

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ВИНОГРАДАРСТВА И ВИНОДЕЛИЯ ИМЕНИ Я.И. ПОТАПЕНКО»



УТВЕРЖДАЮ  
Директор ФГБНУ ВНИИВиВ,  
канд. с.-х. наук  
А.Н. Майстренко  
"16" октября 2017 г.

СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА  
ПО ВЫДЕЛЕНИЮ И ПОСАДКЕ МЕРИСТЕМ ВИНОГРАДА НА СТЕРИЛЬНУЮ  
ПИТАТЕЛЬНУЮ СРЕДУ СОРТОВ «ДОНСКОЙ АМПЕЛОГРАФИЧЕСКОЙ  
КОЛЛЕКЦИИ ИМ. Я.И. ПОТАПЕНКО»

После поверхностной стерилизации эксплантов для оздоровления растительного организма от хронических заболеваний (вирусов, микоплазм и бактериального рака), в стерильных условиях ламинарного бокса производят вычленение предельно малой меристематической верхушки (для винограда размер 0,1-0,2 мм). И высаживают ее на специально приготовленную питательную среду.

Выделение и посадка меристем винограда на стерильную питательную среду осуществляется следующим образом:

1. Подготовка помещений и ламинарного бокса к проведению операций со стерильными растительными эксплантами (согласно СОП № 16) заключается в обработке поверхностей помещения (стены, полы, столы, стулья и т.п.), а также необходимого оборудования 5% водным раствором геля белизна. После проведения влажной уборки на два часа включают ультрафиолетовые облучатели.

2. Простерилизованные растительные экспланты (согласно СОП №11) помещают в стерильные условия ламинарного бокса в специальных емкостях контейнерах, поверхность которых перед этим обеззараживают 70% этиловым спиртом.

3. Включают ламинарный бокс и протирают (обеззараживают) все поверхности оборудования и рабочей зоны 70% этиловым спиртом.

Выделение меристем производят в условиях обеспыливающего ламинарного бокса (Fotran), при помощи бинокулярного микроскопа МБС-9 или 10 с осветительным прибором, поверхность которых перед началом работы, как и поверхность ламинарного бокса, обеззараживают 70% раствором этилового спирта. Перед этим их вместе с помещением подвергают воздействию ультрафиолетового излучения в течение двух часов.

4. Достают и раскладывают в рабочем пространстве из специальной биксы (для стерилизации инструментов и расходных материалов), предварительно простерилизованные инструменты: пинцеты, пики, а также стеклянные емкости для 70% спирта, отходов, специальные емкости со стерильной ватой и стерильной фильтровальной бумагой.

5. Наполняют 70% спиртом емкость для стерилизации инструмента. Обрабатывают 70% раствором инструменты, оборудование, рабочие поверхности и руки. Наполняют 96% спиртом горелку, устанавливают ее на постоянное рабочее место и поджигают фитиль.

6. На рабочую поверхность бинокулярного микроскопа перед операцией кладут лист стерильной фильтровальной бумаги, на который пинцетом помещают подвергшийся стерилизации растительный эксплант. При помощи пинцета и препаровальной иглы, вскрывают покрывающие

почку чешуи, отделяют от верхушечной меристемы зачатки соцветий и листьев, вычлениают меристему (верхнюю часть зачаточного побега) размером 0,1-0,2 мм и на препаровальной игле высаживают на специально приготовленную питательную среду в специальной короткой пробирке.

7. После высадки меристемы, края пробирки и алюминиевую крышку кратковременно обжигают над горелкой и плотно закупоривают.

Пробирки подписывают (наименование сорта, вариант опыта, дата высадки), помещают в специальный штатив и затем на световые стеллажи со специальными условиями для роста и развития растений *in vitro*.

Приборы и оборудование: стерилизатор паровой полуавтоматический ГК-100-ПЗ, дистиллятор SIMAX, ламинарный бокс Flatron ST, микроскопы МБС-9, сушижаровой шкаф, весы аналитические Higliand HCB123, рН-метр лабораторный Аквилон 410, комплекты общелабораторного оборудования: облучатель бактерицидный ламповый ОБН-150, магнитные мешалки, холодильник POZIS Paracels, лабораторные, вытяжной шкаф и др.