserving biodiversity. *In vitro Cellular and Developmental Biology – Plant* 47: 5-16.
- Engels, J. M. M., Dempewolf H. & Henson-Apollonio V.** 2011. Ethical Considerations in Agrobiodiversity Research, Collecting, and Use. *J Agric Environ Ethics* 24:107–126
- George, E.F.** 1993. Chapter 10 in: *Plant propagation by tissue culture. Part 1: The technology* 2nd edition. Exegenics Limited, Whitchurch, Shropshire, U.K.
- Hartmann, H.T., Kesler, D.E., Davies, F.T. & Geneve, R.L.** 2002. Chapters 17 & 18 in: *Plant propagation – Principles and practices*. 7th edition. Prentice Hall, New Jersey, USA.
- INIBAP.** 2011. http://www.biw.kuleuven.be/dtp/tro/_data/itc.htm.
- IPGRI/CIAT.** 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. A joint publication of IPGRI and CIAT, Cali, Colombia.
- 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.
- Reed B.M., F. Engelmann, E. Dulloo & J.M.M. Engels** (eds.). 2004. Technical guidelines for the management of field and *in vitro* germplasm collections. IPGRI/FAO/SGRP, Rome.
- 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., Guns, J. & Swennen, R.** 1998. Bacterial contamination in *Musa* shoot tip cultures. *Acta Hort.* 490:485-492.
- 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.

6.5. СТАНДАРТЫ КРИОСОХРАНЕНИЯ

А. Стандарты

6.5.1 Экспланты, отобранные для криосохранения, должны быть наиболее высокого качества и позволять поступательное развитие после обрезки и криоконсервации.

6.5.2 Каждый шаг в крио-протоколе следует протестировать по отдельности и оптимизировать энергию и жизнеспособность в эксплантах для сохранения.

6.5.3 Должны быть разработаны средства для противодействия разрушающему воздействию активных форм кислорода (АФК), во время обрезки и всех последующих манипуляций.

6.5.4 После извлечения экспланты должны быть продезинфицированы с использованием стандартных процедур стерилизации.

В. Контекст

306. Криоконсервация позволяет хранить клетки или ткани в течение длительного времени в жидком азоте (-196 ° C), и метаболическая деятельность приостанавливается. В любом протоколе криосохранения необходимы четыре шага: (i) выбор, (ii) прекультура¹⁹, (iii) техника криоконсервации, (iv) извлечение из хранилища, и (v) посадка ростков или рассады.

307. Крио-протоколы должны быть разработаны для предотвращения повреждений, которые может нанести криоконсервация, и могут включать возможную крио-защиту, частичную сушку, охлаждение, хранение при криогенных температурах, согревание и регидратацию. Есть два основных типа процедур криосохранения: обычное медленное замораживание, основанное на вызванном замораживанием обезвоживании и флэш-замораживание (витрификация), которая включает в себя обезвоживание до охлаждения (Engelmann 2011a).

С. Технические аспекты

Отбор эксплантов

308. Уровень обезвоживания и равномерной потери жидкости клетками и тканями зависит от размера, а так как подавляющее большинство рекальцитрантных семян слишком большие по размеры для быстрой и равномерной сушки, они не могут быть криоконсервированы в исходном виде. Кроме того, клетки с содержанием воды $\geq 1,0$ г г⁻¹ не выживают после воздействия криогенных условиях. Должна быть разработана процедура для получения и культивирования эксплантов, подходящих для криоконсервации. Более высокая клеточно-тканевая однородность, обнаруживаемая в одном экспланте, повышает шанс криозащиты всех (или большинства) клеток экспланта и их способности к восстановлению без разрастания каллуса. Экспланты должны быть как можно меньших размеров, но достаточно большими, чтобы обеспечить поступательное развитие после вывода из состояния глубокого охлаждения и после криоконсервации. Экспланты для криоконсервации могут быть получены из эмбриональных осей, верхушки побегов, меристематических и эмбриогенных тканей. Для рекальцитрантных семян, изолированные эмбрионы /оси являются эксплантами выбора для криоконсервации. В случае если они слишком большие и не выдерживают требуемой степени обезвоживания, если они чувствительны ко всем широко применяемым режимам дезинфекции

¹⁹ Обработка для медленной акклиматизации эксплантов к дегидратизации/холоду/замерзанию

поверхностей, и / или не подходят к условиям культивирования, эксплантаты, такие как апикальная меристема, являются лучшим вариантом.

309. Для вегетативно размножающихся видов, эксплантами выбора являются почки, побеги, меристематические и эмбриогенные ткани. Не все типы эксплантов поддаются аналогичным процедурам криозащиты, даже если родительские виды сравнительно тесно связаны таксономически (Sershen *et al.* 2007), и реакции на процедуры криозащиты должны быть определены по видам, а также по генотипам. Как правило, материал с недостаточным уровнем развития более восприимчив к повреждениям, которые может нанести процесс иссечения; аналогично не должны отбираться семена, которые развились до стадии видимого корневого выступа (или других частей зародыша) (Goveia *et al.* 2004.).

310. Целые пыльники или изолированные пыльцевые зерна могут быть также использованы для криоконсервации. Они представляют собой наследственное генетическое разнообразие, как семена, но несущие мужские зародышевые единицы, они обычно имеют только гаплоидный хромосомный набор (см. Ganeshan 2008; Rajashekar 1994; Weatherhead *et al.* 1978). Когда пыльца хранится, она должна быть помещена в желатиновые капсулы или бумажные мешочки, при этом некоторые виды, требуют произвести осушение пыльцы перед хранением.

311. Для получения материала, пыльники или пыльца стряхиваются из капсул в пакеты и на пластинки при комнатной температуре. Оценку прорастания пыльцы лучше всего осуществлять в среде прорастания. Жизнеспособность пыльцы может быть проверена окрашиванием пыльцы и результаты сопоставляют с уровнем прорастания пыльцы, хотя всхожесть почти всегда будет ниже. В случаях если поведение того или иного вида до сих пор не известно, необходимо провести тест опыления, чтобы подтвердить успешное оплодотворение набором семян (Ganeshan 2008; Rajashekar 1994; Weatherhead *et al.* 1978).

312. Имеются вероятностные инструменты, которые облегчают подсчет количества побегов для хранения и извлечения, в зависимости от целей, выживаемости после криохранения, и других параметров (Dussert *et al.*, 2003).

Методы криосохранения

313. Важно провести процедуру по определению времени высыхания выделенных зародышей / осей для определения времени осушения необходимого для приведения материала до соответствующего содержания воды. Дополнительный курс осушения должен быть предпринят после любых обработок перед ростом или криопротекторами.

