

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 СТЕРИЛИЗАЦИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСПЛАНТОВ ВИНОГРАДА ПРИ ВВОДЕ
В КУЛЬТУРУ IN VITRO СОРТОВ «ДОНСКОЙ АМПЕЛОГРАФИЧЕСКОЙ
КОЛЛЕКЦИИ ИМ. Я.И. ПОТАПЕНКО»**

Стерилизация растительных эксплантов винограда при вводе в культуру *in vitro* осуществляется следующим образом.

1. Отобранный растительный материал для ввода, перед стерилизацией, предварительно нарезают на короткие сегменты по 2-3 см с одной или несколькими почками. При этом на побеге удаляются все ненужные для ввода элементы (кроме глазков) усы, пасынки, листья вместе с черешками.
2. Полученный растительный материал с глазками (растительные экспланты) помещают в специальные стеклянные емкости, для стерилизации, имеющие герметично закрывающиеся крышки и промывают в мыльном растворе (небольшое количество жидкого мыла заливают теплой водой), емкости укупоривают и периодически встряхивают. Операция длится 3-5 минут.
3. Удаляют мыльный раствор, тщательно промывая экспланты проточной водой, для этого, заливая ее в емкости для стерилизации, закупоривая их и тщательно встряхивают 20 секунд. Воду аккуратно сливают, придерживая крышки, во избежание выпадения эксплантов. Операцию повторяют 3-4 раза, стараясь максимально удалить вместе с пеной все мелкие частицы, а также различного рода загрязнения и пыль.
4. Растительный материал промывают дистиллированной водой, заливая её в емкости для стерилизации, закупоривая их и тщательно встряхивая 20 секунд. Воду аккуратно сливают, придерживая крышки, во избежание выпадения эксплантов. Операцию повторяют 3-4 раза.
5. Далее материал переносят в стерильный бокс и там подвергают обработке этиловым спиртом (70%) в течение 30-40 секунд.
6. Сразу после обработки спиртом в емкости с растительными эксплантами заливают 0,8% водный раствор азотнокислого серебра (AgNO_3) плотно укупоривают ёмкости и выдерживают экспозицию 7 минут для зеленых и 10 минут для вызревших побегов. В течение этого времени емкости с растительными эксплантами залитые азотнокислым серебром периодически встряхивают. Во время работы с раствором AgNO_3 , на руках всегда должны быть резиновые перчатки.
7. После обработки растительных эксплантов AgNO_3 их необходимо тщательно выполоскать стерильной дистиллированной водой повторив процедуру полоскания не менее 5 раз.
8. Сразу после тщательного промывания растительных эксплантов в плотно укупоренных емкостях, их переносят в ламинарный бокс для выделения меристем.

Приборы и оборудование: стерилизатор паровой полуавтоматический ГК-100-ПЗ, дистиллятор SIMAX, сухожаровой шкаф, весы аналитические Higliand HCB123, облучатель бактерицидный ламповый ОБН-150. Комплекты общелабораторного оборудования: мерная посуда, лабораторная посуда, холодильник POZIS Paracels, лабораторные, вытяжной шкаф и др.