

УДК 631.531.026:635.1/.8

# ОСОБЕННОСТИ ВЫРАЩИВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ СЕМЯН КОЛЛЕКЦИЙ ГЕНОФОНДА ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР



*Шабетя О.Н. – кандидат с.-х. наук, старший научный сотрудник*

*Институт овощеводства и бахчеводства НААН  
62478, Украина, Харьковская обл., Харьковский р-н.,  
пос. Селекционный, ул. Институтская, 1  
E-mail: ovoch-iob@online.ua*

*Рассмотрены особенности выращивания и хранения семян коллекций генофонда овощных культур. Предложены усовершенствованные элементы технологии выращивания семян для закладки на длительное хранение. Определены оптимальные условия хранения семян овощных культур генбанка. Проанализированы особенности сохранения коллекции вегетативно размножающихся овощных культур.*

*Ключевые слова:* семена, овощные культуры, коллекции, генофонд, хранение, криоконсервация.

## **Введение**

Разнообразие видов, сортов, форм овощных культур, которые различаются по ценным хозяйственным признакам, направлению использования, устойчивостью к биотическим и абиотическим факторам, химическими показателями в условиях постоянных изменений природно-климатических условий, являются основой для обеспечения населения в достаточном объеме ценными продуктами питания – овощами [1]. Потому проблема сохранения и стабильного использования генетических ресурсов овощных растений и их диких сородичей является исключительно важной.

Одно из основных заданий, которое решает Национальный генетический банк растений Украины – это сохранение генетического разнообразия для будущих поколений [2].

Период сохранения семенами всхожести зависит от многих факторов, в первую очередь к какому роду, виду и даже к какой культуре эти семена относятся. Сохранение всхожести зависит от условий выращивания, например, при выращивании семян в условиях повышенной влажности на них чаще всего присутствуют патогенные грибы, которые сокращают период их хранения. Также период хранения зависит от непосредственной влажности семян и условий их хране-

ния – влажности и температуры в помещении, где хранятся семена. Оптимальными условиями хранения семян являются герметичная упаковка и низкая температура. Хотя и при оптимальных условиях период сохранения всхожести семенами овощных культур невелик. Семена овощных культур очень быстро, за 1-5 лет, теряют всхожесть, исключением являются культуры семейства тыквенных [3].

В нашей работе были проведены исследования по обеспечению оптимальных условий для длительного хранения семян в состоянии жизнеспособности и генетической стабильности. Установлено, что для коллекционных образцов овощных культур

необходимо: высушивание семян до 3-7% влажности (в зависимости от культуры), упаковка в герметичную тару и хранение при температуре -18°C. Семена образцов «активных» коллекций, которые постоянно берут для использования, нужно хранить при температуре от 0°C до +5°C.

В работе изучены особенности выращивания семян для закладки в генетический банк на длительное хранение. Для возобновления всхожести и поддержания в живом состоянии ежегодно в лаборатории генетических ресурсов ИОБ НААН высевают и высаживают около тысячи коллекционных образцов овощных растений. Это коллекционные образцы однолетних самоопыляемых растений (томат, перец сладкий, перец горький, баклажан, салат); однолетних перекрёстноопыляемых растений (огурец, кабачок, капуста цветная, редиска); двулетних перекрёстноопыляемых растений (морковь, свёкла столовая, разные виды капусты, лук репчатый). В зависимости от культуры образцы выращивают в разных условиях: открытом грунте или теплицах на изолированных делянках и в изодомиках.

Выращивание семян коллекционных образцов отличается от просто семеноводства. Размер участка должен обеспечивать получение урожая в 1,5-2 раза больше того количества семян, которое требуется для закладки в хранилище. Собранные семена должны обеспечить возможность отбора для хранения необходимых фракций по качеству семян в достаточном количестве. Остальные семена используются в активных коллекциях, как обменный фонд, а также для формирования контрольных образцов. Контрольные образцы закладывают с каждой партией образцов (по одному контрольному образцу на 30 образцов). Это образцы семян той же культуры, выращенные в тех же условиях. Семена партии образцов и контрольного образца должны быть однородными по способности к длительному хранению. Сотрудниками Наци-

онального хранилища периодически проверяется жизнеспособность семян образцов партии по результатам жизнеспособности контрольного образца.