314. Скорость охлаждения до температуры жидкого азота важна и должна учитываться в связи с содержанием воды эксплантами. Необходимо подобрать крио-протокол для того, чтобы содержание воды было в диапазоне, который предотвратит внутриклеточную кристаллизацию при охлаждении и нагревании, а также поможет избежать повреждений, нанесенные осушением субклеточной структуры. При самом высоком уровне содержания воды при осушении ствола, чем быстрее скорость охлаждения, тем лучше, так как очень быстрое охлаждение небольших образцов, как правило, протекает равномерно и сводит к минимуму продолжительность диапазона температур при котором наступает кристаллизация. Эмбрионы / оси, как правило, составляют лишь незначительную часть массы и объема семян, и подходят для флэш-сушки, таким образом, избегая проблем связанных с обменом веществ. С другой

стороны, скорость охлаждения является менее важным фактором для рекальцитрантных корневых осей осушенных (с использованием испарительной технологии сушки) при нижних пределах их толерантности.

315. Методы, основанные на предварительном подсушивании во время контролируемого уровня охлаждения, могут применяться, когда материал, подлежащий криоконсервированию, состоит из эмбрионных культур и побегов от умеренных видов (Engelmann 2011a). Для растительного материала задокументированы многие протоколы и примеры криосохранения эксплантов разных видов с использованием одной или нескольких процедур (Benson *et al.* 2007). Кроме того, существует огромное количество публикаций и журналов по криоконсервации других меристематических тканей, эмбрионных тканей и спящих почек. CryoLetters является хорошим источником информации о многих из них. После успешной разработки протокола для видов, должны проводиться периодические тестирования образцов, извлеченных из криосохранения, первоначально после коротких промежутков времени хранения.

316. В большинстве протоколах по витрификации растений используются криопротекторы (обычно смеси проникающего и непроникающего типов). Испарительное подсушивание в основном используются для зиготических эмбрионов / эмбриональных осей. Разработанная первоначально для верхушек и соматических эмбрионов, инкапсуляция-дегидратация и процедура называемая витрификацией (с использованием различных растворов для витрификации растений (PVS), также были использованы в процедурах для криоконсервирования полученных из семян эмбрионов и эмбриональных осей. Недавний обзор (Engelmann 2011b) дает информацию, что во всех протоколах витрификации, разработанных для соматических зародышей, используется PVS2. Витрификация с использованием PVS2 была также использована для криоконсервации кончиков побегов широкого спектра видов тропического (включая несколько видов с рекальцитрантными семенами, вегетативно-размножаемых видов) и умеренного происхождения. Другим распространенным раствором витрификации является PVS3 (Nishizawa 1993), который не использует ДМСО и, следовательно, может быть предпочтителен для видов, которые повреждаются ДМСО. В последнее время был разработан ряд альтернативных растворов для витрификации, которые могут быть эффективно использованы для криоконсервирования материалов, проявивших повышенную чувствительность к PVS2 и PVS3 (Kim *et al.*, 2009a; Kim *et al.*, 2009b).

317. В нижних пределах осушения переносимых рекальцитрантными эмбрионами и корневыми осями, как правило, доля замерзающей воды сохраняется. Во время медленного охлаждения и согревания может произойти кристаллизация в замерзающей фракции воды при температуре между -40 и -80 °C. Согревание при ~ 37 до 40 °C помогает избежать этого, отметим, что переход от криогенных температур должен быть очень быстрым.

318. Главными методами криосохранения и их важными требуемыми параметрами являются:

- охлаждение с контролируемой скоростью: выбор криопротектора (в редких случаях смесь криопротекторов); выбор скорости охлаждения (для предотвращения кристаллизации внутри клеток);
- инкапсуляция и дегидратация: определение времени осмотического обезвоживания и скорости воздействия, определение времени сушки воздуха;
- витрификация: определение вида витрификационного раствора и время его воздействия (оценка их токсичности); PVS2 следует использовать во льду.

капельная заморозка: определение вида витрификационного раствора и время его воздействия (оценка их токсичности).

Вывод из состояния глубокого охлаждения

319. Согревание витрифицированной зародышевой плазмы часто проводится в два этапа, первый медленный, как правило, при комнатной температуре. После этого проводят более быстрое согревание при температуре 45 ° C, чтобы избежать появления льда (Benson *et al.* 2011).

320. Образцы, которые сохранялись методом инкапсуляции-дегидратации²⁰, могут быть переданы непосредственно на среду восстановления / прорастания для быстрого согревания, или криопробирки содержащие альгидные шарики могут быть помещены в водяную баню при температуре 40 ° C в течение 2-3 мин. Кроме того, шарики могут быть подвержены регидратации путем перевода их на ~ 10 мин в жидкую среду. Удаление капсулы также оказалось полезным (Engelmann *et al.* 2008). Инкапсуляция-дегидратация считается стойким и успешным методом для меристем многих видов (Gonzalez and Engelmann 2006), соматических зародышей хвойных (Engelmann 2011b), ряда цитрусовых видов и сортов, и умеренных фруктовых видов (Damiano *et al.* 2003; Damiano *et al.* 2007).

321. Для восстановления метаболической активности в клетках при согревании, токсичные криопротекторы должны быть удалены из клетки и постепенно должен быть восстановлен нормальный водный баланс, по мере того, как клетка возвращается к нормальной температуре функционирования. Первоначальный состав восстановительной среды необходимо будет слегка изменить, после того как экспланты были обезвожены или подверглись криогенному воздействию. С использованием растворов для витрификации растений, после быстрого согревания, необходимо действие по разжижению или разгрузке (удаление токсичных PVS) (Sakai *et al.* 2008; Kim *et al.* 2004).

322. Все этапы криосохранения могут поставить под угрозу выживание и, в частности, согревание и регидратация может сопровождаться всплеском активных форм кислорода (АФК/ROS)²¹ (Whitaker *et al.* 2010; Berjak *et al.* 2011). Среда согревания и регидратации в идеале должны также противодействовать пагубным последствиям АФК, и необходимо, чтобы были предприняты меры в целях сокращения всплесков АФК. (Whitaker *et al.* 2010; Berjak *et al.* 2011; Engelmann 2011a; Goveia *et al.* 2004). Обработка катодной водой (разбавленный раствор хлористого кальция и хлористого магния) имело мощные антиоксидантные свойства, которые противодействуют эффектам всплеска АФК на всех этапах протокола криоконсервации для рекальцитрантных эмбриональных осей *Strychnos gerrardii*, и способствовало развитию побегов (Berjak *et al.* 2011). Благоприятное влияние обработки выражено больше при развитии эмбриона / оси в период гидратированного хранения, что свидетельствует о важности статуса развития семян. Похоже, что обработка осей нетоксичными антиоксидантами, катодной водой, дает объяснение предыдущих неудач осей дать всходы, а мелиоративная обработка

²⁰ 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⁻¹ (20% wmb), и затем быстро охлаждаются.

