

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" сентября 2017 г.

СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА
ПО УКОРЕНЕНИЮ МИКРОПОБЕГОВ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ЭТАПЕ
ПРОЛИФЕРАЦИИ СОРТОВ «ДОНСКОЙ АМПЕЛОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ
ИМ. Я.И. ПОТАПЕНКО»

Укоренение побегов в культуре *in vitro* один из важных и ответственных этапов, успешное укоренение микропобегов позволяет высаживать в последствии полученные микрорастения их в нестерильные условия. Или более длительный срок хранить их без пересадок. Как правило, данная операция осуществляется на питательных средах, состав которых значительно отличается от состава питательных сред во время ввода в культуру и пролиферации.

Укоренение микропобегов полученных на этапе 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 конгломераты в конических колбах (полученные согласно СОП № 13), через 2 недели культивирования на световых стеллажах, для укоренения образовавшихся побегов и дальнейшего размножения помещают в стерильные условия ламинарного бокса, поверхность колб 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 конгломерат. При помощи пинцета и скальпеля, производят необходимые манипуляции с конгломератами: разрезают их для размножения, производят

срезку образовавшихся побегов, отсекают постаревшие ткани, некроз и образовавшийся каллус. Затем высаживают срезанные побеги на специально приготовленную среду для укоренения побегов, а наиболее ценные части конгломерата на специально приготовленную питательную среду в специальные колбы Эленмеера емкостью 100 мл.

7. После высадки срезанных побегов на питательную среду для укоренения, края пробирок и алюминиевую крышку кратковременно обжигают над горелкой и плотно закупоривают. Пробирки подписывают (наименование сорта, вариант опыта, дата высадки), помещают в штативы и переносят на световые стеллажи со специальными условиями для роста и развития растений *in vitro*.

8. 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, 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.