Каждая культура имеет разные особенности выращивания. Достаточно дешевым способом выращивания семян пасленовых (самоопыляющиеся) культур является полевой. В одном проходе рассадопосадочной машины размещают поочередно делянку томата (один коллекционный образец, который будет размножаться), делянку перца сладкого, делянку баклажана, вновь томата и т.д. Это обеспечивает недопущение механического смешивания и некоторую пространственную изоляцию. По нашим исследованиям такое размещение достаточно надежно при получении семян томата. Перец сладкий, перец горький, баклажан также являются факкультативными самоопылителями, но при определенных условиях (повышенные температуры, низкая влажность воздуха и другие) переопыление этих культур составляет до 20%. Пространственная изоляция между посевами перца сладкого и перца горького должна быть не меньше 1 км на открытой местности. Для сохранения генетической чистоты мы предлагаем использовать такой метод получения семян однолетних самоопыляющихся культур. Для получения семян для закладки на длительное хранение в хранилище НЦГРПУ перца сладкого, перца горького, баклажана нераскрытые бутоны растений изолируют ватой, чтобы предотвратить переопыление, вешают этикетку и собирают семена только из изолированных плодов. Бутоны, изолированные ватой, при неблагоприятных условиях, например, при дожде, намокают и опадают или плоды не завязывают семян. Поэтому семена коллекционных образцов пасленовых растений рекомендуем выращивать в условиях защищенного грунта.

Для получения семян однолетних перекрёстноопыляемых культур не-

раскрытые бутоны растений изолируют (пергаментными изоляторами), затем цветки принудительно искусственно опыляют в пределах делянки. На цветки, которые были опылены, вновь одевают изоляторы для сохранения генетической чистоты. Так получают семена таких растений, как огурец, кабачок, дыня, тыква, патиссон и других. У кабачка, патиссона достаточно удобно проводить инцухтирование (принудительное самоопыление) в условиях открытого грунта – цветки достаточно большие, не касаются почвы. Семеноводство огурца удобнее проводить в теплицах на растениях, которые подвязаны, чтобы избежать касания цветками почвы и переплетения растений разных сортов.

Значительно тяжелее проводить размножения семян капусты цветной, которая тоже является перекрёстноопыляющимся однолетним растением. Чтобы получить качественные семена капусты цветной необходимо иметь теплицу. Растение полностью сформировать головку должно уже к началу апреля, так как для получения зрелых семян необходимо более 200 суток. У капусты цветной переход к цветению происходит очень медленно. Сначала изменяется окраска головки, затем начинают расходиться крайние побеги. Центральную часть вырезают, места повреждения обрабатывают раствором марганцовки или присыпают золой. Период цветения (наблюдаемый примерно в июне) очень растянут, цветоносы ломкие, поэтому необходимо ставить опоры. На растения одного коллекционного образца надевают групповые изоляторы, при необходимости проводят искусственное доопыление цветков.

Аналогично получение семян капусты брокколи, с той лишь разницей, что у брокколи короткий вегетационный период, и растение достаточно быстро начинает зацветать, что дает возможность получать семена и в открытом грунте.

Сложным является размножение семян перекрёстноопыляемых дву-

летних растений. В первый год выращивают маточники. Осенью каждое растение коллекционной деланки осматривают и отбирают для закладки на хранение типовые, здоровые растения определенного размера. Весной маточники перебирают, проводят отбраковку больных и с поврежденными точками роста корнеплодов (или луковиц и т.д.). Маточники каждого образца высаживают отдельно на изолированных участках, обязательно выдерживая пространственную изоляцию. По нашим исследованиям наиболее дешевый способ получения семян коллекционных образцов при размещении их в посевах подсолнечника. На одном изолированном участке высаживают маточники нескольких культур (например: морковь, свекла столовая, лук репчатый). Расстояние между изолированными участками не должно быть меньше 30 м. При ограниченной площади растения второго года выращивания высаживают в стационарных (или переносных) изолированных домиках. В одном изодомике располагают по одному коллекционному образцу разных культур. Например: образец моркови, свеклы столовой, лука, капусты. Удобно высевать в изодомике и однолетние перекрёстноопыляемые культуры (укроп), однолетние двудомные (шпинат) и другие. Для опыления энтомофильных растений (морковь, лук) изодомики открывают поочередно на сутки. Для опыления цветков ветроопыляемых растений (свекла столовая) применяют вентиляторы.