²¹ ROS/АФК – это высоко реактивные молекулы, часто свободные радикалы, которые наносят вред белкам, липидам и нуклеиновым кислотам.

противодействовала стрессовым всплескам АФК. Кроме того, инструменты, используемые для иссечения эмбриона / оси, могут усугубить выработку АФК. В связи с этим, использование иглы для подкожных инъекций, вероятно, вызовет меньшую травму, чем использование хирургического лезвия (Benson *et al.* 2007). Использование диметил сульфоксида (ДМСО), гидроксильных радикалов, в качестве предварительного шага (до полного разрыва семядольных остатков), и в качестве обработки после их удаления, показали возможность облегчения роста побегов. Другие антиоксиданты также используются для противодействия образованию АФК, например, аскорбиновая кислота и токоферол (Chua and Normah 2011; Johnston *et al.* 2007; Uchendu *et al.* 2010). Выживание растительного материала можно также оценить на основе ферментативной деятельности живых клеток растений (Mikula 2006).

Получение рассады и ростков

323. После того как иссеченные зародыши / эмбриональные оси были разморожены, следующий шаг заключается в получении рассады или ростков для завершения цикла восстановления. Получение рассады и ростков требует двух шагов: (I) своего получения *in vitro* и (II), получение *ex vitro* и приспособление или акклиматизация. Материал, оправившийся от криоконсервации, первоначально должен быть помещен в восстановительную среду в темноте. Для введения в *in vitro*, необходимо дезинфицировать поверхность эксплантов и держать их стерилизованными инструментами, все процедуры проводятся в ламинарном потоке воздуха. В условиях, когда нет доступа к шкафу ламинарного потока, можно выполнять работы в закрытых чистых тщательно продезинфицированных комнатах и воздуха в них. Эмбрионы и эмбриональные оси должны подвергнуться процессу регидратации в течение 30 минут при комнатной температуре в темноте. Результативная рассада, из которых развились как корни, так и побеги, является мерилем успешной криоконсервации оси. Для материалов растений, размножающихся вегетативно, криоконсервация считается успешной, когда появляются всходы, которые могут иметь корни или в дальнейшем высадиться.

324. После периода предосторожности в темных условиях (Touchell and Walters 2000) экспланты обычно помещаются в комнаты роста с обычными условиями освещения и температурными режимами, которые должны быть созданы в самом начале, как подходящие данному виду. Световой режим и температура для прорастания *in vitro* и развития рассады / ростков являются параметрами, которые должны быть доработаны, и будет необходима передача эксплантов через несколько этапов. Очень важно, чтобы рассада и ростки получаемые *in vitro* изначально содержались при высокой относительной влажности, которая постепенно уменьшается.

325. Создание *ex vitro* и ее адаптация по существу включает передачу рассады / ростков от условий замедленного роста или криоконсервации растительного материала от гетеротрофных условий *in vitro* в стерильную основанную на почве среду, в которой будут развиваться автотрофные условия. Восстановительная среда должна содержать макро-и микроэлементы, необходимые минералы и источник углерода, но будет также необходимо добавить регуляторы роста. Среда должна быть проавтоклавирована во время подготовки и любой термолабильный компонент (при необходимости) должен подвергнуться фильтр-стерилизации и добавляться в дальнейшем. Подходящие среды для прорастания эмбрионов / осей различных видов основаны на MS (Murashige and Skoog 1962): Тем не менее, питательная среда MS может быть использована в полную силу, наполовину или четверть, как видно из реакции эксплантов при первой работе с семенами отдельных видов. В зависимости от поставленной цели, экспланты, оправившиеся от криоконсервации, непосредственно выращиваются в рассаду / ростки для акклиматизации, или может произойти фаза размножения до акклиматизации, тем самым предоставляя возможность производить нужное количество экземпляров.

D. Особые условия

326. Следует отметить, что для разработки протокола может потребоваться более одной коллекции и, возможно это может затянуться на два года и более в связи с сезонным характером доступности семян.

327. Следует отметить, что материал может сохраняться либо в жидком азоте, либо при более высокой температуре, когда азот находится в паровой фазе. Хранение в паровой фазе, является гораздо более дорогостоящим и менее безопасным, чем хранение непосредственно в жидком азоте. Даже если развитие некоторых микробов останавливается в жидком азоте, по существу нет условий для последующего заражения образца, потому что они проходят через процедуры мытья в стерильных условиях при нагревании. Даже если споры могут прилипнуть к поверхности эксплантов, микробы не могут проникнуть внутрь в жидкий азот, потому что все такие процессы приостанавливаются при низких температурах.

328. Иссеченные оси могут не прорасти ввиду их уровня развития. Таким образом, собранные ростки должны быть размещены в условиях гидратированного хранения и периодически должны отбираться пробы для установления прорастания и для выяснения как растут иссеченные оси. В случае если ни семена / ростки, ни иссеченные зародыши / оси не прорастают, материал может быть мертв или находиться в состоянии покоя. Выполнение теста на жизнеспособность поможет определить действительно ли семена жизнеспособны. В этом случае можно предположить, что это состояние покоя, и должны проводиться исследования для нарушения этого состояния.

329. В случае семян самых рекальцитрантных видов, восстановление, как это практикуется для других семян, не является выходом. Если есть неприемлемое снижение качества криоконсервированных эмбрионов / осей, единственным вариантом является повторный отбор проб семян из родительской популяции и усовершенствование процедур. В случаях, когда эмбрионы / эмбриональные оси по-прежнему не поддаются криоконсервации, то внимание должно быть сосредоточено на разработке подходящих альтернативных эксплантов, в идеале полученных от всходов / проростков полученных *in vitro*.

330. Материал, длительно содержащийся *in vitro*, может быть не пригодным для получения материала для криоконсервации, так как этот материал может содержать или накапливать скрытые бактерии (эндофиты), которые проявятся во время восстановления после криоконсервации и, таким образом нарушат криоконсервацию полностью. Бывают случаи, когда экспланты (например, узловые сегменты) исходного материала от культур длительно содержащихся *in vitro* чрезмерно увлажнены. В таких случаях исходный материал следует культивировать *de novo*.

331. Культуры, которые заразились, должны быть немедленно удалены с комнаты роста и уничтожены. Самым разрушительным непредвиденным обстоятельством в любой комнате роста является заражение клещами. После удаления любых культур, которые имели признаки заражения клещами, требуется быстрое обеззараживание объекта. Далее следует осмотр каждой емкости, удаление и уничтожение каких либо оставшихся признаков заражения клещами (которые через укусы Parafilm™ распространяют грибковые споры с зараженных культур на другие).

