



Экономический и Социальный Совет

Distr.: General
8 January 2020
Russian
Original: English

Европейская экономическая комиссия

Руководящий комитет по потенциалу
и стандартам торговли

Рабочая группа по сельскохозяйственным
стандартам качества

Специализированная секция по разработке
стандарта на семенной картофель

Сорок седьмая сессия

Женева, 16–17 марта 2020 года

Пункт 8 предварительной повестки дня

Стабильность культуры тканей и обновление сортов

Обновление сорта в культуре тканей – общее описание, подготовленное Южной Африкой*

Представлено секретариатом

Нижеследующий документ был подготовлен делегацией Южной Африки. Специализированной секции предлагается обсудить актуальность протокола и возможность его применения в других странах.

Настоящий документ представлен в соответствии с разделом II с документа ECE/CTCS/2017/10, разделом VII а документа ECE/CTCS/2018/2 и разделом A/74/6 (Sect.20), пункт 20.37; and Supplementary.

* Документ представлен в указанную выше дату по техническим причинам.



Служба сертификации картофеля Южной Африки – Стандартная операционная процедура (СОП) для обновления сортов

1. Справочная информация

Поскольку картофель является вегетативно размножаемой культурой, для обеспечения отрасли материалом, свободным от болезней, необходимо обеспечивать его размножение вегетативным способом. Вследствие соматональных изменений, которые могут произойти, материал не может бесконечно размножаться, в связи с чем его время от времени необходимо обновлять. Обновление клонов для массовой репродукции и размножения семенного материала является крайне важной задачей, к которой следует относиться со всей серьезностью, поскольку исходный материал для всего последующего размножения семян отдельного сорта получают из пяти клубней. По этой причине следует проявлять максимальную осторожность и обеспечивать соответствие отобранных клонов типичным характеристикам обновляемого сорта и отсутствие в них болезней.

Необходимость обновления или замены сорта картофеля возникает в двух случаях; во-первых, когда сорт был размножен *in vitro* до 12-й репродукции, и, во-вторых, когда сорт картофеля демонстрирует какие-либо дефекты во время размножения в полевых условиях.

Во всех случаях для обновления или замены ввозного сорта предпочтительнее всего обратиться к селекционной компании с просьбой предоставить новый клон. Однако в тех случаях, когда требуется обновление сорта, необходимо принять все возможные меры для минимизации риска, связанного с обновлением клонов.

При обнаружении в клоне дефекта клон немедленно выбраковывается, а производство продолжается с использованием остающихся клонов. Если в процессе размножения *in vitro* сорт достиг 12-й репродукции, Служба сертификации картофеля (ССК) получает уведомление от Службы по поддержанию продуктивности сорта или частной компании либо от их обеих; в этом случае ССК подбирает в национальной базе данных ССК подходящий посадочный материал для отбора новых клонов. Пока производится отбор и введение в культуру *in vitro*, существующие клоны могут и далее использоваться для дальнейшего размножения до 18-й репродукции. Замену клонов производят только после успешного завершения процесса обновления, осуществляемого по инструкциям ССК.

2. Сфера применения

Для обновления материала в геномном банке (Генобанк) ССК координирует процесс отбора как минимум пяти клонов. Отбираемые клоны должны соответствовать типичным характеристикам обновляемого сорта и быть свободными от болезней.

3. Справочные документы

В качестве справочных документов для подготовки СОП по обновлению сортов используются следующие документы:

- Протокол 2013 года
- The South African Seed Potato Certification Scheme 2013 (Южноафриканская система сертификации семенного картофеля 2013 года)
- SOP for establishment and testing of material as per the approved ICCSP establishment facility (СОП для получения и проверки материалов на

утвержденном Независимым сертификационном совете по семенному картофелю (НСССК) предприятию).

4. Процесс обновления материала

Проект по обновлению материала в Генобанке включает в себя 13 этапов, реализацию которых контролирует ССК. ССК отвечает за делегирование определенных задач другим заинтересованным сторонам и обеспечивает обратную связь в рамках проекта. Проект может считаться завершенным только после того, как 5 клонов для вновь отобранного сорта передаются генному банку или владельцу сорта для использования коммерческими предприятиями с целью производства семенного картофеля.

На каждом из этапов ССК сотрудничает с заинтересованными сторонами (лицом, заинтересованным в сорте, или его представителем, знающим, как определить сорт). В процессе отбора и обновления семенного материала могут быть задействованы все другие соответствующие стороны, и на них будут возложены определенные обязанности. В число таких сторон могут входить: руководитель технической службы ССК, должностные лица службы сертификации ССК, владелец сорта, селекционер, руководитель Генобанка, руководитель работ по исследованию картофеля в Южной Африке, руководитель технической службы лаборатории «Плантовита» и производитель.