Нами были проанализированы различные способы получения семян большого количества коллекционных образцов перекрёстноопыляемых овощных культур для закладки на длительное хранение. Предлагаем для использования усовершенствованный нами способ использования временных изоляционных кабинок, который является достаточно дешевым и удобным. Весной высаживают на участке 2 x 2 м маточники коллекционных образцов перекрёстноопыляемых

культур (по одному образцу каждой культуры на один участок), рядом через 1,5-2 м располагают следующий, аналогичный участок и т.д. Когда маточник начинает отрастать, вокруг каждого участка делают деревянный каркас, у которого можно легко снять верх и одну боковую часть. Когда первые растения начинают давать цветоносы, каркасы оббивают изоляционной тканью. Хорошие результаты были получены при размножении во временных изоляционных кабинках коллекции свеклы столовой. Во время цветения цветоносов необходимо поочередно через боковую часть (которая открывается), проводить опыление с помощью вентилятора (можно использовать фен).

Особенностью выделения семян коллекционных образцов является необходимость выделения семян вручную, что значительно усложняет процесс и увеличивает затраты. При получении семян томата, перца, баклажана, кабачка, огурца, патиссона и других культур с плодами – семенниками надо очень тщательно отмывать подручные средства (ведра, терки, ножи и т.д.) от растительных остатков после каждого образца. Надо тщательно следить, не допускать механического смешивания семян различных образцов всех культур в процессе дозаривания, выделения и доработки.

Закладка семян на длительное хранение в национальном хранилище генбанка растений в Украине осуществляется следующим образом. После выращивания при достаточном количестве согласно требованиям семени коллекционных образцов передаются в Национальный центр генетических ресурсов растений Украины, в Национальное хранилище. На семена оформляется соответствующая документация. Сотрудниками лаборатории интродукции и хранения НЦГРРУ проводится окончательная подготовка семян к хранению. Это: высушивание семян до уровня влажности, согласно стандартам Международного института генетических ресурсов рас-

тений (ныне Bioversity International). По нашим расчетам, экономически целесообразным для овощных культур является закладка коллекционных образцов на длительное хранение в контролируемых условиях при температуре -18 °С, это освобождает от необходимости частого пересева коллекционных образцов. Регенерация одного коллекционного образца овощных культур является не только очень трудозатратной, но и дорогой. У однолетников затраты на регенерацию одного образца составляет от 100 до 500 грн. У двулетников затраты увеличиваются в несколько раз. В настоящее время в хранилище Национального центра генетических ресурсов растений Украины на длительное хранение заложено около 2,3 тыс. коллекционных образцов овощных и бахчевых культур (табл.) и это составляет лишь около 50% их имеющегося количества. Это связано, в первую очередь, с большими трудностями, которые возникают при выращивании образцов генофонда. В связи с этим, по малораспространенным видам капусты, петрушки, сельдерея и некоторых других существует угроза утраты коллекционных образцов. Поэтому необходимо ускорить закладку семян коллекционных образцов овощных культур в Национальное хранилище с контролируемыми условиями (при температуре -18...-22 °С). Чтобы совсем не утратить некоторые коллекционные образцы, у которых наблюдается недостаток семян для закладки на длительное хранение, необходимо заложить на временное хранение (Блок В) «страховую» партию семян в количестве хотя бы 1000 семян. В лаборатории биотехнологии Института овощеводства и бахчеводства на коллекционных образцах пасленовых культур разработан метод восстановления всхожести семян, которые потеряли способность прорасти из-за длительного хранения, с использованием культивирования на среде МС с добавлением 5 мг/л янтарной кислоты.