332. Исчерпание запасов жидкого азота в крио-хранилище или морозильной камере может привести к безвозвратной потере всех образцов. Несвоевременное обнаружение электрического или другого сбоя системы регулирования температуры в комнате роста может привести к перегреву с последующей потерей материала *in vitro*.

Е. Рекомендуемая библиография

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

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

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. System-wide Genetic Resources Programme, Rome, Italy.

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., 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.

Damiano C., Arias Padr? M. D., & Frattarelli A. 2007 Cryopreservation of some Mediterranean small fruit plants. *Acta Horticulturae* 760: 187-194

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 Plant Biotechnology and Agriculture – Prospects for the 21st Century. A. Altman & P.M. Hazegawa (eds.), Oxford: Academic Press, pp. 255-268.

Engelmann, F. 2011b. *Cryopreservation of embryos: an overview*. Chapter 13 in Thorpe, T.A., Yeung, E.C. (eds) Plant embryo culture methods and protocols. *Methods in Molecular Biology*, vol. 710, DOI 10.1007/978-1-61737-988-8_13, Springer Science+Business Media, LLC 2011.

Engelmann, F., Gonzalez-Arnao, M.-T., Wu, Y., & Escobar, R. (2008). The development of encapsulation dehydration. in Reed, B.M. (ed.) *Plant cryopreservation A practical guide*. Springer, New York. pp. 59-75

Ganeshan, S., Rajasekharan, P.E., Shashikumar, S. Decruze, W. 2008. Cryopreservation of pollen. In: Reed, B.M. (ed.) *Plant Cryopreservation: A practical Guide*. Springer, pp. 443-464.

Gonzalez Arnao 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. & F. Engelmann.** 2009b. Development of alternative loading solutions in droplet-vitrification procedures. *Cryo Letters* 30: 291-299.
- Mikula A, Niedzielski M, Rybczyński J.J.** 2006. The use of TTC reduction assay for assessment of *Gentiana* spp. cell suspension viability after cryopreservation. *Acta Physiologiae Plantarum* 28: 315-324.
- Murashige, T. & Skoog, F.** 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Nishizawa S, Sakai A, Amano Y, Matsuzawa T.** 1993. Cryopreservation of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) embryogenic suspension cells and subsequent plant regeneration by vitrification. *Plant Sci* 91: 67-73.
- Rajasekharan, P.E., Rao, T.M. Janakiram, T. & Ganeshan, S.** 1994. Freeze preservation of gladiolus pollen. *Euphytica* 80: 105-109.
- Reed, B.M. (ed.).** 2008. *Plant Cryopreservation: A practical Guide*. Springer, New York, USA. 513 pp.
- Sakai, A., Hirai, D. & Niino, T.** 2008. Development of PVS-based vitrification and encapsulation-vitrification protocols. pp. 33-57 in Reed, B.M. (ed.) *Plant cryopreservation A practical guide*. Springer, New York.
- Sershen, Pammenter, N.W., Berjak, P. & Wesley-Smith, J.** 2007. Cryopreservation of embryonic axes of selected amaryllid species. *Cryo Letters* 28: 387-399.
- 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.
- 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

А. Стандарты

6.6.1 Паспортные данные всех образцов документируются при помощи паспортных идентификаторов культур ФАО/МИГРР. Кроме того, информация об образцах должна также включать инвентаризацию, приказы, распределение и обратную связь пользователей данных.

6.6.2 Данные и информация об управлении, производимые в генном банке, должны быть зарегистрированы в хорошо спроектированной базе данных, и включать при записи данные характеристик и оценки .

6.6.3 Данные параграфов 6,1. и 6,2 должны храниться и изменения должны вноситься в соответствующие базы данных и международно-принятые стандарты данных.

В. Контекст

333. Полная информация об образцах совершенно необходима генному банку для управления генным банком. Паспортные данные представляют собой минимальный объем данных, но полезной также является дополнительная информация, включая географические данные (координаты GPS), данные окружающей среды (наложение климатических и почвенных карт), данные о месте сбора и историческая информации, а также полезными являются данные о характеристике материала и его оценке.

С. Технические аспекты

334. Благодаря достижениям в области информационных технологий, в настоящее время относительно просто записать, управлять и распространять информацию об образцах. Все генные банки должны использовать совместимую систему хранения данных и поисковых систем. Идентификаторы культур ФАО / МИГРР (Alercia *et al.* 2001) должны быть использованы всеми генными банками, поскольку это облегчает обмен данными.

335. Данные характеристики и оценки составляются пользователями. Такие данные полезны для генного банка в управлении своими коллекциями (BRAHMS, 2011) и способствуют их последовательному использованию. Генным банкам рекомендуется запрашивать комментарии по этим данным.

336. Управление данными должно быть как можно более полным для эффективной работы с коллекцией. Большинство данных предназначены только для внутреннего пользования куратором, и имеют ограниченную ценность или не представляют никакой ценности для других пользователей и / или генных банков получателей. Таким образом, данные об управлении должны быть ограничены для использования только владельцем коллекции; информация об истории образца, форме жизни и наличии может быть извлечена для общественного использования. Помимо ключевых данных об образце (паспорт и данные характеристики) они должны содержать следующие сведения:

- iv) История (дата приобретения, предварительное количество, даты изменения количества, таксономическое определение, имя специалиста, который определил материал, культивирование любого донорского материала в поле или теплице, способ извлечения материала *in vitro* и крио - материал из этого донорского материала);
- v) Тип хранения (*in vitro* или криоконсервации, или гидратированное хранение в случае рекальцитрантных семян)
- vi) Место хранения материала (комната для выращивания, крио-бак с конкретным помещением в коробке);
- vii) Расщепление образца на несколько частей (когда материал делится на суб-клоны, несколько комплектов криоконсервации, количество хранимых пробирок);
- viii) Безопасность дублирования (дата дублирования, в какой организации / стране дублировалась, ответственные лица, ссылки на документы по дублированию);
- ix) Ссылка на протокол, используемый для *in vitro* культуры и / или криоконсервации;
- x) Метка емкостей для культуры (цветовой код, штрих-код). Имеются устойчивые к жидкому азоту метки, которые, при необходимости, могут быть обернуты вокруг уже замороженных криопробирок.

337. Дальнейший прогресс в области биотехнологий даст возможность дополнять фенотипические данные молекулярными данными. Штрих -кодирование образца будет полезным в управлении информацией и материалами и снижает вероятность ошибок.

338. Большинство генных банков сейчас имеют доступ к компьютерам и Интернету. Компьютерные системы для хранения данных и информации позволяют обеспечить комплексное хранение всей информации, связанной с управлением *in vitro* и находящейся в состоянии криоконсервации коллекциями. Были специально разработаны системы управления данными зародышевой плазмы, такие как GRIN-Global (2011), для универсальной документации и управления информацией в генных банках. Принятие стандартов данных, которые сегодня существуют для большинства аспектов управления данными генного банка, позволяет упростить управление информацией и улучшить использование и обмен данными. Обмен информацией об образце и доступ к ней потенциальных пользователей зародышевой плазмы, является важным для содействия и поддержки использования коллекции. В конечном счете, сохранение и использование хранящейся зародышевой плазмы обеспечивается хорошим управлением данными и информацией.

