

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 ПРИГОТОВЛЕНИЮ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ ЭТАПОВ
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РАСТЕНИЙ IN VITRO

Приготовление питательных сред для различных этапов культивирования растений *in vitro* осуществляется следующим образом.

1. Проверяют состояние маточных растворов: макроэлементов, микроэлементов, хелата железа, витаминов, ауксинов, цитокининов, и т.д. возможны и другие. Если в растворах наблюдают выпадение различного рода осадков, или наличие взвесей их переделывают.
2. Подготавливают необходимую лабораторную посуду для приготовления питательной среды (мерные цилиндры, мерные стаканы, пипетки, колбы), а также для культивирования растений пробирки со штативами или колбы.
3. В соответствии с прописью (рецептурой) и необходимым объемом среды производят вычисление необходимых количеств добавляемых компонентов питательной среды.
4. При приготовлении твердых питательных сред взвешивают расчетное количество порошкообразного агар-агара, помещают в колбы и заливают его половинным объемом воды (от расчетного объема питательной среды), плотно укупоривают горловину колбы алюминиевой фольгой и ставят в сухожаровой шкаф (при температуре 180 градусов) на 30-40 мин., доводят до кипения, полного расплавления и растворения агар-агара в кипящей воде.
5. Наливают в мерный стакан на 1 л - 200 мл бидистиллированной воды, и ставят его на магнитную мешалку, включают подогрев и перемешивание.
6. На весах взвешивают расчетную навеску сахарозы и добавляют ее в мерный стакан с бидистиллированной водой на работающей магнитной мешалке.
7. Туда же, поочередно добавляют, отмерив мерным стаканом или мерными пипетками, расчетное количество маточных растворов (макро и микроэлементов, витаминов, фитогормонов), в определенной последовательности, соответственно прописи приготавливаемой питательной среды.
8. После добавления всех компонентов постоянно перемешивая, доводят объем питательной среды, до половины от расчетного объема.
9. Измеряют рН раствора и доводят его до значений 5,5-5,9 применяя по необходимости щелочи $\text{Na}(\text{OH})_2$ или $\text{K}(\text{OH})_2$ или кислоты HCl , H_2SO_4 .
10. При полной готовности агар-агара две половины питательной среды (с агар-агаром и основными компонентами), соединяют в одной колбе, тщательно перемешивают и разливают по культивационным сосудам. Плотнo укупорив сосуды алюминиевой фольгой, подвергают их стерилизации паром под давлением 1,0-1,2 атм. в автоклаве, в течение 20-30 мин.

11. Сразу после стерилизации, горячие сосуды с питательной средой помещают в стерильный бокс. После остывания и затвердевания приготовленной питательной среды на нее можно высаживать стерильные растительные экспланты.

Приборы и оборудование: стерилизатор паровой полуавтоматический ГК-100-ПЗ, дистиллятор SIMAX, сухожаровой шкаф, весы аналитические Higliand HCB123, pH-метр лабораторный Аквилон 410. Комплекты общелабораторного оборудования: облучатель бактерицидный ламповый ОБН-150, магнитные мешалки, холодильник POZIS Paracels, лабораторные, вытяжной шкаф и др.