13 этапов обновления материала включают в себя:

1. Выявление подходящего участка и пригодного посадочного материала
2. Первая оценка на поле и отбор
3. Вторая оценка на поле и отбор
4. Испытания листьев на наличие вирусов
5. Уборка клубней
6. Оценка клубней
7. Отбор клонов
8. Культивирование *in vitro*
9. Испытания на наличие бактерий
10. Испытания на наличие вирусов
11. Оценка проростков на рассеянном свете
12. ДНК-тестирование
13. Утверждение и передача для использования отобранных клонов

4.1 Выявление подходящего участка и пригодного посадочного материала

ССК определяет подходящий участок и пригодный посадочный материал с использованием своей базы данных. Важно, чтобы участок был изолирован от возможных источников инфекции и подвержен низкой нагрузке по болезням.

Клоны отбирают на зарегистрированных делянках, засаженных сертифицированным и свободным от болезней семенным картофелем 1-й или 2-й репродукции, который легко поддается фенотипической идентификации, но находится на достаточно раннем этапе репродукции, в связи с чем вероятность инфицирования является низкой. Мини-клубни/посадочный материал нулевой репродукции могут отличаться от типового описания фенотипа сорта, поэтому следует выбирать материал 1-й или 2-й репродукции, у которого уже проявляются характеристики зрелых клубней.

4.2 Первая оценка на поле и отбор

Отбор заинтересованными сторонам 20 растений сорта, который подлежит обновлению, производится с участием ССК в период, когда высота растений картофеля достигает примерно 20–30 см. Отбирают растения с типичными характеристиками, указанными Международным союзом по охране новых сортов растений (УПОВ), или растения, соответствующие описанию владельца указанного сорта. Эти растения четко обозначают, и с обеих сторон от них удаляют другие растения с целью избежания смешивания клубней этих растений с клубнями отобранных растений при уборке урожая.

4.3 Вторая оценка на поле и отбор

Примерно через месяц после первого отбора, в период цветения растений картофеля, проводят вторую оценку. Этот этап лучше всего подходит для идентификации сортов, так как различия в окраске цветов облегчают такую идентификацию; вместе с тем следует учитывать, что некоторые сорта не имеют цветения.

Проводится оценка морфологических характеристик каждого растения. С целью обеспечения у отобранных клонов типичной для конкретного сорта формы производят оценку по таким характеристикам, как окраска растений, форма листьев, высота растений, окраска стеблей и т. д.

В ходе этой оценки ССК и ответственные представители заинтересованных сторон проводят тщательный осмотр 20 отобранных растений/клонов на предмет выявления заражения вирусами, другими болезнями и наличия отклонений. Любые нестандартные или зараженные растения подвергают выбраковке.

4.4 Испытания листьев на наличие вирусов

В конце нормального вегетационного периода сотрудник ССК производит индивидуальный отбор листьев у оставшихся отобранных клонов для их испытаний в лаборатории «Плантовита» на наличие картофельного вируса Y (PVY) и вируса скручивания листьев картофеля (PLRV) с помощью иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA), который служит инструментом выявления и удаления любого зараженного вирусом материала до его введения в культуру *in vitro*.

Рассеченные листья каждого стебля растения отрезают по отдельности, объединяют и упаковывают в пакет для проб «Biogeba», которые четко маркируют и помещают в термосумку. Листья каждого растения подвергаются испытаниям на индивидуальной основе. Отобранные клоны, в случае которых испытания на наличие PVY и/или PLRV дали положительный результат, подлежат выбраковке. Оставшуюся часть клона уничтожают сразу после того, как на отобранных растениях производят отбор проб листьев.

4.5 Уборка клубней

Через две недели (± 14 дней) или сразу же после отвердения на клубнях кожуры, все клубни каждого клона собирает вручную должностное лицо ССК. Клубни каждого клона помещают в отдельный полипропиленовый пакет, который маркируют, печатают и доставляют в лабораторию «Плантовита».

В лаборатории «Плантовита» материал помещают в защищенную холодильную камеру на 2 недели для поддержания здоровья и идентичности отобранных клонов.

4.6 Оценка собранных клубней

По поступлении материала в лабораторию «Плантовита» ССК договаривается с заинтересованными сторонами о дате проведения оценки клубней отобранных клонов на основе подготовленного УПОВ описания указанного сорта. Затем клоны ранжируются по наибольшему соответствию однородных характеристик конкретного сорта, к числу которых могут относиться количество клубней на растение,

распределение размеров клубней, урожайность, болезни, переносимые клубнями, качество клубней, форма, глубина глазков, окраска, внутренние дефекты и др.

4.7 Отбор клонов

Все отобранные клоны хранятся в лаборатории «Плантовита», но пять высших клонов, исходя из наиболее однородных характеристик каждого сорта, используются для получения тканевой культуры с целью замены предыдущих клонов сорта в Генобанке. Два отобранных клубня каждого клона отправляются в лабораторию для введения в культуру *in vitro*, а близкородственные клубни будут помещены в установку для выращивания светлых проростков.