D. Особые условия

339. Потеря или неполная документация снижает ценность образца вплоть до того, что образец может быть признан непригодным к использованию. Несоответствующий материал (например, неустойчивые к жидкому азоту метки) может привести к потере данных. В больших коллекциях квалификация работников становится очень важным фактором. Риск недостаточной регистрации данных должен быть четко обозначен. В сложных коллекциях, активный доступ к данным об управлении должен быть только для ответственных лиц.

Е. Рекомендуемая библиография

Alercia, A., Diulgheroff, S. & Metz, T. 2001. FAO/IPGRI. Multi-crop Passport Descriptors
http://www.biodiversityinternational.org/.../faoipgri_multi_crop_passport_descriptors

BRAHMS. 2011. Botanical Research and Herbarium Management System.
<http://dps.plants.ox.ac.uk/bol>

GRIN-Global. 2011. Germplasm Resource Information Network Database- Version 1.
http://www.grin-global.org/index.php/Main_Page

6.7. СТАНДАРТЫ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ И ОБМЕНА

А. Стандарты

6.7.1 Все зародышевые плазмы должны распределяться в соответствии с национальным законодательством и соответствующими международными конвенциями.

6.7.2 Все образцы предоставляются вместе со всеми необходимыми документами, требуемыми страной донора и получателя.

6.7.3 Поставщик и получатель должны создать условия для передачи материала и обеспечить адекватный рост растений из состояния *in vitro* / криоконсервированного материала.

В. Контекст

340. Распределение зародышевой плазмы состоит в поставке репрезентативного образца семян из генного банка в ответ на запрос пользователей зародышевой плазмой растений. Постоянно растет спрос на генетические ресурсы для решения проблем, которые вызваны изменением климата, изменением степени вирулентности ведущих вредных организмов и заболеваний, а также инвазивными чужеродными видами и других потребностей конечных пользователей. Этот спрос привел к более широкому признанию значения применения зародышевой плазмы из генных банков, что в конечном итоге определяет распределение зародышевой плазмы. Важно, чтобы распределение зародышевой плазмы через границы соблюдало международные нормы и стандарты в области фитосанитарных норм и правил, и выполнялось в соответствии с положениями международных договоров и конвенций о биологическом разнообразии и генетических ресурсов растений.

С. Технические аспекты

341. Двумя международными инструментами, регулирующие доступ генетических ресурсов, являются МД ГРРПСХ и КБР. МД ГРРПСХ облегчает доступ к ГРРПСХ и обеспечивает совместное использование преимуществ их применения. Этот Договор установил многостороннюю систему для ГРРПСХ с тем, чтобы в его рамках был создан запас из 64 наименований продовольственных и кормовых культур (обычно относится к культурам в Приложении 1 к Договору), которые при распространении сопровождалась ССПМ. ССПМ может также использоваться для культур, не перечисленных в Приложении 1, однако доступны и другие модели. Доступ и совместное использование выгод происходит в соответствии с Нагойским протоколом. МД ГРРПСХ и КБР подчеркивают взаимосвязь между сохранением и устойчивым использованием, наряду ускоренным доступом и совместным использованием выгод, получаемых в результате применения этих ресурсов на равноправной основе.

342. Все продукты генных банков должны сопровождаться необходимой документацией, такой как фитосанитарным сертификатом и разрешением на импорт, а также паспортными данными. Требования конечного пункта назначения и последние фитосанитарные требования стран-импортеров (во многих странах, правила часто меняются) должны быть проверены перед каждой отправкой. Передача зародышевой плазмы должна быть тщательно спланирована по согласованию с уполномоченным национальным институтом для подготовки соответствующей документации, такой как официальный фитосанитарный сертификат, который соответствует требованиям страны-импортера. Получатель зародышевой плазмы должен предоставить

генному банку поставщику информацию о документах, необходимых для импорта растительного материала, в том числе фитосанитарные требования.

343. Большинство видов из рекальцитрантных семян являются долговечными многолетними, которые не воспроизводятся до тех пор, пока их возраст не достигнет нескольких лет. Таким образом, восстановление не является быстрым способом для увеличения размеров выборки в целях удовлетворения спроса. Если образец находится в виде альтернативного экспланта *in vitro*, возможно приумножение до появления независимых ростков, но запрос должен быть сделан заранее.

344. Зародышевая плазма должна дойти до пункта своего назначения в хорошем состоянии, и тем самым неблагоприятные условия окружающей среды во время транспортировки и таможенного оформления должны быть сведены к минимуму. Рекомендуется использовать надежную курьерскую службу, имеющую опыт в работе с таможенной службой. Промежуток времени между получением запроса на зародышевую плазму и отправлением материалов должно быть сведено к минимуму, чтобы повысить эффективность функции генных банков. Если образец находится в криоконсервированном состоянии и в настоящее время передается другому генному банку, где он будет продолжать сохраняться в состоянии криоконсервации, образец должен быть отправлен в сухом грузотправителе с жидким азотом.

345. Если образец планируется высадить сразу же по получению, он может быть разморожен, регидратирован и заключен в гранулы альгината кальция до отправки. Такие синтетические семена были первоначально разработаны для соматических зародышей, но могут успешно поддерживать в хорошем состоянии криоконсервированных иссеченных эмбрионов / оси, которые были разморожены и подверглись регидратации, по крайней мере, в течение 10 дней при температуре 16 ° C без инициирования прорастания (корневой выступ). Прорастание и посадка рассады / ростков синтетических семян возможно как *in vitro* и может быть успешным в стерильной смеси для рассады. Это может быть вариантом и для других мелких эксплантов после криоконсервации, но эта техника применяется в редких случаях.

346. Проростки, полученные от хранения *in vitro* с замедленным ростом или в криоконсервации, должны быть направлены в соответствующих контейнерах. Получатели криоконсервированных и *in vitro* материалов должны иметь возможность передавать материалы в горшки или в поле, или уметь предпринимать такие меры.

347. Для отправки ростков *in vitro* рекомендуется использование стерильных пластиковых мешков, которые могут содержать специальные зоны аэрации. Если используются стеклянные контейнеры, нужно обеспечить достаточное наполнение контейнеров и дать декларацию о хрупкости. В случае использования контейнеров из стекла и пластика, нужно указать правильное направление контейнеров.

D. Особые условия

348. Плохое обращение, в том числе ненадлежащая упаковка или задержка в отправке, может привести к потере жизнеспособности и потере материала. Таким образом, очень важно, чтобы поставщик и получатель создали условия для передачи материала и обеспечивать условия для адекватного восстановления растений.

