

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 КУЛЬТИВИРОВАНИЮ И МИКРОРАЗМНОЖЕНИЮ МЕТОДОМ  
ПРОЛИФЕРАЦИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСПЛАНТОВ ВИНОГРАДА  
«ДОНСКОЙ АМПЕЛОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ИМ. Я.И. ПОТАПЕНКО»

Увеличение меристем и превращение их в конгломераты с побегами происходит поэтапно путем череды пересадок на свежие питательные среды, этап этот называется пролиферацией.

Культивирование и микроразмножение растительных эксплантов винограда методом пролиферации осуществляется следующим образом.

1. Подготовка помещений и ламинарного бокса к проведению операций со стерильными растительными эксплантами 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. Увеличившиеся растительные экспланты в укороченных пробирках (полученные согласно СОП № 12), помещают в стерильные условия ламинарного бокса, поверхность пробирок перед этим обеззараживают 70% этиловым спиртом.

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

Пересадка развившихся меристем и конгломератов происходит в условиях ламинарного бокса Lamsystems II класса защиты.

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

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 специальной керамической зоны перед операцией кладут лист стерильной фильтровальной бумаги, на который пинцетом помещают стерильный растительный эксплант. При помощи пинцета и скальпеля, производят необходимые манипуляции с растительными эксплантами: разрезают их для размножения, отсекая постаревшие ткани, участки и образовавшийся каллус и высаживают наиболее ценные части конгломерата на специально приготовленную питательную среду в специальные колбы Элен Меера емкостью 100 мл.

7. После высадки растительных эксплантов, края колб и алюминиевую крышку кратковременно обжигают над горелкой и плотно закупоривают. Колбы подписывают

(наименование сорта, вариант опыта, дата высадки), помещают 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 БМБ-II-"Ламинар-С."-1,8 II, сухожаровой шкаф, весы аналитические Hgland HCB123, PH-метр лабораторный Аквилон 410. Комплекты общелабораторного оборудования: облучатель бактерицидный ламповый ОБН-150, магнитные мешалки, холодильник POZIS Paracels, лабораторные, вытяжной шкаф и др.