Учреждение будет держать выбранные клубни каждого клона в холодильнике в течение примерно двух недель, прежде чем взять их для проращивания. Один из отобранных клубней будет храниться в качестве резервного для введения в культуру *in vitro*.

4.8 Культивирование *in vitro*

Столон и апикальный конец отборного клубня из каждого отобранного клона проверяется на наличие организма *Ralstonia* spp., вызывающего бактериальное увядание.

Затем может последовать один из двух процессов, один из которых включает в себя прямое введение проростков в культуру, а другой – высадку узловых черенков.

4.8.1 Прямое введение проростков в культуру

Проростки отборного клубня из каждого отобранного клона отламываются и вводятся в культуру *in vitro*; в этой связи проводят стерилизацию поверхности материала и его высадку на стерильную питательную среду.

4.8.2 Высадка узловых черенков

Пазушные почки выбранного из каждого отобранного клона клубня вычлениют и высаживают в защищенной от насекомых теплице, прошедшей утверждение НСССК. Узловые черенки этих растений поверхностно стерилизуются и вводятся в культуру тканей для дальнейшего размножения.

4.9 Испытания на наличие бактерий

Весь полученный *in vitro* материал должен быть подвергнут испытаниям на наличие организма *Ralstonia* spp., вызывающего бактериальное увядание, мокрой гнили энтеробактерий мокрой гнили (ЭМГ) и общего микробного заражения. Любые инфицированные клоны удаляют, и в лаборатории «Плантовита» процесс начинают со следующего подходящего клона из числа ставшихся клонов.

4.10 Испытания на наличие вирусов

Весь материал, полученный *in vitro*, должен быть подвергнут испытаниям на наличие вирусной инфекции. Наличие вируса скручивания листьев картофеля (PLRV) и вируса картофеля Y (PVY) в обязательном порядке проверяют путем проведения анализа полимеразной цепной реакции (ПЦР-анализ). Наличие всех остальных вирусов, PVX, PVM, PVA, PVS и TSWV проверяют с помощью иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Инфицированные клоны удаляют, и в лаборатории «Плантовита» процесс начинают со следующего подходящего клона из числа ставшихся клонов.

4.11 Оценка проростков на рассеянном свете

Близкородственные клубни из каждого отобранного клона, из которого был выбран клубень для введения в культуру *in vitro*, используют для описаний проростков на рассеянном свете. ССК помещает четко обозначенные близкородственные клубни в оборудованное в лаборатории «Плантовита» освещаемое помещение для

выращивания проростков на рассеянном свете, где происходит развитие проростков. ССК в сотрудничестве с заинтересованными сторонами руководит оценкой проростков близкородственных клубней на рассеянном свете. Удалению подлежат все клоны, не соответствующие описанию типа проростков обновляемого сорта на рассеянном свете.

4.12 ДНК-тестирование

ДНК-тестирование проводится в качестве дополнительной меры безопасности, позволяющей удостовериться в том, что материал соответствует своему типу. Имеются ДНК-профили ряда серийно производимых сортов. Затем материал, представленный клонами, которые были выращены в культуре *in vitro* и которые прошли оценку проростков на рассеянном свете близкородственных клубней, отобранных от каждого клона, сравнивают с существующими профилями или поддерживающим материалом (материал Генобанка) в качестве стандарта для данного сорта. Любые клоны, отклоняющиеся от стандарта, удаляют из отобранного материала.

4.13 Утверждение и разрешение к использованию отобранных клонов

Только после того, как сортовая типичность получит подтверждение описаниями поля, оценками рассеянного светлого проростка, оценками ДНК-генотипоскопии и клубней, а клоны пройдут все испытания на заболевания, материал может быть поставлен в Генобанк и стать доступным для коммерческих клиентов в целях производства семян.

ССК представит письменный отчет о выборе, обновлении и выпуске сорта для коммерческого использования, на основании которого существующие в Генобанке клоны могут быть заменены.

5. Требования для принятия в Генобанк

Следующие элементы являются составляющими или этапами требования для принятия.

- Пять отобранных клонов
- Близкородственные клубни для идентификации проростка на рассеянном свете
- Отобранный клубень для инициации посадочного материала в пробирке
- Испытания столона и апикального конца на наличие бактерий
- Проростки (боковые) или вычлененные пазушные почки
- Прямое введение
- Выращенные в теплице, защищенной от насекомых
- Испытания листьев на вирусы
- Поверхностная стерилизация стеблей
- Инициирование бутонов
- Культивирование *in vitro*
- ДНК-профилирование
- Испытания на наличие бактерий и вирусов
- Принятие в Генобанк при условии полного соблюдения
- Размножаемый материал