Е. Рекомендуемая библиография

Rao N.K., Hanson J., Dulloo M.E., Ghosh K., Nowell D. & Larinde M. 2006. Germplasm distribution. Chapter 7 in *Manual of seed handling in genebanks*. Handbooks for Genebanks No. 8. Bioversity International, Rome, Italy.

6.8. СТАНДАРТЫ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ДУБЛИКАТОВ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ СОХРАННОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ

А. Стандарты

6.8.1 Должна внедряться и по мере необходимости и обновляться стратегия управления рисками, которая предотвращает физические и биологические риски, определенные в стандартах, включая такие проблемы как пожары, затопления и сбои электропитания.

6.8.2 Генный банк должен следовать местным требованиям и протоколам в области охраны труда и техники безопасности (ОТТБ). В крио-части генного банка должны соблюдаться все меры предосторожности, связанные с использованием жидкого азота.

6.8.3 Генный банк должен иметь достаточно необходимых сотрудников для выполнения всех рутинных обязанностей для того, чтобы генный банк мог приобретать, сохранять и распространять зародышевую плазму.

6.8.4 Дубликат образца, изготовленный в целях обеспечения сохранности каждого образца, должен храниться в географически удаленных генных банках в наилучших условиях.

6.8.5 Каждый дубликат, изготовленный в целях обеспечения сохранности, должен иметь соответствующую документацию.

В. Контекст

349. Крайне важным является то, чтобы физическая инфраструктура любого генного банка, а также безопасность его сотрудников были защищены таким образом, чтобы обеспечить застрахованность находящейся на хранении зародышевой плазмы от любых угрожающих внешних факторов. Для успешного управления коллекцией зародышевой плазмы генный банк также должен иметь квалифицированный и обученный персонал. Управление предполагает не только поддержание коллекции и ее данных, но и оценку рисков, связанных с деятельностью человека или причиняемых природой. Существуют определенные риски, связанные с использованием жидкого азота.

350. Физическая безопасность коллекции также требует дубликата для обеспечения сохранности коллекций в географически удаленных местах, в тех же условиях. В случае стихийного / физического бедствия (пожары, наводнения), такие дубликаты могут быть использованы для повторного создания коллекций. В дополнение к самому образцу, дубликат для обеспечения сохранности включает в себя также дублирование информации, что является резервной копией базы данных.

С. Технические аспекты

351. Генный банк должен осуществлять и продвигать систематическое управление рисками, которое устраняет физические и биологические риски в повседневной среде. Генный банк должен иметь разработанную стратегию управления рисками, описывающую действия, которые необходимо предпринять в отношении зародышевой плазмы и соответствующих

данных при возникновении чрезвычайной ситуации в генном банке. Эта стратегия и сопровождающий план действий должны регулярно пересматриваться и обновляться с учетом меняющихся обстоятельств и новых технологий, а также распространяться среди сотрудников генного банка.

352. Охрана здоровья и безопасность персонала также должны учитываться. Криохранилище должно хорошо вентилироваться системой вытяжной вентиляции, и должны быть установлены кислородные датчики. Утечка жидкого азота в криопробирках является потенциально опасной, поэтому должны использоваться соответствующие сосуды, специально предназначенные для этих целей, и инструкции производителей должны строго соблюдаться. Чтобы снизить риск травм, операторы должны носить защитную одежду, перчатки и маски.

353. Поставки жидкого азота должны осуществляться бесперебойно, и очень важно, чтобы уровни поставок жидкого азота сохранялись. Криогенные резервуары для хранения должны быть помещены в соответствующие места: проветриваемые и с температурой менее 50 °С. Жизненно важным является поддержание уровня жидкого азота в контейнерах для хранения и если весь жидкий азот испарится, то все содержимое емкости для хранения должно быть уничтожено.

354. Для поддержания жизнеспособности образцов, температура ткани должна быть ниже температуры стеклования²². Необходимо соблюдать осторожность так, чтобы при удалении сосуда (пробирок, флаконов) из крио-резервуара, температура остальных флаконов не увеличивалась до температуры стеклования. Сосуды (флаконы) не должны быть маркированы обычными клеющимися метками, так как они отойдут при температуре жидкого азота. Использование предназначенных принтеров для распечатки меток позволяет распечатывать специальные криоустойчивые метки, информацию и уникальный штрих-код. Должны соблюдаться рекомендации производителя о том, какие флаконы использовать для определенных целей.

355. Активное управление генным банком требует хорошо обученного персонала, и это имеет решающее значение для распределения обязанностей с соответствующей компетенцией. Генный банк, следовательно, должен иметь план для персонала и регулярно должен выделяться соответствующий бюджет, чтобы гарантировать, что в генном банке имеется правильно обученный персонал для исполнения обязанностей направленных на обеспечение того, что генный банк может приобретать, сохранять и распространять зародышевую плазму. Предпочтительно наличие дисциплинарных и технических специалистов в различных областях. Персонал должен иметь соответствующую подготовку, полученную посредством сертифицированного обучения и / или посредством профессиональной подготовки и потребности в обучении должны определяться по мере их возникновения.

356. Физическая безопасность коллекции также требует безопасного размножения коллекций в географически удаленных местах, в тех же условиях. В случае стихийного / бедствия (пожары, наводнения), такое размножение может быть использовано для повторного создания коллекций. Дублирующий банк должен быть расположен в политически и геологически стабильных местах и на высоте, при которой повышение уровня моря не будет проблемой. Условия хранения для обеспечения безопасности дубликатов должны быть такими же, как и в случае первоначальной коллекции.

²² В PVS2, одно из самых обычно используемых крио-защитных решений, переход в стекло, происходит при температуре -115 °С.

357. Дубликаты для обеспечения сохранности требуют подписания юридического соглашения между депозитирующей и хранящей сторонами или хранилищем генного банка. Последний не имеет права на использование и распространение зародышевой плазмы. Доступ к коллекции должен контролироваться, чтобы избежать несанкционированного использования.

358. Образцы для дубликатов для обеспечения сохранности должны быть подготовлены так же, как это было для первоначальной коллекции. Депозитор отвечает за гарантию хорошего качества дубликата для обеспечения сохранности. Чтобы предотвратить ухудшение во время перевозки в банк-получатель, криоконсервированные образцы должны быть отправлены в сухом грузотправителе с жидким азотом, и перевозку осуществить как можно быстрее.

D. Особые условия

359. В отсутствие надлежащим образом подготовленного персонала, либо при наличии временных или других ограничений, решением может быть передача части работы генного банка сторонним организациям или обращение за помощью к другим генным банкам.