## Хранение семян образцов генофонду овощных культур Украины в Национальном хранилище\*

Группа культур	Количество, шт.		Заложено на хранение образцов по блокам, шт.			
	культур	видов	всего	С	В	А
Овощные (включая зеленные и пряно-ароматические), бахчевые культуры	83	73	2274	1702	533	39

Примечание\* - данные на начало 2013 года

Долгосрочное хранение семян в Национальном хранилище осуществляется в трех разных блоках.

**Блок А** – нерегулируемые температурные условия, со среднегодовой температурой 7°C с амплитудой температур на 10-15°C меньше, чем снаружи. Это позволяет сохранить жизнеспособность семян образцов активных коллекций большинства растений в течение 25-30 лет без пересева. Однако это не подходит для овощных и бахчевых растений, семена которых быстро теряют всхожесть. Исключением является небольшое количество растений, например некоторые виды семейства тыквенных. В нерегулируемых условиях семена овощных культур сохраняются непосредственно в Институте овощеводства и бахчеводства в стеклянной закрытой таре с силикогелем (для недопущения поднятия влажности).

**Блок В** – низкотемпературная камера с холодильным оборудованием фирмы HUU RE, Финляндия. В этом блоке при температуре 4°C хранятся образцы активных коллекций видов, семена которых быстро теряют всхожесть в обычных условиях хранения.

**Блок С** – морозильная камера с температурой от -18 до -22°C, в которой хранение осуществляется согласно международным стандартам, позволяет сохранить жизнеспособность семян большинства культур на протяжении 100 лет без пересева.

Большинство семян овощных растений сохраняется в блоке С. Основной задачей сохранения коллекций

генофонда является не консервация как таковая, а обеспечение коллекционным материалом пользователей. Поэтому по каждому образцу, хранящемуся в генетическом банке, рядом с контейнером с основным образцом необходимо закладывать на хранение контейнер, из которого было бы возможно периодически делать выемку семян для пользователей.

Существуют особенности хранения коллекционных образцов овощных культур, размножающихся вегетативно. Крупнейшие генетические банки мира владеют сейчас десятками и сотнями тысяч образцов. Культуры, размножающиеся вегетативно, такие как клубнеплоды, плодовые, ягодные, луковые, составляют по данным ФАО не более 10% от общего объема культур. Из овощных культур, которые размножаются вегетативно, основными являются представители семейства *Allium* – чеснок и некоторые многолетние луки. Спецификой сохранения этой категории культур является большая зависимость от условий выращивания. Коллекция чеснока требует ежегодной высадки на плантации в полном объеме. Это большие материальные затраты на выращивание, потери от поражения грибными и вирусными болезнями, сложности, связанные с обменом коллекционными образцами.

Эффективным путем решения указанных проблем и обеспечения сохранения генофонда вегетативно размножения растений является криоконсервация. Она позволяет

сконцентрировать генетическую основу всего многообразия сортов и форм, контролировать условия хранения и состояние сохраняющихся объектов. Криоконсервация позволяет более эффективно использовать генофонд в селекции. Консервирование меристем позволяет проводить клонирование ценных форм, использовать соматическую изменчивость, осуществлять трансгенез.

В связи со сказанным, актуальность приобретает разработка технологии депонирования в стерильных условиях растений чеснока, полученных из апикальных и пазушных меристем. Мировой опыт таких стран как Германия [4], Польша [5], Италия [6], Япония [7], США [8] уже убедительно доказал эффективность применения лабораторных методов, а именно методов биотехнологии для длительного хранения генетических коллекций представителей рода *Allium* L. В Украине такие исследования впервые провели сотрудники лаборатории биотехнологии Института овощеводства и бахчеводства на коллекции чеснока генофонда Украины. Был разработан способ хранения коллекции чеснока, основные преимущества которого следующие:

- образцы *in vitro*, введенные в культуру с применением в качестве эксплантов апикальных меристем, освобождаются от ряда опасных инфекций, и, что особенно важно, вирусных;

