

Стратегия и методы длительного хранения генофонда растений

Н.Г. ТИХОНОВА, Г.И. ФИЛИПЕНКО, В.Г. ВЕРЖУК, А.С. ЖЕСТКОВ
ГНУ ГНЦ РФ ВИР им. Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург

Strategy and Methods of Long-Term Storage of Gene Fond of Plants

N.G. TIKHONOVA, G.I. FILIPENKO, V.G. VERZHUK, A.S. ZHESTKOV
N.I. Vavilov Research Institute of Plant Industry, St.-Petersburgh, Russia

Около 100000 видов растений находятся под угрозой исчезновения. Стратегия сохранения биологического разнообразия на Земле сегодня включает два основных направления: сохранение *in situ* (в естественных биоценозах) и сохранение разнообразия *ex situ*: в зоопарках, заповедниках, полевых коллекциях, ботанических садах, создание генбанков животных, растений, микроорганизмов и т.д. Около 6 миллионов образцов хранятся в национальных, региональных и международных генбанках. В настоящее время основным способом сохранения генофонда растительных ресурсов мира *ex situ* является длительное низкотемпературное хранение семян.

Однако не все растения можно сохранить данным способом. При сохранении вегетативно размножаемых культур (корнеплодов и клубнеплодов, декоративных растений, плодовых культур), сохранении видов, имеющих рекальцитрантные семена, не выносящих подсушивания (в основном это тропические растения, например, какао, кокосовая пальма), сохранении специализированных тканей применяются методы криоконсервирования.

Классические протоколы криоконсервации растительных объектов включают ряд этапов:

- предварительная подготовка (может включать заcalку, обработку криопротекторами, подсушивание);
- замораживание (медленное замораживание, витрификация, инкапсуляция);
- хранение в жидком азоте;
- размораживание, отмывка от криопротекторов;
- регенерация растений, контроль выживаемости.

Следует отметить, что сами рекальцитрантные семена плохо переносят криоконсервацию. Обычно хранят в жидком азоте выделенные зародыши, каллусы, верхушки растений, полученных *in vitro* [H.F. Chin, 1988]. При криоконсервации вегетативно размножаемых культур используют верхушечные и пазушные почки, пыльцу, а также материал, полученный *in vitro*: культуры клеток, тканей и т.д. Важно поместить в жидкий азот образцы, не несущие инфекции [Benson, 1999].

В мировых криобанках сохраняется около 150-200 различных видов растений. Наибольшие криоколлекции: NSSL (Fort Collins, Colorado, USA) – 2100 образцов яблоки; CIP (Lima, Peru) – около 500 образцов картофеля; Tissue Culture BC Inc (Canada) – 5000 образцов 14 видов; IPK (Германия) – 1017 образцов картофеля, чеснока и мяты. Введение нового вида хранения требует больших денежных вложений.

About 100,000 plant varieties are endangered ones. The strategy of preserving biological variety on the Earth comprises today two main directions: preservation *in situ* (in natural biocenosis) and the one of variety *ex situ*: in the zoos, wildlife reserves, filed collections, botanical gardens, establishment of gene banks of animals, plants, microorganisms etc. About 6 millions of samples are stored in national, regional and international gene banks. Nowadays the main way for preserving gene fond of world plant resources *ex situ* is long-term low temperature storage of seeds.

However not all plants may be preserved with this method. During preservation of clonal cultures (root and tuber crops, ornamental plants, horticultural crops), preservation of varieties having recalcitrant seeds not surviving the drying (mainly they are tropic plants, e.g., cacao, coconut palm), preservation of specified tissues the cryopreservation methods are applied.

Classic protocols of cryopreservation of plant objects include some stages:

- preliminary preparation (may include hardening, treatment with cryoprotectants, drying);
- freezing (slow freezing, vitrification, incapsulation);
- storage in liquid nitrogen;
- thawing, washing-out of cryoprotectants;
- regeneration of plants, control of survival.

It should be noted that recalcitrant seeds endure cryopreservation badly. Usually the isolated germs, calluses, plant apices, obtained *in vitro* are stored [H.F. Chin, 1988]. During cryopreservation of clonal cultures there are used apical and axillary buds, as well as pollen and the material obtained *in vitro*, that is, cell and tissue cultures etc.. It is important to place into liquid nitrogen the samples free of infections [Benson, 1999].

In the world cryobanks about 15-200 various plant species are under storage. The largest cryocollections are as follows: NSSL (Fort Collins, Colorado, USA) comprises 2,100 apple varieties; CIP (Lima, Peru) contains about 500 potato species; Tissue Culture BC Inc (Canada) covers 5,000 samples of 14 species; IPK (Germany) comprises 1,017 varieties of potato, garlic, mint. Use of new type of storage requires big investments.