360. Несанкционированное проникновение на территорию генного банка может привести к прямой утрате материала, и поставить под угрозу коллекцию в результате нечаянного занесения вредителей и болезней.

361. Контейнеры для жидкого азота часто загрязнены грибами или бактериями. Если образцы хранятся в жидкой фазе азота, может произойти загрязнение образца.

362. Могут возникнуть обязательства при ухудшении качества материала при транспортировке. Таким образом, все возможные случаи должны быть предусмотрены в соглашении.

E. 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 behavior in shoot tips during cryoprotection. *Cryobiology* 52: 48–61.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1: Список Сокращений

АКФ	Активные формы кислорода
ВТО/СФС	Всемирная торговая организация/Санитарно-фитосанитарное соглашение
ГРПСХ	Генетические ресурсы растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства
ДМСО	Диметил сульфоксид
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
КБР	Конвенция о биологическом разнообразии
КГРПСХ	Комиссия по генетическим ресурсам для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства
МД ГРПСХ	Международный договор по генетическим ресурсам растений
МИГРР	Международный институт генетических ресурсов растений (называется «Bioversity International»)
МККЗР	Международная конвенция о карантине и защите растений
ОТТБ	Охрана труда и техники безопасности
ССПМ	Стандартное соглашение о передаче материала
СОП	Стандартные операционные процедуры
СПМ	Соглашение о передаче материала
ФАО	Продовольственная и сельскохозяйственная программа ООН
AFLP	Полиморфизм длин усиленных фрагментов
BRAHMS	Система управления ботанического исследования и гербария
ELISA	Иммуносорбентный ферментный анализ
ENSCONET	Европейская сеть сохранения природных семян
EST-SSR	Маркер экспрессируемого секвенирования – Простые повторяющиеся последовательности
GBS	Генотипирование посредством секвенирования
GPS	Глобальная система навигации и определения местоположения
GRIN	Информационная сеть ресурсов зародышевой плазмы
GWS	Масштабный отбор геномов (полногеномный отбор)
ICIS	Международная информационная система по культурам
ISTA	Международная ассоциация по контролю за качеством семян
LN	Жидкий азот
MS	Питательная среда Мурасиге – Скуга
MSB Kew	Семенной банк тысячелетия Кью Гарденс
NaOCl	Натрий гипохлорит

Ne	Эффективный размер популяции
NPGS	Национальная система зародышевой плазмы растений, Министерство сельского хозяйства США
PVS	Растворы витрификации растений (гиалинизация)
OIV	Международная организация по винограду и виноделию (International Organisation for Vine and Wine)
RAPD	Рандомизировано усиленная полиморфическая ДНК
RFID	Радиочастотная идентификация
RFLP	Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов
RH	Относительная влажность
SID	Информационная база данных семян
SNP	Однонуклеотидный полиморфизм
SSR	Простая последовательность повторов
UPOV	Международный союз по охране новых сортов растений
USDA	Министерство сельского хозяйства США

ПРИЛОЖЕНИЕ 2: Глоссарий

Образец: Отдельная, уникально идентифицируемая выборка (проба) семян, представляющая культурный сорт растения, селекционную линию или популяцию, находящаяся в хранилище для сохранения и использования.

Номер образца: Уникальный идентификатор, назначаемый куратором при поступлении образца в коллекцию. Этот номер никогда не должен назначаться другому образцу.

Активная коллекция: Образец зародышевой плазмы, используемый для восстановления, семенного размножения, распределения, характеристики и оценки. Активные коллекции находятся в условиях короткой и средней длительности хранения, и обычно дублируются в основной коллекции средней и долгой длительности хранения.

Штрих-код: Компьютеризированная система кодирования, использующая отпечатанное изображение или штрихи на метках для идентификации образцов зародышевой плазмы. Штрих-коды считываются методом оптического сканирования отпечатанных изображений с помощью компьютерной программы для декодирования изображений.

Характеристика: Регистрация сильно наследственных характеристик, которых можно легко увидеть, они выражаются во всех средах.

Коллекция: Группа образцов зародышевой плазмы, сохраняемая для конкретной цели при определенных условиях.

Криоконсервация или **криосохранение:** Сохранение органов растений в жидком азоте (-196°C) или выше, в своей паровой фазе (максимум -140°C). В контексте генных банков оно используется для почек, кончиках ростков, других меристемных и эмбрионных тканей, эксплантов рекальцитрантных семян и (в особых случаях) целых ортодоксальных семян, пыльцы и соматических эмбрионов. В большинстве случаев применяется в фазе *in vitro* до и/или после надлежащей фазы хранения.

Криоконсервация пыльцы: Пыльцевые зерна являются возможными мишенями в некоторых семействах растений. Как и среди семян, есть виды с «ортодоксальной» пыльцой и с «рекальцитрантным» поведением. Может потребоваться обезвоживание пыльцы до криоконсервации, но пыльца некоторых видов легко сохраняется без предварительной обработки. Для восстановления из хранимых образцов пыльцы необходимо наличие партнера по скрещиванию для получения требуемого растительного материала через семена и прорастание.

База данных: Организованный набор взаимосвязанных данных, собранных для определенной цели и хранимый на одном или нескольких носителях.

Идентификатор: Определимые и измеряемые признаки, характеристика или свойство, наблюдаемое в образце, которые используются для облегчения классификации данных, хранения, поиска и использования

Перечень идентификаторов: Коллекция всех отдельных идентификаторов конкретных культур или видов.

Распространение: Процесс поставки образцов зародышевой плазмы для селекционеров растений и других пользователей.

Документация: Организованная коллекция записей, которая описывает структуру, цель, операцию, содержание и требования к информации.

Донор: Учреждение или лицо, отвечающее за передачу зародышевой плазмы.

Покой: Состояние, в котором определенные живые семена не прорастают, даже в обычно подходящих для этого условиях.

Равновесное содержание влаги: Содержание влаги, при котором семя находится в равновесии с относительной влажностью окружающего воздуха.

Оценка: Фиксирование тех характеристик, выражение которых часто зависит от экологических факторов.

Сохранение *ex situ*: Сохранение биологического разнообразия вне его естественного ареала. В отношении генетических ресурсов растений это может быть в семенных генных банках, генных банках *in vitro* или в живых коллекциях в полевых генных банках.

Поле: Участок земли с определенными границами в местах воспроизводства, на котором выращивается материал.

Генный банк: Центр для сохранения генетических ресурсов в подходящих условиях для продления их жизни.

Генетическое разнообразие: Разнообразие генетических признаков, которые выражаются в различных характеристиках.

Генетический дрейф: Изменения в генетическом составе популяции, когда число индивидов сокращается ниже частоты некоторых аллелей внутри неё.

Генотип: Генетическая структура отдельных растений или организма.

Зародышевая плазма: Генетический материал, формирующий физические основы наследственности и передаваемый зародышевыми клетками от одного поколения другому.