- культивирование растений в стерильной культуре достаточно надеж-



но изолирует образцы от всевозможных бактерий, включая карантинные. Это дает существенное преимущество перед полевыми коллекциями, которые вырождаются в результате накопления в течение ряда лет вегетации вирусных и других инфекций;

- сами коллекции *in vitro* очень компактны по сравнению с полевыми и требуют минимальных площадей для их размещения;

- культура *in vitro* позволяет осуществлять массовое и ускоренное размножение редких селекционных образцов и генотипов, она является самым эффективным способом по сравнению с другими методами клонирования растений, размножаю-

щихся вегетативно;

- в коллекциях *in vitro* могут быть сосредоточены образцы разного географического происхождения, что особенно важно для сохранения в одном месте генетического разнообразия таксонов с просторными ореолами.

Коллекции растений, размножающихся вегетативно, можно хранить в естественных условиях (полевые коллекции) и при сверхнизких температурах (-196°C) (криоколлекция).

Криоколлекции создаются на основе двух подходов: для криоконсервирования используют непосредственно образцы полевых коллекций (методы апробированы для небольшого числа видов) или используют

экспланты образцов *in vitro* коллекций. В последнем случае создается IVBG (the *in vitro* base genebank). Преимуществом IVBG является возможность долгосрочного хранения эксплантов оздоровленных растений.

Коллекция чеснока генофонда Украины (все коллекционные образцы) хранятся в естественных условиях (полевая коллекция). Часть коллекции (41 образец) – *in vitro* коллекция – IVAG (the *in vitro* active genebank). IVAG поддерживают при низких положительных температурах, таким образом обеспечивают среднесрочное хранение коллекций. Надежнее всего коллекции культур, размножающихся вегетативно, сохранять с использованием всех трех систем хранения – в естественных условиях, *in vitro* и в условиях сверхнизких температур. В крупных мировых генбанках есть все три системы хранения растений, размножающихся вегетативно, поскольку каждая из них имеет свои преимущества и недостатки. Методы сохранения генофонда в полевых, *in vitro* и криоколлекциях взаимно дополняют друг друга, и только их совместное применение обеспечит надежное долговременное хранение генетического разнообразия растений, размножающихся вегетативно.

### Литература

1. Роїк М.В. Значення генетичних ресурсів рослин для сільського господарства України // Тези доповідей міжнар.наук.-практичн. конф. «Генетичні ресурси для адаптивного рослинництва: мобілізація, інвентаризація, збереження, використання». – Оброшино, 2005. – С. 3-5.
2. Рябчун В.К., Богуславський Р.Л. Проблеми та перспективи збереження генофонду рослин в Україні. – Харків, 2002. – 38 с.
3. Рябчун В.К., Богуславський Р.Л., Герасимов М.В., Задорожна О.А., Дрепін І.М., Павленко О.В., Шиянова Т.П. Зберігання генофонду рослин у Національному центрі генетичних ресурсів рослин України // Вісник аграрної науки, 2003. – № 8. – С. 25-31.
4. Keller E.R.J. Experience of *in vitro* storage and criopreservation of Allium at IPK / E.R.J. Keller, A. Senula // Gatersleben, Germany. – 2002.

5. Kamenetsky R. Allium genetic resources activities in Israel Report of a Working Group on Allium / R. Kamenetsky, D. Rabinowitch // (Fifth meeting 25-27 May 1995) Skierniewice, Poland.
6. Engelmann F. Importance of cryopreservation for conservation of plant genetic resources. Cryopreservation of tropical plant germplasm. Current research progress and application / F. Engelmann, H. Takagi // JIRCAS, Tsukuba & IPGRI, Rome. – 2000. – P. 8-20.
7. Niwata E. Cryopreservation of apical meristems of garlic (*Allium sativum* L.) and high subsequent plant regeneration / E. Niwata // Cryo Letters. – 1995. – Vol.16. – P. 102-107.
8. Sakai A. Potentially valuable cryogenic procedures for cryopreservation of cultured plant meristems / A. Sakai // Conservation of plant genetic resources *in vitro*. Eds. Razdan M.K., Cocking e.C. Vol.1: General Aspects. Science Publishers Inc., Enfield. USA. – 1997. – P. 53-66.