Всхожесть: Биологический процесс, приводящий к росту саженца из семян. Появление корешка является первым видимым признаком прорастания, после чего он может не расти или расти с аномалиями. Согласно правилам Международной ассоциации по контролю за качеством семян, только саженцы с проявлением нормальной морфологией считаются проросшими.

Тестирование на прорастание: Процедура определения процента семян, которые способны прорасти при конкретных условиях.

Культура *in vitro*: Культивирование органов растений или всего растения в искусственной питательной среде в стеклянных или пластиковых контейнерах. Использование культуры *in vitro* вегетативно размножающихся культур включает несколько вариантов, как микроразмножение, устранение вирусов через меристемы культуры и хранение в условиях замедленного роста. Культура *in vitro* также используется в качестве подготовительного этапа к криоконсервации, а также в этапах восстановления после криоконсервации (см. также хранение в условиях замедленного роста.)

Изотерма: График, отражающий взаимосвязь между содержанием влаги в семенах и уровнем относительной влажности.

Местный сорт: Сорт культурного растения, выведенный в результате многолетней фермерской селекции, который особенно адаптирован к местным условиям; местные сорта обычно являются генетически гетерогенными.

Длительное сохранение: Хранения зародышевой плазмы в течение длительного периода, как в основной, так и резервной коллекции. Период хранения, прежде чем семена должны быть восстановлены, варьируется, по крайней мере, он может составлять несколько десятилетий, а возможно столетие или более. Длительное сохранение происходит при минусовых температурах.

Среднесрочное сохранение: Сохранение зародышевой плазмы в течение небольшой продолжительности в активной и в рабочей коллекциях; обычно предполагается, что

небольшая потеря жизнеспособности произойдет в течение около десяти лет. Среднесрочное сохранение происходит при температуре от 0 ° C и 10 ° C.

Содержание влаги (вес во влажном состоянии): Вес несвязанной влажности, деленный на вес воды с сухим веществом, выраженный в процентах.

Мониторинг: Периодическая проверка образцов на жизнеспособность и количество.

Интервал мониторинга: Период хранения между тестами мониторинга.

Самый исходный образец: Образец семян, претерпевший наименьшее число восстановлений, поскольку материал был приобретен генным банком с соблюдением рекомендаций по сохранению в качестве основной коллекции. Это может быть подвыборка серии исходных семян или образец семян от первого цикла восстановления, если для серии исходных семян требовалось восстановление перед хранением.

Размножение: Репрезентативная выборка образца, выращенная для умножения количества сохраненного материала, предназначенного для распространения.

Ортодоксальные семена: Семена, которые могут быть высушены до низкого влагосодержания, хранятся при низких температурах без ущерба для долговечности семян.

Патоген: Живой микроорганизм, такой как вирус, бактерия или грибок, вызывающие заболевания в другом организме.

Паспортные данные: Основные сведения о происхождении образца, такие как подробная информация, записанная на участке сбора, генеалогическая схема или другая соответствующая информация, способствующая идентификации образца.

Генеалогическая схема: Регистрация происхождения генетической линии или разновидности.

Фенотип: Внешний вид растения, являющийся результатом взаимодействия его генетического состава (генотипа) с окружающей средой.

Фитосанитария: относится к вопросам карантина растения.

Фитосанитарный сертификат: Сертификат, предоставляемый персоналом государственного учреждения по контролю и здоровью растений, подтверждающий, что семенной материал в целом не заражен вредителями и заболеваниями.

Опыление: Процесс, при котором пыльца переносится из пыльника к рыльцу пестика различными опылителями, такими как ветер, насекомые, птицы, летучие мыши, или после раскрытия самого цветка.

Популяция: Группы отдельных растений или животных, населяющих один географический район или регион, и обладающие общими признаками.

Побег для вегетативного размножения: Любая ткань, способная воспроизвести новое растение в результате полового или бесполого (вегетативного) размножения. К ним относятся семена, споры и любая часть вегетативного органа, способная к независимому росту после отделения от материнского растения.

Карантин: Официальное ограничение ввезенной зародышевой плазмы, подлежащей фитосанитарному контролю, для того, чтобы обеспечить отсутствие в ней болезней или вредителей, наносящих вред стране-импортеру.

Случайная выборка: Образец, произвольно выбранный из большой группы

Рекальцитантные семена: Семена, не обладающие устойчивостью к усыханию; они не высыхают на более поздних этапах роста и опадают при созревании с влагосодержанием в диапазоне 0,3-4,0 g g⁻¹. Быстрая потеря воды приводит к снижению энергии и жизнеспособности, и к гибели семян при относительно высоком влагосодержании.

Восстановление: Проращивание семенного образца для получения свежего индивида с высокой жизнеспособностью и многочисленными семенами.

Стандарты восстановления: Процент жизнеспособности семян, на уровне или ниже которого, образец должен быть восстановлен для воспроизводства свежих семян.

Относительная влажность: Показатель количества воды в воздухе, по отношению к наибольшему возможному количеству воды в воздухе при данной температуре, выраженный в процентах. Она отличается от *абсолютной влажности*, которая выражает количество водяного пара в единице объема воздуха, обычно выражаемой в килограммах на кубический метр.

Надежное изготовление дубликата: Дубликат основной коллекции, хранящейся в аналогичных условиях в течение длительного времени, но в другом месте на случай потери материала основной коллекции.

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

Силикатный гель: Инертный химический состав, поглощающий воду из окружающей его среды, и выделяющий эту воду при испарении, когда нагревается.

Жизнеспособность семени: Способность семян прорасти при благоприятных условиях

Хранение *in vitro* в условиях замедленного роста: Хранение органов растений или целого растения в условиях, замедляющих скорость роста растений, для сокращения необходимых энергозатрат и частоты передач, которые могут сопровождаться риском инфекций и стрессовых условий, создающие в конечном итоге угрозу для генетической стабильности. Основным методом замедления роста - это снижение температуры до определенного значения в зависимости от таксона. В конце фазы необходим переход к новой промежуточной фазе, с или без размножения, в некоторых случаях с теплыми периодами для повторного восстановления.

Изотерма сорбции: См. *изотерма*.

Срок хранения: Количество лет хранения семян до момента их гибели.

Тетразолиевая проба: Испытание на жизнеспособность, в котором влажные семена замачивают в растворе хлористого трифенилтетразола.

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

Тест на жизнеспособность: Тест, проводимый на выборке семян, направленный на оценку жизнеспособности всего образца.

Разнообразие: Признанное разделение видов, следующий уровень ниже подвида; оно различается такими характеристиками как цвет цветка, цвет листьев и размер зрелых растений. Термин считается синонимом понятию *культурный сорт растения*.

Благодарности (будет дополнено)